

Ana Margarida Alves da Rocha

Infeções por Papiloma Vírus Humano (HPV) e Saúde Oral

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto

2014

Infeções por Papiloma Vírus Humano (HPV) e Saúde Oral

Ana Margarida Alves da Rocha

Infeções por Papiloma Vírus Humano (HPV) e Saúde Oral

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto

2014

Infeções por Papiloma Vírus Humano (HPV) e Saúde Oral

Ana Margarida Alves da Rocha

Infeções por Papiloma Vírus Humano (HPV) e Saúde Oral

Orientadora:

Professora Doutora Fátima Cerqueira

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

A infecção por Papiloma Vírus Humano (HPV) é uma doença sexualmente transmissível que afeta mulheres e homens em todo o mundo. A presença de HPV tipo 16 tem vindo a ser associada ao desenvolvimento de cancro da cabeça e do pescoço, nomeadamente em jovens adultos. Atualmente encontram-se disponíveis vários métodos para a deteção do vírus. As vacinas existentes no mercado para este vírus representam a esperança de que no futuro o número de casos de cancro provocados por este vírus possam vir a diminuir, contrariando aquilo que tem vindo a acontecer nas últimas décadas.

Abstract

Infection by Human Papilloma Virus (HPV) is a sexually transmitted disease that affects women and men around the world. The presence of HPV type 16 has been associated with the development of cancers of the head and neck among youth. Currently are available several methods for virus detection. Existing vaccines in the market for this virus represents the hope that in the future the number of cases of this type of cancer caused by this virus might decrease, contrary to what has been happening in recent decades

"Tudo parece impossível até que seja feito."

Nelson Mandela

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Fátima Cerqueira, por todos os conhecimentos transmitidos, simpatia, apoio, entusiasmo e atenção demonstrada. A sua ajuda foi essencial na elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, que sempre acreditaram em mim, por me fazerem acreditar que com esforço e dedicação tudo é possível.

Ao Renato pela paciência, apoio e significado para mim.

À minha Tia Adriana, pela amizade que nos une e pela força que me deu para a conclusão deste trabalho.

A todos os meus amigos, que sempre me apoiaram ao longo desta caminhada, em especial à Andreia, à Fernanda, ao Pedro e à Rita.

Dedico este trabalho à minha avó, com muitas saudades.

A todos, muito obrigado!

ÍNDICE

I.	Introdução.....	1
II.	Histologia e Anatomia da Cavidade Oral.....	3
III.	Infeções virais da Mucosa Oral.....	7
IV.	Desenvolvimento.....	10
1.	O HPV – História.....	10
2.	Virologia.....	11
3.	Patogenia.....	14
4.	Epidemiologia da doença.....	18
5.	HPV, carcinoma oral e CCP.....	28
6.	Fatores de risco.....	30
7.	Diagnóstico.....	32
8.	Tratamento.....	36
9.	Medidas de Prevenção.....	40
i.	Vacinação.....	40
ii.	Educação para a Saúde.....	43
V.	Conclusão.....	44
VI.	Bibliografia.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Organização do genoma do HPV tipo 16.....	2
Figura 2. Vista anterior do Teto da Cavidade Oral.....	3
Figura 3. Cavidade Própria da Boca: Palato Duro e Véu Palatino.....	4
Figura 4. Glândulas salivares: parótida, sublingual e submandibular.....	5
Figura 5. Estrutura do HPV.....	11
Figura 6. Processo de Replicação do HPV.....	11
Figura 7. Mecanismo de Contágio por Papilomavírus Humano e desenvolvimento de cancro.....	15
Figura 8. Diferença na integração do DNA no desenvolvimento de uma lesão benigna e de uma lesão maligna por HPV.....	17
Figura 9. Células infectadas pelo HPV apresentam uma reestrutura coilocítica.....	32
Figura 10. Cancros diagnosticados anualmente na União Europeia devido à presença de HPV.....	41
Figura 11. Prevalência de cancros e verrugas genitais em Homens e Mulheres na Europa.....	42

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Funções das Proteínas do Papilomavírus Humano.....	13
Tabela 2. Influência das Características Demográficas na Infecção por HPV.....	20
Tabela 3. Estudos de CCP em função da localização do tumor e do país de origem.	22
Tabela 4. Tipos de HPV presentes no CCP e sua prevalência de acordo com a localização anatômica. Os tipos sublinhados a amarelo correspondem aos HPV'S oncogénicos.....	22
Tabela 5. Prevalência de HPV em cancros da cabeça e do pescoço de acordo com a localização geográfica e com o local anatómico no organismo.....	23
Tabela 6. Prevalência de HPV de acordo com a localização geográfica em três anos distintos.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS

CCP- CCP

CMV- Citomegalovírus

EBV- Vírus de Epstein-barr

EGFR- Fator de Crescimento Antiepidérmico

HPV- Papiloma Vírus Humano

HSV- Herpes Simplex Vírus

ISH- Híbridização *in situ*

PCR- Reação em cadeia da polimerase

RT-PCR- Reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase

VIH- Vírus da Imunodeficiência Humana

VZV- Vírus Varicela Zoster

WHO- World Health Organization

I. INTRODUÇÃO

Atualmente, é frequente o diagnóstico de infecções na cavidade oral associado a diferentes agentes virais (Flake *et al.*, 2012).

Infeções por HPV foram já diagnosticadas em vários locais do corpo humano e encontram-se diretamente relacionadas com o desenvolvimento de cancro do colo do útero. Até à data, mais de 40 tipos de HPV foram identificados na mucosa do trato genital e todos eles revelaram ser epiteliotrópicos (Castellsagué *et al.*, 2006).

Os tipos de HPV são classificados como de baixo-risco ou risco elevado, de acordo com o seu potencial carcinogénico (Saini *et al.*, 2010). HPV's de baixo risco incluem os tipos 6 e 11 e são frequentemente encontrados nas verrugas genitais e noutros tipos de lesões benignas, encontrando-se ausentes em carcinomas do tipo invasivo. Já os HPV's de alto risco encontram-se relacionados com o desenvolvimento de cancro do colo do útero. Neste grupo encontram-se incluídos os HPV's 16,18, 31,33, 45 e 46 entre outros (Castellsagué *et al.*, 2006).

A infeção por HPV de alto risco tem sido associada, nos últimos anos, ao desenvolvimento de certos tipos de cancro, nomeadamente do colo do útero, anal, vulvar, pénis, CCP e, mais recentemente, cancro da mama (Heng *et al.*, 2009).

O termo cancro da cabeça e do pescoço (CCP) inclui lesões epiteliais malignas em vários locais anatómicos, designadamente, nos seios paranasais, cavidade nasal e oral, faringe e laringe (Hocking *et al.*, 2011). Deste grupo fazem parte, entre outros tipos, os cancros das células escamosas da cavidade oral, orofaringe, hipofaringe e laringe os quais constituem atualmente o 5º cancro mais comum diagnosticado mundialmente (Braakhuis *et al.*, 2009).

Nos últimos anos, além do tabaco e do álcool, o HPV oncogénico tipo 16 (**Figura 1**) tem vindo a ser associado ao desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço (Braakhuis *et al.*, 2009).

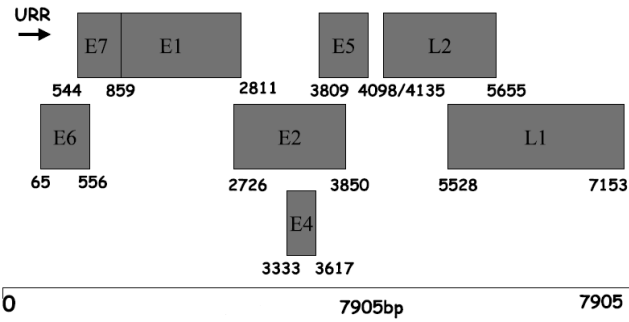


Figura 1. Organização do genoma do HPV tipo 16 (adaptado de Stanley, 2001).

A transmissão do vírus ocorre, geralmente, por via sexual apesar de existirem já relatos de casos de transmissão perinatal do vírus (Chung *et al.*, 2013). O seu período de incubação é variável, podendo ir de apenas alguns meses a anos.

Vários métodos têm vindo a ser utilizados para diagnosticar a presença do vírus, nomeadamente, a hibridização *in situ* (ISH), a imuno-histoquímica, a reação em cadeia da polimerase (PCR), entre outros (Chaudhary *et al.*, 2009).

Atualmente existem no mercado duas vacinas contra os HPV's oncogénicos tipos 16 e 18 (Nasman *et al.*, 2009). Apesar de ainda não existirem provas que comprovem a sua eficácia para a prevenção de cancro da cabeça e do pescoço por HPV estas representam a esperança na diminuição de casos da doença no futuro. O alargamento da vacinação aos rapazes é também uma questão que se coloca, dada a transmissão ocorrer por contato pele a pele.

Torna-se assim importante tomar medidas de educação para a saúde, de forma a aumentar a informação à população sobre a doença. Apesar de existir já muita informação sobre a influência do vírus no desenvolvimento de cancro do colo do útero, o mesmo não acontece para os cancro da cabeça e do pescoço, onde ainda existe um longo caminho a percorrer.

II. HISTOLOGIA E ANATOMIA DA CAVIDADE ORAL

A cavidade oral é a porção do tubo digestivo inferior às cavidades nasais. Encontra-se delimitada anteriormente pelos lábios e posteriormente pelo istmo das fauces o qual é constituído pela orofaringe, garganta e abertura para a faringe, podendo ser aberto pelo palato mole e pela língua (Seeley *et al.*, 2003). Nas suas paredes laterais musculares encontram-se as bochechas que se fundem anteriormente com os lábios, envolvendo a abertura anterior da cavidade oral a qual é designada de rima da boca (Drake *et al.*, 2005).

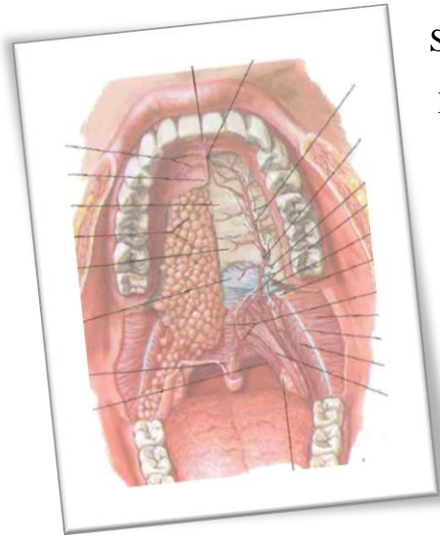


Figura 2. Vista anterior do Teto da Cavidade Oral (Adaptado de Hansen e Lambert, 2007).

Superiormente, a cavidade oral encontra-se delimitada pelo palato e inferiormente por um pavimento muscular. O teto da cavidade oral compreende os palatos duro e mole (**Figura 2**). O soalho é formado maioritariamente por partes moles, que compreende um diafragma muscular e a língua (Drake *et al.*, 2005).

A cavidade oral encontra-se dividida em: vestibulo (espaço entre os lábios ou bochecha e os

alvéolos dentários) e cavidade oral propriamente dita, que se situa medialmente aos alvéolos dentários (Seeley *et al.*, 2003). Estas duas regiões encontram-se delimitadas pelos arcos dentais maxilar e mandibular, compreendendo os dentes e osso alveolar que os sustentam (Drake *et al.*, 2005).

A mucosa oral encontra-se revestida por epitélio pavimentoso estratificado, que a protege de agressões mecânicas durante a mastigação (Seeley *et al.*, 2003).

Os lábios são formados pelo músculo orbicular dos lábios e por tecido conjuntivo, sendo a pele que os limita constituída por uma fina camada de epitélio estratificado queratinizado. As paredes laterais da cavidade oral são formadas pelas bochechas, as quais possuem no seu interior epitélio pavimentoso estratificado e uma camada externa de pele (Seeley *et al.*, 2003).

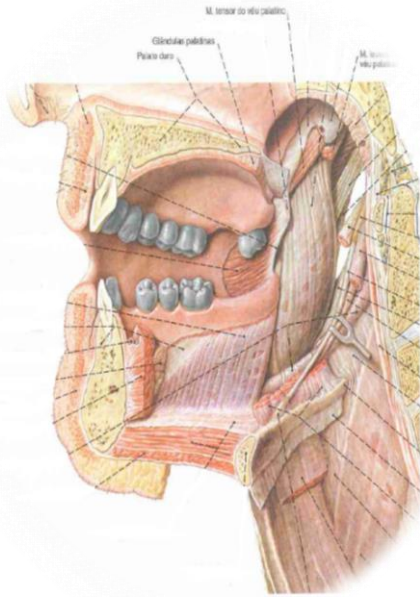


Figura 3. Cavidade Própria da Boca: Palato Duro e Véu Palatino (Adaptado de Putz e Pabst, 2000).

O palato é composto por uma parte não-óssea posterior, o palato mole ou véu palatino e por uma parte óssea anterior, o palato duro (Berkovitz *et al.*, 2004). O palato mole é constituído por tecido conjuntivo e por músculo-esquelético e apresenta uma projeção no seu bordo posterior, a qual é designada de úvula (**Figura 3**). Este desempenha um papel crucial na deglutição pois impede a passagem dos alimentos para a cavidade nasal. Já as amígdalas palatinas encontram-se localizadas nas paredes laterais da orofaringe (Seeley *et al.*, 2003).

A língua é um órgão muscular que forma parte do assoalho da cavidade oral e parte da parede anterior da parte oral da faringe encontrando-se revestida por epitélio pavimentoso estratificado. Esta é composta por músculos intrínsecos e extrínsecos (externos à língua mas ligados a ela) (Berkovitz *et al.*, 2004).

Os músculos intrínsecos encontram-se contidos na língua e têm como principal função assegurar a mudança de forma da língua, nomeadamente a sua elevação e o seu achatamento durante o processo de deglutição e ingestão de líquidos. Já os músculos extrínsecos (externos à língua mas ligados a ela) são responsáveis pela retração e protusão da língua, mudanças de forma e movimentação lateral desta (Seeley *et al.*, 2003).

O sulco terminal divide a língua em duas partes. A parte anterior deste sulco corresponde à maior parte da sua superfície. A língua encontra-se coberta por papilas, algumas das quais possuem recetores gustativos. O terço posterior da língua não apresenta papilas e possui apenas alguns terminais gustativos dispersos, sendo composto por pequenas glândulas e pela amígdala lingual, a qual resulta de um grande aglomerado de tecido linfático (Berkovitz *et al.*, 2004).

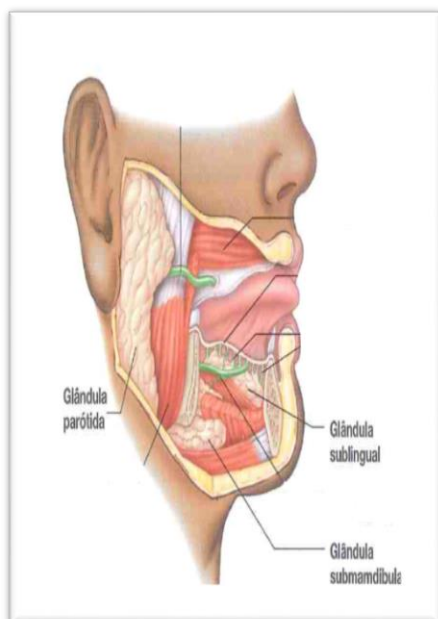


Figura 4. Glândulas salivares: parótida, (região jugal) que mantêm a cavidade oral sublingual e submandibular (Adaptado de Seeley *et al.*, 2003).

Da cavidade oral fazem parte um elevado número de glândulas salivares destacando-se três grandes glândulas multicelulares: as parótidas (produzem saliva aquosa), as submandibulares (são mistas possuindo, no entanto, mais alvéolos serosos que mucosos) e as sublinguais (glândulas mistas mais pequenas constituídas, na sua maioria, por alvéolos mucosos) (Drake *et al.*, 2005) (**Figura 4**). Para além destas, existem as glândulas linguais (encontram-se abaixo do epitélio da língua), as glândulas palatinas (palato), as glândulas labiais (lábios) e as glândulas bucais

(região jugal) que mantêm a cavidade oral húmida e iniciam a digestão dos alimentos. As glândulas salivares com maior volume são constituídas por glândulas alveolares compostas ramificadas que produzem secreções mucosas espessas ou secreções serosas diluídas, sendo a saliva a mistura destes dois tipos de secreções.

A porção serosa da saliva é produzida, maioritariamente, pelas glândulas parótidas e submandibulares e contém a amilase salivar, muito importante no início do processo de digestão. É esta enzima que quebra as ligações covalentes entre as moléculas de glicose, amido e outros polissacarídeos para produzir os dissacarídeos maltose e isomaltose. Além disso, a saliva desempenha uma importante função na prevenção de infeções bacterianas pois inclui, por um lado, substâncias com propriedades antibacterianas, tais como a lisozima e a imunoglobulina A e, por outro, protege a mucosa oral do desenvolvimento de úlceras as quais aumentam substancialmente a probabilidade de desenvolvimento de infeções bacterianas. A secreção salivar é estimulada principalmente pelo sistema parassimpático, embora apresente uma pequena estimulação do sistema simpático (Seeley *et al.*, 2003).

A inervação da cavidade oral é assegurada, maioritariamente, por ramos do nervo trigémeo. Os músculos da língua são todos inervados pelo nervo hipoglosso, exceto o palatoglosso, que é inervado pelo nervo vago. Já os músculos do palato mole são inervados pelo nervo vago, com exceção do tensor do véu platino, que é inervado por um

ramo do nervo mandibular. O músculo milo-hióideo que forma o assoalho da cavidade oral é também inervado pelo nervo mandibular (Drake *et al.*, 2005).

III. INFEÇÕES VIRAIS DA MUCOSA ORAL

As infeções virais na mucosa oral são frequentemente encontradas na prática clínica e podem apresentar diferentes sintomatologias (Heerden, 2008). O Herpes Simplex Vírus (HSV) é responsável pelas infeções virais mais frequentes da cavidade oral. Este é um vírus de DNA que apresenta dois tipos: tipo I (mais frequentemente isolado de infeções da pele e mucosa oral) e tipo II (mais frequentemente causa de infeções genitais) (Boraks, 1999).

O HSV tipo I (HSV-1) é geralmente adquirido por contacto direto com lesões infetadas ou fluídos corporais (tipicamente através da saliva) (Boraks, 1999). A prevalência de HSV-1 é elevada nas crianças e na maioria dos casos ocorre sem qualquer manifestação de sintomas sendo por vezes associada ao aparecimento dos primeiros dentes (McCullough e Savage, 2005). Nalguns casos a presença do vírus dá origem a uma sintomatologia de mal-estar e febre acompanhada do aparecimento de erupções vesiculares mucocutâneas associadas ao desenvolvimento de uma gengivoestomatite herpética primária (Laskaris, 2004).

Cerca de uma em cada três pessoas que desenvolveram uma gengivoestomatite herpética primária desenvolvem mais tarde infeções recorrentes por HSV devido ao facto de o vírus, após a infeção, estabelecer uma infeção latente no gânglio sensitivo do nervo trigémeo, podendo aí permanecer latente durante períodos de tempo variáveis. O herpes labial é a forma mais frequente de recidiva e aparece como grupos de vesículas nos lábios e na pele adjacente poucas horas após os sintomas de formigueiro e prurido. Estas podem ser desencadeadas por diversos estímulos, nomeadamente gripe e por infeções noutros órgãos do corpo, febre, exposição solar, stress, alterações hormonais (Boraks, 1999).

Outra infeção comum na mucosa oral é a varicela. A varicela e o herpes zoster são ambos provocados pelo vírus da varicela zoster (VZV) (Sociedade de Infeciologia Pediátrica e Sociedade Portuguesa de Pediatria, 2009).

Na mucosa oral, a varicela pode aparecer sob a forma de pequenas úlceras na língua, mucosa bucal, gengiva, palato e orofaringe. Após a ocorrência da primoinfeção por varicela zoster, o vírus permanece latente no gânglio sensitivo para o resto da vida do paciente. A reativação do vírus VZV, por exemplo, devido a uma diminuição das defesas imunológicas, pode levar ao desenvolvimento de herpes zoster. As infeções graves por

herpes zoster são encontradas em indivíduos imunodeprimidos. Neste tipo de infecção, as lesões encontram-se localizadas na disposição de um ou mais nervos sensitivos, podendo afetar o nervo trigémeo. As lesões podem ser caracterizadas pelo aparecimento de vesículas intraorais que rapidamente dão origem a úlceras e ao desenvolvimento de infecções secundárias (Heerden, 2008). A complicação mais grave é a ocorrência de nevralgia pós-herpética (Slots, 2009).

Em crianças e adultos jovens pode ocorrer desenvolvimento de infecção na cavidade oral pelo vírus de Epstein-barr (EBV), denominada mononucleose infecciosa. Este vírus é transmitido através da saliva (daí a denominação comum de “doença do beijinho”) e apresenta um período de incubação de 30 a 50 dias, a seguir ao qual ocorre o desenvolvimento dos primeiros sintomas acompanhados de febre baixa e mal-estar generalizado. Oralmente, a infecção caracteriza-se pelo aparecimento de petéquias no palato, pus na zona das amígdalas, gengivite e eritema difuso bucal (Laskaris, 2004). A mononucleose infecciosa pode também ser provocada pelo citomegalovírus (CMV).

É de salientar que no caso dos indivíduos imunodeprimidos, como por exemplo nos portadores do vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV), podem também haver manifestações orais, associadas a diversas patologias. É o caso da infecção por CMV, que afeta principalmente este tipo de pacientes (Slots, 2009).

Outro tipo de infecção infantil com manifestações clínicas na cavidade oral é a provocada pelo vírus Coxsackie, o qual é responsável pela herpangina e pela doença da boca, mão e pé. A sintomatologia da herpangina encontra-se associada a mau estar geral, febre e aparecimento de vesículas, úlceras e eritema difuso no palato mole enquanto que no caso da doença da boca, mão e pé ocorre aparecimento de vesículas na região anterior da boca, podendo encontrar-se ou não associado um quadro febril (Heerden, 2008).

Pode acontecer também que na mucosa oral ocorra desenvolvimento de lesões pelo HPV. Estas podem surgir por contacto com regiões da pele afetadas pelo vírus (quando há desenvolvimento de verrugas, associadas ao HPV tipo 2 e 4, denominadas de *Verruca Vulgaris*, por exemplo) sendo as lesões na mucosa oral únicas ou múltiplas, localizando-se frequentemente nas regiões dos lábios e do palato.

A nível genital, pode acontecer também o aparecimento de verrugas (*Condiloma Acuminatum*) as quais, devido a determinados comportamentos sexuais (como por exemplo, sexo oral desprotegido), podem levar ao aparecimento de nódulos pequenos

com aspeto normal ou esbranquiçado, únicos ou múltiplos, com proliferações com espeto de couve-flor na língua, mucosa do lábio, gengiva e comissura do palato (Laskaris, 2004).

Os esquimós e índios norte-americanos e sul-africanos podem desenvolver uma infeção por este vírus, característica destas etnias denominada de Hiperplasia Epitelial Focal (Doença de Heck's) (Heerden, 2008). Esta tem como agentes etiológicos os HPV-13 e 32 e é caracterizada pelo aparecimento de lesões lisas esbranquiçadas ou de cor normal nas regiões do lábio inferior e língua, sendo o seu aparecimento mais comum nas crianças (Laskaris, 2004).

Atualmente, a presença de certos tipos de HPV na mucosa oral tem sido associada ao desenvolvimento de patologias orofaríngeas e ao desenvolvimento de CCP (Slots, 2009). Nesse sentido, vários estudos foram já levados a cabo por investigadores de todo o mundo com vista a perceber os fatores predisponentes ao desenvolvimento deste tipo de patologias e as implicações que a vacinação atual para o cancro do colo uterino por este tipo de vírus poderá vir a ter no futuro neste tipo de situações.

IV. DESENVOLVIMENTO

1. O HPV - História

As origens históricas do HPV remontam à Grécia Antiga onde existem relatos do aparecimento de lesões, nomeadamente, verrugas e papilomas. Nesta época, ainda não existia uma relação causal entre a presença de vírus e a presença deste tipo de lesões (Oriel, 1971).

A ideia de que estas lesões poderiam estar relacionadas com a presença de vírus foi pela primeira vez proposta por Richard Shope em 1933. Estava assim estabelecida a primeira associação entre a presença de um vírus de DNA e o desenvolvimento de cancro (Flint *et al.*, 2009).

No entanto, apesar das descobertas efetuadas acerca deste vírus com a implementação do exame de Papanicolau, foi apenas a partir da década de 70 que este começou a ser mais conhecido, quando Harold Hausen verificou que as verrugas e condilomas genitais em humanos poderiam ser provocadas por um Papilomavírus.

Começou assim, um longo caminho no estudo deste vírus e na sua associação com o desenvolvimento de diferentes tipos de cancro, de entre os quais o cancro do colo do útero é o mais conhecido (Nakagawa *et al.*, 2010).

Nos últimos anos, foram efetuados estudos que verificaram a existência de uma relação entre a presença de certos tipos de HPV e o desenvolvimento de cancros orais e da cabeça e do pescoço (Rampias *et al.*, 2014).

2. Virologia

Atualmente, o HPV encontra-se classificado como um vírus de DNA de cadeia dupla contendo cerca de 8000 pares de bases que associadas a histonas, formam um nucleossoma. Este vírus apresenta mais de 100 genótipos conhecidos, 15 dos quais considerados oncogênicos (Braakhuis *et al.*, 2009). O seu diâmetro é reduzido, de aproximadamente 55 nm, sendo o vírus caracterizado por não possuir envelope lipídico e por possuir viriões em forma de esfera.

A classificação do HPV é efetuada com base na homologia da sequência nucleotídica (Doorbar, 2005).

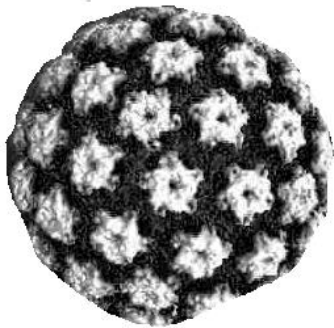


Figura 5. Estrutura do Papilomavírus Humano (Adaptado de Rampias *et al.*, 2014).

Todos os tipos de HPV identificados possuem o genoma organizado da mesma forma. Assim, o genoma do HPV divide-se em três regiões distintas: a região inicial (*E-early*) que codifica as proteínas responsáveis pela regulação do vírus, pela replicação do DNA viral (proteína E1) e pela transformação celular (proteínas E1 e E8); a região tardia (*L-late*) que codifica as proteínas da cápside (L1 e L2) e a região não codificadora (*LCR-long control region*), onde tem início a replicação e onde se encontram os componentes responsáveis pelo

controle da transcrição viral (**Figura 5**) (Santos *et al.*, 2008).

O processo de replicação do HPV encontra-se dividido em duas fases diferenciadas: fase de manutenção e fase de produção (**Figura 6**).

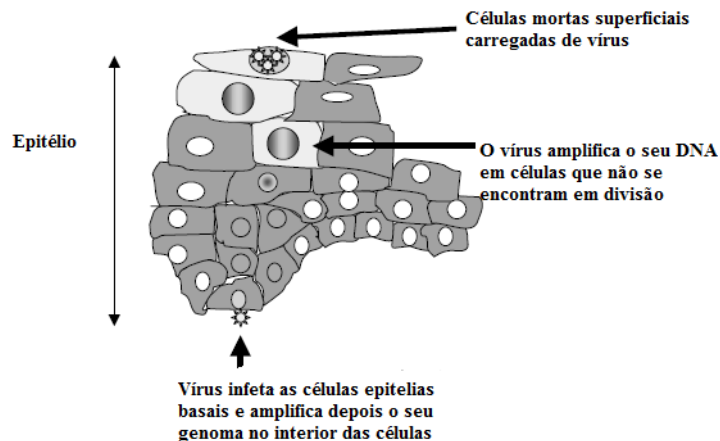


Figura 6. Processo de replicação do HPV (Adaptado de Stanley, 2001).

Santos e os seus colaboradores (2008) defendem que, por contato pele-a-pele e mucosa-a-mucosa, o HPV entra no organismo, infectando as células epidérmicas da camada basal através da adesão a uma proteína recetora específica presente na sua membrana. São estas células que são responsáveis pela interrupção da proliferação e início da diferenciação celular.

O DNA deste vírus pode permanecer na forma de plasmídeo, como no caso de infeção por verrugas genitais, ou pode integrar-se no DNA do hospedeiro, como sucede nos cancros a este associados.

Por depender do mecanismo de replicação do DNA da célula hospedeira para ser sintetizado, é indispensável que o vírus desencadeie um aumento do número de células infetadas. Assim, depois do primeiro contato, o vírus fica armazenado no interior destas células na forma de plasmídeos. É aqui que ocorre a expressão dos genes iniciais (E1 e E2), que vai levar à indução da proliferação celular, resultando num aumento do número de células basais (Santos *et al.*, 2008). Assim, nesta primeira fase (denominada de manutenção) não há produção de viriões ocorrendo apenas uma amplificação do genoma.

Este vírus produz proteínas que desempenham diferentes funções (Figura 5), sendo algumas delas capazes de regular o ciclo celular e a mitose. As oncoproteínas E6 e E7, presentes nos HPV's oncogénicos, atuam pela interrupção da função de genes supressores de tumores (pRb e p53), levando à perturbação de processos celulares importantes (Saini *et al.*, 2010). A proteína E5 interage com o recetor do fator de crescimento, bloqueando a apoptose. As alterações no controlo do ciclo celular e na apoptose potenciam assim um crescimento celular excessivo provocando a hiperplasia epitelial (Braakhuis *et al.*, 2009).

Numa segunda fase, denominada de fase produtiva, há formação de viriões pelo vírus. Esta tem lugar nas camadas mais superficiais da epiderme e é nesta fase que ocorre expressão dos genes L1 e L2 que codificam as proteínas da cápside viral.

É de notar que estudos elaborados sugerem que a replicação do vírus depende do grau de diferenciação dos queratinócitos.

O HPV de alto risco é essencial não só para a iniciação mas também para a manutenção do fenótipo maligno, pois a interferência com a expressão de E6 e E7 na linhagem das células cancerígenas resulta na perda da transformação fenotípica (Braakhuis *et al.*, 2009).

Tabela 1. Funções das Proteínas do Papilomavírus Humano (Adaptado de Rampias et al., 2014 e Santos et al., 2008)

Proteínas	Funções
Iniciais	
E1	Iniciação da replicação do genoma viral e controlo da transcrição viral.
E2	Replicação do DNA viral e transcrição; segregação de genomas virais.
E3	Desconhecida
E4	É sintetizada numa fase mais tardia; é expressa nos queratinócitos já diferenciados; forma um complexo com a citoqueratina, o que leva à sua destruição. Maturação de partículas virais.
E5	Oncoproteína que potencia a transformação a nível celular; interage com o recetor do fator de crescimento; bloqueia a apoptose na etapa tardia da carcinogénese do HPV
E6	Principal Oncoproteína; Forma um complexo com a proteína supressora de tumor (p53), o que se traduz num aumento da sua degradação.
E7	Principal Oncoproteína; Intervém com a proteína do retinoblastoma (Rb), um produto do gene supressor de tumor e com as proteínas 107 e 130 que controlam de forma negativa a proliferação celular.
E8	Desconhecida
Tardias	
L1	Principal proteína da cápside; corresponde a 80% do genoma viral.
L2	Proteína da cápside mais pequena; liga-se ao DNA; intervém no transporte para o núcleo da célula da proteína L1.

3. Patogenia

O HPV é a infecção sexualmente transmissível mais comum em todo o mundo. Além disso, tem sido recentemente associado ao CCP.

A infecção pelo HPV a nível genital afeta homens e mulheres sexualmente ativos sendo que a infecção genital se encontra dentro do grupo dos α -Papilomavírus. A maioria das infecções por HPV apresentam um período de latência longo, que pode variar entre semanas a anos.

Este é um vírus epiteliotrópico que afeta as células epiteliais escamosas queratinizadas (pele) e não queratinizadas (mucosa oral, faringe, laringe e zonas genitais). Os HPV tipos 6 e 11 inserem-se neste grupo e quando infetam a cavidade oral dão origem ao desenvolvimento de papilomas benignos (Doorbar, 2005).

Ainda não está totalmente compreendido como as infecções orais por HPV são transmitidas embora existam já autores que associam a sua transmissão a relações sexuais desprotegidas de sexo oral em áreas genitais infetadas pelo vírus (vagina ou ânus). Existem, no entanto, relatos que apoiam esta via de transmissão. Por exemplo, o caso de um casal em que ambos os parceiros desenvolveram cancro na orofaringe provocado pelo mesmo tipo de HPV o que apoia a hipótese de transmissão oral de HPV entre o casal. (Chung *et al.*, 2013). A observação de que parceiros de mulheres com cancro do colo do útero apresentam uma maior incidência de cancro da orofaringe do que a população em geral apoia também a ideia de que a transmissão do HPV genital para a cavidade oral ocorre durante a prática de sexo oral. Desta forma, a sua transmissão pode ocorrer através do contato com a pele ou mucosas afetadas pelo vírus.

Ainda não existem provas de que o HPV possa ser transmitido por um simples beijo ou por autoinoculação, existindo no entanto suspeitas de que o vírus possa ser transmitido verticalmente. Por exemplo, a infecção oral persistente por HPV em mulheres foi associada a um aumento do risco de presença de infecção na cavidade oral persistente nos seus bebés (Chung *et al.*, 2013).

Apesar de na maioria dos casos a infecção por HPV dar origem a lesões com baixo potencial de malignidade (principalmente verrugas e papilomas) existe um subgrupo de HPV's, designadamente os tipos 16 e 18, que podem causar lesões pré-cancerosas que

quando não tratadas atempadamente podem levar a cancro (**Figura 7**) (Castellsagué *et al.*, 2006).

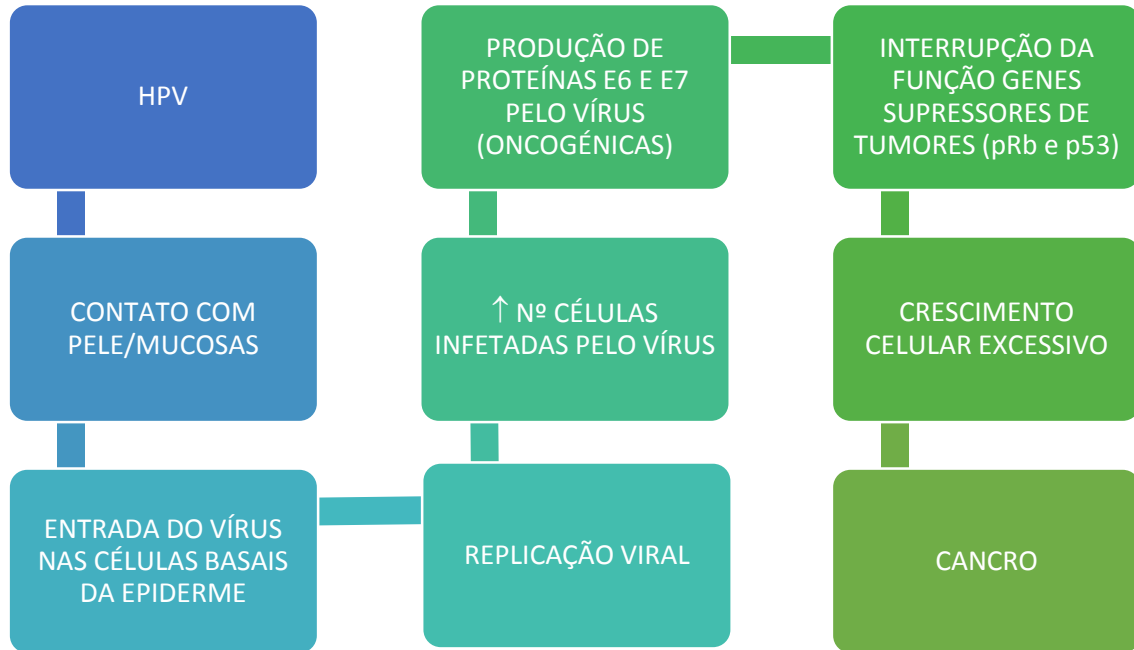


Figura 7. Mecanismo de Contágio por Papilomavírus Humano e desenvolvimento de cancro (Adaptado de Santos *et al.*, 2008)

Atualmente existem cerca de 13 genótipos de HPV de alto risco que podem provocar cancro do colo do útero e outro tipo de cancros, nomeadamente, anogenitais e da orofaringe. Assim, são eles os HPV tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 66.

A infeção oral por este vírus é associada, na grande maioria dos casos a doenças da mucosa oral, apesar de existirem já relatos da sua associação a outro tipo de lesões na cavidade oral (Chaturvedi *et al.*, 2008).

O CCP associado à presença de HPV de alto risco, nomeadamente do tipo 16, transcripcionalmente ativo é caracterizado pela ocorrência de perdas cromossómicas ocasionais, contrariamente ao que sucede quando há desenvolvimento deste tipo de carcinoma na ausência deste vírus, onde há presença de mutações com exclusões cromossómicas graves. A presença destas alterações genéticas com padrões distintos sugere que a infeção por HPV 16 é um acontecimento precoce no desenvolvimento deste tipo de cancros (Braakhuis *et al.*, 2004).

Estudos elaborados nos últimos anos concluíram que a presença de HPV 16 na cavidade oral em indivíduos não fumadores encontra-se frequentemente associada ao desenvolvimento de CCP, principalmente na presença das proteínas p53 e p73, as quais potenciam de forma significativa o risco de CCP (Chen, X., 2008a). A ideia de que a presença da proteína p73 pode vir a ser considerada um marcador da suscetibilidade genética para o desenvolvimento de cancros das células escamosas da orofaringe por HPV 16 tem vindo a ser proposta nos últimos anos, tendo já sido efetuados alguns estudos relacionados com o seu polimorfismo (Chen, X., 2008b). Estes estudos tornam-se importantes, principalmente nos pacientes não fumadores e que não ingerem bebidas alcoólicas, já que os cancros da cabeça e do pescoço associados à presença de HPV parecem ter uma etiologia distinta daqueles que são provocados pelo tabaco e álcool (Li *et al.*, 2004).

É de salientar que os tipos de HPV dependem da raça e da etnia dependendo o desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço da localização geográfica do paciente afetado (Heerden, 2008).

Como já foi referido anteriormente, o ciclo de replicação do HPV inicia-se com a infeção das células epidérmicas da camada basal. Apesar de ainda não se saber muito bem como é que há entrada do vírus nas células, nos últimos anos tem sido proposto que o recetor celular do HPV parece ser uma integrina do tipo $\alpha 6\beta 4$, presente nos queratinócitos da camada basal.

O mecanismo de resistência do hospedeiro à infeção por este vírus ainda não se encontra bem fundamentado devido à dificuldade de realização de testes sorológicos neste vírus (Molijn *et al.*, 2005). No entanto, alguns estudos já elaborados sugerem que a imunidade celular e a imunidade inata são os fatores mais importantes para o seu desenvolvimento (Stanley, 2006).

As infeções por HPV podem ser transitórias ou persistentes. As primeiras são os tipos de infeção mais frequente e não provocam danos graves a quem possui o vírus, regredindo espontaneamente. O problema surge quando o vírus permanece no organismo de forma latente e leva, anos mais tarde, ao desenvolvimento de lesões pré-cancerosas na região afetada (**Figura 8**).

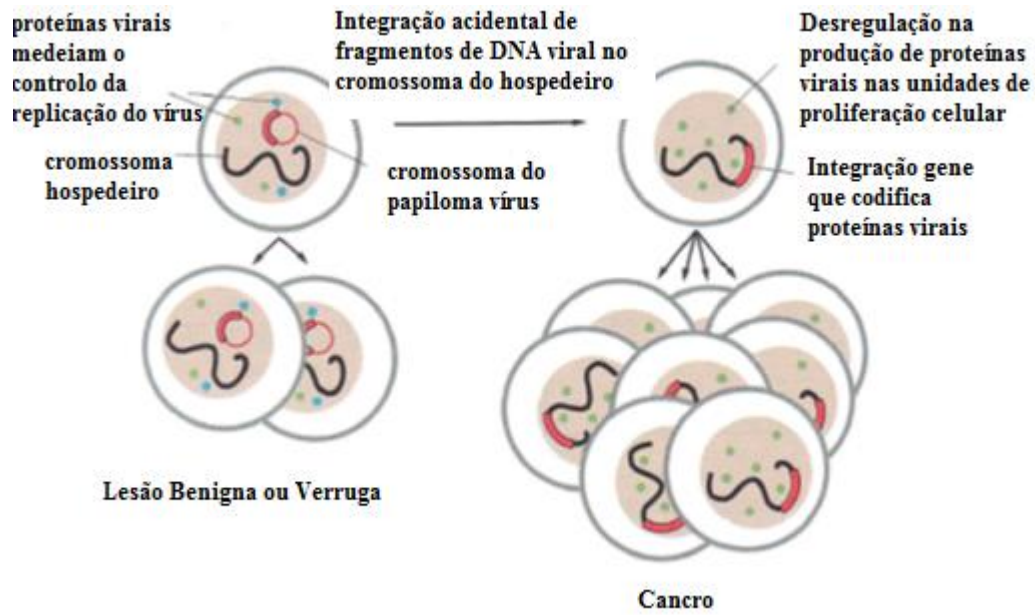


Figura 8.- Diferença na integração do DNA no desenvolvimento de uma lesão benigna e de uma lesão maligna por HPV (Adaptado de Alberts *et al.*, 2008).

Alguns estudos recentes sugerem que os tumores induzidos pela presença de HPV usam as vias PD-1/PD-L1 como um mecanismo adaptativo contra a imunidade anti tumoral (Mirghani *et al.*, 2014).

4. Epidemiologia da doença

Em todo o mundo, mais de 630 mil pessoas são diagnosticadas anualmente com CCP (Rose *et al.*, 2011).

Segundo dados obtidos pela World Health Organization (WHO), estima-se que até ao ano de 2020, sejam detetados em todo o mundo cerca de 15 milhões de novos casos de doença (WHO, 2014).

Nos países em desenvolvimento, estima-se que cerca de 23% dos tumores malignos são provocados por agentes infecciosos, nomeadamente, vírus e bactérias.

O HPV é um dos vírus que pode desencadear processos carcinogénicos, dependendo se o seu tipo é de alto ou baixo risco. Este pode dar origem a alguns tipos de cancro, nomeadamente, o do colo do útero, anogenital e mais recentemente cancros orais e da cabeça e do pescoço. Segundo Bosetti e seus colaboradores, mais de 21000 pessoas morreram ao longo do ano de 2010, vítimas de cancro da cavidade oral e da faringe.

Já nos países desenvolvidos, o número de cancros originados por este vírus apresenta um valor mais baixo, estimando-se que apenas 8% dos cancros malignos são causados pela sua presença. Isto sucede devido à diferença nos cuidados de saúde existentes nos países desenvolvidos com excelentes infra-estruturas, o que permite a deteção precoce de alguns tipos de cancro associados a este vírus, nomeadamente, do cancro do colo do útero que é aquele mais prevalente em todo o mundo. A implementação do teste de Papanicolau na década de 70 levou a uma mudança epidemiológica neste tipo de cancro, já que este permitiu a sua deteção precoce evitando assim a ocorrência de muitas mortes devido a esta doença (WHO, 2014).

A prevalência de HPV é influenciada por características demográficas como a idade e o sexo dos indivíduos.

Um estudo elaborado em 2005 revela que a incidência de cancro da orofaringe nos Estados Unidos e na Austrália encontra-se associada à infeção por HPV 16. Nestes países, este representa um dos principais agentes etiológicos para o surgimento deste tipo de cancros, apresentando uma presença de cerca de 50% em amostras de CCP (Kreimer *et al.*, 2005). Estudos efetuados posteriormente nos Estados Unidos da América sugerem

que cerca de 15 a 20% dos cânceros da orofaringe são provocados pela presença deste vírus (Nasman *et al.*, 2009).

Segundo o estudo elaborado por Gillison e os seus colaboradores nos Estados Unidos da América, a prevalência do vírus, apesar de não ser de uma forma muito significativa, é maior nos indivíduos de raça negra (10,5%) que nos de raça branca (6,5%).

No entanto, a influência da raça para infeção por este vírus ainda não se encontra bem documentada, existindo estudos que apresentam outro tipo de conclusões. Por exemplo, um estudo efetuado nos Estados Unidos da América entre 1973 e 2001 conclui que o número de casos cancro da orofaringe associados à presença do HPV tem vindo a aumentar nos últimos anos, em homens de raça branca (Nasman *et al.*, 2009).

Além disso, o número de parceiros sexuais e a idade da primeira relação sexual vaginal ou oral influenciam também a presença ou não do vírus em certos indivíduos. A prevalência da infeção é superior em indivíduos que têm a sua primeira relação sexual oral com 18 anos ou com idade inferior (**Tabela 2**) (Gillison *et al.*, 2012).

Tabela 2. Influência das Características Demográficas na Infecção por HPV (Adaptado de Gillison *et al.*, 2012)

Characteristic	Total No. (No. With HPV Infection)	HPV Prevalence, % (95% CI)	Unadjusted PR (95% CI)
Age, y^a			
14-17	656 (16)	1.7 (1.0-3.1)	1 [Reference]
18-24	792 (45)	5.6 (4.1-7.5)	3.21 (1.54-6.71)
25-29	463 (32)	7.1 (4.3-11.6)	4.11 (1.89-8.93)
30-34	436 (39)	7.3 (4.6-11.4)	4.21 (2.11-8.41)
35-39	461 (31)	5.4 (3.4-8.4)	3.11 (1.60-6.02)
40-44	495 (30)	6.3 (4.4-8.9)	3.64 (1.75-7.58)
45-49	482 (37)	7.3 (4.4-12.0)	4.22 (1.87-9.55)
50-54	474 (50)	8.3 (5.5-12.3)	4.80 (2.33-9.88)
55-59	381 (47)	11.2 (6.5-18.5)	6.46 (2.70-15.43)
60-64	498 (55)	11.4 (8.5-15.1)	6.57 (3.38-12.77)
65-69	363 (26)	4.2 (2.4-7.2)	2.44 (0.95-6.23)
<i>P</i> value (<i>P</i> value for trend) ^b		.02 (.009)	
Sex^a			
Male	2748 (295)	10.1 (8.3-12.3)	2.80 (2.02-3.88)
Female	2753 (113)	3.6 (2.6-5.0)	1 [Reference]
<i>P</i> value		<.001	
Race/ethnicity^a			
Mexican American	1189 (76)	6.2 (4.8-7.9)	0.95 (0.63-1.42)
Other Hispanic	624 (48)	7.8 (5.6-10.5)	1.20 (0.74-1.95)
White, non-Hispanic	2282 (154)	6.5 (4.7-9.0)	1 [Reference]
Black, non-Hispanic	1081 (117)	10.5 (7.9-13.8)	1.61 (1.01-2.57)
Other race	325 (13)	4.3 (2.4-7.2)	0.67 (0.35-1.29)
<i>P</i> value		.06	
Education^a			
Less than high school	1987 (139)	6.3 (5.1-7.7)	1 [Reference]
High school or equivalent	1126 (106)	8.8 (6.7-11.5)	1.41 (0.95-2.07)
Some college or greater	2379 (163)	6.4 (4.7-8.7)	1.02 (0.67-1.56)
Missing	9 (0)	0.0	
<i>P</i> value		.11	
Income-to-poverty ratio^{a,c}			
<1.0	1263 (118)	8.9 (7.4-10.5)	1 [Reference]
≥1.0 to <2.0	1349 (107)	7.6 (6.1-9.4)	0.86 (0.64-1.13)
≥2.0 to <3.0	652 (45)	6.7 (5.4-8.3)	0.75 (0.58-0.98)
≥3.0	1719 (102)	6.1 (4.2-8.8)	0.69 (0.48-0.98)
Missing	518 (36)	6.4 (4.4-9.3)	
<i>P</i> value (<i>P</i> value for trend)		.10 (.06)	
Marital status^a			
Never married	1892 (117)	6.3 (5.0-7.8)	1 [Reference]
Married/living with partner	2771 (203)	6.7 (5.1-8.7)	1.07 (0.76-1.50)
Widowed/divorced/separated	834 (88)	9.1 (6.9-12.0)	1.46 (0.99-2.14)
Missing	4 (0)	0.0	
<i>P</i> value		.11	
Cigarette use^{a,d}			
Never/former	4163 (237)	5.4 (4.2-7.1)	1 [Reference]
Current, <10 cigarettes/d	805 (94)	9.7 (7.4-12.5)	1.78 (1.25-2.54)
Current, 11-20 cigarettes/d	363 (55)	14.7 (9.6-21.8)	2.70 (1.69-4.32)
Current, >20 cigarettes/d	96 (17)	20.7 (12.6-32.0)	3.80 (2.27-6.36)
Missing	74 (5)	3.2 (0.9-10.9)	
<i>P</i> value (<i>P</i> value for trend)		<.001 (<.001)	
Alcohol use in past 12 mo, average No. of drinks/wk^a			
0	1420 (109)	7.2 (5.0-10.4)	1 [Reference]
<1	904 (55)	5.2 (3.4-7.8)	0.71 (0.42-1.20)
1-7	1212 (89)	6.6 (4.9-8.8)	0.91 (0.61-1.36)
8-14	349 (55)	12.1 (8.8-16.3)	1.67 (1.03-2.71)
>14	291 (33)	12.3 (7.3-19.8)	1.70 (1.13-2.54)
Missing	386 (41)	7.8 (5.0-11.9)	
<i>P</i> value (<i>P</i> value for trend)		.08 (.007)	

A influência da educação na infeção por HPV não é muito significativa, o que é sugestivo de que a infeção por este tipo de vírus, contrariamente ao que acontece com outras espécies virais, afeta diferentes níveis sociais. O consumo de tabaco e de álcool influencia também a presença da infeção por HPV.

O estudo elaborado por Gillison e seus colaboradores permitiu concluir ainda que 1 em cada 5 indivíduos, com mais de vinte parceiros sexuais ao longo da vida encontra-se infetado com o vírus (Gillison *et al.*, 2012).

Se não houver uma mudança no comportamento da população, estima-se que nos próximos anos, o número de casos da orofaringe por HPV nos Estados Unidos da América supere o cancro do colo do útero o qual tem vindo a ser relatado nos últimos anos, como o maior tipo de cancro associado a infeção por este vírus (Kreimer *et al.*, 2005).

Estudos efetuados por um banco de soros Nórdico concluiu que a presença de seropositividade para a proteína da cápside L1 do HPV 16 aumenta o risco de desenvolvimento de cancro da orofaringe (Kreimer *et al.*, 2005).

Foram observadas entre pacientes com diferentes localizações geográficas diferenças em relação ao agente causal do CCP. A hiperplasia epitelial focal é uma forma de infeção por HPV que é mais frequentemente encontrada nos índios da América do Sul e América Central. Nos esquimós esta encontra-se associada à presença de HPV'S 13 e 32 e caracteriza-se pelo aparecimento de lesões na região da cavidade oral (Santos *et al.*, 2008).

Segundo Chaturvedi e os seus colaboradores, os cancros da cabeça e do pescoço são o 8º cancro mais comum entre os homens e o 14º mais comum entre as mulheres nos Estados Unidos da América (Chaturvedi *et al.*, 2008).

Tabela 3. Estudos de CCP em função da localização do tumor e do país de origem (Adaptado de Kreimer *et al.*, 2005).

Site	Geographic location	No. studies	No. cases	Overall HPV prevalence (95% CI)
Oral cavity	Australia, Canada, China, Cuba, Finland, France, Germany, India, Ireland, Italy, Japan, Korea, Netherlands, Norway, Poland, Spain, Slovenia, Sudan, Sweden, Switzerland, Taiwan, United Kingdom, United States, Venezuela	35	2,642	23.5 (21.9-25.1)
Oropharynx	Australia, Canada, Cuba, Finland, France, Germany, India, Ireland, Italy, Japan, Netherlands, Norway, Poland, Spain, Slovenia, Sudan, Sweden, Switzerland, United States	27	969	35.6 (32.6-38.7)
Larynx*	Canada, Cuba, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, India, Italy, Japan, Netherlands, Norway, Spain, Slovenia, Sweden, Switzerland, United Kingdom, United States	35	1,435	24.0 (21.8-26.3)
Overall	As listed above	60†	5,046	25.9 (24.7-27.2)

*Larynx includes cases of the hypopharynx.

†Does not sum to total number of studies because some studies investigated multiple sites.

Kreimer e os seus colaboradores efetuaram uma revisão bibliográfica a partir de 60 artigos científicos procedentes de 26 países de diferentes zonas do mundo publicados após o ano de 1995. Esta permitiu a identificação de 5046 casos de cancro das células escamosas em diferentes zonas da cavidade oral, laringe e orofaringe, dos quais cerca de 26% apresentavam a presença de HPV (**Tabela 3**).

O HPV 16 é o genótipo mais frequentemente detetado em lesões do CCP, seguido do HPV 18. De acordo com o presente estudo, o HPV 16 é responsável por 86,7% dos cancros das células escamosas da orofaringe, por 68,2% dos cancros das células escamosas da cavidade oral e por 69,2% dos cancros das células escamosas da laringe. Já o HPV 18 apresenta uma menor prevalência correspondendo a 8,0% dos cancros da cavidade oral e a 3,9% dos cancros da faringe.

Além destes tipos de HPV foram também detetados outros tipos oncogénicos associados ao desenvolvimento de CCP, nomeadamente, os HPV's 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68 (**Tabela 4**).

Tabela 4. Tipos de HPV presentes no CCP e sua prevalência de acordo com a localização anatómica. Os tipos sublinhados a amarelo correspondem aos HPV'S oncogénicos (Adaptado de Kreimer *et al.*, 2005).

	Positive/tested	Prevalence (%)	Positive/tested	Prevalence (%)	Positive/tested	Prevalence (%)
6‡	59/1,884	3.1	18/706	2.5	52/1,028	5.1
11‡	31/1,904	1.6	5/705	0.7	5/1,015	0.5
16	423/2,642	16.0	299/969	30.9	238/1,435	16.6
18	212/2,642	8.0	9/909	1.0	54/1,387	3.9
16 and 18	44/2,642	1.7	1/909	0.1	6/1,387	0.4
31	3/1,422	0.2	0/656	0.0	2/797	0.3
32‡	1/496	0.2	0/287	0.0	0/178	0.0
33	14/1,678	0.8	9/802	1.1	9/1,051	0.9
35	1/1,350	0.1	2/568	0.4	0/496	0.0
39	0/1,335	0.0	0/496	0.0	0/300	0.0
44‡	1/1,290	0.1	0/466	0.0	0/291	0.0
45	0/1,362	0.0	1/559	0.2	1/439	0.2
51	0/1,350	0.0	0/568	0.0	1/336	0.3
52	0/1,335	0.0	0/496	0.0	1/443	0.2
53‡	1/539	0.2	0/329	0.0	0/327	0.0
56	2/1,350	0.1	0/568	0.0	0/296	0.0
57‡	1/393	0.3	0/220	0.0	0/263	0.0
58	1/1,335	0.1	0/563	0.0	0/443	0.0
59	0/1,335	0.0	1/496	0.2	0/300	0.0
68	1/1,335	0.1	0/496	0.0	0/260	0.0
73	0/524	0.0	0/225	0.0	0/206	0.0
81‡	1/405	0.2	0/220	0.0	0/178	0.0
82	0/496	0.0	0/220	0.0	0/178	0.0

Alguns tipos não oncogénicos, embora menos prevalentes, podem ser também associados ao desenvolvimento de cancro da cabeça e do pescoço e foram também encontrados nalguns locais anatómicos. São eles os HPV's 11, 32, 44, 53, 57 e 81 (Kreimer *et al.*, 2005).

Tabela 5. Prevalência de HPV em cancros da cabeça e do pescoço de acordo com a localização geográfica e com o local anatómico no organismo (Adaptado de Kreimer *et al.*, 2005).

	No. studies	No. cases	Overall HPV prevalence (95% CI)	HPV16 prevalence (95% CI)
Oral cavity				
Europe	15	744	16.0 (13.4-18.8)	10.8 (8.6-13.2)
North America	8	577	16.1 (13.2-19.4)	10.1 (7.7-12.8)
Asia	13	1,133	33.0 (30.3-35.8)	22.3 (20.3-25.2)
Other*	2	188	18.1 (12.9-24.3)	14.9 (10.1-20.8)
Oropharynx				
Europe	17	529	28.2 (24.4-32.2)	23.8 (20.2-27.7)
North America	7	285	47.0 (41.1-53.0)	42.1 (36.3-48.1)
Asia	4	54	46.3 (32.6-60.4)	35.2 (22.7-49.4)
Other*	2	101	36.6 (27.3-46.8)	33.7 (24.6-43.8)
Larynx†				
Europe	19	799	21.3 (18.5-24.3)	13.8 (11.5-16.4)
North America	7	297	13.8 (10.1-18.3)	10.1 (7.0-14.1)
Asia	8	306	38.2 (32.8-43.9)	26.5 (21.6-31.8)
Other*	1	33	48.5 (30.8-66.5)	45.5 (28.1-63.6)

A prevalência de cancro na cavidade oral por HPV em geral é semelhante na Europa (16,0%) e no Norte da América (16,1%), de acordo com os estudos efetuados (**Tabela 5**).

Dos continentes analisados, aquele onde há um maior número de registos de cancros por este vírus é a Ásia. Aqui, a prevalência de cancro na cavidade oral é de 33,0%, na orofaringe é de 46,3% e na laringe é de 38,2%.

Já no caso do HPV 16 os dados de prevalência mais elevados continuam a ser registados no continente asiático com uma incidência de cerca de 22,3% de cancros na cavidade oral, 35,2% na orofaringe e 26,5% na laringe (Kreimer *et al.*, 2005).

Nos diferentes estudos observa-se uma maior prevalência de tumores da orofaringe associados à presença do HPV, relativamente a outros locais anatómicos da cabeça e do pescoço, registando-se uma prevalência de 35,9%. Apesar de a razão para este fato ainda não ser evidente, existem já suspeitas que sugerem a existência de propriedades no epitélio e no tecido linfático das amígdalas semelhantes às encontradas nas junções colunares escamosas do colo do útero. A maior prevalência de infeção por este vírus situa-se em mulheres sexualmente ativas na zona do colo do útero, da vagina e da vulva (Kreimer *et al.*, 2005).

É ainda de notar que a prevalência de cancro da orofaringe associado à presença de HPV é significativamente mais elevado nos Estados Unidos da América que na Europa e na Ásia (Kreimer *et al.*, 2005).

Nasman e seus colaboradores procederam à recolha de dados da incidência de cancro das células escamosas das amígdalas por HPV no concelho de Estocolmo obtidos por comparação entre 1970 e 2002 a partir dos quais concluíram que a incidência de cancro da orofaringe por HPV encontra-se em crescente aumento. Assim, com o objetivo de continuar o estudo efetuado por outros autores nos anos anteriores, estes decidiram efetuar um estudo entre 2003 e 2007, de forma a poderem comparar as alterações ao nível da prevalência. Para isso, estes autores procederam à análise de 98 biópsias de tumores através da reação em cadeia da polimerase (PCR) e através de RT-PCR (uma reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase).

Os resultados obtidos observaram a presença de HPV DNA em 83 biópsias, o que corresponde a uma prevalência de 85%. O HPV DNA do tipo 16 foi encontrado em 77 amostras, das quais 52 apresentavam a presença das proteínas oncogénicas de RNA E6 e E7.

A prevalência de cancros da orofaringe associados à presença de HPV em Estocolmo entre 2003 e 2007 aumentou assim de forma significativa, ao contrário de cancros orofaringe associados a outros fatores. Estes dados sugerem assim que o HPV é um vírus epidémico capaz de induzir a produção de alguns tipos de cancro (Nasman *et al.*, 2009).

Um estudo de revisão realizado por Mehanna e seus colaboradores permitiu a recolha de dados epidemiológicos desta doença em vários países. Este teve por base 269 estudos e 19368 doentes. Dentro destes estudos 102 apresentam resultados para uma prevalência de 5396 pacientes com cancro da orofaringe por infeção por HPV e 236 apresentam uma prevalência de 13972 pacientes com infeção por HPV noutros locais.

Tabela 6. Prevalência de HPV de acordo com a localização geográfica em três anos distintos (Adaptado de Mehanna *et al.*, 2013).

Group	Overall prevalence (95% CI)	Midyear <2000 (95% CI)	Midyear 2000–2004 (95% CI)	Midyear 2005+ (95% CI)	Midyear NK	p value (midyear trend)	p value (year group trend)
OPC							
All regions	47.7 (42.9, 52.5) S = 102 n = 5396 0.89	40.5 (35.1, 46.1) S = 54 n = 2690 0.82	64.3 (56.7, 71.3) S = 22 n = 2037 0.9	72.2 (52.9, 85.7) S = 4 n = 150 0.8	40.5 (31.1, 50.7) S = 22 n = 519	<.0001	<.0001
N. America	59.9 (54.7, 64.9) S = 43 n = 2550 0.8	50.7 (42.6, 58.7) S = 19 n = 696 0.73	67.6 (61.7, 72.9) S = 17 n = 1678 0.79	69.7 (46.8, 85.7) S = 2 n = 45 0.76	55.6 (41.4, 69.0) S = 5 n = 131	0.0002	0.002
Europe	39.7 (32.8, 47.0) S = 46 n = 2278 0.87	35.3 (28.7, 42.5) S = 27 n = 1704 0.82	59.0 (30.2, 82.7) S = 4 n = 164 0.87	73.1 (39.4, 91.9) S = 2 n = 105 0.87	36.2 (24.3, 50.0) S = 13 n = 305	0.07	0.004
Other, NK, and mixed regions	32.5 (23.9, 42.4) S = 13 n = 568 0.73	32.2 (21.0, 45.9) S = 8 n = 290 0.78	— S = 1 n = 195	— S = 0 n = 0	35.4 (18.5, 56.9) S = 4 n = 83	0.46	—
Non-OPC							
All regions	21.8 (18.9, 25.1) S = 236 n = 13,972 0.93	22.2 (18.4, 26.4) S = 140 n = 2260 0.96	17.2 (11.9, 24.4) S = 37 n = 186 0.88	6.1 (0.7, 39.0) S = 5 n = 2419 0.91	26.3 (19.3, 34.8) S = 54	0.97	0.07
N. America	12.8 (9.7, 16.6) S = 62 n = 3803 0.86	14.1 (10.1, 19.5) S = 38 n = 2212 0.87	9.8 (5.2, 17.5) S = 13 n = 1204 0.85	— S = 2 n = 40	15.1 (7.3, 28.7) S = 9 n = 347	0.03	0.08
Europe	23.7 (19.4, 28.7) S = 90 n = 4625 0.9	23.6 (18.5, 29.5) S = 53 n = 29490 0.9	23.2 (12.7, 38.4) S = 14 n = 539 0.87	11.7 (0.9, 67.0) S = 3 n = 146 0.93	25.9 (16.3, 38.5) S = 20 n = 991	0.27	0.66
Other, NK, and mixed regions	28.8 (22.5, 36.1) S = 84 n = 5364 0.95	28.6 (20.4, 38.5) S = 49 n = 3766 0.96	23.9 (14.5, 36.7) S = 10 n = 517 0.84	— S = 0 n = 0	31.7 (19.8, 46.7) S = 25 n = 1081	0.53	0.55

De acordo com este estudo de revisão, a prevalência de HPV no cancro da orofaringe varia de acordo com a localização geográfica, sendo na Europa de cerca de 39,7%, na América do Norte 59,9% e nas noutras regiões de 32,5% (**Tabela 6**). A partir do ano 2000, foi observada uma diferença significativa na prevalência de HPV entre América do Norte, a Europa e outras regiões do mundo. No entanto, estudos mais recentes apontam para uma prevalência semelhante na América do Norte (69,7%) e na Europa (73,1%) (Mehanna *et al.*, 2013).

Já noutros tipos de CCP, a prevalência de HPV em geral é de 21,8% (**Tabela 6**). Especificamente, depois do ano 2000, a prevalência registada foi de 22,2%; entre 2000 e 2004 foi de 17,2% e depois de 2005 foi de 6,1% (Mehanna *et al.*, 2013).

Na última década, a prevalência de cancro da orofaringe por HPV na Europa aumentou drasticamente, fazendo com que as diferenças entre a sua predominância na América do

Norte e neste continente praticamente desaparecessem. Existem autores que justificam este aumento nos números de prevalência como o resultado de melhorias na sensibilidade das técnicas de deteção usadas. No entanto, o facto de no caso de outros tipos de CCP provocados por HPV isto não acontecer, mantendo-se os dados obtidos constantes, contraria esta teoria (Mehanna *et al.*, 2013).

Por outro lado, a diferença significativa na prevalência de cancros da orofaringe causados pela presença de HPV e outros tipos de CCP, bem como o rápido aumento na prevalência do cancro da orofaringe nas últimas décadas reforça a ideia de que estas são duas doenças distintas. Parece haver uma preferência do HPV para a orofaringe (Mehanna *et al.*, 2013).

Neste tipo de cancros, a elaboração de biópsias não permite chegar a grandes conclusões existindo, no entanto, estudos que apontam para estimativa de uma estimativa de cancros da cabeça e do pescoço associados à presença deste vírus superior a 50% (Kreimer *et al.*, 2005).

A variação de parâmetros epidemiológicos mediante o método usado é bastante grande, em parte devido há existência de diferenças na especificidade e sensibilidade nos métodos usados. Assim, de acordo com a localização geográfica existem variações em relação ao método de diagnóstico usado (Mehanna *et al.*, 2013). Os fatores de risco associados ao desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço contribuem também para a existência de variações. Por exemplo, os cancros da cavidade oral e das amígdalas são mais comuns na Índia (Chaudhary *et al.*, 2009), os cancros da nasofaringe são comuns na China e Hong Kong e os cancros da faringe e da laringe são prevalentes noutras populações (Ovchinnikov *et al.*, 2014).

Na população portuguesa, ainda existem muito poucos estudos sobre a infeção por HPV e o desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço. Assim, é muito difícil enumerar os números da prevalência da infeção e quais os genótipos mais comuns na população.

No entanto, um estudo recente reportou a prevalência de HPV numa população de mulheres portuguesas. Este revelou taxa de infeção por HPV na cavidade oral de jovens universitárias de cerca de 4,2% (Vieira *et al.*, 2014).

A ausência de ações de sensibilização à população sobre esta doença e a falta de rastreios para deteção do vírus no nosso país dificulta também o seu estudo epidemiológico. O conhecimento da epidemiologia do HPV desempenha um papel crucial para o

desenvolvimento de programas de rastreio eficientes para este e outros tipos de cancros provocados por este vírus. Há, portanto, um longo caminho a percorrer no estudo desta doença no nosso país.

O CCP apresenta geralmente um mau prognóstico com uma taxa de sobrevivência após de 5 anos de diagnóstico entre 40 a 50% (Descamps *et al.*, 2014). A mortalidade associada aos cancros da cabeça e do pescoço encontra-se frequentemente relacionada com o diagnóstico tardio que frequentemente é feito quando o tumor já se encontra metastizado noutras zonas do corpo (Ovchinnikov *et al.*, 2014).

As implicações do rápido aumento da prevalência de HPV em cancros da orofaringe são já consideráveis tendo os Estados Unidos da América e muitos países da Europa Ocidental relatado um aumento no número de casos desta doença (Mehanna *et al.*, 2013).

No futuro, estima-se que a incidência de CCP provocada por HPV irá superar a do cancro do colo do útero. Isto acontece devido à dificuldade na elaboração de exames citológicos de diagnóstico, pois os locais anatómicos onde se inicia a doença (amígdalas, base da língua e orofaringe) são de difícil acesso e os primeiros sintomas da doença surgem já numa fase muito avançada (Mehanna *et al.*, 2013).

5. HPV, carcinoma oral e CCP

A infecção por Papilomavírus Humano pode, nalguns casos, levar ao desenvolvimento de lesões únicas ou múltiplas na cavidade oral e nas regiões da laringe e da faringe. Nestes casos, as lesões são provocadas maioritariamente pelos HPV's 6, 11 e 16 (Santos *et al.*, 2008).

O CCP HPV positivo apresenta diferenças genéticas e moleculares relativamente ao HPV negativo, o que se reflete em disparidades a nível histológico (Rautava *et al.*, 2012).

Segundo o estudo efetuado por Descamps e seus colaboradores, há características específicas de tumores HPV positivo que os distinguem de outro tipo de tumores, nomeadamente, a presença de células basais não queratinizadas e a morfologia coilocítica saliente. Além disso, existem evidências já documentadas de que os tumores associados à presença deste vírus apresentam uma menor presença de mutações do gene p53, o que indica uma diminuição da associação com o consumo de tabaco e álcool (Descamps *et al.*, 2014).

Vários estudos efetuados nos últimos anos detetaram a relação entre o desenvolvimento de certos tipos de cancro, nomeadamente o cancro da “cabeça e do pescoço” e a presença de alguns vírus. Este tipo de cancro apresenta diferentes comportamentos aquando da presença de HPV de alto risco e da superexpressão da proteína p16 e do fator de crescimento epidérmico (EGFR-epidermal growth factor receptor) (Hoefling *et al.*, 2013).

Os genótipos de HPV que mais frequentemente se encontram associados ao desenvolvimento deste tipo de cancros é o HPV 16, apesar de os genótipos 6 e 11 também já tenham sido encontrados (Gillison *et al.*, 2012).

A ideia de que a presença de HPV em cancros da cabeça e do pescoço pode ter influência na progressão e na sobrevivência à doença foi observada somente nos cancros da orofaringe. Esta constatação, a ser confirmada, propõe que os cancros da cabeça e do pescoço relacionados à presença de HPV apresentam características diferentes daqueles que são provocados por outros fatores de risco como o álcool e o tabaco. Além disso, a presença de HPV de alto risco oncogénico pode apresentar resultados falsos positivos quando encontrado noutras regiões da cavidade oral (excluindo a orofaringe), o que

apresenta problemas aquando do diagnóstico e prognóstico da doença (Braakhuis *et al.*, 2009).

6. Fatores de risco

Os cancros da “cabeça e do pescoço” HPV positivo e HPV negativo diferem nos fatores de risco a que se encontram associados, sendo por isso multifatoriais (Argiris *et al.*, 2008).

No caso do cancro da “cabeça e do pescoço” não associado à presença deste vírus os principais fatores de risco são o consumo de álcool e de tabaco encontrando-se o desenvolvimento deste tipo de carcinoma associado a pessoas com idade mais avançada (Gillison *et al.*, 2012). Além destes fatores, a presença de alguns vírus como a infeção por HPV e do vírus Epstein-Barr (EBV) encontram-se relacionados com o desenvolvimento desta doença (Ovchinnikov *et al.*, 2014).

A presença de HPV de alto risco encontra-se associada ao desenvolvimento de CCP em pacientes sem história de álcool ou abuso de tabaco (Hoefling *et al.*, 2013).

Nas últimas duas décadas, vários efetuados indicam que o HPV é um fator de risco para o desenvolvimento de cancros da orofaringe (Nasman *et al.*, 2009). A infeção por este vírus encontra-se associada ao comportamento sexual.

Assim, sendo o HPV um vírus de transmissão pele-a-pele e mucosa-a-mucosa, a via sexual torna-se o principal ponto de partida para o contágio (D'souza *et al.*, 2007).

A prática de relações sexuais orais desprotegidas, um elevado número de parceiros sexuais, as relações sexuais orais e genitais em idade precoce elevam o risco de transmissão deste vírus e do desenvolvimento numa fase mais tardia, de cancro.

É ainda de notar que vários estudos efetuados apontam a existência de uma relação entre o desenvolvimento de “CCP” e o consumo de marijuana. Isto acontece porque nos casos em que há desenvolvimento deste tipo de cancro, sem presença de HPV, os pacientes não apresentam um historial de consumo deste tipo de droga, ao contrário do que acontece com os pacientes HPV positivo (Braakhuis *et al.*, 2009).

Além dos fatores de riscos externos (tabaco, álcool e presença de alguns vírus, nomeadamente HPV) existem já estudos efetuados que comprovaram a influência da hereditariedade no desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço. Os fatores genéticos apresentam assim, em conjunto com outro tipo de fatores externos, um maior risco de desenvolvimento da doença, o que explica o porquê de apenas algumas pessoas

que se encontram em contato com, por exemplo, o Papilomavírus Humano, desenvolverem doença passado alguns anos (Slebos *et al.*, 2006).

7. Diagnóstico

A monitorização da infeção por HPV é facilmente efetuada em células do colo do útero, as quais podem ser usadas para a identificação molecular e tipagem do HPV. Nos últimos anos, vários autores têm vindo a sugerir que as células da mucosa da boca podem ser usadas, tal como acontece no cancro do colo do útero, para monitorizar a infeção por HPV na cavidade oral, de forma a evitar o aparecimento de cancros da cabeça e do pescoço, nomeadamente, do cancro da orofaringe (Morbini *et al.*, 2013).

Estudar a influência do HPV no desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço torna-se complicado devido há existência de métodos com sensibilidade e especificidade diferentes. Há autores que sugerem que a deteção da expressão de E6 e E7 mRNA neste tipo de cancros justificam a etiologia do vírus no desenvolvimento da doença (Braakhuis *et al.*, 2009).

Os métodos de deteção mais usados para detetar a presença de HPV neste tipo de lesões são a ISH, a imuno-histoquímica e a PCR (Migaldi *et al.*, 2012).

Antes de escolher o método a usar, deve-se ter em conta qual a localização do tumor (Ovchinnikov *et al.*, 2014).

A colheita de amostras de saliva é uma técnica de diagnóstico não invasiva que permite efetuar de forma fácil e simples a recolha de várias amostras em grandes grupos da população. Assim, a saliva representa um material de teste ideal tendo em conta a localização de células tumorais na cavidade oral as quais entram em contato direto com esta. Após a sua colheita esta é analisada por PCR, a qual apresenta elevada sensibilidade e especificidade (Ovchinnikov *et al.*, 2014).

O exame citológico e histológico de amostras de tecido pode ser usado para averiguar a presença do vírus na mucosa da cavidade oral. A nível histológico, as células infetadas pelo vírus apresentam uma estrutura coilocítica (**Figura 9**), binucleada, com halos peri nucleares citoplasmáticos,

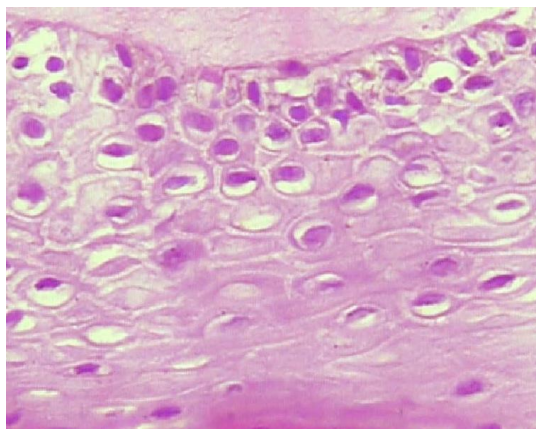


Figura 9. Células infetadas pelo HPV apresentam uma estrutura coilocítica (Adaptado de Chaudhary *et al.*, 2009).

displasia nuclear e metaplasia imatura atípica. Como limitações estes métodos apresentam uma sensibilidade muito limitada a qual dificulta a determinação dos tipos de HPV envolvidos na infecção das células epiteliais (Chaudhary *et al.*, 2009).

A PCR é o método mais usado para detetar a presença dos vários tipos de HPV pois é aquele que apresenta uma maior sensibilidade (Chaudhary *et al.*, 2009) dado permitir a amplificação de sequências de DNA específicas mesmo quando a sua presença é extremamente baixa (Kind *et al.*, 2008).

A escolha dos Primers reverte-se de especial importância dado afetar a sensibilidade e especificidade da técnica (Villa e Denny, 2006). Nesta técnica pode optar-se pela utilização de Primers especificamente desenhados para amplificar exclusivamente um único genótipo de HPV ou pela utilização de Primers genéricos que amplificam um grande espectro de genótipos mas que não identificam qual deles está presente. No primeiro caso, é necessário realizar várias reações separadas para identificar o DNA viral e qual o genótipo que se encontra presente na amostra. (Husman *et al.*, 1995).

Alguns exemplos são os Primers universais de sequências de DNA do HPV concebidos para a região L1 (por exemplo, MY09/MY11), E1 (por exemplo, CPI e CPII) e para as regiões E6 e E7. Na maioria dos estudos foram usados os Primers MY09/MY11 para a deteção do papilomavírus humano.

Na realização de PCR quantitativos recorre-se à utilização de uma sonda fluorescente que mede o grau de fluorescência da mistura da reação. Este tipo de PCR é vantajoso no diagnóstico de lesões pré-malignas e malignas da cavidade oral (Chaudhary *et al.*, 2009).

Dentro dos métodos de PCR disponíveis no mercado na atualidade distinguem-se o Amplicor e o SPF10, bem como outros métodos um pouco menos sensíveis como o GP5+/GP6+-PCR e o PGMY. Os métodos disponíveis são baseados na hibridização DNA com sondas marcadas específicas de RNA, tais como a HC2 (Braakhuis *et al.*, 2009).

A hibridização *in situ* (ISH) é um método frequentemente usado no diagnóstico de HPV, pois permite detetar a presença e o tipo de HPV com elevada sensibilidade e especificidade. Este baseia-se na utilização de sondas de DNA específicas para o tipo de HPV marcadas radioativamente as quais são complementares das sequências de DNA usadas para a deteção de viroses nas lesões pré-malignas e malignas do CCP (Chaudhary

et al., 2009). Esta técnica também pode ser usada para detetar HPV em lâminas e exemplos são o INFORM® HPV e o Genpoint™ system (Braakhuis *et al.*, 2009).

A imuno-histoquímica e a ISH apresentam baixa sensibilidade porque estes testes só detetam vírus quando este se encontra presente em mais de dez cópias de DNA viral por célula (Chaudhary *et al.*, 2009).

O Southern Blotting é um dos métodos de deteção padrão para a deteção do DNA do HPV (Chaudhary *et al.*, 2009). Nesta técnica, o DNA do vírus é quebrado através da ação de enzimas de restrição e os fragmentos obtidos são posteriormente separados por eletroforese em gel de agarose de acordo com o seu tamanho. De seguida, o gel é mergulhado em NaOH para desnaturar o dsDNA e as porções de ssDNA resultantes são deslocadas para uma membrana de nitrocelulose pela ação da capilaridade. Após a conclusão da transferência, a membrana é incubada com uma sonda radiomarcada específica para o gene de interesse. De seguida, a sonda é hibridizada com a porção de DNA que contém o gene de interesse e a identificação da fração da banda que contém os fragmentos hibridizados é feita por auto-radiografia (Kindt *et al.*, 2008).

Torna-se assim possível distinguir o DNA episomal e o DNA integrado. Como limitações esta técnica apresenta o fato de requerer uma quantidade significativa de DNA para ser executada.

Esta é uma técnica altamente específica apresentando uma menor sensibilidade, quando comparada com algumas técnicas, nomeadamente, a PCR. Gillison e seus colaboradores constataram esta mesma situação ao testarem a presença de tumores da orofaringe por HPV através da utilização de PCR e Southern Blotting. Ao usar como método de deteção o Southern Blotting estes observaram que a presença do vírus não foi detetada, contrariamente ao que aconteceu quando foi usado o PCR (Chaudhary *et al.*, 2009).

Por fim, outro método usado na deteção do vírus é a Captura Híbrida II que consiste na hibridização, em solução, de sondas de RNA complementares às sequências genómicas dos diferentes tipos de HPV. Na etapa seguinte, os híbridos de DNA-RNA são capturados na superfície da microplaca e são detetados por um anticorpo monoclonal específico e um substrato quimioluminescente, determinando uma medida semi-quantitativa da carga viral. Neste caso, ocorre a quantificação indireta da carga viral presente.

Além da presença do HPV esta técnica permite também identificar qual o tipo de HPV presente. Desta forma, podemos perceber a que grupo é que este pertence (alto ou baixo risco) permitindo assim perceber o risco de desenvolvimento de lesões pré-malignas devido à sua presença (Chaudhary *et al.*, 2009).

Os vários métodos usados apresentam diferentes sensibilidades e especificidades o que dificulta, por vezes, o diagnóstico e prognóstico da doença. Hoje em dia existem disponíveis no mercado testes com elevada sensibilidade. Porém, há autores que referem que a existência de elevadas sensibilidades analíticas nos ensaios resulta da diminuição da especificidade clínica deste pois o fato de haver mais testes com resultado positivo leva a ausência de vírus indutor de doença. Assim, um teste positivo para HPV oncogénico de alto risco não significa automaticamente que o vírus se encontra envolvido na iniciação e manutenção da carcinogénese (Braakhuis *et al.*, 2009).

Estandardizar um ensaio para o HPV é um pré-requisito para perceber a importância clínica da infeção por HPV em pacientes com CCP (Braakhuis *et al.*, 2009).

8. Tratamento

A resposta ao tratamento do CCP apresenta diferentes comportamentos em função da presença ou ausência de HPV (Hoefling *et al.*, 2013).

Nos pacientes com CCP associados à presença de HPV o tratamento apresenta resultados mais eficazes, o que leva a um aumento da taxa de sobrevivência comparativamente a pacientes com CCP com outras etiologias (Hoefling *et al.*, 2013).

Embora nos câncros da orofaringe a relação entre a infecção por este vírus e o prognóstico do paciente seja bastante acentuada, o mesmo não acontece em câncros da cabeça e do pescoço que afetam outros locais do organismo, nomeadamente, a laringe, a faringe e a cavidade oral (Descamps *et al.*, 2014).

Nos câncros da orofaringe, o prognóstico do paciente é independente da idade do paciente, da diferenciação e do estágio do tumor (Nasman *et al.*, 2009).

Os câncros da cabeça e do pescoço relacionados com a presença de HPV são, na grande maioria dos casos, diagnosticados numa fase já avançada da doença o que leva a que a maioria dos pacientes seja tratada com radiação por ser este o método mais rápido e eficaz (Chaturvedi *et al.*, 2008).

A Sociedade Americana de Câncer refere que as taxas de sobrevivência para o cancro da orofaringe de pelo menos 5 anos são de 56% no estado I da doença e de 43% no estado IV da doença. Quando na altura do diagnóstico são encontradas metástases do cancro a taxa de sobrevivência durante 5 anos é reduzida em 50% (Ward *et al.*, 2014).

Os tratamentos existentes atualmente para o CCP encontram-se frequentemente associados com o surgimento de efeitos adversos. 50% dos doentes diagnosticados com a doença morrem 2 anos após o diagnóstico inicial, pois cerca de dois terços dos pacientes possuem cancro em estado avançado (estágio 3 ou 4) no momento do diagnóstico (Descamps *et al.*, 2014). Assim, o maior objetivo do tratamento é curar o doente minimizando os efeitos adversos associados à terapêutica e reduzindo, desta forma, a morbilidade desta doença (Mirghani *et al.*, 2014).

Quando o cancro da orofaringe é detetado numa fase inicial (estado I ou II) o seu tratamento passa geralmente pela cirurgia ou radioterapia. No entanto, quando isto não acontece e o tumor é descoberto já numa fase muito avançada (fase III ou IV) o seu

tratamento passa pela utilização de terapias combinadas como por exemplo cirurgia e radioterapia pós-operatória ou a combinação das duas com a quimioterapia. (Ward *et al.*, 2014).

Em pacientes com cancro das células escamosas da orofaringe provocado pela presença de HPV, o tratamento de quimioterapia e radioterapia de eleição é a cisplatina. No entanto, a sua utilização, leva ao desenvolvimento de efeitos adversos tóxicos, o que leva à necessidade da realização de estudos de forma a confirmar até que ponto é que a sua substituição por outras moléculas, nomeadamente, por cetuximab é vantajosa (Mirghani *et al.*, 2014).

Alguns ensaios clínicos testaram os benefícios das terapias com o fator de crescimento antiepitérmico (EGFR), particularmente com o cetuximab. O cetuximab é um anticorpo monoclonal criado para direcionar o domínio de ligação do ligando extracelular do fator de crescimento antiepitérmico. Este foi aprovado pelas agências reguladoras dos Estados Unidos da América e da Europa para o tratamento de pacientes com cancro das células escamosas da cabeça e do pescoço local em estado avançado (Mirghani *et al.*, 2014).

Deve-se realçar, no entanto, que a decisão da utilização ou não de quimioterapia adjuvante encontra-se relacionada com as funções orgânicas dos órgãos do paciente que podem não aguentar tratamentos tão agressivos (Ward *et al.*, 2014).

Apesar dos efeitos adversos associados à cirurgia e radioterapia combinadas (Ward *et al.*, 2014) muitos pacientes sobrevivem e apesar de apresentarem algumas sequelas do tratamento, apresentam uma esperança média de vida superior à esperada. Os efeitos adversos graves relacionados com a ressecção do tumor e com os tratamentos de quimioterapia e radioterapia consistem, principalmente, no tratamento da disfagia crónica (Maniakas *et al.*, 2014). Outros efeitos tóxicos graves incluem xerostomia, ototoxicidade, rigidez e dor no pescoço (Mirghani *et al.*, 2014).

Os pacientes e cuidadores necessitam assim de mais suportes para o tratamento da sua saúde e para a sua integração na sociedade, de forma a regressarem ao trabalho e à atividade social normalmente (Mehanna *et al.*, 2013).

O risco de aparecimento de tumores primários e secundários depende da localização do tumor. No caso do surgimento de cancro da orofaringe por este vírus este risco ainda continua a ser desconhecido, não se sabendo quais os agentes etiológicos e fisiológicos

que levam ao surgimento de tumores secundários após o surgimento do CCP primário (Morris *et al.*, 2011).

Além dos desafios clínicos, a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a esta doença é fundamental para o desenvolvimento de terapias específicas e individualização do tratamento baseado na biologia do tumor.

Nos últimos anos, a área da proteômica tem vindo a ser muito investigada, conduzindo à identificação de proteínas específicas que são expressas de modo diferencial em vários tipos de tumores. A utilização da espectrometria de massa para a identificação de marcadores tumorais durante o diagnóstico e prognóstico deste tipo de cancros é assim uma área promissora para avanços nos estudos das doenças num futuro próximo (Descamps *et al.*, 2014).

Atualmente existem estudos que relatam diferenças demográficas no tipo de resposta ao tratamento de diferentes tipos de cancros da cabeça e do pescoço (Mehanna *et al.*, 2013).

O aumento da sobrevivência observado em pacientes com cancros da cabeça e do pescoço provocados por HPV do tipo oncogénico encontra-se relacionado com o tratamento usado. Existem estudos já publicados que sugerem que os tumores positivos para HPV respondem melhor à quimioterapia e à radiação (Kim *et al.*, 2014). No entanto, esta ideia ainda não se encontra verdadeiramente confirmada dado existirem estudos onde a evidência de um melhor efeito da radiação em cancros da cabeça e do pescoço HPV positivo não foi observada. Além disso, os mecanismos biológicos que justificam o aumento da sobrevivência por cancro provocado pela infeção por HPV nalguns pacientes ainda não se encontra bem esclarecida atualmente, o que dificulta ainda mais a previsão da resposta dos doentes ao tratamento usado (Braakhuis *et al.*, 2009).

Pensa-se que a terapêutica para cancros da cabeça e do pescoço na presença e na ausência de HPV deve ser vista de forma diferente, dado existirem diferenças significativas nos dois cancros. Os riscos e os benefícios de uma terapia combinada intensiva devem, assim, ser considerados separadamente (Kim *et al.*, 2014). Para isso devem-se ter em conta alguns dados, nomeadamente o fato de pacientes com CCP sem presença de vírus fumarem e consumirem geralmente mais álcool, o que leva a que neste tipo de cancro o diagnóstico seja feito geralmente, num estado mais avançado da doença (Kim *et al.*, 2014).

Tendo em conta que os pacientes com CCP provocado pelo vírus são geralmente jovens e têm uma probabilidade elevada de sobreviver à doença torna-se importante no momento da escolha do tratamento mais adequado a cada caso a qualidade de vida do paciente após o tratamento (Mirghani *et al.*, 2014).

A variável biológica mais importante no prognóstico do CCP é o estado do HPV (Preuss *et al.*, 2014). A identificação dos biomarcadores específicos para HPV torna-se crucial para o melhoramento do prognóstico dos doentes com CCP pois permite a seleção do tratamento mais adequado a cada caso. (Kim *et al.*, 2014).

Estudos efetuados recentemente sugerem que a podoplanina, uma proteína associada ao processo de invasão das células epiteliais neoplásicas, é um indicador de prognóstico de várias doenças malignas. Neste tipo de cancro, o seu mecanismo ainda não se encontra bem conhecido. No entanto, a sua presença tem vindo a ser reconhecida como um potencial marcador da presença de metástases nos nódulos linfáticos no CCP e a sua elevada expressão encontra-se relacionada com um pior prognóstico da doença. O cancro das células escamosas indica frequentemente a presença de elevada expressão desta proteína. Foi encontrada num estudo realizado recentemente a presença de elevada expressão de podoplanina em 60% das amostras de cancro da cavidade oral. Porém, estudos elaborados na orofaringe apresentam resultados controversos, onde não foi encontrada elevada expressão desta proteína em mais de 60% dos casos (Preuss *et al.*, 2014).

O conjunto de genes específicos que permitem perceber o estado da infeção por HPV diferenciam-se de forma clara do subconjunto responsável pelo desenvolvimento de cancros da cabeça e do pescoço por outro tipo de fatores. No caso do HPV, os genes encontram-se associados ao metabolismo enquanto na ausência da presença de vírus o CCP consiste na degradação do colagénio (Kim *et al.*, 2014).

9. Medidas de prevenção

i. Vacinação

As vacinas terapêuticas e as profiláticas constituem os tipos de vacinas existentes contra o HPV.

Existem disponíveis no mercado dois tipos de vacinas profiláticas para o HPV obtidas por tecnologia recombinante (Bonanni *et al.*, 2011). Da sua constituição fazem parte partículas virais que são concebidas através da clonização do gene principal da cápside viral (L1) de diferentes tipos de HPV. Posteriormente estas são expressas em diferentes vetores (baculovírus- vacina bivalente e levedura- vacina quadrivalente) (Pereira *et al.*, 2007).

A principal vantagem da utilização de VLP's encontra-se relacionada com a enorme semelhança destas com os viriões de HPV. Como estas não possuem material genético na sua composição, não apresentam potencial infeccioso nem oncogénico, induzindo a produção de elevados níveis de anticorpos (imunidade humoral) contra as proteínas L1 da cápside viral, aquando da sua administração pela via intramuscular (Pereira *et al.*, 2007).

A vacina bivalente (Cervarix®) contém VLP's de HPV tipo 16 e 18, os quais se encontram frequentemente associados ao desenvolvimento de vários tipos de cancro. Assim, esta protege contra o aparecimento de alguns tipos de cancro. O estudo efetuado por Harper e seus colaboradores demonstrou que as vacinas bivalentes para HPV tipos 16 e 18 (vírus like particle vaccine) apresentaram elevada eficácia na prevenção e no tratamento da infeção por HPV por estes tipos de elevado potencial carcinogénico nas mulheres jovens que haviam sido vacinadas (Harper *et al.*, 2004).

Já a vacina quadrivalente (Gardasil®) apresenta um espetro de proteção mais alargado conferindo proteção não só para os HPV's tipos 16 e 18 mas também para os tipos 6 e 11 que se encontram relacionados com a presença de verrugas genitais (Department of Immunization Vaccines and Biologicals, 2012).

É de realçar que 70% dos cancros do colo do útero surgem devido à presença de HPV's tipo 16 e 18, o que significa que 30% destes cancros não se encontram incluídos neste

grupo. No entanto, alguns estudos sugerem que as vacinas disponíveis podem ter uma proteção cruzada contra outros serotipos de HPV (Ault, 2007; Department of Immunization Vaccines and Biologicals, 2012; Smith *et al.*, 2007).

A utilização da vacina quadrivalente nos rapazes encontra-se atualmente recomendada em três países (Estados Unidos da América, Austrália e Canadá). No entanto, apenas um dos países financia a sua administração.

A decisão da recomendação da vacina para rapazes depende da epidemiologia da doença no país, do custo-efetividade e da acessibilidade (Department of Immunization Vaccines and Biologicals, 2012). Em países com salários mais baixos, a incidência de cancro do colo do útero é mais elevada que a de cancros nas áreas genitais masculinas, nomeadamente, no pênis, o que leva a que a vacina seja administrada preferencialmente às mulheres (**Figura 10**).

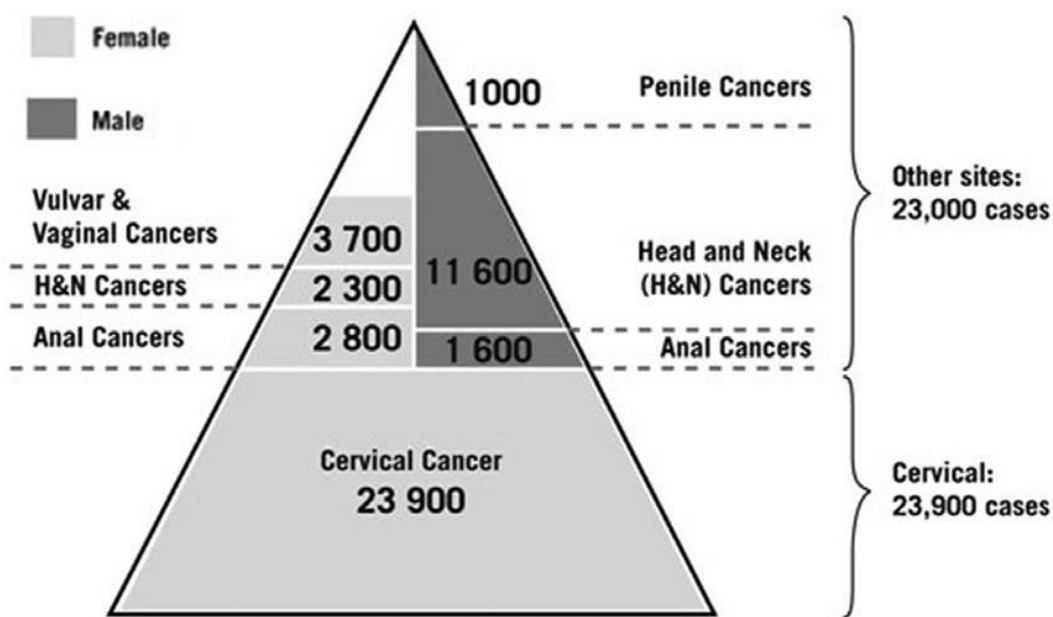


Figura 10. Cancros diagnosticados anualmente na União Europeia devido à presença de HPV (Adaptado de Bonanni *et al.*, 2011).

Foram já efetuadas análises de custo-efetividade para alargar os programas de vacinação contra o HPV aos rapazes, os quais não apresentaram bons resultados. No entanto, um rápido aumento na prevalência deste vírus pode exigir uma reavaliação da relação custo-efetividade da vacinação para rapazes. Torna-se assim importante obter uma representação exata das atuais tendências globais e regionais na prevalência desta doença para permitir a elaboração de melhores planos de saúde (Mehanna *et al.*, 2013).

No entanto, a diminuição da prevalência de HPV no sexo masculino através da implementação da vacinação nos rapazes poderá vir a apresentar resultados na prevenção não só de cancro do colo do útero mas também de outros tipos de cancro transmitidos pela via sexual. Exemplo disso é o CCP que pode ser transmitido através de relações sexuais orais desprotegidas e o qual apresenta, logo a seguir ao cancro do colo do útero, o maior número de casos detetados anualmente na União Europeia (**Figura 10**).

Já em relação à prevalência de verrugas genitais, observa-se em ambos os sexos a ocorrência de aparecimento de um elevado número de casos de verrugas genitais (**Figura 11**).

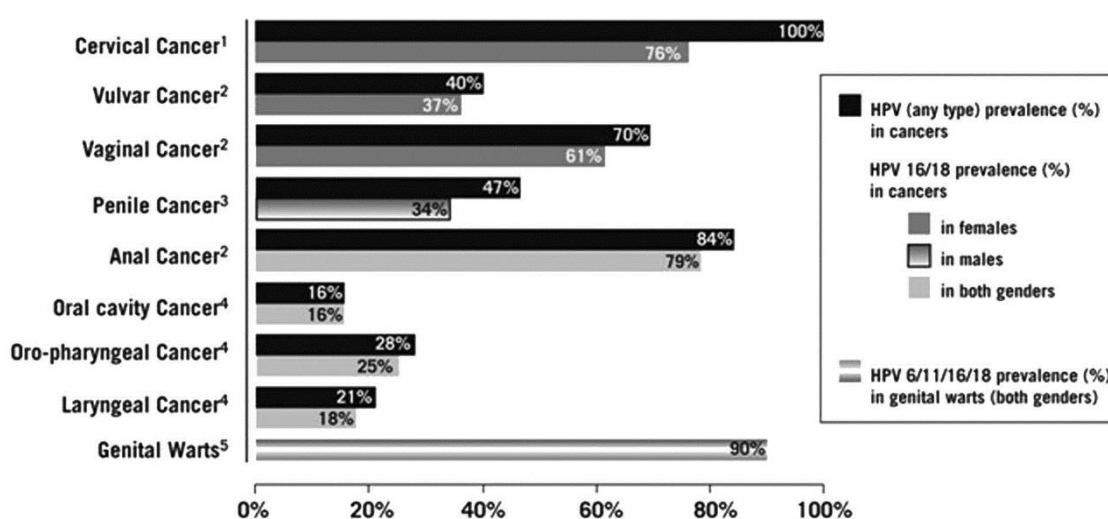


Figura 11. Prevalência de cancros e verrugas genitais em Homens e Mulheres na Europa (Adaptado de Bonanni *et al.*, 2011).

A vacinação contra o HPV, que protege atualmente contra o cancro do colo do útero, oferece assim no futuro uma possível resposta para ajudar a travar o desenvolvimento de outros tipos de cancro associados à presença do vírus, nomeadamente, cancros da cabeça e do pescoço e cancros das amígdalas (Nasman *et al.*, 2009).

No entanto, há ainda um longo caminho a percorrer e apesar de esta já fazer parte do Plano Nacional de Vacinação nalguns países, nomeadamente em Portugal, ainda não existem provas que sustentem a sua eficácia para evitar o desenvolvimento de outro tipo de cancros por este vírus noutras zonas do organismo não se encontrando o seu uso ainda aprovado para esse fim (Department of Immunization Vaccines and Biologicals, 2012).

As vacinas terapêuticas contra o HPV pretendem induzir a resposta dos linfócitos T citotóxicos às proteínas reguladoras precoces do vírus, principalmente às proteínas E6 e

E7 permitindo, desta forma, proceder à eliminação das células infetadas (Mirghani *et al.*, 2014).

O Hospital John Hopkins, em Istanbul, encontra-se a conduzir um ensaio clínico de fase I para avaliar a segurança e a viabilidade de uma vacina de HPV-DNA contra a proteína E7 do HPV tipo 16, que se encontra associada à indução de cancro das células escamosas da orofaringe. A ciclofosfamida é um agente imuno-modulador que é dado em adição à vacina para aumentar a resposta imunológica das células infetadas pelo vírus (Mirghani *et al.*, 2014).

ii. Educação para a saúde

Atualmente, a maioria dos programas de educação sexual têm como objetivo promover a diminuição dos comportamentos sexuais de risco, de forma a evitar a transmissão de certas doenças sexualmente transmissíveis, como a clamídia, a gonorreia e o vírus da imunodeficiência humana (VIH).

Com o recente aumento do número de casos de HPV na cavidade oral torna-se urgente educar os jovens para os riscos da prática de relações sexuais orais desprotegidas dado na atualidade serem muitos aqueles que não conhecem os risco da infeção por HPV neste local.

Os profissionais de saúde envolvidos no tratamento do CCP apresentam um elevado nível de formação. No entanto, quando este é causado por HPV, o estigma social é afetado, pois esta é uma doença transmitida pela via sexual oral, o que pode provocar situações de vergonha por parte dos doentes (Mehanna *et al.*, 2013).

O farmacêutico desempenha um papel muito importante na prevenção deste tipo de doença já que a informação acerca de alguns comportamentos de risco deve ser transmitida por este aos utentes. Este deve alertá-los para o impacto que o consumo de tabaco, álcool e sexo desprotegido pode vir a ter nas suas vidas um dia mais tarde. As pessoas devem ter uma higiene oral cuidada e ir frequentemente ao dentista de forma a controlar o aparecimento de possíveis lesões.

V. CONCLUSÃO

Nos últimos anos, o número de câncros da cabeça e do pescoço provocado por HPV tem vindo a aumentar entre as faixas etárias mais jovens. A presença de HPV de alto risco, nomeadamente de HPV tipo 16, encontra-se associado ao desenvolvimento de lesões pré-cancerígenas que podem evoluir posteriormente para cancro.

Vários estudos têm vindo a analisar que o HPV parece ter uma determinada predisposição para infeção das células escamosas da orofaringe, tendo-se vindo a observar um aumento do número de câncros pelo vírus nesta zona. A existência de semelhanças entre esta zona e o colo do útero, para o qual o HPV apresenta um elevado tropismo tem sido considerada como uma principal justificação para este aumento.

A prática de relações sexuais orais desprotegidas, o número de parceiros sexuais, a idade da primeira relação sexual vaginal e oral, bem como o consumo de algumas drogas são fatores de risco para o desenvolvimento deste tipo de câncros na presença deste vírus.

O tratamento dos câncros da cabeça e do pescoço passam pela utilização de quimioterapia, radioterapia e pela realização de cirurgias para remoção do tumor. Nos câncros em que o HPV se encontra envolvido verifica-se uma melhor resposta ao tratamento usado, o que contribui para um melhor prognóstico e para o aumento da taxa de sobrevivência da doença.

De forma a reduzir os elevados números de prevalência deste tipo de cancro torna-se importante proceder à realização de rastreios e de programas de educação para a saúde na população. Muitas pessoas associam a presença deste vírus ao desenvolvimento do cancro do colo do útero desconhecendo que este se encontra associado ao aparecimento de outros tipos de cancro na cavidade oral. Numa altura em que a prática de relações sexuais orais entre as faixas etárias mais jovens se tornou comum, torna-se pois essencial informar os jovens para os perigos inerentes a estas práticas.

A existência de um método de deteção standardizado para a deteção de HPV dificulta a realização de rastreios na população.

O farmacêutico desempenha um papel essencial na prevenção desta doença já que são muitos os jovens que todos os dias se dirigem à farmácia para esclarecer dúvidas relacionadas com a sexualidade e com o uso de métodos de contraceção. Torna-se pois importante, aquando do aconselhamento dos diferentes métodos de contraceção

disponíveis, alertar aos jovens quais os perigos da prática de alguns tipos de comportamento sexual de risco. Além disso, existem muitas jovens que se dirigem à farmácia para comprar a vacina para o cancro do colo do útero.

A existência de duas vacinas no mercado para o HPV confere uma esperança para a diminuição do número de casos de cancros associados à presença deste vírus no futuro, nomeadamente os provocados pelos tipos 16 e 18. O alargamento da vacinação aos rapazes pode também vir a ser uma forma de travar a infeção pelo vírus existindo ainda um longo caminho a percorrer nesta área.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberts, B., *et al.* (2008). *Molecular Biology of The Cell*, 5 rd ed., USA, Garland Science
- Argiris, A., *et al.* (2008). Head and neck cancer. *Lancet*, 371, pp. 1695-709.
- Ault, K. A. (2007). Human papillomavirus vaccines and the potential for cross-protection between related HPV types. *Gynecologic Oncology*, 107, pp. 31-33.
- Berkovitz, B.K.B., Holland, G.R. e Moxham, B.J. (2004). *Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal*. Porto Alegre, Artmed Editora, pp. 1-7.
- Bonanni, P., *et al.* (2011). An overview on the implementation of HPV vaccination in Europe. *Human Vaccines*, 7, pp.128-35.
- Boraks, S. (1999). *Diagnóstico Bucal*. São Paulo, Artes Médicas Ltda., pp. 204, 209, 210, 213.
- Bosetti, C., *et al.* (2008). Cancer mortality in the European Union, 1970-2003, with a joinpoint analysis. *Annals of Oncology*, 19 (4), pp. 631-40.
- Braakhuis, B. J.M., *et al.* (2009). Human papilloma virus in head and neck cancer: the need for a standardised assay to assess the full clinical importance. *European Journal of Cancer*, 45 (17), pp. 2935-9.
- Braakhuis, B.J.M., *et al.* (2004). Genetic Patterns in Head and Neck Cancers That Contain or Lack Transcriptionally Active Human Papillomavirus. *Journal of the Nacional Cancer Institute*, 96 (13), pp. 998-1006.
- Castellsagué, X., *et al.* (2006). Worldwide Human Papillomavirus Etiology of Cervical Adenocarcinoma and Its Cofactors: Implications for Screening and Prevention. *Journal of the National Cancer Institute*, 98 (5), pp.303-15.
- Chaturvedi, K. A., *et al.* (2008). Incidence Trends for Human Papillomavirus–Related and –Unrelated Oral Squamous Cell Carcinomas in the United States. *Journal of Clinical Oncology*, 26 (4), pp. 612-9.
- Chaudhary, A.K., *et al.* (2009). Role of human papillomavirus and its detection is potentially malignant and malignant head and neck lesions: updated review. *Head & Neck Oncology*, 1, pp. 1-12.

Chen, X., *et al.* (2008a). Combined effects of the p53 codon 72 and p73 G4C14-to-A4T14 polymorphisms on the risk of HPV16-associated oral cancer in never-smokers. *Carcinogenesis*, 29 (11), pp. 2120-5.

Chen, X., *et al.* (2008b). p73 G4C14-to-A4T14 Polymorphism and Risk of Human Papillomavirus Associated Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx in Never Smokers and Never Drinkers. *Cancer*, 113 (12), pp. 1-14.

Chung, C.H., Bagheri, A. e D'Souza, G. (2013). Epidemiology of Oral Human Papillomavirus Infection. *Oral Oncology*, 50 (5), p.364-9.

Department of Immunization Vaccines and Biologicals (2012). Report of the HPV Vaccine Delivery Meeting Identifying Needs for Implementation & Research. *The World Health Organization*, pp. 1-30.

Descamps, G., Wattiez, R. e Saussez, S. (2014). Proteomic Study of HPV-Positive Head and Neck Cancers: Preliminary Results. *BioMed Research International*, 2014, pp. 1-17.

Drake, R.L., Mitchell, A.W.M. e Vogl, W. (2005). *Gray's – Anatomia para Estudantes*. Rio de Janeiro, Elsevier

D'souza, G., *et al.* (2007). Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *The England Journal of Medicine*, 356 (19), pp. 1944-56.

Flake, C., *et al.* (2012). Screening and detection of human papillomavirus (HPV) high-risk strains HPV 16 and HPV 18 in saliva samples from subjects under 18 years old in Nevada: a pilot study. *BioMed Central Oral Health*, 12, pp.1-9.

Flint, S.J., *et al.* (2009). *Principles of Virology- Pathogenesis and Control*, 3rd ed., Estados Unidos da América, Washington DC

Gillison, M.L., *et al.* (2012). Prevalence of Oral HPV Infection in the United States, 2009-2010. *The Journal of the American Medical Association*, 307 (7), pp. 693-703.

Hansen, J.T. e Lambert, D.R. (2007). *Anatomia Clínica de Netter*. Porto Alegre, Artmed

Harper, D. M., *et al.* (2004). Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet*, 364, pp. 1757-65.

Heerden, V. (2008). Oral Manifestations of Viral Infections. *SA Pharmaceutical Journal*, Janeiro/Fevereiro, pp. 22-7.

Heng, B., *et al.* (2009). Human papilloma virus is associated with breast cancer. *British Journal of Cancer*, 101, pp. 1345-50.

Hocking, J. S., *et al.* (2011). Head and neck cancer in Australia between 1982 and 2005 show increasing incidence of potentially HPV-associated oropharyngeal cancers. *British Journal of Cancer*, 104 (5), pp.886-91.

Hoefling, N. L., *et al.* (2013). Human papillomavirus, p16, and epidermal growth factor receptor biomarkers and CT perfusion values in head and neck squamous cell carcinoma. *American Journal of Neuroradiology*, 34, pp. 1062-6.

Husman, A. M. R., *et al.* (1995). The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3'ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *Journal of General Virology*, 76, pp. 1057-62.

Kim, K. Y., Zhang, X. e Cha, I. H. (2014). Identification of human papillomavirus status specific biomarker in head and neck cancer. *Head & Neck*, pp.1-9.

Kindt, T. J., Goldsby, R. A. e Osborne, B. A. (2008). *Imunologia de Kuby*.6ª edição, São Paulo, Artmed

Kreimer, A. R., *et al.* (2005). Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 14, pp. 467-75.

Laskaris, G. (2004). *Atlas Colorido de Doenças da Boca*. São Paulo, Artmed

Li, G., *et al.* (2004). Association of a p73 exon 2 G4C14-to-A4T14 polymorphism with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*, 25 (10), pp. 1911-6.

Maniakas, A., *et al.* (2014). North-American survey on HPV-DNA and p16 testing for head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*, 50 (10), pp. 942-6.

Mccullough, M. J. e Savage, N. W. (2005). Oral viral infections and the therapeutic use of antiviral agents in dentistry. *Australian Dental Journal Supplement*, 50 (4), pp. 31-5.

Mehanna, H., *et al.* (2013). Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal and nonoropharyngeal head and neck cancer--systematic review and meta-analysis of trends by time and region. *Head & Neck*, 35, pp. 747-55.

Migaldi, M., *et al.* (2012). Low prevalence of human papillomavirus infection in the healthy oral mucosa of a Northern Italian population. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 41, pp. 16-20.

Mirghani, H., *et al.* (2014). Treatment de-escalation in HPV-positive oropharyngeal carcinoma: Ongoing trials, critical issues and perspectives. *International Journal of Cancer*, pp. 1-10.

Molijn, A., *et al.* (2005). Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *Journal of Clinical Virology*, 32 (1), pp. 43-51.

Morbini, P., *et al.* (2013). Oral HPV infection and persistence in patients with head and neck cancer. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology and Oral Radiology*, 116 (4), pp. 474-84.

Morris, L. G., *et al.* (2011). Second primary cancers after an index head and neck cancer: subsite-specific trends in the era of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 29 (6), pp. 739-46.

Nakagawa, J. T. T., Schirmer, J. e Barbier, M. (2010). Vírus HPV e câncer de colo do útero. *Revista Brasileira Enfermagem*, 63 (2), p. 307-11.

Nasman, A., *et al.* (2009). Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma?. *Internacional Journal of Cancer*, 125, pp. 362-6.

Oriel, J. D. (1971). Natural history of genital warts. *British Journal of Venereal Diseases*, 47 (1), pp. 1-13.

Ovchinnikov, D. A., *et al.* (2014). DNA Methylation at the Novel CpG Sites in the Promoter of MED15/PCQAP Gene as a Biomarker for Head and Neck Cancers. *Biomarker Insights*, 9, pp. 53-60.

Pereira *et al.* (2007). Vacina Contra o HPV Reunião de Consenso Nacional. *Sociedade Portuguesa de Ginecologia*, 1-19.

Preuss, S. F., *et al.* (2014). Expression of podoplanin and prognosis in oropharyngeal cancer. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, pp.1-6.

Putz, R. e Pabst, R. (2000). *Sobotta – Atlas de Anatomia Humana*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan

Rampias, T., Sasaki, C. e Psyrris, A. (2014). Molecular mechanisms of HPV induced carcinogenesis in head and neck. *Oral Oncology*, 50, pp. 356-63.

Rose, B. S., *et al.* (2011). Population-based study of competing mortality in head and neck cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 29 (26), pp. 3503-9.

Saini, R., *et al.* (2010). High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. *Virology Journal*, 7, p. 1-6.

Santos, N. S. O., Romanos, M. T. V. e Wigg, M. D. (2008). *Introdução à Virologia Humana*, 2ª Edição, Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan

Seeley, R., Stephens, T. e Tate, P. (2003). *Anatomia & Fisiologia*. Loures, LusoCiências

Shope, R. E. e Hurst, E. W. (1933). Infectious Papillomatosis of Rabbits : With a Note on the Histopathology. *Journal of Experimental Medicine*, 58 (5), pp. 607-24.

Slebos, R. J. C., *et al.* (2006). Gene Expression Differences Associated with Human Papillomavirus Status in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 12 (3), pp. 701-9.

Slots, J. (2009). Oral viral infections of adults. *Periodontology 2000*, 49, pp. 60-86.

Smith, J. F., *et al.* (2007). Antibodies from Women Immunized with Gardasil® Cross-Neutralize HPV 45 Pseudovirions. *Human Vaccines*, 3 (4), pp. 109-15.

Sociedade de Infeciologia Pediátrica e Sociedade Portuguesa de Pediatria. (2009). Recomendações para a vacinação contra a varicela. *Acta Pediátrica Portuguesa*, 40 (4) p. 185-8.

Stanley, M. (2006). Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine*, 24 (1), pp. 16-22.

Stanley, M. A. (2001). Immunobiology of papillomavirus infections. *Journal of Reproductive Immunology*, 52, pp. 45-59.

Vieira, M., *et al.* (2014). Vírus do Papiloma Humano: Aferição de prevalência na cavidade oral de um grupo de mulheres portuguesas. *XXXIV Congresso Anual da*

Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária, 10 e 11 de Outubro
Coimbra (aceite para apresentação).

Villa, L. L. e Denny, L. (2006). Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 94 (1), pp. 71-80.

Ward, M. J., *et al.* (2014). Staging and treatment of oropharyngeal cancer in the human papillomavirus era. *Head & Neck*, pp.1-12.

WHO - World Health Organization. [Em Linha]. Disponível em <
<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr27/en/>>, [Consultado em
14/09/2014].

