



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
MESTRADO ACADÊMICO EM SAÚDE DO ADULTO



**ENVOLVIMENTO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM
CARCINOMAS EPIDERMÓIDES DE CABEÇA E PESCOÇO NOS
HOSPITAIS DE CÂNCER DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.**

CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO

**São Luís - MA
2021**

CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO

**ENVOLVIMENTO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM
CARCINOMAS EPIDERMÓIDES DE CABEÇA E PESCOÇO NOS
HOSPITAIS DE CÂNCER DE SÃO LUÍS, MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

Área de Concentração: Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

Linha de Pesquisa: HPV e Câncer

Orientadora: Prof.^a Dra. Flávia Castello Branco Vidal

Coordenadora: Prof.^a Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

**São Luís - MA
2021**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Brito Santos de Aquino, Charles.

ENVOLVIMENTO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO HPV EM CARCINOMAS EPIDERMÓIDES DE CABEÇA E PESCOÇO NOS HOSPITAIS DE CÂNCER DE SÃO LUÍS, MARANHÃO / Charles Brito Santos de Aquino. - 2021.

62 f.

Orientador(a): Flávia Castello Branco Vidal.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2021.

1. Cabeça e Pescoço. 2. Câncer de Laringe. 3. HPV.
I. Castello Branco Vidal, Flávia. II. Título.

CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO

**ENVOLVIMENTO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM
CARCINOMAS EPIDERMÓIDES DE CABEÇA E PESCOÇO NOS
HOSPITAIS DE CÂNCER DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão, para a obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

A Banca Examinadora da Dissertação de Defesa de Mestrado:

Professor (a): Dr. Wallace Martins de Araújo

Professor (a): Dra. Josélia Alencar Lima

Professor (a): Dr. Marcelo Souza de Andrade

Professor (a): Dra. Flávia Castello Branco Vidal

DEDICATÓRIAS

A Deus, pelas bênçãos alcançadas diariamente nessa jornada.

À minha mãe Veralucia Brito, que sempre foi a minha maior incentivadora. Ela que sempre me deu a força pra correr atrás dos meus objetivos, me entendendo, me aconselhando e me apoiando em cada passo da minha vida, com todo amor, cuidado e dedicação. Obrigado por tudo.

Ao meu pai Civaldo Aquino, que sempre foi o meu maior exemplo de luta e de superação frente às dificuldades. A ele sou eternamente grato por cada passo firme que dei na minha vida.

Aos meus irmãos Natan Brito, Tarcísio Brito e Brenda Brito, que sempre me tiveram como referência na família, e por sempre acreditarem no meu potencial.

A todos os meus familiares, que sempre se orgulharam de mim e me fizeram ver que posso sempre ser cada vez melhor. Dedico essa conquista a todos vocês.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e ao Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão pela oportunidade e realização deste trabalho.

À minha orientadora Profa. Dra. Flavia Castello Branco Vidal, por me conceder essa oportunidade e por acreditar em mim para desenvolver esse trabalho juntamente com ela, com toda dedicação, sabedoria, paciência e confiança.

Aos Hospitais Tarquínio Lopes Filho e Aldenora Belo pelas portas abertas a este trabalho, e por confiarem no meu potencial para realizar o mesmo.

Aos Patologistas Dr. Diego Agra de Sousa, Dr. Marcos Catania, Dra. Raimunda Ribeiro da Silva e Dr. Guilherme Alencar Medeiros pelo apoio e disposição em ajudar na seleção de dados deste trabalho.

Aos Laboratórios de Patologia dos Hospitais Tarquínio Lopes e Aldenora Belo pela disponibilização das amostras, bem como toda a equipe envolvida que me ajudou na coleta dos materiais.

À Dra. Graça Reis Lopes, que foi a minha primeira incentivadora para o ingresso nesse trabalho, sempre me dando apoio e motivação.

À Marineide Sodré, que me abriu o caminho e me incentivou para que eu pudesse chegar ao seletivo do mestrado e conseqüentemente está hoje finalizando este trabalho.

À Claudiene Diniz, pelos conselhos, dicas e por todas as vezes que disponibilizou tempo e dedicação para me ajudar a dar os primeiros passos na conquista desse mérito.

Ao Breno Bonfin e Tazia Lopes, que lá no início me deram força e motivação para acreditar que eu conseguiria.

Ao lagho José Lima Diniz, pela força que tem me oferecido para continuar o trabalho, com toda dedicação, incentivo e apoio.

Aos meus queridos amigos que sempre vibraram com as minhas conquistas e nunca me deixaram desistir dos meus sonhos, em especial Melannie Carolina, Mayana Cleo, Alessandra Cristina, Tatiana Galvão, Elio Mendes, Sirlan Priscila, Bruno Michel, José Carlos, David Hans, Darliana Martins e Ramon Marques.

Ao meu colega Farmacêutico Leandro Serra, que sempre esteve do meu lado no trabalho me dando apoio, parceria e compreensão nas horas mais necessárias.

À toda a equipe do Centro de Oncologia Médica, hoje minha segunda casa, pelo apoio e compreensão durante toda essa jornada.

À minha mãe Veralucia Brito e o meu pai Civaldo Aquino, por serem os meus maiores exemplos e por sempre estarem do meu lado, vibrando nas minhas vitórias e me aconselhando nos meus fracassos.

À Rosimary Pereira, por todo o apoio em casa, seja nos momentos mais fáceis como os mais difíceis durante essa jornada.

Aos meus amigos de modo geral, muito obrigado pelo apoio.

A todos que de alguma forma me ajudaram a construir todo esse trabalho.

“A verdadeira motivação vem da realização, desenvolvimento pessoal, satisfação no trabalho e reconhecimento.”

(Frederick Herzberg)

RESUMO

Os tumores de cabeça e pescoço são neoplasias malignas que mostram alta prevalência e incidência no Brasil, tornando-o o terceiro país com maior número de casos. Os principais fatores de risco são o tabagismo e o etilismo, porém, os números de casos relacionados ao papilomavírus humano (HPV) vem crescendo, mostrando que existe uma mudança no perfil da doença. O HPV infecta células basais do epitélio causando proliferações benignas ou malignas, dependendo do tipo viral. O objetivo desse estudo foi avaliar a prevalência do DNA-HPV em amostras de Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço nos Hospitais de Câncer de São Luís, Maranhão. Estudo retrospectivo onde foram incluídos casos de tumores de cabeça e pescoço diagnosticados entre 2014 e 2019. Foi realizando o levantamento de casos e coletados os dados sociodemográficos e clínicos diretamente dos prontuários, assim como os dados histopatológicos dos laudos. O material genético foi extraído das amostras parafinadas e submetidos a técnica de PCR-Nested para detecção do HPV. Foram incluídos 128 pacientes, dos quais 93 blocos foram identificados com Cacinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço. As prevalências de câncer foram: cavidade oral (7,44%), orofaringe (15,81%) e predominância de câncer de laringe (73,12%). sendo em sua maioria pertencente ao sexo masculino (87,1%), cor/raça parda (77,4%) com preponderância de origem do interior (64,7%) e com grau de escolaridade 1º Grau Completo/Incompleto (54,8%). Além disso, o tabagismo e etilismo apresentou prevalência de 35,5% e 41,9% respectivamente. Dos 93 pacientes com material biológico analisado, 4 (4,3%) apresentaram infecção por HPV, e 89 (95,7%) não apresentaram. Dessas 4 amostras, 2 (50%) foi detectado HPV 16, e as outras 2 (50%) não foi possível identificar o tipo de HPV presente no material biológico, visto que o processo de obtenção dos tenham sido realizados para detecção de todos os tipos de HPV. Com isso, considera-se a importância da conscientização sobre os hábitos de higiene pessoal constantemente, a fim de minimizar altos índices de cânceres de Cabeça e Pescoço relacionados a infecção viral.

Palavras-chave: HPV; Câncer de Laringe; Cabeça e Pescoço.

ABSTRACT

Head and neck tumors are malignant neoplasms that show high prevalence and incidence in Brazil, making it the third country with the highest number of cases. The main risk factors are smoking and alcohol consumption, however, the number of cases related to human papillomavirus (HPV) has been increasing, showing that there is a change in the disease profile. HPV infects basal cells of the epithelium causing benign or malignant proliferations, depending on the viral type. The objective of this study was to evaluate the prevalence of DNA-HPV in samples of head and neck squamous cell carcinoma at cancer hospitals in São Luís, Maranhão. Retrospective study including cases of head and neck tumors diagnosed between 2014 and 2019. The survey of cases was carried out and the sociodemographic and clinical data were collected directly from the medical records, as well as the histopathological data of the reports. The genetic material was extracted from paraffinized samples and submitted to the PCR-Nested technique for HPV detection. 128 patients were included, of which 93 blocks were identified with Head and Neck Epidermoid Cacinoma. The prevalences of cancer were: oral cavity (7.44%), oropharynx (15.81%) and predominance of laryngeal cancer (73.12%). most of them belonging to the male gender (87.1%), color / brown race (77.4%) with a preponderance of origin from the interior (64.7%) and with a level of education 1st Degree Complete / Incomplete (54 , 8%). In addition, smoking and alcohol consumption had a prevalence of 35.5% and 41.9% respectively. Of the 93 patients with biological material analyzed, 4 (4.3%) had HPV infection, and 89 (95.7%) did not. Of these 4 samples, 2 (50%) HPV 16 was detected, and the other 2 (50%) it was not possible to identify the type of HPV present in the biological material, since the process of obtaining them has been carried out to detect all types of HPV. Thus, the importance of awareness about personal hygiene habits is constantly considered, in order to minimize high rates of head and neck cancers related to viral infection.

Keywords: HPV; Larynx cancer; Head and neck.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BTMA	Banco de Tumores e DNA do Maranhão
CCP	Câncer de Cabeça e Pescoço
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
HPV	Papilomavírus Humano
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
INCA	Instituto Nacional de Câncer
PCR	Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)
RNA	Ácido Ribonucleico
RPM	Rotações por minuto
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
CEC	Carcinoma Espinocelular

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
μL	Microlitro
mL	Mililitro
mM	Milimolar

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequências de primers utilizados para a reação de PCR Nested para a identificação do DNA do HPV em amostras de carcinomas de cabeça e pescoço. Adaptado COUTLÉE et al, 2002.....	29
Tabela 2. Características Sociodemográficas de 95 pacientes diagnosticados com Câncer de Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço em São Luís, Maranhão, 2014-2019	33
Tabela 3. Fatores de Risco e Dados Clínicos	37
Tabela 4. Avaliação de variáveis explicativas para o desenvolvimento de Câncer de Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço através de regressão multivariada em pacientes de São Luís, Maranhão, 2014 a 2019	39
Tabela 5. Análise da presença da infecção pelo HPV em 93 pacientes de CCP.....	40

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Sítios Cancer de cabeça e pescoço	19
Figura 2: Representação esquemática do genoma completo de HPV-16.....	20
Figura 3: Modelo de progressão tumoral para carcinogênese relacionada ao HPV nas tonsilas.....	23
Figura 4: Fluxograma de seleção dos pacientes diagnosticados com tumores de cabeça e pescoço em dois hospitais de referência oncológica de São Luís, Maranhão.....	32
Figura 5: Distribuição de pacientes que desenvolveram Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço do sexo feminino, estratificadas por faixa etária.	34
Figura 6: Distribuição de pacientes que desenvolveram Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço do sexo masculino, estratificados por faixa etária.....	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1. O câncer	16
2.2. Carcinoma de Cabeça e Pescoço	17
2.3. O HPV (Papilomavirus Humano)	18
2.4. A Infecção pelo HPV	20
2.5. Carcinoma de Cabeça e Pescoço HPV positivo	22
2.6. Justificativa	24
3. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo Geral	25
3.2. Objetivos Específicos	25
4. MÉTODO	26
4.1. Tipo de estudo	26
4.2. Local de Estudo	26
4.3. Obtenção dos dados dos pacientes e das amostras biológicas	26
4.4. Processamento dos tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina	27
4.5. Extração de DNA e Quantificação	27
4.6. PCR Nested	28
4.7. Sequenciamento Automático	30
4.8. Análise Estatística	30
4.9. Aspéctos Éticos	31
5. RESULTADOS	31
6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÃO	44
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença genética considerada uma das principais causas de morte no mundo. É caracterizado pelo crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo ocorrer metástase (INCA, 2015).

O câncer considerado uma doença multifatorial decorrente de fatores genéticos, ambientais ou infecciosos, isolados ou em associação, causadores de alterações citogenéticas que progridem através de uma sequência de mutações somáticas, resultando em proliferação celular descontrolada. Embora muitas pessoas estejam expostas a estes fatores, apenas uma pequena parte delas desenvolve esta doença. Além disso, tem sido cada vez maior o número de casos em indivíduos jovens e/ou sem os referidos hábitos de risco que apresentam tal enfermidade. Tais fatos sugerem que outros fatores, dentre eles os vírus, podem ter um papel na carcinogênese bucal (PEREIRA, 2018).

O Papilomavírus humano (HPV) é um vírus da família Papoviridae, gênero Papillomavirus, que apresenta tropismo por células epiteliais causando infecções na pele e nas mucosas (LETO *et al.*, 2011). O vírus tem cerca de 55nm de diâmetro e seu genoma apresenta de 7200 a 8000 pares de base com peso molecular de 5.2×10^6 daltons. É formado por um capsídeo composto por 72 capsômeros de estruturas icosaédricas, sem envelope lipoprotéico em uma única molécula circular dupla de DNA (CASTRO; BUSSOLOTI FILHO, 2006).

Atualmente, os tipos de HPV são divididos em baixo e alto risco de causarem lesões malignas. HPVs do tipo 6 e 11 são exemplos de vírus de baixo risco, encontrados geralmente em verrugas genitais ou lesões papilomatosas de laringe. Já os tipos 16 e 18 são considerados de alto risco e estão relacionados com 70% dos casos de câncer cervical e mais de 90% das lesões intraepiteliais graves (BRAGAGNOLO; ELI; HAAS, 2010). Entre os 200 tipos virais identificados, 24 já foram encontrados em lesões de cabeça e pescoço (tipos 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 31, 32, 33, 35, 45, 52, 55, 57, 58, 59, 69, 72 e 73) (SERRA, 2015; TERAÍ *et al.*, 1999).

Os tumores de cabeça e pescoço são neoplasias malignas que mostram alta prevalência e incidência no Brasil, tornando-o o terceiro país com maior número de casos (MONTENEGRO *et al.*, 2014). O número de casos novos de câncer da cavidade oral esperados para o Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, será de

11.180 casos em homens e de 4.010 em mulheres. Já o número de casos novos de câncer de laringe esperados para o Brasil, para o mesmo período será de 6.470 em homens e de 1.180 em mulheres (INCA, 2020).

Os tipos de HPV que mais contribuem para o CCP são os tipos 16, 18, 58, 33, 45, 31, 52, 35, 59, 39, 51 e 56 (FERRARO *et al.*, 2011; LI, N. *et al.*, 2011). O HPV tem papel importante na carcinogênese oral já que estudos revelam que tipos virais de alto risco são capazes de imortalizar queratinócitos orais *in vitro* (XAVIER *et al.*, 2005). A lesão provocada pelo HPV em mucosa oral nem sempre é visível de forma macroscópica (TRISTÃO *et al.*, 2012).

Diante do exposto, o escopo do presente trabalho é realizar um estudo retrospectivo de prevalência do Papilomavírus Humano como fator considerável no desenvolvimento de Carcinoma Epidermoíde de Cabeça e Pescoço na população diagnosticada com essa doença no Estado do Maranhão.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. O câncer

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo. Os diferentes tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo. Quando começam em tecidos epiteliais, como pele ou mucosas, são denominados carcinomas (INCA, 2015).

O carcinoma epidermóide, também chamado carcinoma espinocelular ou carcinoma escamoso, é um tumor maligno das células queratinizadas da epiderme e seus anexos; afeta a pele e as mucosas que apresentam epitélio escamoso estratificado e capacidade de queratinizar (MERCADILLO PÉREZ; MORENO LÓPEZ, 2013).

O câncer é uma doença genética no sentido de que o fenótipo maligno resulta de uma alteração genética que é transmitida da célula alterada para suas células filhas. Todos os dias, milhões de células se dividem no organismo adulto normal. A cada divisão celular, estamos expostos a sofrer o efeito dos inúmeros carcinógenos ambientais (WARD, 2002). Os vírus e outros agentes infecciosos causam quase 20% de todos os cânceres humanos em todo o mundo, como por exemplo, o HPV no carcinoma cervical e o vírus da hepatite B (HBV) no carcinoma hepatocelular (KIM; PIERCE; ROBINSON, 2018).

A mais recente estimativa mundial, ano 2018, aponta que ocorreram no mundo 18 milhões de casos novos de câncer (17 milhões sem contar os casos de câncer de pele não melanoma) e 9,6 milhões de óbitos (9,5 milhões excluindo os cânceres de pele não melanoma). (BRAY et al., 2019). Para o Brasil, a estimativa para cada ano do triênio 2020-2022 aponta que ocorrerão 625 mil casos novos de câncer (450 mil, excluindo os casos de câncer de pele não melanoma). (INCA, 2020)

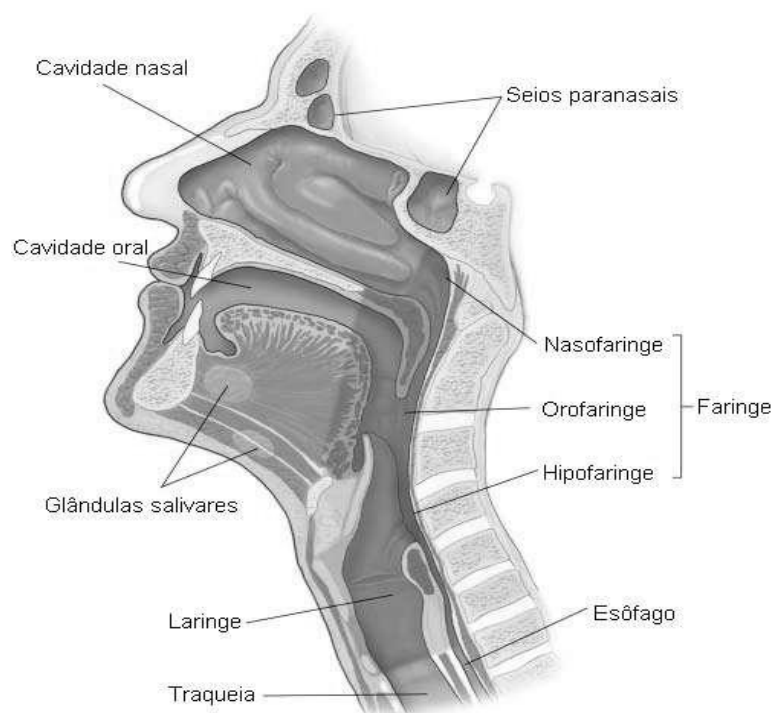
2.2. O Carcinoma de Cabeça e Pescoço

O carcinoma de cabeça e pescoço surge nas mucosas orais, nariz e garganta. É classificado conforme sua localização anatômica: cavidade oral,

orofaringe, cavidade nasal e seios paranasais, nasofaringe, laringe e hipofaringe (Figura 2) (NIH, 2020).

De acordo com Ferlay *et al.*, 2010, os tumores de cavidade oral são os mais prevalentes no Brasil, com 17,21 casos a cada 100.000 habitantes, seguido de tumores de laringe, faringe e nasofaringe. O sexo masculino, de maneira geral, é mais acometido pelos tumores de cabeça e pescoço quando comparado com o sexo feminino.

Figura 1: *Sítios câncer de cabeça e pescoço.*



Fonte:(http://www.medicinanet.com.br/conteudos/acpmedicine/4493/cancer_de_cabeca_e_pescoço.htm)

O tabagismo e o consumo de bebidas alcoólicas são os principais fatores de risco para o CCP, e a interação desses dois fatores com outras variáveis, tais como dieta e exposições ocupacionais, caracterizam padrões particulares de incidência nas populações (MARUYAMA *et al.*, 2014; KOBAYASHI *et al.*, 2018). As magnitudes dos riscos de tabaco e álcool no CCP são distintas em diferentes regiões do mundo, como também por localizações anatômicas específicas. Ainda, há variações de acordo com as condições socioeconômicas das populações, que influenciam nas atitudes comportamentais e nos estilos de vida dos indivíduos (KFOURI 2018).

Segundo o Inca (Instituto Nacional do Câncer), o Brasil registra cerca de 41 mil novos casos de câncer de cabeça e pescoço a cada ano. E um dado alarmante é o aumento da incidência dos tumores de cabeça e pescoço entre os jovens. Contabilizando, esses tumores acometiam os pacientes mais idosos, os tabagistas e os etilistas. Mas, nos últimos 20 ou 30 anos, surgiu mais um fator de risco, o vírus HPV, que tem contribuído para maior incidência em jovens. E uma das formas de contágio por essa infecção, em ambos os sexos, é a prática do sexo oral desprotegido e de relações sexuais com múltiplos parceiros. (SBOC, 2019).

Estudos descrevem que o HPV é considerado fator de risco em 25% dos casos da doença. Contudo, a significância clínica de tais infecções e suas implicações sobre prevenção e tratamento da doença não foram totalmente esclarecidas, clamando por mais estudos (GALBIATTI *et. al* 2013)

Similaridades nas características morfológicas entre as lesões orais e genitais associadas à presença do HPV sugerem que a infecção por este vírus possa representar um fator de risco adicional, em relação aos fatores tradicionais como tabaco e álcool, para o desenvolvimento de uma proporção de tumores de cabeça e pescoço.

2.3. O HPV (Papilomavirus Humano)

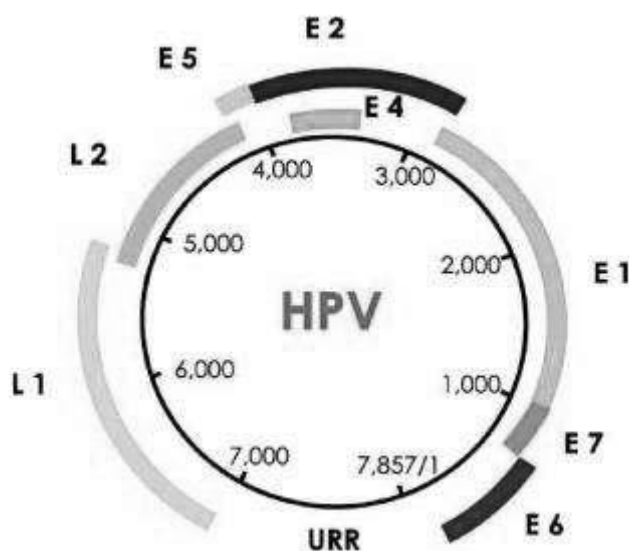
O papilomavírus humano (HPV) é um vírus não envelopado, com um capsídeo de 55 nM de diâmetro contendo uma dupla-fita de DNA com aproximadamente oito mil pares de base (EFTEKHAAR *et al.*, 2017). Os papilomavírus compreendem uma antiga família de vírus que infectam os tecidos epiteliais de anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Estes vírus têm coevoluído com seus hospedeiros naturais, não infectando de maneira interespecie (VILLIERS, DE *et al.*, 2004). Existem mais de 120 subtipos que podem associa-se frequentemente com neoplasias benignas e malignas. Em cavidade oral os HPV dos tipos 6 e 11 podem estar associados a lesões benignas orais e os tipos 16 e 18 com lesões pré-cancerígenas e carcinoma espinocelular de boca (FERRARO *et al.* 2011)

A maior parte das neoplasias malignas relacionadas ao HPV apresenta o DNA de algum tipo destes vírus de alto risco integrado ao genoma das células do hospedeiro. Os HPV de alto risco expressam os genes virais E6 e E7, que codificam

as oncoproteínas de mesmo nome, e, individualmente, são capazes de imortalizar as células infectadas pelo vírus. Várias funções são atribuídas as oncoproteínas E6 e E7, como a interação entre E6 e o supressor tumoral p53, e a degradação do supressor tumoral retinoblastoma (RB) mediada por E7 (SILVA *et al.* 2011).

De acordo com a função do genoma do HPV, o mesmo pode ser dividido em região precoce (E ou Early), região tardia (L ou Late) e região de controle (LCR ou LongControlRegion). A região precoce (E) codifica os genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7 responsáveis pela síntese das proteínas de mesmo nome, e a região tardia (L) codificam os genes L1 e L2 associado à formação e maturação do capsídeo viral. Os genes precoces (E) são expressos logo após a infecção, apresentam a função de regular a replicação e a expressão do DNA viral. Alguns destes genes precoces (E5, E6 e E7) estão relacionados com a transformação celular, naqueles casos de HPV com potencial oncogênico (SOARES,2018). (Figura 1).

Figura 21. Representação esquemática do genoma completo de HPV-16



Fonte: (MUNOZ *et al.*, 2006)

A Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou 12 tipos de HPVs como oncogênicos ou de alto risco por estarem associados com lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) ou câncer cervical, são eles os tipos: 16, 31, 33, 35, 52 e 58 (Alfa-9), 18, 39, 45 e 59 (Alfa-7), 51 (Alfa-5), 56 (Alfa-6), em que se destacam os HPVs 16 e 18, responsáveis por cerca de 70% do total de casos deste tipo de câncer. Os tipos 53, 66 e 68 entre outros são provavelmente

carcinogênicos, enquanto os tipos 6,11, 40, 42, 43, 44 e 55 estão associados ao baixo risco de lesões e comumente relacionados aos condilomas acuminados, condilomas planos ou lesões intraepiteliais de baixo grau (LSIL), conhecidas como neoplasias intraepiteliais cervicais grau 1 (SCHIFFMAN, M. *et al.*, 2016; SELLORS; SANKARANARAYANAN, 2003).

Apesar do aprimoramento das técnicas de detecção do HPV nas lesões de mucosa oral, o seu envolvimento direto com os carcinomas orais ainda não foi devidamente comprovado. Porém, considerando, a prevalência do HPV confirmada nas lesões associadas ao vírus, sua participação na carcinogênese não pode ser descartada (SOARES, 2018).

2.4. A Infecção pelo HPV

O HPV é um vírus epiteliotrópico que afeta as células epiteliais escamosas queratinizadas (pele) e não queratinizadas (mucosa oral, faringe, laringe e zonas genitais) (DOORBAR, 2005). Sua transmissão é, principalmente, por via sexual, podendo ocorrer também através de autoinoculação, já que as mãos são consideradas reservatórios da infecção tanto em homens como em mulheres (HERNANDEZ *et al.*, 2008; CHUNG; BAGHERI; D'SOUZA, 2014; RETTIG; D'SOUZA, 2015).). Estudos sugerem que o HPV também pode ser transmitido da mãe para o bebê durante o parto (IVANCIC *et al.*, 2018)

A infecção inicia nas células epiteliais da camada basal do epitélio estratificado, o qual constitui a única camada em divisão celular ativa em um epitélio normal (MÜNGER *et al.*, 2004). Modelos experimentais sugerem que a infecção requer acesso viral à membrana basal (KINES *et al.* 2009). Na epiderme e no trato anogenital, o HPV tem acesso às células basais por meio de microabrasões que ocorrem durante o contato sexual ou outro contato físico direto (ROBERTS, 2007).

O ciclo de vida viral está intrinsecamente ligado ao programa de diferenciação celular do epitélio. O HPV apresenta características únicas ao longo do processo infeccioso, principalmente pela fase produtiva do ciclo viral ser restrita ao epitélio escamoso estratificado em estágio de diferenciação terminal. Adicionalmente, este vírus tem a habilidade de retardar a indução de uma resposta imune efetiva por longos períodos (SCHILLER; DAY; KINES, R. C., 2010). A notável

incapacidade dos capsídeos de HPV de ligarem-se ou infectarem o epitélio intacto, mesmo que com apenas uma camada de espessura, pode ter sido desenvolvida para facilitar a infecção preferencial de células basais do epitélio escamoso estratificado (ROBERTS *et al.*, 2007).

A malignização das lesões ocasionadas pelo HPV depende da integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira (SNIJDERS, *et al.*, 2006). Durante esse processo, a estrutura episomal do DNA-HPV é aberta na região codificante E2 levando à deleção das regiões E4 e E5 e partes das regiões E2 e L2 (OLTHOF *et al.*, 2012). A deleção de parte da região E2 leva à superexpressão das oncoproteínas virais E6 e E7. Portanto, a infecção relevante clinicamente é aquela que apresenta expressão detectável dos oncogenes virais E6 e E7 (KAMINAGAKURA *et al.*, 2012; OLTHOF *et al.*, 2012). As proteínas E6 e E7 ocasionam a proliferação desordenada das células hospedeiras através de diferentes processos que incluem a supressão da expressão das proteínas P53 e pRB que controlam o ciclo celular (KAMINAGAKURA *et al.*, 2012; OLTHOF *et al.*, 2012).

A infecção pelo HPV pode causar diferentes patologias na epiderme e nos tratos genital, gastrointestinal e respiratório de humanos (EFTEKHAAR *et al.*, 2017). No trato genital, é considerada uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais comuns, uma vez que dois terços dos adultos jovens adquirem HPV nos dois primeiros anos de atividade sexual (HEBNER; LAIMINS, 2006). Estima-se que ao longo da vida de um adulto sexualmente ativo, a taxa de exposição ao HPV para os sítios orais ou anogenitais seja de 65 à 100% (PYTYNIA; DAHLSTROM; STURGIS, 2014).

Dentre os fatores de risco para se contrair HPV podemos citar: (1) imunossupressão (transplantados e pacientes HIV positivos); (2) homens ou mulheres com mais de dez parceiros sexuais; (3) não utilização de preservativo; (4) baixa higiene; (5) tabagismo; (6) terapia com radiação; (7) fimose; (8) bebês cujas mães possuem HPV de alto risco (CROSIGNANI *et al.*, 2013; RINTALA *et al.*, 2005).

2.5. Carcinoma de Cabeça e Pescoço HPV-positivo:

A incidência de CCP HPV-positivo tem aumentado nos últimos anos em países da América do Sul, da Europa e Estados Unidos. Frequentemente acometem indivíduos mais jovens e é uma consequência do comportamento sexual (VOKES; AGRAWAL; SEIWERT, 2015). Este aumento principalmente em sítios anatômicos como cavidade oral, orofaringe e laringe é resultado da prática de sexo oral e do número elevado parceiros, um comportamento que intensifica a chance de infecção e de desenvolvimento tumoral (LEEMANS; BRAAKHUIS; BRAKENHOFF, 2011; VOKES; AGRAWAL; SEIWERT, 2015).

Observa-se que a prevalência oral de HPV é mais elevada em indivíduos do sexo masculino, sendo que, segundo D'Souza et al. (2015), existe uma maior incidência de HPV oral em homens heterossexuais que em homens homossexuais, sustentando a hipótese que o risco de transmissão é maior através de sexo oral em mulheres que sexo oral em homens. Além disso, no estudo realizado pelos mesmos autores, verificou-se também uma incidência maior em mulheres não heterossexuais e uma incidência menor em homens homossexuais.

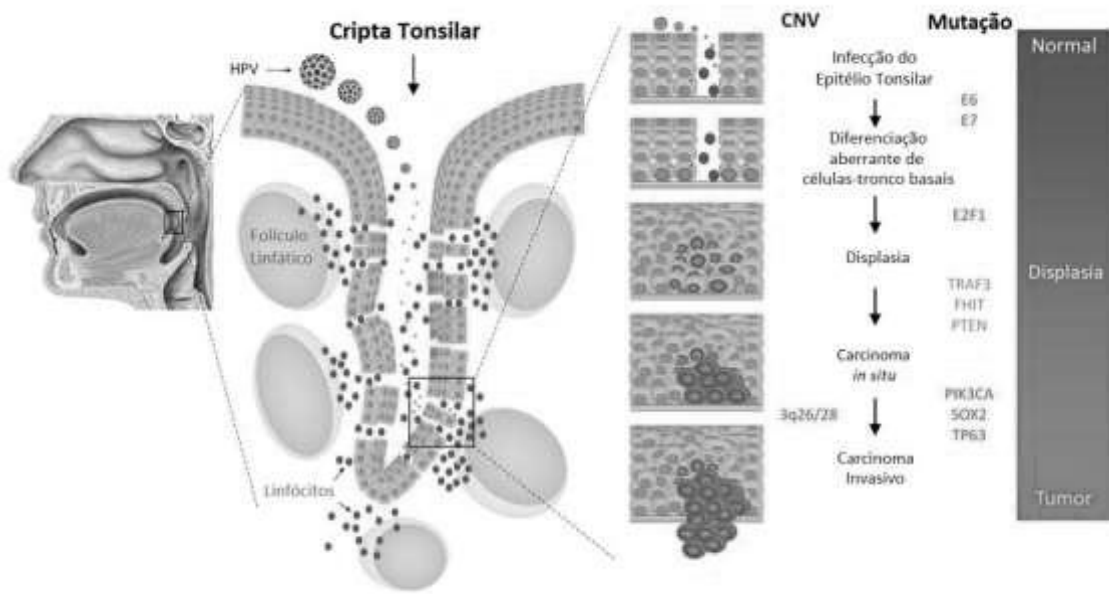
CHUNG e colaboradores (2014) relataram maior incidência de câncer orofaríngeo em parceiros de mulheres com câncer do colo do útero, comparativamente à população em geral, o que suporta a transmissão do vírus de genitais infectados por HPV de uma mulher para a cavidade oral do seu parceiro durante o sexo oral.

O número de parceiros sexuais e a idade da primeira relação sexual vaginal ou oral influenciam também na presença ou não do vírus em certos indivíduos. A prevalência da infecção é superior em indivíduos que têm a sua primeira relação sexual oral com 18 anos ou com idade inferior (GILLISON *et al.*, 2012).

Na orofaringe, a infecção por HPV pode ocorrer na ausência de abrasão epitelial. As tonsilas palatinas, linguais, tubárias e adenóides são estruturas linfóides conhecidas coletivamente como anel tonsilar de Waldeyer. Os constituintes do anel de Waldeyer possuem um epitélio escamoso reticulado especializado infiltrado com tecido linfóide. O epitélio reticulado contém uma membrana basal fenestrada e descontínua que se acredita permitir o acesso das células imunológicas aos antígenos orais (PERRY et al. 1994). Essas fenestrações também representam interrupções naturais nas barreiras epiteliais que provavelmente fornecem acesso

do HPV aos queratinócitos basais na ausência de ruptura epitelial traumática (Figura 2) (WESTRA et al. 2012).

Figura 3: Modelo de progressão tumoral para carcinogênese relacionada ao HPV nas tonsilas.



Fonte: (WESTRA et al. 2012)

Em 2005, Kreimer *et al.*, revisaram estudos publicados entre 1990 e 2004 relatando a prevalência e distribuição de genótipos de HPV por sítio anatômico em 5.046 tumores de cabeça e pescoço. Foi observada uma prevalência de HPV em 23,5% nos tumores orais, 35,6% nos tumores de orofaringe e 24% nos tumores de laringe.

O HPV-16 é muito prevalente nos carcinomas de células escamosas de orofaringe HPV-positivos. A detecção de outros tipos de HPV, porém é mais rara (BABOCI *et al.*, 2013).

Os carcinomas de orofaringe apresentam maior prevalência de HPV em relação aos outros subsítios de cabeça e pescoço. Castellsagué *et al.* (2016) observaram que 24,9% dos carcinomas de orofaringe estão relacionados com infecção por HPV e, desses, 83% por HPV 16. A preferência do vírus pela orofaringe não está bem esclarecida, mas existem indicações de que as criptas tonsilares

apresentam características que estimulam o potencial oncogênico do vírus (LEEMANS; SNIJDERS, Peter J F; BRAKENHOFF, 2018).

Estudos afirmam que o Papilomavírus Humano (HPV) também pode desempenhar um papel na etiologia do Carcinoma de células escamosas de laringe (LSCC), relatando que a prevalência de HPV no carcinoma espinocelular da laringe entre 20 % e 30% em meta-análise (QUINTERO 2013). O tipo de HPV mais isolado em tumores de laringe é o tipo 16, seguido pelo tipo 18 (KARICHE et al., 2018; DOGANTEMUR 2020).

2.6 Justificativa

Os tumores de cabeça e pescoço, incluindo carcinomas de células escamosas de cavidade oral, faringe e laringe são responsáveis por aproximadamente 550.000 dos novos casos de câncer e 300.000 mortes por ano em todo o mundo (FERLAY *et al.*, 2010). Estima-se que o número de casos novos de câncer da cavidade oral esperados para o Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, será de 11.180 casos em homens e de 4.010 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 10,69 casos novos a cada 100 mil homens, ocupando a quinta posição. Para as mulheres, corresponde a 3,71 para cada 100 mil mulheres, sendo a décima terceira mais frequente entre todos os cânceres. Já número de casos novos de câncer de laringe esperados para o Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, será de 6.470 em homens e de 1.180 em mulheres. O risco estimado será de 6,20 casos novos a cada 100 mil homens e de 1,06 casos novos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2020).

A participação do HPV na carcinogênese tem sido descrita mais detalhadamente na patogênese dos tumores do colo de útero (BETIOL, J.; VILLA, L. L.; SICHERO, 2013). No entanto, quando se trata do CCP, estudos têm mostrado que o HPV ainda não tem sua participação bem estabelecida (FERRARO *et al.*, 2011). As taxas de detecção do DNA de HPV em CCP são altamente variáveis, sendo esta notável amplitude de prevalência viral entre os estudos atribuída a fatores como: agrupamento de lesões provenientes de subsítios anatômicos distintos, pequeno número de amostras, origem etnogeográfica dos indivíduos analisados e diferenças das técnicas de conservação das amostras (congelamento, fixação em parafina ou raspado oral) (BETIOL, J.; VILLA, L. L.; SICHERO, 2013).

Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer da cavidade oral em homens é o quinto mais frequente na Região Nordeste e o décimo entre as mulheres. No Maranhão, é o sexto mais prevalente entre homens. As estimativas para o ano de 2020 para novos casos de tumores de cavidade oral e laringe em homens é de 100 e 80 casos, respectivamente (INCA, 2020).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a prevalência do DNA-HPV em amostras de Câncer de Cabeça e Pescoço nos Hospitais de Câncer de São Luís, Maranhão.

3.2. Objetivos Específicos

- Levantamento do número de casos diagnosticados com Carcinoma Epidermóide de cabeça e pescoço nos Hospitais de Tratamento de Câncer de São Luís, Maranhão, nos últimos 6 anos;
- Caracterizar o perfil sócio demográfico e clínico-patológico dos pacientes
- Identificar e avaliar o tipo de DNA-HPV nas amostras

4. MÉTODOS

4.1. Tipo de estudo

Foi realizado um estudo transversal retrospectivo em amostras de pacientes que desenvolveram Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço nos períodos de 2014 a 2019.

4.2. Local de Estudo

As amostras, os prontuários, os laudos histopatológicos e as lâminas foram oriundas de dois Hospitais de referência em Oncologia de São Luís, Maranhão.

O processamento molecular das amostras foi realizado no Laboratório de Pesquisa Multiusuário do Biobanco de Tumores do Maranhão da Universidade Federal do Maranhão.

4.3. Obtenção dos dados dos pacientes e das amostras biológicas

Inicialmente foram selecionadas amostras de Carcinoma Epidermóide de Cabeça e pescoço nos períodos de janeiro de 2014 a dezembro de 2019 de acordo com os registros de prontuários dos pacientes diagnosticados e tratados em dois hospitais de referência em Oncologia do Maranhão. Segundo as instituições detentoras das amostras biológicas, um intervalo de tempo maior para seleção e coleta dessas amostras poderia comprometer a qualidade dos resultados esperados, devido o material sofrer perda de qualidade pelo tempo armazenado.

A partir desses registros, foi realizada a busca dos prontuários e posteriormente, a busca pelos blocos contendo o material biológico de cada paciente.

Como critério de inclusão estava o diagnóstico de câncer primário de cavidade oral, orofaringe, e laringe. Conforme a American Cancer Society (2018), a cavidade oral inclui os lábios, o revestimento interior dos lábios e bochechas (mucosa oral), os dentes, as gengivas, dois terços anteriores da língua, o assoalho da boca e o céu da boca (palato duro). Já a orofaringe inclui a parte da garganta logo atrás da boca na região da base da língua, palato mole, as amígdalas, e a parte lateral e posterior da garganta.

Critérios de exclusão: Pacientes cujos prontuários e/ou blocos de parafina contendo as amostras biológicas não fossem encontrados ou não fossem suficientes para análise laboratorial no estudo.

Os dados sociodemográficos e clínicos dos pacientes foram obtidos através do acesso ao prontuário e ao laudo histopatológico do tumor.

4.4. Processamento dos tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina

Foram utilizadas para a extração de DNA 15 seções com cerca de 5µm de espessura dos blocos contendo material de ressecção cirúrgica das peças e 20 seções de mesma espessura dos blocos contendo as biópsias. Os cortes foram armazenados em tubos de 2,0 mL a 4°C até a etapa de extração do DNA.

4.5. Extração de DNA e quantificação:

A extração de DNA das amostras biológicas emblocadas em parafina foi realizada utilizando-se o kit ReliaPrep™ FFPE gDNA da Promega (WI, EUA) de acordo com a bula do fabricante.

Brevemente, fez-se a desparafinização do material, lise do tecido através de banhos sucessivos com tampões, e digestão do tecido em proteinase K a 56 ° C por 1 hora, e depois 80 ° C por 4 horas. Adicionou-se 10 µl de RNase A diretamente ao lisado, acrescentando-se posteriormente 240 µl de etanol (95–100%). Para cada amostra processada, colocou-se uma coluna de sílica em tubos de coleta. Após sucessivas lavagens com tampões, os tubos foram transferidos para um tubo de 1,5 ml e acrescentado 50 µl de tampão de eluição à coluna. A centrifugação ocorreu a 16.000 × g por 1 minuto em temperatura ambiente.

O líquido extraído desta última centrifugação contendo o DNA foi armazenado a -30° C para posterior quantificação.

Para avaliação da concentração e qualidade do material extraído, as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro Nanovue localizado no Laboratório de Pesquisa Clínica (CEPEC) com auxílio do Professor Dr. Marcelo Magalhães Silva. A concentração foi fornecida em ng/µl e a qualidade do DNA foram verificadas a partir da leitura da razão dos comprimentos de onda 260/280nm. Quando as relações ficaram entre 1,7 e 1,9 o material foi considerado puro.

4.6 PCR-Nested

Para a identificação do DNA do HPV foi utilizada a técnica de PCR do tipo Nested, utilizando o termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Thermo Scientific, Califórnia, USA). A técnica consiste na amplificação

do DNA de interesse em dois rounds utilizando primers específicos para cada rodada (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

O primeiro round utiliza os primers PGMY 09 e 11 (Tabela 2), amplificando sequências de 450pb da região L1 do DNA viral; no segundo round são utilizados os primers GP+5 e GP+6, que amplificam sequências de 190pb da região L1 do DNA viral (VIDAL et al., 2016).

Para a reação de amplificação foi utilizado o kit GoTaq® Hot Start Polymerase (Promega). A primeira rodada da reação foi realizada utilizando-se os primers PGMY09/11 em uma solução de 50 µl contendo tampão GoTaq® Flexi 5X, 25mM de MgCl₂, 10 mM de dNTPs, 5 unidades da enzima polimerase GoTaq® Hot Start e 3 µl do DNA extraído das amostras. As etapas do ciclo da reação foram desnaturação inicial por 2 minutos a 95°C seguido por 40 ciclos de desnaturação por 40 segundos a 95°C, 40 segundos de anelamento a 55°C, 40 segundos de extensão a 72°C (COUTLÉE et al., 2002).

A segunda rodada da reação realizada com os primers GP5+/GP6+ com desnaturação inicial a 95°C por 4 minutos seguidos por 45 ciclos de desnaturação a 95°C por 45 segundos, anelamento a 40°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto (COUTLÉE et al., 2002).

Os testes foram realizados para detecção de todos os tipos de HPV.

Tabela 1. Sequências de primers utilizados para a reação de PCR Nested para a identificação do DNA do HPV em amostras de carcinomas de cabeça e pescoço. Adaptado COUTLÉE et al, 2002

Primer	Sequência 5' - 3'	
PGMY11	PGMY11-A	GCA CAG GGA CAT AAC AAT GG
	PGMY11-B	GCG CAG GGC CAT AAT AAT GG
	PGMY11-C	GCA CAG GGA CAT AAT AAT GG
	PGMY11-D	GCC CAG GGC CAC AAC AAT GG

	PGMY11-E	GCT CAG GGT TTA AAC AAT GG
PGMY09	PGMY09-F	CGT CCC AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-G	CGA CCT AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-H	CGT CCA AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-Ia	G CCA AGG GGA AAC TGA TC
	PGMY09-J	CGT CCC AAA GGA TAC TGA TC
	PGMY09-K	CGT CCA AGG GGA TAC TGA TC
	PGMY09-L	CGA CCT AAA GGG AAT TGA TC
	PGMY09-M	CGA CCT AGT GGA AAT TGA TC
	PGMY09-N	CGA CCA AGG GGA TAT TGA TC
	PGMY09-Pa	G CCC AAC GGA AAC TGA TC
	PGMY09-Q	CGA CCC AAG GGA AAC TGG TC
	PGMY09-R	CGT CCT AAA GGA AAC TGG TC
	HMB01b	GCG ACC CAA TGC AAA TTG GT
GP+5/6	GP+5	TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC
	GP+6	GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C

4.7. Sequenciamento Automático

Foi realizado o processo de purificação das amostras utilizando o kit GenElute™PCR Clean-Up (Merck, Alemanha) conforme instrução do fabricante e, posteriormente, quantificadas. O sequenciamento automatizado foi realizado pela empresa ACTGene Análises Moleculares (UFRGS) utilizando a plataforma AB 3.500 (Thermofisher). As amostras foram diluídas em uma solução de 6 µl contendo de 30-60 ng do produto de amplificação purificado, 5 picomol de primer e água bidestilada. Esse homogêneo foi aliqüotado em tubos de 0,3 ml, acondicionados em caixa de isopor contendo bloco gelados, e enviados por SEDEX para a empresa supracitada.

Para a confirmação e identificação do tipo do HPV, foi realizada a comparação das sequências nucleotídicas das amostras sequenciadas, submetidas ao Banco de Dados Mundial de Nucleotídeos – Gene Bank, utilizando o programa BLAST.

4.8 Análise estatística:

Para análise das variáveis contínuas utilizou-se o teste de Anova one-way. As variáveis discretas foram apresentadas em forma de percentil. Fez-se o uso de uma análise univariada, através do teste qui-quadrado ou exato de Fisher, comparando as proporções entre os grupos de Câncer de Cavidade Oral, Orofaringe e Laringe. As variáveis que apresentaram significância estatística $p < 0.05$ foram incluídas em um modelo de regressão logística multinomial no bloco 1, as que apresentaram significância estatística $p < 0.05$ foram inseridas no bloco 2. Para a regressão logística multinomial foi realizado previamente um teste de colinearidade para verificar a multicolinearidade entre as variáveis, respeitado este requisito iniciou-se a regressão. Para o modelo de regressão considerou-se como variável dependente/resposta de referência o câncer de laringe, para comparação com os demais tipos de câncer, devido ser o maior número de amostras coletadas. As análises foram feitas software IBM SPSS® Statistics versão 24.0.

4.9 Aspectos Éticos:

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão (CEP-UFMA), sob Parecer Consubstanciado nº 3.023.486 (ANEXO A).

5. RESULTADOS

5.1. Dados Sociodemográficos e Localização

O estudo foi composto por 128 pacientes diagnosticados com Carcinoma Epidermoide de Cavidade Oral, orofaringe e laringe. Os dados foram obtidos com

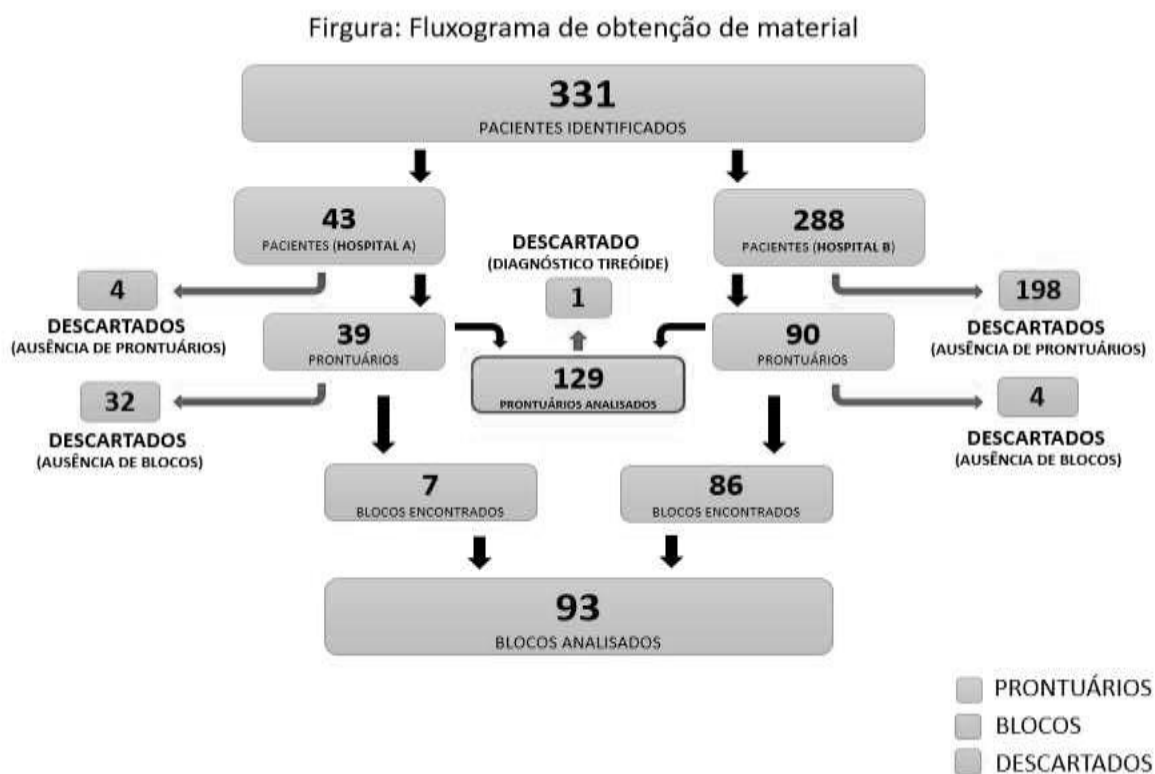
base nos prontuários desses pacientes atendidos de câncer A e B, em um estudo retrospectivo no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2019.

Foram identificados 331 pacientes diagnosticados com Carcinoma de Cabeça e Pescoço nas regiões de cavidade Oral, orofaringe e laringe, com base nos livros de registro dos hospitais, sendo que, 43 pacientes eram oriundos do Hospital A e 288 oriundos do Hospital B (Figura 4).

Dos prontuários analisados, 4 pacientes do Hospital A e 198 do Hospital B foram excluídos devido ausência de informações, do próprio prontuário, e 1 paciente foi excluído por se tratar de câncer era de tireoide. Totalizou-se ao final, 128 prontuários (Figura 4).

Dos 39 pacientes identificados no Hospital A, 32 tiveram de ser excluídos devido a ausência dos blocos para análise molecular. No Hospital B, todos os blocos foram localizados, porém 4 pacientes foram excluídos devido a ausência ou insuficiência de material biológico para análise molecular (Figura 4). Ao final, obteve-se 93 blocos para análise molecular.

Figura 4: Fluxograma de seleção dos pacientes diagnosticados com tumores de cabeça e pescoço em dois hospitais de referência oncológica de São Luís, Maranhão.



Na Tabela 2 estão apresentados os dados sociodemográficos de 128 pacientes. Os carcinomas epidermóides de laringe foram os mais prevalentes (57,81%), seguidos dos de orofaringe (21,88%) e cavidade oral (20,31%). A média de idade dos participantes foi de 63,20±10,69 anos, não apresentando significância estatística ao comparar as médias dos 3 grupos ($p=0.331$).

Os participantes pertencem, predominantemente, ao sexo masculino (82,8%) ocorrendo também isoladamente quando comparamos cada sítio. O sítio cavidade oral apresentou maior proporção de pacientes do sexo feminino ($p<0.05$) quando comparado aos outros grupos.

A raça/cor declarada parda foi a mais prevalente (60,2%) com exceção do grupo cavidade oral no qual em 57,7% dos pacientes, não constava esta informação no prontuário.

Os indivíduos eram predominantemente do interior do Estado (62,2%) com proporções semelhantes em todos os grupos. No geral, o grau de escolaridade

predominante foi 1º Grau Completo/Incompleto (40,5%). Porém, os analfabetos foram maioria nos grupos cavidade oral (92%) e orofaringe (37%).

Em relação a ocupação dos pacientes, no grupo laringe, a maioria (51,4%) declarou-se como autônomo, diferente do observado nos grupos orofaringe e cavidade oral nos quais na maioria dos prontuários, não estava informada a ocupação do indivíduo.

Tabela 2: Características Sociodemográficas de 128 pacientes diagnosticados com CCP São Luis, Maranhão.

	Total (128)	Cavidade Oral (26)	Orofaringe (28)	Laringe (74)
Idade**				
Média ± Desvio Padrão	63,20±10,69	65,30±14,29	64,35±11,41	62,02±8,78
Sexo*				
Feminino	22 (17,2%)	9 (34,6%)	4 (14,3%)	9 (12,2%)
Masculino	106 (82,8%)	17 (65,4%)	24 (85,7%)	65 (87,8%)
Cor/Raça*				
Branca	12 (9,4%)	4 (15,4%)	0 (0%)	8 (10,8%)
Parda	77 (60,2%)	5 (19,2%)	18 (64,3%)	54 (73%)
Preta	10 (7,8%)	2 (7,7%)	2 (7,1%)	6 (8,1%)
Não informado	29 (22,7%)	15 (57,7%)	8 (28,6%)	6 (8,1%)
Procedência				
Capital	49 (38,3%)	10 (38,5%)	11 (39,3%)	28 (37,8%)
Interior	79 (62,2%)	16 (61,5%)	17 (60,7%)	46 (62,2%)
Escolaridade*				
Analfabeto	49 (38,9%)	23 (92%)	10 (37%)	16 (21,6%)
1º Grau	51 (40,5%)	2 (8%)	9 (33,3%)	40 (54,1%)
Completo/Incompleto				
2º Grau	26 (20,6%)	0 (0%)	8 (41,2%)	18 (24,3%)
Completo/Incompleto				
Ocupação*				
Aposentado	38 (30,2%)	2 (8%)	7 (25,9%)	29 (39,2%)
Autônomo ¹	48 (38,1%)	1 (4%)	9 (33,3%)	38 (51,4%)
Servido Público	2 (1,6%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (2,7%)
Não Informado	38 (30,2%)	22 (88%)	11 (40,7%)	5 (6,8%)

¹Lavrador, comerciante, feirante, pescador, pedreiro e vigia.

Dados apresentados em proporção. Utilizou-se o teste Qui-quadrado ou Exato de Fisher para comparação entre os grupos. Adotou-se um nível de confiabilidade de 95%. *p-valor<0.05, **Teste de comparação de média realizado pela Anova One-Way (p=0.331, F=1,117).

Abaixo são apresentados os dados em formato de gráfico (Figuras 1 e 2), estratificados por sexo e idade dos pacientes.

Figura 5. Distribuição de pacientes que desenvolveram Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço do **sexo feminino**, estratificadas por faixa etária.

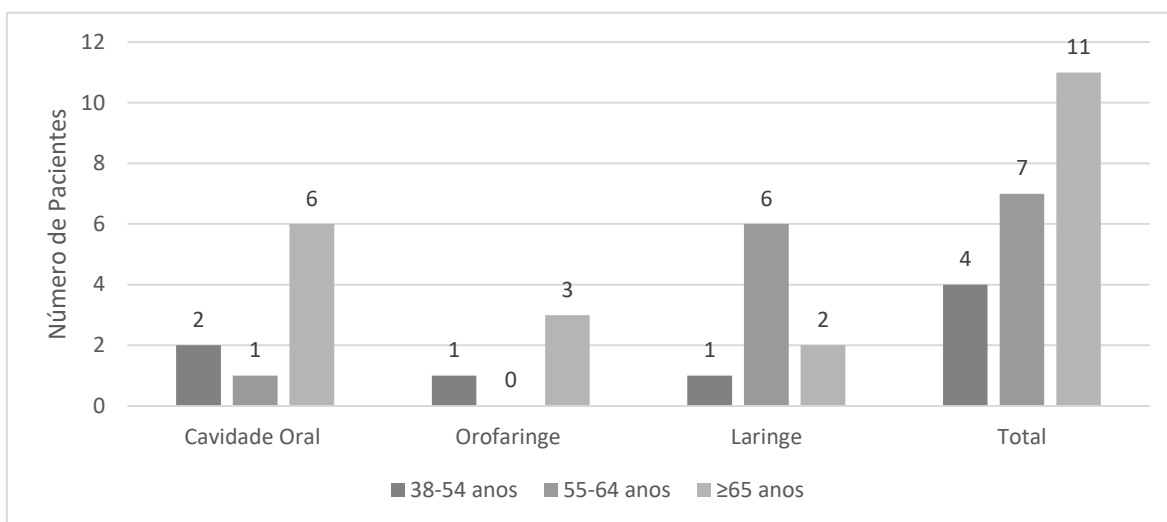
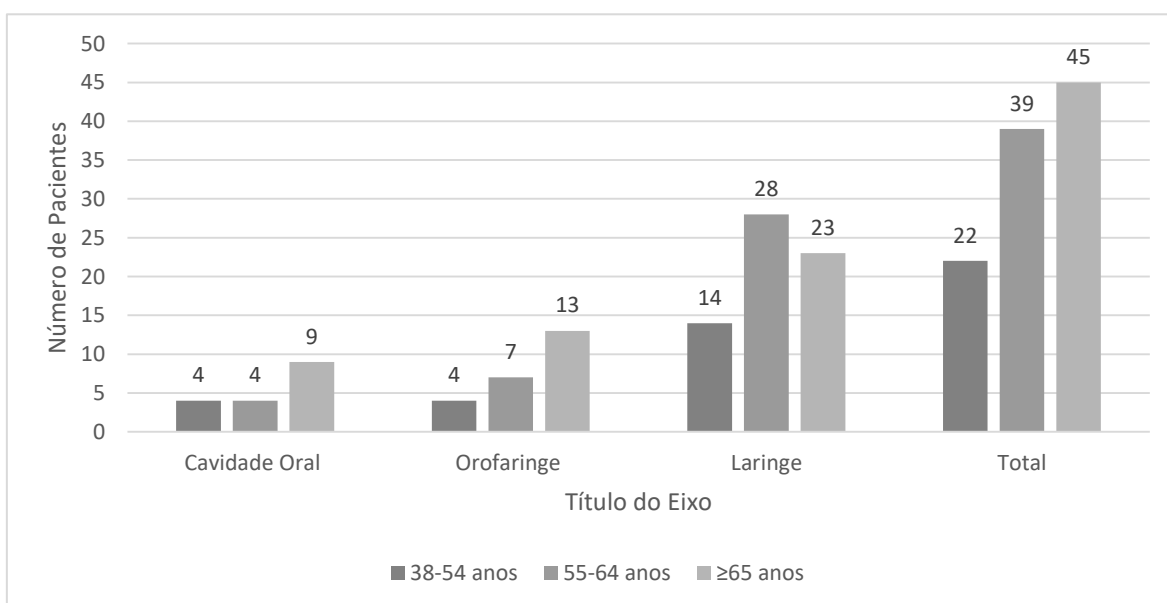


Figura 6. Distribuição de pacientes que desenvolveram Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço do **sexo masculino**, estratificados por faixa etária.



Observa-se no geral que tanto em mulheres como em homens, a prevalência destes tumores aumenta com a idade (≥ 65 anos). A exceção foi o grupo laringe que tanto em homens como em mulheres apresentou maior prevalência na faixa etária entre 55-64 anos.

5.2. Fatores de Risco e Dados Clínicos

Dentre os fatores de risco analisados, o tabagismo e etilismo apresentaram prevalência de 36,7% e 35,9%, respectivamente. Os grupos apresentaram semelhança entre si (Tabela 3).

Com base nos dados clínicos analisados nos prontuários dos pacientes, realizou-se análise de estadiamento para descrição dos tumores, invasão linfonodal e metástases evidenciadas com base na classificação TNM. O estadiamento clínico é feito pelo American Joint Committee on Cancer (AJCC), 8ª edição (2017).

A classificação T fornece informações sobre as dimensões do tumor:

Dimensões do tumor primário:

Tx - Indeterminada

T0 – Não evidente

T1 - ≤ 2 cm

T2 - 2-4 cm

T3 - ≥ 4 cm

T4 – Invasão de estruturas adjacentes

As informações acerca do estadiamento T da doença não foram encontradas na maioria dos prontuários (55,5%) dos pacientes. Dentre os avaliados, o estadiamento T4 foi mais prevalente no geral (14,8%). Quando observamos os grupos separadamente, no grupo orofaringe, T4 também foi maioria (17,6%), diferente do observado em laringe onde predominou-se T3 e cavidade oral em que foi observado a mesma prevalência para estadiamento T2 e T4.

O estadiamento linfonodal (N) descreve se o câncer comprometeu os linfonodos vizinhos.

Envolvimento linfonodal:

Nx - Indeterminado

N0 – Não palpável

N1 – Nódulo ipsilateral único ≤ 3 cm

N2a – Nódulo ipsilateral único 3-6 cm

N2b – Múltiplos nódulos ipsilaterais ≤ 6 cm

N2c – Nódulos bilaterais ou contralaterais ≤ 6 cm

N3 – Qualquer nódulo que seja ≥ 6 cm

Assim como o estadiamento T, para o estadiamento N não foram encontradas informações na maioria dos prontuários (55,5%) dos pacientes. No geral, o estadiamento N0 foi o mais prevalente (21,9%). Quando observamos os grupos, os tumores de laringe também apresentaram em sua maioria classificação N0 (32,4%). No grupo orofaringe foi observada prevalência de tumores em estadiamento N2 (14,3%). Já em cavidade oral, observaram-se tumores tanto em Nx como N0 (3,8%).

A classificação M descreve se o câncer se espalhou causando metástase (invasão do tumor para outros tecidos e órgãos).

Metástases à distância:

M0 - Nenhuma

M1 – Metástases à distância

Mx – não identificada

As informações acerca da presença ou não de metástase também não estavam presentes na maioria dos prontuários (57,8%). Tanto nos grupo orofaringe quanto laringe, não havia metástase (M0) em 28,6% e 54,1% dos casos, respectivamente.

	TOTAL (128)	Cavidade Oral (26)	Orofaringe (28)	Laringe (74)
Tabagismo				
Sim	47 (36,7%)	10 (38,5%)	14 (50%)	23
Não	81 (63,3%)	16 (61,5%)	14 (50%)	(31,1%)
				51
				(68,9%)
Etilismo				
Sim	46 (35,9%)	5 (80,8%)	11 (39,3%)	30
Não	82 (64,1%)	21 (19,2%)	17 (60,7%)	(40,5%)
				44
				(59,5%)
Estadiamento T*				
T1	11 (8,6%)	0 (0%)	0 (0%)	11
T2	10 (7,8%)	1 (3,8%)	0 (0%)	(14,9%)
T3	17 (13,3%)	0 (0%)	4 (14,3%)	9 (12,2%)
T4	19 (14,8%)	1 (3,8%)	6 (21,4%)	13
Não Identificado	71 (55,5%)	24 (92,3%)	18 (64,3%)	(17,6%)
				12
				(16,2%)
				29
				(39,2%)
Estadiamento N*				
Nx	2 (1,6%)	1 (3,8%)	0 (0%)	1 (1,4%)
No	28 (21,9%)	1 (3,8%)	3 (10,7%)	24
N1	12 (9,4%)	0 (0%)	2 (7,1%)	(32,4%)
N2	12 (9,4%)	0 (0%)	4 (14,3%)	10
N3	3 (2,3%)	0 (0%)	1 (3,6%)	(13,5%)
Não Identificado	71 (55,5%)	24 (92,3%)	18 (64,3%)	8 (10,8%)
				2 (2,7%)
				29
				(39,2%)
Estadiamento M*				
M0	48 (37,5%)	0 (0%)	8 (28,6%)	40
M1	1 (0,8%)	0 (0%)	0 (0%)	(54,1%)
Mx	5 (3,9%)	1 (3,8%)	0 (0%)	1 (1,4%)
Não Identificado	74 (57,8%)	25 (96,2%)	20 (71,4%)	4 (5,4%)
				29
				(39,2%)

Dados apresentados em proporção. Utilizou-se o teste Qui-quadrado ou Exato de Fisher para comparação entre os grupos. Adotou-se um nível de confiabilidade de 95%. *p-valor<0.05, **Teste de comparação de média realizado pela Anova One-Way (p=0.331, F=1,117).

A análise estatística inicial univariada feita através do teste do Qui-quadrado ou Exato de Fisher, demonstrou que o sexo, cor/raça, escolaridade, ocupação, estadiamento N, estadiamento T e estadiamento M poderiam ser incluídos como variáveis predictoras no modelo de regressão, tendo em vista apresentar significância estatística ($p < 0.05$). Desta forma, foi aplicado para estas variáveis, um modelo de regressão logística multinomial composto pela variável dependente contendo três categorias (Câncer de Cavidade Oral, Câncer de Orofaringe e Câncer de Laringe), o câncer de laringe foi considerada a categoria de referência para o modelo.

Através do modelo de regressão verificou-se que nenhuma das variáveis manteve-se predictor dos tipos de câncer pesquisado neste estudo, através da análise do Odds-Ratio ($p > 0.05$ pelo teste de Wald), por outro lado, no teste de razão de verossimilhança, a escolaridade [Log da Verossimilhança=64,251; X^2 (4 graus de liberdade) =11,624; $p < 0.02$] e ocupação [Log da Verossimilhança=74,704; X^2 (6 graus de liberdade) =22,077; $p = 0,001$] demonstraram serem variáveis que podem contribuir para o modelo de regressão. Logo, tais variáveis foram incluídas na análise de regressão logística multinomial.

Desse modo, com a aplicação deste modelo de regressão, verificou-se que ao comparar o grupo que possui câncer de Cavidade Oral com o grupo com câncer de Laringe, a escolaridade não influenciou ($p = 0,996$). Já com relação a ocupação, a chance da pessoa que está aposentada pertencer a categoria de câncer de cavidade oral é 96% (IC95% 0,005-0,335; $p = 0,003$). Dessa forma, a chance de uma pessoa autônoma desenvolver câncer de cavidade oral é 0,015 ($p = 0,001$).

No que concerne ao grupo de câncer de orofaringe, a comparação entre esse grupo e o de referência, câncer de laringe, demonstrou que a escolaridade também não influencia na predição da categoria de câncer. Quanto a ocupação, as pessoas aposentadas possuem 97,7% (IC95% 0,002-0,273; $p = 0,003$) mais chance de desenvolver câncer de orofaringe do que as pessoas que não possuem identificação. E de forma semelhante, as pessoas autônomas também possuem 97,7% (IC95% 0,002-0,261; $p = 0,002$) mais chance de desenvolver câncer de orofaringe do que as pessoas que não possuem identificação.

Os dados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 4. Avaliação de variáveis explicativas para o desenvolvimento de Câncer de Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço através de regressão multivariada em pacientes de São Luís, Maranhão, 2014 a 2019.

Câncer de Cabeça e Pescoço				
Cavidade Oral				
Variáveis	Odds ratio	IC (95%)	Wald	P-valor
Escolaridade				
Analfabeto	0,000	0,000	0,000	0,996
1° Grau	0,000	0,000	0,000	0,997
2° Grau	*	*	*	*
Ocupação				
Aposentado	0,040	0,005-0,335	1,341	0,003
Autônomo	0,015	0,001-0,190	1,149	0,001
Servidor Público	0,000	—	0,000	—
Não Identificado	*	*	*	*
Orofaringe				
Variáveis	Odds ratio	IC (95%)	Wald	P-valor
Escolaridade				
Analfabeto	0,097	0,009-1,069	3,630	0,057
1° Grau	0,410	0,131-1,284	2,343	0,126
2° Grau	*	*	*	*
Ocupação				
Aposentado	0,023	0,002-0,273	8,978	0,003
Autônomo	0,023	0,002-0,261	9,270	0,002
Servidor Público	0,000	-	0,000	—

Não Identificado * * * *

IC: Intervalo de Confiança 95%

Análise realizada com o método de Regressão Logística Multinomial e Odds-Ratio (IC: 95%), sendo considerado estatisticamente significativo os valores de $p \leq 0,05$. Categoria de Referência do Modelo de Regressão: Câncer de Laringe. *Categorias de Referência das Variáveis Explicativas.

5.3. Presença do DNA-HPV:

Foram analisados os blocos contendo o material biológico de 93 pacientes, 8 (7,44%) portadores de CA de cavidade oral, 17 (15,81%) de CA de orofaringe (15,81%) e 68 (73,12%) com CA de laringe. Conforme demonstra a tabela 4, a infecção pelo HPV foi observada em 4 amostras de tumores de laringe (5,9%). As demais 89 amostras (95,7%) não apresentaram presença de HPV na análise. Tanto as amostras de cavidade oral quanto as amostras de orofaringe não tiveram detecção de DNA viral (Tabela 4).

Foi realizada a genotipagem de duas das quatro amostras positivas para DNA-HPV. Dentre as 4 amostras HPV-positivo detectadas, 2 amostras estavam infectadas pelo tipo 16 de HPV, de alto risco oncogênico. Com relação às outras 2 amostras, não foi conseguido identificar o tipo de HPV presente.

Tabela 5. Análise da presença da infecção pelo HPV em 93 pacientes de CCP.

	Cavidade Oral 8 (7,44%)	Orofaringe 17 (15,81%)	Laringe 68 (73,12%)	TOTAL N= 93
HPV				
SIM	0	0	4 (5,9%)	4 (4,3%)
NÃO	8 (100%)	17 (100%)	64 (94,1%)	89 (95,7%)
TIPO VIRAL				
HPV 16	-	-	2 (50%)	-
INDETERMINADO	-	-	2 (50%)	-

6. DISCUSSÃO

O câncer de cabeça e pescoço é considerado a sexta neoplasia mais prevalente no mundo, com mais de seiscentos mil novos casos diagnosticados a

cada ano, e a quinta mais prevalente no Brasil, com mais de mil e quinhentas pessoas acometidas anualmente, tornando-se responsável, mundialmente, por quatro por cento da mortalidade por câncer (GIACOMINI, 2018).

O Brasil é o terceiro país com maior número de casos. Por ano, são mais de 14 mil notificações e, nos últimos 30 anos, a taxa de mortalidade corresponde a 5% no país (MONTENEGRO; VELOSO; ALMEIDA, P. Â. S. M. DE, 2014).

No presente estudo, evidenciou-se que, dentre os tumores de cabeça e pescoço avaliados, houve prevalência de indivíduos do sexo masculino (81,14%), característica observada em muitos estudos (DENG et al., 2012; DRIESSEN et al., 2015; KARICHE et al., 2018; KOBAYASHI et al., 2018).

Os carcinomas epidermóides de laringe foram os mais prevalentes (57,81%), seguidos dos de orofaringe (21,88%) e cavidade oral (20,31%). Estudos epidemiológicos indicam a ocorrência de 40% dos cânceres de cabeça e pescoço na cavidade oral (DOBROSSY 2005). Este achado parece refletir os hábitos tabagista e etilista dos pacientes, podendo aumentar de duas a três vezes o risco desta doença na cavidade oral. (IAMARROM et. Al 2004)

A média de idade dos nossos pacientes foi de 63,2 anos. Este resultado corrobora com outros estudos que observam já esperados para pacientes diagnosticados com essa faixa etária (OLIVEIRA., 2015).

Os pacientes eram em sua maioria pardos, do interior do estado e com baixa escolaridade, no máximo 8 anos de estudo (fundamental completo). Entre as ocupações informadas, a maioria era autônomo (34,45%). Em relação ao grau de escolaridade, estudos apontam que (39%) apresentavam pouca ou (28%) nenhuma escolarização, dados equivalentes aos da literatura que evidenciam um grande número de analfabetos. (MACHADO 2009)

O presente estudo aponta que 62,2% dos dados analisados são de pacientes provenientes do interior do estado, em relação a 38,3% residentes na capital. Com base na literatura, 60% sessenta por cento dos pacientes têm procedência de áreas rurais, compatível com outros perfis traçados, o que, segundo Reis, Lima e Marchionni et al 1997, pode estar relacionado com hábitos regionalizados, como o uso de fumo, hábito de mascar o tabaco, etilismo e trabalho agropecuário e de pesca sem proteção à radiação UV; reconhecidos como fatores de risco ao câncer.

Quando avaliamos os fatores de risco, observa-se que 36,7% dos indivíduos eram fumantes, bem 35,9% tinham o hábito de consumo alcóolico. Estes resultados estão distintos aos observados na literatura que indica o etilismo e o alcoolismo como os principais fatores de risco para esses tumores (KFOURI, 2018)

O desenvolvimento desses tumores, com base no estadiamento evidenciou uma expressão significativa de crescimento tumoral nível T3 e T4, que corresponde a um nível elevado no tamanho do tumor. DRIESSEN et al., (2015) observaram resultado semelhante em tumores de orofaringe onde a maior parte registrou crescimento tumoral T4. O mesmo foi visto por van Kempen e colaboradores (2015) com 40% dos tumores de orofaringe em estadiamento T4. No entanto, Maruyama e colaboradores (2018) observou em uma população japonesa que a maioria dos CCP era estadiamento T1-T2.

Em relação a invasão linfonodal, observou-se que na maior parte dos casos, a doença não se disseminou para os linfonodos regionais (N0). Diferente do observado por alguns estudos que avaliaram na maioria dos casos, positividade de invasão em linfonodos (Deng et al., 2012). Quando avaliamos os sítios separadamente, os casos de orofaringe deste estudo demonstram a maioria em estadiamento N2, também observado por van Kempen e colaboradores (2015).

Os resultados do estudo relataram que na maioria dos casos não havia presença de metástases (M0). A literatura mostra frequência elevada de câncer de cabeça e pescoço em estágio avançado (HERCHENHORN 2004), o que está de acordo com os nossos resultados.

A prevalência do HPV em carcinomas de cabeça e pescoço vem sendo documentado em diversos estudos (GILLISON et al., 2000; ANG et al., 2012; VAN KEMPEN et al., 2015). Gillison e colaboradores (2000) detectaram o DNA do HPV em 25% dos 253 casos de CCP. O tipo 16, de alto risco oncogênico, estava presente em 90% das amostras. Uma meta-análise englobando 60 estudos de 26 países com 5.046 amostras de tumores de cabeça e pescoço relatou que a prevalência do HPV variou entre 20 a 30% (KREIMER et al., 2005). Outra meta-análise mais recente incluindo 148 trabalhos totalizando 12163 casos de CCP de 44 países observou positividade para HPV DNA em 3837 casos (31,54%). O HPV16 estava presente em 82,2% das amostras (Ndiaye et al., 2014). Deng e colaboradores (2012) observaram prevalência de 29,3% em CCP sendo 87% positivos para o tipo 16. van

Kempen e colaboradores (2015) determinaram uma prevalência de DNA-HPV em 21% de 383 amostras de CCP.

Os resultados do presente trabalho foram obtidos com base em 93 amostras biológicas de material biológico emblocado em parafinada proveniente de casos de CCP. A taxa de infecção foi menor do que a encontrada na literatura, somente 4,3%. O HPV 16 foi detectado em 50% das amostras.

Quando avaliados separadamente os sítios de cabeça e pescoço, os estudos relatam prevalências distintas da infecção pelo HPV. Parkin e colaboradores (2006) observaram a presença do HPV em 3% das amostras de câncer de cavidade oral e 30% em orofaringe. Castellsagué e colaboradores (2016) observaram taxas de infecção pelo HPV em 22,4%, 4,4% e 3,5% dos tumores de orofaringe, cavidade oral e laringe, respectivamente.

A orofaringe é a região apontada como um dos principais sítios de infecção pelo HPV nos tumores de cabeça e pescoço (Deng et al., 2012; Maruyama et al., 2014). Maruyama e colaboradores (2014) avaliaram 493 CCP e observaram que em carcinomas de orofaringe a infecção pelo HPV era mais frequente do que nos outros sítios (34.4% vs 3.6%, $P < 0.001$). O HPV16 esteve presente em 91,1% das amostras HPV-positivas.

Apesar destes achados na literatura, em no nosso estudo, nenhum dos 17 casos de tumores de orofaringe mostrou-se positivo para HPV. Todas as amostras positivas eram provenientes de carcinomas epidermóides de laringe.

Um estudo recente realizado por Kariche e colaboradores (2018) avaliou 58 amostras de carcinomas epidermóides de laringe e observou uma taxa de infecção por HPV de 2,38%. Maruyama e colaboradores (2014) observaram que 3,9% dos carcinomas de laringe apresentavam o DNA-HPV. Castellsagué e colaboradores (2016) observaram que 3,5% dos tumores de laringe tinham DNA-HPV. No nosso estudo, das 68 amostras de carcinoma de laringe, 4 (5,9%) foram positivas, se aproximando, portanto, dos achados da literatura. O HPV 16 estava presente em 50% das amostras.

No sítio cavidade oral, não foi observado neste estudo a presença do DNA-HPV, o mesmo foi visto por Maruyama e colaboradores (2014) que não encontram HPV em amostras de tumores de cavidade oral. Castellsagué e colaboradores

(2016), no entanto, observaram taxa de infecção pelo HPV em cavidade oral de 4,4%.

De acordo com os estudos sobre a prevalência do DNA-HPV em amostras de CCP, os resultados de infecção variam devido aos diferentes sítios tumorais estudados, preparo do espécime e método utilizado na análise (Deng et al., 2012).

7. CONCLUSÃO

Este estudo confirma a maior prevalência de carcinomas epidermóides de laringe com 74 amostras (57,81%), seguidos de orofaringe com 28 amostras (21,88%) e cavidade oral com 26 amostras (20,31%), de acordo com as amostras analisadas nos dois Hospitais de Câncer de São Luis, Maranhão.

7.1 Levantamento do número de casos de CCP nos Hospitais de Tratamento de Câncer de São Luís, Maranhão, nos últimos 6 anos

Foram identificados 331 pacientes dos hospitais A e B para tratamento de Câncer no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2019, sendo que 202 pacientes foram excluídos devido ausência de informações do próprio prontuário, e 1 paciente foi excluído por se tratar de câncer de tireoide, totalizando 128 pacientes prontuários analisados. Dos 128 prontuários analisados, 35 tiveram que ser excluídos devido ausência dos blocos para análise molecular, ficando então 93 blocos com amostra biológica analisados.

7.2 Perfil sócio-demográfico e clínico-patológico dos pacientes

A média de idade dos participantes foi de $63,20 \pm 10,69$ anos, predominantemente, ao sexo masculino (82,8%) com raça/cor declarada parda foi a mais prevalente (60,2%), com exceção do grupo cavidade oral no qual em 57,7% dos pacientes. Os indivíduos eram predominantemente do interior do Estado (62,2%) com grau de escolaridade predominante foi 1º Grau Completo/Incompleto (40,5%), no geral. Em relação a ocupação dos pacientes, no grupo laringe, a maioria (51,4%) declarou-se como autônomo, diferente do observado nos grupos orofaringe e cavidade oral nos quais na maioria dos prontuários, não estava informada a ocupação do indivíduo. Observa-se no geral que tanto em mulheres como em homens, a prevalência destes tumores aumenta com a idade (≥ 65 anos).

Com base nos dados clínicos analisados nos prontuários dos pacientes, realizou-se análise de estadiamento para descrição dos tumores, invasão linfonodal e metástases evidenciadas com base na classificação TNM, de acordo com American Joint Committee on Cancer (AJCC). Onde o estadiamento T da doença não foram encontradas na maioria dos prontuários (55,5%) dos pacientes. Dentre os avaliados, o estadiamento T4 foi mais prevalente no geral (14,8%). No estadiamento N0 foi o mais prevalente (21,9%). E a informação acerca da presença ou não de metástase também não estavam presentes na maioria dos prontuários (57,8%). Tanto nos grupos de orofaringe quanto laringe, não havia metástase (M0) em 28,6% e 54,1% dos casos, respectivamente.

7.3 Identificação e avaliação o tipo de DNA-HPV nas amostras

Dos 93 pacientes analisados, 8 (7,44%) portadores de CA de cavidade oral, 17 (15,81%) de CA de orofaringe (15,81%) e 68 (73,12%) com CA de laringe. Identificou-se infecção pelo HPV em 4 amostras de tumores de laringe (5,9%) e 89 amostras (95,7%) não apresentaram presença de HPV na análise. Foi realizada a genotipagem das 4 amostras positivas para DNA-HPV, onde 2 amostras estavam infectadas pelo tipo 16 de HPV, de alto risco oncogênico e as outras 2 amostras analisadas não se identificou o tipo de HPV específico.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que a população avaliada é de portadores de Carcinoma de Laringe e Carcinoma de Cavidade Oral e Orofaringe, com a maioria adultos acima de 50 anos, do sexo masculino, residentes no interior do Estado e com escolaridade inferior ao nível médio. Bem como os dados expressos em classificação TNM, caracterizam a maioria dos tumores para esse seguimento o nível III (três) de Estágio Clínico, com tumores maior ou igual 4 (quatro) centímetros nas suas maiores dimensões.

Segundo o processo de extração, quantificação e análise PCR realizados, o número de pacientes diagnosticados com Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço relacionados à infecção por Papilomavirus ainda é relativamente

pequeno, considerando o número de pacientes analisados (93 pacientes) para o número de amostras positivadas (4 amostras). Isso nos possibilita analisar que o Estado do Maranhão, bem como a cidade de São Luis tem um percentual de 4,3% aproximadamente de infecções pelo HPV sendo possível causa para a carcinogênese de Cabeça e pescoço, precisamente para casos evidenciados de laringe. Dessa forma, as chances de desenvolver câncer de cabeça e pescoço podem ser consideravelmente reduzidas, evitando o consumo de álcool e de tabaco e prezar pela higiene bucal são atitudes que previnem esse tipo de tumor. Já o principal meio de evitar o contágio pelo HPV é o uso do preservativo nas relações sexuais, inclusive no sexo oral.

Outra forma indicada principalmente para prevenir o câncer de colo do útero, mas também pode prevenir potencialmente o câncer de cabeça e pescoço, é a vacina contra o HPV, especialmente em meninos e meninas. Os pais devem estar atentos à incidência crescente de tumores relacionados ao vírus entre os jovens e vacinar seus filhos. A vacina contra o HPV está disponível pelo Sistema Único de Saúde (SUS) para meninas de 9 a 14 anos e meninos de 11 a 14 anos. Ela combate os quatro tipos de vírus (6, 11, 16 e 18). Os tipos 16 e 18 são os mais relacionados ao câncer de colo uterino e de cabeça e pescoço.

REFERÊNCIAS

ABDO EN, Garrocho AA, Aguiar MCF. Perfil do paciente portador de carcinoma epidermóide da cavidade bucal, em tratamento no Hospital Mário Penna em Belo Horizonte. **Rev Bras Cancerologia** 2002; 48(3), 357-62.

ADELSTEIN, D. J.; RODRIGUEZ, C. P. Human papillomavirus: changing paradigms in oropharyngeal cancer. **Current oncology reports**, 2010. v. 12, n. 2, p. 115–120.

ALBRING, L.; BRENTANO, J. E.; VARGAS, V. R. A. O câncer do colo do útero, o Papilomavírus Humano (HPV) e seus fatores de risco e as mulheres indígenas Guarani: estudo de revisão. **Rev. bras. anal. clin**, 2006. p. 87–90.

BABOCI, L. *et al.* Evidence of the causal role of human papillomavirus type 58 in an oropharyngeal carcinoma. **Virology Journal**, 2013. v. 10, p. 2–7.

BETIOL, J.; VILLA, L. L.; SICHERO, L. Impact of HPV infection on the development of head and neck cancer. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 2013. v. 46, n. 3, p. 217–226.

BOCCARDO, E.; LEPIQUE, A. P.; VILLA, Luisa L. The role of inflammation in HPV carcinogenesis. **Carcinogenesis**, 2010. v. 31, n. 11, p. 1905–1912.

BRAGAGNOLO, A.; ELI, D.; HAAS, P. Papiloma vírus humano (HPV). **Rev. bras. anal. clin**, 2010. p. 91–96.

BRASIL, I. Censo demográfico, 2010. **Características da População e dos Domicílios. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2010.

BRAY, F. *et al.* Planning and developing populations-based cancer registration in low-and middle-income settings. Lyon, France: **International Agency for Research on Cancer**, 2014. (IARC technical publication, n. 43). Available at: http://www.rho.org/files/IARC_Planning_developing_cancer_registries_2014.pdf. Access in: 20 Sep. 2019

BURCHELL, A. N. *et al.* Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. **Vaccine**, 2006. v. 24, p. S52–S61.

CARMO, E. F. S. DO; FIORINI, A. Principais técnicas moleculares para detecção do papilomavírus humano. **Sabios-Revista de Saúde e Biologia**, 2007. v. 2, n. 1.

CARVALHO AL, Bruvanesh S, Spiro RH, Kowalski LP, Shah JP. **Cancer of the oral cavity: a comparison between institutions in a developing and a developed nation.** *Head Neck* 2004;26:31-8.

CASIGLIA J, Woo SB. **A comprehensive review of oral cancer.** *Gen Dent* 2001;49:72-82.

CASTELLSAGUÉ, X. *et al.* HPV involvement in head and neck cancers: comprehensive assessment of biomarkers in 3680 patients. **Journal of the National Cancer Institute**, 2016. v. 108, n. 6, p. djv403.

CASTRO, T. P. P. G.; BUSSOLOTI FILHO, I. Prevalência do papilomavírus humano (HPV) na cavidade oral e na orofaringe. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, 2006. v. 72, n. 2, p. 272–282.

CAVALCANTI, S.; CARESTIATO, F. N. Infecções causadas pelos papilomavírus humanos: atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnóstico. **DST j. bras. doenças sex. transm**, 2006. p. 73–79.

CHAUDHARY, A. K. *et al.* Role of human papillomavirus and its detection in potentially malignant and malignant head and neck lesions: updated review. **Head & neck oncology**, 2009. v. 1, n. 1, p. 22.

CHEN, W. *et al.* Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: the importance of HPV 16 and 18. **Cancer Causes & Control**, 2009. v. 20, n. 9, p. 1705–1713.

CHUNG, C. H.; BAGHERI, A.; D'SOUZA, G. Epidemiology of oral human papillomavirus infection. **Oral oncology**, 2014. v. 50, n. 5, p. 364–369.

CIESIELSKA, U. *et al.* The role of human papillomavirus in the malignant transformation of cervix epithelial cells and the importance of vaccination against this virus. **Adv Clin Exp Med**, 2012. v. 21, n. 2, p. 235–244.

CROSIGNANI, P. *et al.* Towards the eradication of HPV infection through universal specific vaccination. **BMC public health**, 2013. v. 13, n. 1, p. 1–11.

COSTA NETO SB, Araújo TCC, Curado MP. Avaliação da qualidade de vida de pessoas portadoras de câncer de cabeça e pescoço. **Acta Oncol Bras** 2000; 20(3), 96-106

D'SOUZA, G. *et al.* Case–control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. **New England Journal of Medicine**, 2007. v. 356, n. 19, p. 1944–1956.

DALEY, E. *et al.* Prevention of HPV-related oral cancer: assessing dentists' readiness. **public health**, 2014. v. 128, n. 3, p. 231–238.

DENG, Z. *et al.* Viral load, physical status, and E6/E7 mRNA expression of human

papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma. **Head & neck**, 2013. v. 35, n. 6, p. 800–808.

DOGANTEMUR, Selman et al. Assessment of HPV 16, HPV 18, p16 expression in advanced stage laryngeal cancer patients and prognostic significance. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 86, n. 3, p. 351-357, 2020.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of clinical virology**, 2005. v. 32, p. 7–15.

DOBROSSY L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. *Cancer and Metastasis Rev* 2005;24:9-17

DRIESSEN, J. P. *et al.* Diffusion- weighted imaging in head and neck squamous cell carcinomas: A systematic review. **Head & neck**, 2015. v. 37, n. 3, p. 440–448.

DROBNI, P. *et al.* Carboxy-fluorescein diacetate, succinimidyl ester labeled papillomavirus virus-like particles fluoresce after internalization and interact with heparan sulfate for binding and entry. **Virology**, 2003. v. 310, n. 1, p. 163–172.

EFTEKHAAR, N. S. *et al.* Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in patients with recurrent respiratory papillomatosis (RRP) in Iran. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP**, 2017. v. 18, n. 7, p. 1973.

FERLAY, J. *et al.* GLOBOCAN 2008, cancer incidence and mortality worldwide. **IARC CancerBase**, 2010. v. 10.

FERRARO, C. T. L. *et al.* Infecção oral pelo HPV e lesões epiteliais proliferativas associadas. **Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial**, 2011. v. 47, n. 4, p. 451–459.

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

GALLEGOS-HERNÁNDEZ, J. F. **Cáncer de cabeza y cuello**. Elsevier.

GANGULY, N.; PARIHAR, S. P. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. **Journal of biosciences**, 2009. v. 34, n. 1, p. 113–123.

GALBIATTI, Ana Livia Silva et al. Câncer de cabeça e pescoço: causas, prevenção e tratamento. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 79, n. 2, p. 239-247, 2013.

GILLISON, M. L. *et al.* Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-

2010. **Jama**, 2012. v. 307, n. 7, p. 693–703.

GIACOMINI, Rosane. Expressão imunohistoquímica de biomarcadores e sua relação com o Papiloma vírus humano em carcinomas de cabeça e pescoço. 2018.

GISSMANN, L.; HAUSEN, H. Zur. Human papilloma virus DNA: physical mapping and genetic heterogeneity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 1976. v. 73, n. 4, p. 1310–1313.

GILLISON ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, Zahurak ML, Daniel RW, Viglione M, Symer DE, Shah KV, Sidransky D. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. **J Natl Cancer Inst**. 2000;92(9):709-20.

GRANADO, R. M. C.; RODRÍGUEZ, Y. J. El cáncer de cabeza y cuello: un problema social. **Acta Médica del Centro**, 2015. v. 9, n. 4, p. 112–116.

GRAVITT, P. E. *et al.* Improved amplification of genital human papillomaviruses. **Journal of clinical microbiology**, 2000. v. 38, n. 1, p. 357–361.

HEBNER, C. M.; LAIMINS, L. A. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. **Reviews in medical virology**, 2006. v. 16, n. 2, p. 83–97.

HERNANDEZ, B. Y. *et al.* Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. **Emerging infectious diseases**, 2008. v. 14, n. 6, p. 888.

HERCHENHORN D, Dias FL. Avanços no tratamento quimioterápico e radioterápico do câncer de cabeça e pescoço. **Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo** 2004;59:39-46.

HURTADO-SALGADO, E. *et al.* Use of HPV testing in cervical cancer screening services in Mexico, 2008-2018: a nationwide database study. **salud pública de méxico**, 2019. v. 60, p. 722–733.

IARC, W. G. Human papillomaviruses: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. **IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum**, 2007. v. 90, p. 1–636.

IAMARROM A, Pattanaporn K, Pongsiriwet S, Wanachantararak SW, Prapayasatok S, Jittidecharaks S, et al. Analysis of 587 cases of oral squamous cell carcinoma in northern Thailand with a focus on young people. **Int J Oral Maxillofac Surg** 2004;33:84-8

IGLESIAS, R. *et al.* **Tobacco control in Brazil**. 2007.

INCA. incidência de câncer no Brasil. **Rio de Janeiro**, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2020. Rio de Janeiro: **INCA**, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>. Acesso em: 11 jan 2021.

IVANCIC, R. *et al.* Current and future management of recurrent respiratory papillomatosis. **Laryngoscope investigative otolaryngology**, 2018. v. 3, n. 1, p. 22–34.

JEON, S.; ALLEN-HOFFMANN, B. L.; LAMBERT, P. F. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. **Journal of virology**, 1995. v. 69, n. 5, p. 2989–2997.

KAHN, J. A.; LAN, D.; KAHN, R. S. Sociodemographic factors associated with high-risk human papillomavirus infection. **Obstetrics & gynecology**, 2007. v. 110, n. 1, p. 87–95.

KAMINAGAKURA, E. *et al.* High-risk human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma of young patients. **International journal of cancer**, 2012. v. 130, n. 8, p. 1726–1732.

KIM, Y.; PIERCE, C. M.; ROBINSON, L. A. Impact of viral presence in tumor on gene expression in non-small cell lung cancer. **BMC cancer**, 2018. v. 18, n. 1, p. 843.

KFOURI, Suely Aparecida *et al.* Fraction of head and neck cancer attributable to tobacco and alcohol in cities of three Brazilian regions. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 21, p. e180005, 2018.

KINES, Rhonda C. *et al.* The initial steps leading to papillomavirus infection occur on the basement membrane prior to cell surface binding. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 48, p. 20458-20463, 2009.

KOONTONGKAEW, S. The tumor microenvironment contribution to development, growth, invasion and metastasis of head and neck squamous cell carcinomas. **Journal of Cancer**, 2013. v. 4, n. 1, p. 66.

KRANE, J. F. Role of cytology in the diagnosis and management of HPV-associated head and neck carcinoma. **Acta cytologica**, 2013. v. 57, n. 2, p. 117–126.

KREIMER, A. R. *et al.* Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, 2005. v. 14, n. 2, p. 467–475.

KREIMER AR, Pierce Campbell CM, Lin HY, Fulp W, Papenfuss MR, Abrahamsen M, Hildesheim A, Villa LL, Salmerón JJ, Lazcano-Ponce E, Giuliano AR. **Incidence and clearance of oral human papillomavirus infection in men: the HIM cohort study. Lancet.** 2013;382(9895):877-87

LAJER, C. B.; BUCHWALD, C. V. O. N. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. **Apmis**, 2010. v. 118, n. 6-7, p. 510–519.

LANCELLOTTI, C L P *et al.* Diagnóstico laboratorial. **Carvalho JJM, Oyakawa N. I Consenso Brasileiro do HPV, 1a edição, São Paulo: BG Cultural, 2000. v. 4, p. 45–60.**

LEEMANS, C. R.; BRAAKHUIS, B. J. M.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular biology of head and neck cancer. **Nature reviews cancer**, 2011. v. 11, n. 1, p. 9–22.

LEEMANS, C. R.; SNIJDERS, P. J. F.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular landscape of head and neck cancer. **Nature Reviews Cancer**, 2018. v. 18, n. 5, p. 269.

LETO, M. Das G. P. *et al.* Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2011. v. 86, n. 2, p. 306–317.

LI, N. *et al.* Distribuição do tipo de Papilomavírus Humano em 30.848 cânceres cervicais invasivos em todo o mundo: variação por região, tipo histológico geográfica e ano de publicação. **Int J Câncer**, 2011. v. 128, p. 927–935.

LYDIATT WM, Patel SG, O’Sullivan B, Brandwein MS, Ridge JA, Migliacci JC, *et al.* Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. CA: **a cancer journal for clinicians**. 2017 Mar;67(2):122-37.

MACHADO, Bruna Carmela Polli *et al.* Avaliação da qualidade de vida dos pacientes portadores de câncer de cabeça e pescoço no Estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**, 2009.

MCGUIRE, S. World cancer report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, international agency for research on cancer, WHO Press, 2015. **Oxford University Press.**

MENDELSON, A. H. *et al.* Histopathologic findings of HPV and p16 positive HNSCC. **The Laryngoscope**, 2010. v. 120, n. 9, p. 1788–1794.

MERCADILLO PÉREZ, P.; MORENO LÓPEZ, L. M. Pathophysiology of squamous cell carcinoma. **Dermatología Revista Mexicana**, 2013. v. 57, n. 2, p. 118–127.

MOLIJN, A. *et al.* Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. **Journal of clinical virology**, 2005. v. 32, p. 43–51.

MONTENEGRO, L. De A. S.; VELOSO, H. H. P.; ALMEIDA, P. Â. S. M. DE. Papiloma vírus humano como fator carcinogênico e co-carcinogenico do câncer oral e da orofaringe. **Revista Odontológica do Brasil Central**, 2014. v. 23, n. 67.

MUHAXHERI, G.; GABRIC, D.; BORAS, V. V. Epidemiology and aetiology of head and neck squamous cell carcinoma. **Libri Oncologici**, 2015. v. 43, n. 1–3, p. 75–81.

MÜNGER, K. *et al.* Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. **Journal of virology**, 2004. v. 78, n. 21, p. 11451–11460.

MUNOZ, N. *et al.* HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, 2006. v. 24, p. S1–S10.

OLIVEIRA CARVALHO, N. DE. Comparação dos métodos de tipagem do HPV por meio de amplificação por PCR usando-se iniciadores tipo-específicos e por sequenciamento direto do produto amplificado. 2009.

OLIVEIRA, M. M. DE *et al.* Estimativa de pessoas com diagnóstico de câncer no Brasil: dados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. suppl 2, p.146–157, 2015.

OLTHOF, N. C. *et al.* Next-generation treatment strategies for human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma: where do we go? **Reviews in medical virology**, 2012. v. 22, n. 2, p. 88–105.

OLTHOF, N. C. *et al.* Comprehensive analysis of HPV16 integration in OSCC reveals no significant impact of physical status on viral oncogene and virally disrupted human gene expression. **PLoS one**, 2014. v. 9, n. 2, p. e88718.

POLJAK, M. *et al.* Nucleic acid tests for the detection of alpha human papillomaviruses. **Vaccine**, 2012. v. 30, p. F100–F106.

PRADO, B. B. F. Do. Influência dos hábitos de vida no desenvolvimento do câncer. **Ciência e Cultura**, 2014. v. 66, n. 1, p. 21–24.

PSYRRI, A.; DIMAIO, D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. **Nature clinical practice oncology**, 2008. v. 5, n. 1, p. 24–31.

PERRY, MARTA E. The specialised structure of crypt epithelium in the human palatine tonsil and its functional significance. **Journal of anatomy**, v. 185, n. Pt 1, p. 111, 1994..

PYTYNIA, K. B.; DAHLSTROM, K. R.; STURGIS, E. M. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. **Oral oncology**, 2014. v. 50, n. 5, p. 380–386.

QUINTERO, K. *et al.* Human papillomavirus types in cases of squamous cell carcinoma of head and neck in Colombia. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, 2013. v. 79, n. 3, p. 375–381.

RACKLEY, T. *et al.* Management of oropharyngeal cancer—UK survey shows variations in practice. **Clinical Oncology**, 2014. v. 26, n. 3, p. 175–177.

RAMQVIST, T.; DALIANIS, T. Oropharyngeal cancer epidemic and human papillomavirus. **Emerging infectious diseases**, 2010. v. 16, n. 11, p. 1671.

RAUTAVA, J. *et al.* HPV genotypes and their prognostic significance in head and

neck squamous cell carcinomas. **Journal of clinical virology**, 2012. v. 53, n. 2, p. 116–120.

RETTIG, E. M.; D'SOUZA, G. Epidemiology of head and neck cancer. **Surgical Oncology Clinics**, 2015. v. 24, n. 3, p. 379–396.

REIS SRA, Lima CR, Marchionni AMT. Fatores de risco do câncer da cavidade oral e da orofaringe. I. Fumo, álcool e outros determinantes. *Rev de Pós-Grad* 1997; 4, 127-32.

RINTALA, M. A. M. *et al.* Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infant: a prospective study of HPV in families in Finland. **Journal of Clinical Microbiology**, 2005. v. 43, n. 1, p. 376–381.

ROBERTS, J. N. *et al.* Genital transmission of HPV in a mouse model is potentiated by nonoxynol-9 and inhibited by carrageenan. **Nature medicine**, 2007. v. 13, n. 7, p. 857–861.

SARRUF, M. B. J. M.; DIAS, E. P. Avaliação citopatológica da cavidade bucal em pacientes portadores de infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV). **DST j. bras. doenças sex. transm**, 1997. v. 9, n. 2, p. 4–18.

SCHEFFNER, M. *et al.* The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. **Cell**, 1990. v. 63, n. 6, p. 1129–1136.

SCHIFFMAN, M. *et al.* Carcinogenic human papillomavirus infection. **Nature reviews Disease primers**, 2016. v. 2, n. 1, p. 1–20.

SCHILLER, J. T.; DAY, P. M.; KINES, R. C. Current understanding of the mechanism of HPV infection. **Gynecologic oncology**, 2010. v. 118, n. 1, p. S12–S17.

SELLORS, J. W.; SANKARANARAYANAN, R. An introduction to cervical intraepithelial neoplasia. **Colposcopy and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Beginner's Manual. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France**, 2003. p. 13–20.

SEPIASHVILI, L. *et al.* Potentially novel candidate biomarkers for head and neck squamous cell carcinoma identified using an integrated cell line-based discovery strategy. **Molecular & Cellular Proteomics**, 2012. v. 11, n. 11, p. 1404–1415.

SILVA BSF, YAMAMOTO FP, CURY MDP, CURY SEV. **Infecção por Papilomavírus Humano e Câncer Oral: Revisão da literatura atual**. Cardemos UniFOA, Volta Redonda, 2011, DEZ; 6(17): 103-110.

SERRA, M. P. ESTUDO EPIDEMIOLOGICO DE LESÕES ORAIS RELACIONADAS AO PAPILOMAVÍRUS (HPV). 2015.

SMITH, J. S. *et al.* Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. **International journal of**

cancer, 2007. v. 121, n. 3, p. 621–632.

SNIJDERS, Peter J F *et al.* HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, 2006. v. 208, n. 2, p. 152–164.

SNIJDERS, P. J. F.; HEIDEMAN, D. A. M.; MEIJER, C. J. L. M. Methods for HPV detection in exfoliated cell and tissue specimens. **Apmis**, 2010. v. 118, n. 6-7, p. 520–528.

SOARES, Ana Carla Rodrigues; PEREIRA, Claudio Maranhão. Associação do HPV e o Câncer Bucal. *Revista Ciências e Odontologia*, v. 2, n. 2, p. 22-27, 2018.

SOBRAL, A. P. V.; ALMEIDA, H. C. R. De; FONTES, J. P. De S. Correlação do Papilomavírus Humano com o Carcinoma Epidermoide Bucal: Revisão Sistemática. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial**, 2014. v. 14, n. 2, p. 95–102.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLINICA (SBOC). **Câncer de cabeça e pescoço: aumento da incidência de tumores relacionados ao HPV**. São Paulo - SBOC 29 de julho de 2019. Disponível em: <https://sboc.org.br/noticias/item/1631-cancer-de-cabeca-e-pescoco-aumento-da-incidencia-de-tumores-relacionados-ahpv.%20Accessed%20July%2031,%202020>. Acesso em: 15 jan 2021.

SOUSA, H. *et al.* Is the p53 codon 72 polymorphism a key biomarker for cervical cancer development? A meta-analysis review within European populations. **International journal of molecular medicine**, 2007. v. 20, n. 5, p. 731–741.

ST GUILY, J. L. *et al.* Human papillomavirus genotype distribution in oropharynx and oral cavity cancer in France—The EDiTH VI study. **Journal of Clinical Virology**, 2011. v. 51, n. 2, p. 100–104.

TANAKA, Y.; UEDA, Y.; KIMURA, T. Struggles within Japan's national HPV vaccination: A proposal for future strategy. **Hum Vaccin Immunother**, 2017. v. 13, p. 1167–1168.

TERAI, M. *et al.* Oral wart associated with human papillomavirus type 2. **Journal of oral pathology & medicine**, 1999. v. 28, n. 3, p. 137–140.

TRISTÃO, W. *et al.* Estudo epidemiológico do HPV na mucosa oral por meio de PCR. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, 2012.

VILLIERS, E.-M. DE *et al.* Classification of papillomaviruses. **Virology**, 2004. v. 324, n. 1, p. 17–27.

VILLIERS, E.-M. DE. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. **Virology**, 2013. v. 445, n. 1–2, p. 2–10.

VOKES, E. E.; AGRAWAL, N.; SEIWERT, T. Y. HPV-associated head and neck cancer. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, 2015. v. 107, n. 12.

WALBOOMERS, J. M. M. *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **The Journal of pathology**, 1999. v. 189, n. 1, p. 12–19.

WARD, L. S. Understanding the molecular process of tumorigenesis. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 2002. v. 46, n. 4, p. 351–360.

WESTRA, William H. The morphologic profile of HPV-related head and neck squamous carcinoma: implications for diagnosis, prognosis, and clinical management. **Head and neck pathology**, v. 6, n. 1, p. 48-54, 2012.

WONG, D. T. W.; MÜNGER, K. Association of human papillomaviruses with a subgroup of head and neck squamous cell carcinomas. **Journal of the National Cancer Institute**, 2000. v. 92, n. 9, p. 675–677.

XAVIER, S. D.; BUSSOLOTI FILHO, I.; LANCELOTTI, Carmem Lúcia Penteado. Prevalência de achados sugestivos de papilomavírus humano (HPV) em biópsias de carcinoma espinocelular de cavidade oral e orofaringe: estudo preliminar. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, 2005. v. 71, n. 4, p. 510–519.

ANEXO A

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo de coorte transversal retrospectivo em amostras de pacientes que desenvolveram Carcinoma Espinocelular de Cabeça e Pescoço decorrentes de infecção por Papilomavírus Humano (HPV) entre os anos de 2007 e 2017, diagnosticados e tratados nos Hospitais de Câncer de São Luis, Maranhão.

Pesquisador: CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 2

CAAE: 89791018.7.0000.5087

Instituição Proponente: Universidade Federal do Maranhão

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.023.486

Apresentação do Projeto:

Os tipos de cânceres, bem como o número de pessoas com tal enfermidade, vem aumentando consideravelmente a cada ano, graças aos maus hábitos adquiridos e a carência de cuidados a serem tomados pela própria população. Um dos casos de grande relevância é o surgimento de alguns tipos de cânceres por contribuição de infecções virais, como o caso do Papilomavírus Humano (HPV), que quando não tratado pode progredir para diversos tipos de cânceres, entre eles colo do útero, vagina, pênis, ânus, orofaringe e boca. O objetivo desse estudo é avaliar a prevalência do DNAHPV em amostras de Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço nos Hospitais de Câncer de São Luis, Maranhão, fazendo assim um levantamento de casos de pacientes que foram diagnosticados com esse tipo de câncer. O estudo se dará com base nesse levantamento de casos, na caracterização do perfil clínico-patológico desses pacientes, na identificação do DNA-HPV nas amostras coletadas, na avaliação do tipo viral e na correlação entre o HPV e os Cânceres de Cabeça e Pescoço encontrados, precisamente boca e orofaringe, com base nos casos estudados. Ao final, pretende-se fazer um levantamento de dados relevantes da incidência de Carcinomas Epidermóides de Cabeça e Pescoço decorrentes de infecção por HPV, e submeter esses dados a informações precisas do potencial oncogênico do HPV ao Câncer de Boca

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040

UF: MA **Município:** SAO LUIS

Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 3.023.486

e Orofaringe, para conscientização e prevenção da população.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a prevalência do DNA-HPV em amostras de Câncer de Cabeça e Pescoço nos Hospitais de Câncer de São Luís, Maranhão.

Objetivo Secundário:

- Fazer um levantamento de casos de pacientes que foram diagnosticados com Carcinoma Epidermóide de Cabeça e Pescoço nos Hospitais de Tratamento de Câncer de São Luís, Maranhão, nos últimos 10 anos;
- Caracterizar o perfil clínico-patológico dos pacientes• Identificar o DNA-HPV nas amostras
- Avaliar o tipo viral
- Verificar se há correlação entre os dados clínico-cirúrgico-radiológicos (do prontuário médico), parâmetros histopatológicos, infecção pelo HPV e tipo de HPV dos casos estudados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Tendo em vista que o presente trabalho utilizará dados obtidos a partir do estudo de material de arquivo histopatológico (amostras parafinadas) e da investigação de prontuários com as informações referentes aos pacientes, o risco é representado pela perda de sigilo dos dados do paciente. Este risco será minimizado e até mesmo excluído pelo manejo limitado no momento de coleta das amostras. Somente dois pesquisadores farão a coleta de dados de prontuários, sem retirar os mesmos das Instituições de origem. Benefícios:

O projeto visa um estudo retrospectivo da prevalência de Carcinomas Epidermóides de Cavidade Oral oriundos de infecção por HPV, que, por sua vez detectados, contribuirão então para a uma prospecção deste tipo de carcinogênese sendo de grande relevância para possíveis trabalhos de conscientização e meios de prevenção da população.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa esta bem elaborada e com todos os elementos necessários ao seu pleno desenvolvimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatórios foram entregues e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 3.023.486

Recomendações:

Não existem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram acatadas e corrigidas pelo pesquisador e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1242926_E1.pdf	21/10/2018 15:15:50		Aceito
Outros	Termo_de_Compromisso_Secretaria_de_Estado_da_Saude_do_Maranhao.pdf	21/10/2018 15:12:04	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	banco_de_tumores.pdf	21/10/2018 15:09:41	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito
Outros	Folha_de_Rosto_Charles_Brito.docx	16/05/2018 19:04:21	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Mestrado_Charles.docx	16/05/2018 19:01:30	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Mestrado_Charles.pdf	16/05/2018 19:01:14	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_despensa_CTLE_Charles_Brito.docx	16/05/2018 18:59:32	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_despensa_CTLE_Charles_Brito.pdf	16/05/2018 18:59:04	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Charles_Brito.pdf	16/05/2018 18:57:14	CHARLLES BRITO SANTOS DE AQUINO	Aceito

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética. **CEP:** 65.080-040
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8706 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 3.023.486

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 16 de Novembro de 2018

Assinado por:
FRANCISCO NAVARRO
(Coordenador(a))