

Sandra Doria Xavier

**FREQÜÊNCIA DE APARECIMENTO DO PAPILOMAVÍRUS
HUMANO (HPV) NA MUCOSA ORAL DE HOMENS COM HPV
ANOGENITAL CONFIRMADO POR BIOLOGIA MOLECULAR**

**Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Santa
Casa de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Medicina.**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**São Paulo
2007**

Sandra Doria Xavier

**FREQÜÊNCIA DE APARECIMENTO DO PAPILOMAVÍRUS
HUMANO (HPV) NA MUCOSA ORAL DE HOMENS COM HPV
ANOGENITAL CONFIRMADO POR BIOLOGIA MOLECULAR**

**Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Santa
Casa de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Medicina.**

**Área de Concentração: Otorrinolaringologia
Orientador: Profº Dr. Ivo Bussoloti Filho**

**São Paulo
2007**

FICHA CATALOGRÁFICA

**Preparada pela Biblioteca Central da
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**

Xavier, Sandra Doria

Freqüência de aparecimento do papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de homens com HPV anogenital confirmado por biologia molecular./ Sandra Doria Xavier. São Paulo, 2007.

Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de pós-graduação em Medicina.

Área de Concentração: Otorrinolaringologia

Orientador: Ivo Bussoloti Filho

1. Papillomavirus humano
2. Mucosa bucal
3. Genitália masculina
4. Biologia molecular

BC-FCMSCSP/08-2007

Ao meu esposo, **FERNANDO**,
que jamais me deixou desistir dos
meus ideais.

Aos meus pais,
ANGELO e MARIA LUCIA,
por tudo que me ajudaram a crescer.

Ao meu filho querido,
LUIS FERNANDO,
por tudo que me ensina.

*Só há **progresso** onde existe
esperança.*

Steven Spielberg

AGRADECIMENTOS

Ao Profº Dr. Ivo Bussoloti Filho, meu orientador, Profº Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da FCMSCSP, pelo incentivo desde o princípio.

Ao Profº Dr. José Eduardo Lutaif Dolci, Chefe do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, pela amizade e confiança sempre em mim depositada.

Ao Profº Dr. Henrique O. Olival Costa, Profº Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da FCMSCSP e Coordenador do Conselho do Curso de Pós-Graduação em Otorrinolaringologia, pela grande ajuda na execução deste trabalho.

Ao Profº Dr. Júlio Máximo de Carvalho, Profº Assistente do Departamento de Cirurgia da FCMSCSP, pela amizade, simpatia e pelas orientações no Exame de Qualificação e à toda a equipe do Instituto Garnet, pelo carinho que demonstraram durante estes anos de trabalho.

À Profº Dra. Luísa Lina Villa, Chefe do grupo de Virologia e Diretora do Instituto Ludwig de Pesquisa sobre o Câncer – filial São Paulo, e à toda equipe do Instituto

Ludwig, em especial à Maria Cecília Costa, pela rapidez e eficiência na execução do trabalho.

À Profª Dra. Carmem Lúcia Penteado Lancellotti, Profª Adjunta do Departamento de Ciências Patológicas da FCMSCSP e Coordenadora do Conselho do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, pela amizade e auxílio desde a época de faculdade.

À Profª Dra. Antonieta Longo Galvão Silva, Profª Assistente no Departamento de Ciências Patológicas da FCMSCSP, pela prontidão e disponibilidade nas etapas finais desta tese.

À Profª Dra. Valéria Maria de Souza Framil, Médica Segundo Assistente da Clínica de Dermatologia da Santa Casa de São Paulo, pela agilidade e prontidão na seleção dos pacientes.

Ao Profº Dr. Fernando de Andrade Quintanilha Ribeiro, Profº Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da FCMSCSP, pelas fotos oferecidas da “nossa” Santa Casa.

À Profª Dra. Bianca Maria Liquidato, Profª Instrutora da FCMSCSP, pelo estímulo, ajuda na elaboração final da tese e no Exame de Qualificação.

À Profª Dra. Ana Cristina Kfoury Camargo, pela amizade e correção detalhada da tese no Exame de Qualificação.

Ao Profº Dr. Leonardo da Silva, Profº Instrutor do Departamento de Otorrinolaringologia da FCMSCSP, pela amizade sincera e ajuda no Exame de Qualificação.

Ao Profº Dr. Edson Ibrahim Mitre, Médico 2º Assistente do Departamento de Otorrinolaringologia da FCMSCSP, pela ajuda na confecção dos gráficos desta tese.

Ao Prof^o Dr. Manoel Carlos Sampaio de Almeida Ribeiro, Prof^o Assistente do Departamento de Medicina Social da FCMSCSP, pela ajuda no estudo estatístico desta tese.

À Therezita Maria Peixoto Patury Galvão Castro, Prof^a. Adjunta da Disciplina de Otorrinolaringologia da UFAL e UNCISAL, doutoranda no Departamento de Otorrinolaringologia da FCMSCSP, pela amizade mesmo à distância.

À Fernanda de Mello Malta, amiga de muitos anos, pela valiosa ajuda na formatação da tese.

À Sônia Regina Alves, secretária da Pós-Graduação, pela simpatia e apoio desde o início.

À Sadiá Hussein Mustafa, bibliotecária da Santa Casa de São Paulo, pela paciência e carinho na correção desta tese.

Às secretárias do Departamento de Otorrinolaringologia da FCMSCSP, Maria Zélia Cirino Vieira e Ana Lucia de Oliveira, pela paciência e disposição a ajudar sempre.

À FCMSCSP e à Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, pelos anos de recolhimento e carinho durante minha formação médica.

Ao Laboratório *Libbs*[®], pelo fornecimento das escovas (Kit de colpocitologia oncótica) para coleta do raspado da cavidade oral dos pacientes.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro durante a elaboração desta tese.

ABREVIATURAS

CEC	Carcinoma espinocelular
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CH	Captura híbrida
DB	<i>Dot blot</i>
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DST	Doença sexualmente transmissível
E	Região precoce (<i>early</i>) - Parte do DNA do HPV
FCMSCSP	Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo
GP5+/GP6+	<i>Primers</i> genéricos
HIS	Hibridização <i>in situ</i>
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papilomavírus humano
HPVs	Papilomavírus humano (plural)
HR	Hibridização reversa
IC	Intervalo de confiança

L	Região tardia (<i>late</i>) - Parte do DNA do HPV
LB	<i>Line Blot</i>
MY09/MY11	<i>Primers</i> genéricos
PCR	reação de polimerase em cadeia
RNA	Ácido ribonucléico
SB	<i>Southern blot</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. O papilomavírus humano – considerações gerais	11
1.2. Patogênese da infecção pelo HPV	12
1.3. Métodos de detecção do HPV	16
1.3.1. Diagnóstico colposcópico	16
1.3.2. Diagnóstico citológico e histológico	18
1.3.3. Microscopia eletrônica	18
1.3.4. Imunohistoquímica	19
1.3.5. Biologia molecular	19
1.3.5.1. <i>Southern blot</i> (SB)	20
1.3.5.2. <i>Dot blot</i> (DB)	20
1.3.5.3. Hibridização <i>in situ</i> (HIS)	20
1.3.5.4. Hibridização reversa (HR)	20
1.3.5.5. Captura Híbrida (CH)	21
1.3.5.6. Reação de polimerase em cadeia (PCR)	21
1.4. HPV nas regiões anogenital e oral	22
1.4.1. Na região anogenital	22
1.4.2. Na cavidade oral	24
1.5. Revisão da Literatura	28
2. OBJETIVO	33
3. CASUÍSTICA E MÉTODO	34
3.1. Casuística	34

3.1.1. Critérios de inclusão.....	34
3.1.2. Critérios de exclusão.....	34
3.2. Método.....	35
3.2.1. Preenchimento de TCLE.....	35
3.2.2. Coleta de material.....	35
3.2.3. Estudo histológico.....	38
3.2.4. Estudo por biologia molecular.....	38
3.2.5. Questionário.....	38
3.2.6. Levantamento bibliográfico.....	39
3.2.7. Estatística.....	39
3.2.8. Tratamento dos pacientes.....	40
4. RESULTADOS.....	41
4.1. Caracterização da amostra.....	55
5. DISCUSSÃO.....	59
6. CONCLUSÃO.....	69
7. ANEXOS.....	70
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
FONTES CONSULTADAS.....	85
RESUMO.....	86
ABSTRACT.....	87
APÊNDICE.....	88

1. INTRODUÇÃO

1.1. O papilomavírus humano – considerações gerais

O papilomavírus humano (HPV) pertence ao gênero Papillomavirus da família Papovaviridae e é formado por ácido desoxirribonucléico (DNA) circular, de fita dupla, não-envelopado, com aproximadamente 7200 a 8000 pares de bases (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

Os HPV são classificados de acordo com seus ácidos nucléicos, ou seja, seu genótipo, em diferentes tipos de HPV. Quanto ao potencial de malignidade, classificam-se em tipos de baixo (tipos 6, 11, 13, 32, 34, 40, 42, 44, 53, 54, 55 e 63) e alto risco de

malignidade (tipos 16, 18, 31, 33 e 35) (De Villiers, 1989). Em alguns casos, tipos específicos de HPV são associados a determinadas entidades clínicas, a saber: os tipos 6 e 11 são os principais tipos envolvidos nos papilomas laríngeos e na maioria dos condilomas do trato genital (Reid et al, 1987) enquanto os tipos 16, 18, 31 e 35 são detectados na maioria dos carcinomas de colo (Garlick, Taichman, 1991; Walboomers et al, 1999).

O contato sexual é o principal modo de transmissão do HPV (Zur Hausen, De Villiers, 1994). Em relação à transmissão para a cavidade oral, Smith et al (1991) sugerem existir uma via materno-fetal e, após o período perinatal, outros mecanismos podem estar envolvidos como a auto-inoculação a partir de lesões cutâneas (Cohen et al, 1990) ou anogenitais (Smith et al, 2004) e sexo oral (Yoshpe, 1995).

A transmissão do HPV para a cavidade oral por contato orogenital ainda não está absolutamente confirmada. Winer et al, em seu estudo publicado em 2003, relatam que a detecção do HPV oral não está associada ao contato sexual orogenital entre parceiros. Concordando com estes autores, Maden et al (1992) acreditam que também não haja indicação clara de que homens que praticam sexo oral tenham maior predisposição à infecção oral por HPV do que aqueles que nunca praticaram.

1.2. Patogênese da infecção pelo HPV

Acredita-se que as células basais e parabasais do epitélio escamoso sejam os alvos do vírus. Assim, o local de entrada no hospedeiro pode ser qualquer região em

contato com o ambiente onde o epitélio escamoso esteja acessível. Tais regiões podem ser pele, cavidade oral, laringe, orofaringe, olhos, mucosa genital e canal anal (Garlick, Taichman, 1991).

Outros alvos da penetração viral são todas as zonas de transformação de epitélio, ou seja, áreas onde dois epitélios diferentes se encontram, sejam elas tanto naturais, como no colo uterino, ou decorrentes a um processo metaplásico em epitélio previamente colunar, como na cavidade nasal, seios paranasais e brônquios (Garlick, Taichman, 1991).

O HPV é incapaz de penetrar através de epitélio escamoso intacto, sendo então necessária a presença de abrasões, microlesões ou as zonas de transformação de epitélio (Howley, 1982, 1983). O vírus acessa as células basais diretamente e dissemina-se pelo contato direto célula-célula, sem uma clássica viremia (Howley, 1982, 1983).

Após a penetração do vírus, o HPV pode seguir dois caminhos distintos:

A) O primeiro deles é iniciar o seu ciclo de replicação e maturação no núcleo da célula alvo (Howley, 1982, 1983). O ciclo de vida do HPV termina quando há a liberação de partículas virais, o que só ocorre após a migração da célula alvo das camadas basais do epitélio para a superfície. Assim, partículas virais maduras, com capsídeos completos, estão ausentes nas células basais e presentes somente nas camadas mais superficiais do epitélio (Chang et al, 1991). Este tipo de infecção recebe o nome de infecção produtiva pelo HPV, na qual o DNA viral está na forma “epissomal”, ou seja, não integrado ao genoma celular do hospedeiro, sendo esta a forma de infecção vírus-hospedeiro observada em tipos de HPV de baixo-risco ou “benignos” (Zur Hausen, De Villiers, 1994).

B) O segundo caminho após a penetração viral é a integração do vírus no genoma da célula hospedeira sem replicação viral, o que é chamada infecção não-produtiva ou transformadora. Estas infecções trazem maior risco, considerando-se o desenvolvimento de lesões pré-cancerosas ou de câncer invasivo (Zur Hausen, De Villiers, 1994).

Nem sempre as infecções pelo HPV são visíveis macroscopicamente. Assim, as infecções pelo HPV podem ser classificadas em:

A. Latente

A infecção latente por HPV só pode ser diagnosticada por métodos de biologia molecular, que serão abordados posteriormente.

Assim como algumas outras infecções virais, as infecções latentes podem ser decorrentes de:

A1) Exposição ao vírus sem resultar em infecção;

A2) Exposição ao vírus com penetração do mesmo na célula hospedeira mas sem replicação viral ou sem a maturação completa do vírus (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

B. Subclínica

Nas infecções subclínicas, assim como nas infecções latentes, não há lesões observadas à vista desarmada. Há alterações sutis como micropápulas, microverrugas, alteração de vascularização e coloração que podem ser detectadas com o uso de microscópio, como o colposcópico, muito utilizado na detecção de lesões anogenitais pelo HPV (Syrjänen, Syrjänen, 2000; Carvalho, 2004).

C. Clínica

Nas infecções clínicas há lesões evidentes à vista desarmada.

Não se conhece o mecanismo molecular que determina que uma lesão permaneça latente e outra, por outro lado, desenvolva lesão macroscópica decorrente de intensa replicação viral (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

A maioria das infecções pelo HPV são assintomáticas – latentes e subclínicas, sendo pequena a proporção de infecções – 1 a 2% - que levam a lesões aparentes (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

Acredita-se que a expressão clínica do HPV seja dependente do sistema imune do hospedeiro (Schneider et al, 1987; Caussy et al, 1990; Beutner et al, 1991; Ho et al, 1998; Kreimer et al, 2004). Mulheres com vírus da imunodeficiência humana (HIV) têm maior risco de desenvolverem infecções persistentes e por múltiplos tipos de HPV (Ho

et al, 1998). Kreimer et al (2004) também verificaram que os pacientes HIV positivos têm maior probabilidade de adquirir uma infecção por HPV na cavidade oral, de serem infectados por mais de um tipo do vírus e ainda de serem infectados por HPV de alto risco. Além disso, a imunodepressão transitória que ocorre em gestantes está associada a aumento da prevalência do HPV (Schneider et al, 1987).

1.3. Métodos de detecção do HPV

1.3.1. Diagnóstico colposcópico

O colposcópico é um microscópio que permite um aumento de 6 a 40 vezes e sua utilização é muito importante para o diagnóstico das infecções subclínicas pelo HPV na região anogenital feminina e masculina. Dá-se o nome de colposcopia e peniscopia ao exame da região anogenital feminina e masculina respectivamente no qual utiliza-se o colposcópico (Jacynnto et al, 1994; Sellors, Sankaranarayanan, 2003).

Já na cavidade oral, diferentemente do que na região anogenital, o colposcópico ainda não é utilizado como método auxiliar no diagnóstico do HPV oral na maioria dos trabalhos científicos. Dois estudos (Panici et al, 1992; Badaracco et al, 1998) que

utilizaram o colposcópico na detecção de HPV na cavidade oral apresentaram prevalência de HPV oral estatisticamente superior a outros estudos nos quais não foram utilizados o colposcópico (Kellokoski et al, 1990b, 1992 a,b; Van Doornum et al, 1992; Giraldo et al, 1996; Sarruf, Dias, 1997; Cañadas et al, 2004; Smith et al, 2004), podendo sugerir que seu uso na cavidade oral aumente a sensibilidade de detecção do HPV, assim como ocorre na região anogenital.

Dentre os componentes fundamentais na prática colposcópica está a solução de ácido acético a 3-5%. Ela causa uma precipitação ou coagulação reversível das proteínas nucleares e citoqueratinas, levando a coloração esbranquiçada de áreas com grande concentração de proteínas nucleares, chamado acetobranqueamento. O aspecto acetobranco pode ocorrer em neoplasias intraepiteliais, metaplasia escamosa imatura, no epitélio em regeneração, na leucoplasia e no condiloma acuminado (Sellors, Sankaranarayanan, 2003).

Apesar de muito utilizada no diagnóstico das lesões subclínicas anogenitais pelo HPV, a identificação de áreas acetobranças, ou também chamadas acetopositivas, não pode ser considerada um critério indicativo de infecção por HPV na cavidade oral (Newcomer, Udry, 1985; Kellokoski et al, 1990a; Sarruf, Dias, 1997).

Kellokoski et al (1990a), em seu estudo, dentre 334 mulheres estudadas, 41% apresentaram impregnação por ácido acético na cavidade oral, cobrindo toda a mucosa oral e foi encontrado HPV em 50% dos casos. Nas pacientes que não tiveram impregnação por ácido acético, foi encontrado HPV em 50% dos casos, chegando à conclusão de que não houve associação entre uso do ácido acético e a presença do HPV quando utilizado na cavidade oral.

1.3.2. Diagnóstico citológico e histológico

O primeiro elemento citológico em ordem de importância para o diagnóstico do HPV é a coilocitose, que também é a alteração histológica mais importante. Caracteriza-se por células com núcleos picnóticos, contornados por extensos halos claros com volume geralmente superior ao citoplasma, tendo como sinônimos célula-balão ou célula-halo (*koylos*= buraco). É considerada por alguns autores (Premoli-de-Percoco et al, 1993; Fornatora et al, 1996) sinal patognomônico de infecção por HPV enquanto outros salientam a necessidade de outros métodos para concluir o diagnóstico (Salvia et al, 2004). Outros achados citológicos incluem a disceratose e discariose (Carvalho, 1999).

Salvia et al (2004), compararam os resultados por histologia e por reação de polimerase em cadeia (PCR) em 53 amostras de lesões de colo de útero. Em 17 amostras o resultado por PCR foi negativo, sendo que em 12 delas havia coilocitose, resultando em especificidade de 29,41% para a coilocitose neste estudo. Em 36 amostras o resultado por PCR foi positivo, sendo que quatro delas não havia coilocitose, resultando em sensibilidade de 88,9%. Estes resultados demonstram claramente a necessidade de métodos mais precisos para o diagnóstico do HPV.

1.3.3. Microscopia eletrônica

A microscopia eletrônica é o único método que diagnostica o vírus diretamente, entretanto é inviável sua utilização no dia-a-dia pelo seu alto custo, além de sua precisão ficar comprometida nas lesões genitais com baixa quantidade de vírus (Carvalho, 1999).

1.3.4. Imunohistoquímica

A detecção por imunohistoquímica possui baixa sensibilidade e só é positiva nas infecções produtivas, sendo falha na detecção das infecções latentes e subclínicas (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

1.3.5. Biologia molecular

A aplicação de métodos de biologia molecular para a identificação de agentes infecciosos vem apresentando rápida evolução nos últimos anos, devido, em grande parte, ao desenvolvimento de novas técnicas de análise do DNA e do ácido ribonucléico (RNA) (Carvalho, 1999).

Os métodos diagnósticos por hibridização são os métodos mais confiáveis para a detecção do HPV e permitem também a tipagem do vírus (Carvalho, 1999; Syrjänen, Syrjänen, 2000). Baseiam-se no fenômeno de que, sob condições adequadas, uma fita simples de ácido nucleico tem complementaridade específica. Moléculas de ácido nucleico conhecidas e marcadas ou não radioativamente permitem detectar

especificamente sua complementar desconhecida e determinar a formação de moléculas completas, chamados “híbridos” (Carvalho, 1999).

Dentre os métodos por hibridização, destacam-se o *southern blot* (SB), *dot blot* (DB), hibridização reversa (HR), hibridização *in situ* (HIS), captura híbrida (CH) e a reação de polimerase em cadeia (PCR), os quais, resumidamente, são descritos a seguir.

1.3.5.1. *Southern blot* (SB)

O exame *Southern blot* consegue diferenciar as formas integrada e epissomal do HPV e tem alta sensibilidade. Como desvantagem, é um exame muito trabalhoso (Syrjänen, Syrjänen, 2000)

1.3.5.2. *Dot blot* (DB)

Diferentemente do SB, o DB é um método rápido porém possui baixa especificidade (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

1.3.5.3. Hibridização *in situ* (HIS)

A HIS permite a localização do vírus no tecido estudado porém não tem a mesma sensibilidade e especificidade do que o SB e PCR (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

1.3.5.4. Hibridização reversa (HR)

A HR pode ser utilizada para tipar o HPV, com a qual é possível identificar 27 diferentes tipos de HPV, a saber: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 68, MM4, MM7, MM9 (alto risco) e 6, 11, 40, 42, 53, 54, 57, 66, MM8 (baixo risco). Este método é bastante rápido uma vez que necessita de somente um ciclo de hibridização,

tem alta sensibilidade e especificidade, porém requer *primers* específicos para cada tipo de HPV a ser pesquisado (Gravitt et al, 1998).

1.3.5.5. Captura Híbrida (CH)

É um método rápido, consegue identificar 18 tipos de HPV, a saber: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68. Não tem a mesma sensibilidade do que SB ou PCR (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

1.3.5.6. Reação de polimerase em cadeia (PCR)

A PCR caracteriza-se pela amplificação de quantidades diminutas de seqüências de DNA em diversos milhões de vezes, sendo que a concentração de DNA cresce exponencialmente (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

São necessários sistemas iniciadores (*primers*) que consistem em seqüências de pares de bases de DNA, que vão se acoplar em regiões específicas do DNA-alvo, seja na região tardia (L) ou curta (E) do HPV. Existem primers específicos de cada tipo de HPV assim como primers *consensus* ou gerais, que podem detectar uma gama de diferentes tipos de HPV. Os *primers* gerais que se acoplam na região L1 do HPV são os que têm maior sensibilidade e especificidade (Bovicelli et al, 2000). Para esta região, há dois sistemas de *primers* gerais mais comumente utilizados designados como GP5+/GP6+ e MY09/MY11 (Gravitt et al, 2000).

É um processo térmico cíclico que inclui três etapas:

- A) Desnaturação, na qual a fita dupla de DNA é separada em fitas simples;
- B) Anelamento, onde os *primers* anelam especificamente com as suas seqüências complementares de fita simples de DNA;

C) Extensão do *primer*, onde um DNA polimerase termoestável gera fitas “filhas” de DNA que atravessam a região entre dois *primers*. A partir de então, fitas recém geradas servem como modelos para um ciclo de PCR subsequente (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

O procedimento de PCR é notoriamente vulnerável a contaminação pelo ambiente, o que justifica a inclusão de controles negativos e a utilização de salas separadas para cada etapa da realização do procedimento (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

Syrjänen e Syrjänen (2000) acreditam que o melhor método de detecção do HPV seja a associação do PCR com algum outro método de hibridização para diminuir resultados falsos-positivos, que podem ocorrer quando há amplificação de quantidades minúsculas de DNA de HPV contaminantes.

Castro (2004) afirma que dentre todas as técnicas que podem ser utilizadas para o diagnóstico do HPV, a mais sensível é a PCR.

Ochert et al (1994) relatam que há alguns componentes ainda não identificados na saliva humana que poderiam inibir a detecção do HPV na cavidade oral por método de PCR.

1.4. HPV nas regiões anogenital e oral

1.4.1. Na região anogenital

Na região anogenital, o HPV é o agente etiológico das verrugas genitais ou também denominadas condilomas acuminados ou *acuminatum*, que são os tumores genitais benignos mais comuns em ambos os sexos (Syrjänen, Syrjänen, 2000). Atualmente, não há dúvida que essas lesões são transmitidas pelo contato sexual e, reconhecidamente, é a doença sexualmente transmissível (DST) mais freqüente (Carvalho, 2004).

Koutsky et al (1998) relata que a infecção genital por HPV é detectada em aproximadamente 10 a 20% da população sexualmente ativa entre 15 e 49 anos de idade.

Segundo Franceschi et al (2002), em homens sem lesão macroscópica genital, a prevalência de infecção por HPV é de 39% e, segundo Nonnenmacher et al (2002) a prevalência de HPV em colo de útero em mulheres assintomáticas é de 27%, sugerindo que o trato genital, em ambos os sexos, possa ser um reservatório para o vírus.

Já a prevalência de infecção clínica genital por HPV fica em torno de 1-2%, mostrando que o HPV é comum na mucosa genital, mas muitas infecções não progridem para lesões clinicamente visíveis (Syrjänen, Syrjänen, 2000). Segundo Carvalho (2004), somente 20% dos portadores da infecção pelo HPV apresentam lesões clínicas, sendo a grande maioria das infecções subclínicas.

Magi et al (2006) realizaram estudo com objetivo de verificar a prevalência de HPV anal, oral e genital em 64 pacientes atendidos no ambulatório geral de Coloproctologia do Hospital Heliópolis em São Paulo, com base no exame de captura híbrida (CH). O resultado mostrou que 15,62% dos pacientes apresentavam HPV anal, oral ou genital, sendo que 4,68% apresentavam HPV anal.

A principal importância epidemiológica destas infecções está no fato que, além das lesões benignas, a infecção persistente pelo HPV é considerada a causa mais importante de câncer de colo de útero (Walboomers et al, 1999). No homem, o HPV também está associado a lesões pré-neoplásicas e ao câncer peniano, que corresponde a 2% de todos os tumores malignos do sistema genital e urinário masculino (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

1.4.2. Na cavidade oral

Na cavidade oral, o HPV é o agente etiológico de lesões benignas como o papiloma de células escamosas, hiperplasia epitelial focal, condiloma acuminado e a verruga *vulgaris*, com características particulares de cada uma (Syrjänen, Syrjänen, 2000), como pode ser visto na Tab.1.

TABELA 1: Lesões benignas na cavidade oral por HPV

Lesão benigna oral pelo HPV	Tipos de HPV	Características das lesões
Papiloma de células escamosas	Principais: 6 e 11 Outros: 13,16 e 32	Lesão solitária, exofítica, pedunculada com projeções digitiformes.
Verruga <i>vulgaris</i>	2 e 4	Clinicamente semelhante ao papiloma de células escamosas mas com histologia compatível com verruga cutânea.
Hiperplasia epitelial focal	Principais: 13 e 32 Outros: 1,6 e 11	Lesões múltiplas e nodulares em lábio inferior, paciente assintomáticos.

Condiloma acuminado	Principais: 6 e 11 Outros: 2, 16 e 32	Clinicamente semelhante ao papiloma de células escamosas mas com base séssil e aspecto “couve-flor”.
---------------------	--	--

Modificado de Syrjänen, Syrjänen, 2000.

Há a possibilidade da saliva ter um papel protetor contra à infecção pelo HPV devido a presença de agentes antimicrobianos como as lisozimas, lactoferrina, IgA e citocinas (Miletic et al, 1996).

Dos quase 100 tipos de HPV já identificados, 24 deles foram encontrados nas lesões orais (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) (Terai et al,1999).

Em relação à cavidade oral normal, a frequência de aparecimento de HPV é muito variável na literatura. De acordo com 31 trabalhos sobre o assunto, revisados no período de 1985 a 2006, a frequência de aparecimento variou de 0 a 81%, como pode ser visto na Tab 2.

TABELA 2: HPV na mucosa oral normal

Referência	Técnica	Tipo de coleta	N pesquisado	N positivo	Local da coleta	% de positivos	Tipo de HPV mais freqüente
1 Maitland (1987)	HIS	B	12	5	MVB	41,6%	HPV 16
2 Loning (1987)	DB	B	6	0	?	0%	
3 Scully (1987)	SB e HIS	B	12	5	?	41%	HPV 16
4 Brandsma (1989)	SB	B	51	0	?	0%	
5 Chang (1989)	SB	B	17	1	G	5,9%	
6 Jenison (1990)	PCR e SB	R	35	14	MVB, G e L	40%	HPV16
7 Yeudall (1991)	a- SB/ b- PCR	B	25	a- 0/ b-2	?	a- 0%/ b- 8%	HPV 18
8 Jalal (1992)	PCR e HIS	R	48	19	MVB, P, L	40%	HPV16
9 Lawton (1992)	PCR e DB	a- Bo/ b- R/ c- B	a-49/ b-53/ c-59	a-25/ b-24/ c-7	R: MVB, L, P/ B: MVB	a- 51%/ b- 45%/ c- 12%	HPV 16
10 Maden (1992)	PCR	R	118	11	LA, P, MVB, L e G	8%	HPV 6
11 Cox (1993)	SB	B	5	3	MVB	60%	HPV 16
13 Ostwald (1994)	PCR e SB	R	97	1	MVB	1%	
12 Fouret (1995)	PCR e SB	B	20	0	MVB, L, AM, F	0%	
14 Mao (1995)	PCR e SB	R	26	4	MVB, L, ASS	15,4%	HPV 16
15 Eike (1995)	PCR	R	61	0	L e MVB	0%	
16 Nielsen (1996)	HIS, PCR e SB	B	20	0	MVB, LA, ASS, L	0%	
17 Cruz (1996)	PCR e SB	B	12	0	G	0%	
18 Mao (1996)	PCR	B	6	0	G	0%	
19 Lambropoulos (1997)	PCR e SB	R	169	16	MVB	9,5%	HPV 6
20 Gopalakrishnan (1997)	PCR e DB	B	10	1	?	10%	HPV 16
21 Schwartz (1998)	PCR e HIS	R	435	40	LA, P, MVB, L e G	9,2%	HPV 6 e 11
22 Smith (1998)	PCR e DB	Bo	205	10	-	4,8%	HPV 16
23 Terai (1999)	PCR	R	37	30	MVB	81,1%	HPV 18
24 Bouda (2000)	PCR, DB e HIS	R	16	0	MVB e L	0%	
25 Jimenez (2001)	PCR	B	20	2	?	10%	HPV 6
26 Klusmann (2001)	PCR	B	14	0	AM	0%	
27 Sugiyama (2003)	PCR	B	44	16	?	36%	HPV 16
28 Zhang (2004)	PCR	B	44	22	?	55%	HPV 16 e HPV 18
29 Kurose (2004)	PCR	R	662	4	MVB	0,6%	HPV 16, HPV 53, HPV 71, HPV 12
30 Rose (2006)	PCR	R	88	1	?	1%	
31 Kansky (2006)	PCR	B	45	3	?	6,7%	HPV 6, HPV 11, HPV 31

AM= amígdala; ASS= assoalho de boca; B= biópsia; Bo= bochecho; DB= *Dot blot*; G= gengiva; HIS= hibridização *in situ*; L= língua; LA= lábio; MVB= mucosa do vestíbulo da boca; N= número; P= palato; PCR= reação de polimerase em cadeia; SB= *Southern blot*; R= raspado.

O significado da presença do HPV na cavidade oral normal ainda é incerto, assim como não se sabe quando o mesmo pode deixar de produzir uma infecção latente/subclínica e transformar-se em uma lesão clínica (Syrjänen, Syrjänen, 2000).

A frequência de HPV em carcinoma espinocelular (CEC) oral varia muito (Miller, Johnstone, 2001). A média de 25% foi estimada por Garlick, Taichman (1991) em sua revisão sobre o assunto.

Xavier et al (2005) encontraram coilocitose em 75% de amostras de CEC de cavidade oral e orofaringe, sugerindo alta prevalência de HPV nessas neoplasias, porém ainda com necessidade de estudo por biologia molecular para confirmação da presença deste vírus.

Miller, Johnstone (2001), em meta-análise de 1982-1997, relataram que o HPV é duas a três vezes mais comum em lesões pré-malignas orais e 4,7 vezes mais comum em CEC oral, quando comparado com a mucosa oral normal, concluindo que o HPV possa ser um fator de risco independente no CEC oral.

Castro (2004) afirma que ainda existem controvérsias à respeito da relação do HPV com a carcinogênese oral.

Segundo Lawton et al (1992), até o momento, não há método padronizado para coleta de material da cavidade oral para pesquisa de HPV.

Tendo em vista a importância do HPV como DST (Carvalho, 2004), seu forte envolvimento como agente do câncer de colo de útero (Walboomers et al, 1999; Miller, Johnstone, 2001) e sua alta prevalência na população (Franceschi et al, 2002; Nonnenmacher et al, 2002), torna-se fundamental pesquisar outras regiões mucosas, além da região anogenital, que possam alojar o HPV, como a cavidade oral.

1.5. Revisão da Literatura

Nas últimas décadas, vários autores (Kellokoski et al, 1990b, 1992 a,b; Van Doornum et al, 1992; Panici et al, 1992; Giraldo et al, 1996; Sarruf, Dias, 1997; Badaracco et al, 1998; Cañadas et al, 2004; Smith et al, 2004) focaram sua atenção na infecção por HPV em outros sítios anatômicos em paralelo com a infecção anogenital, com intuito de esclarecer se a infecção anogenital por este vírus poderia ser fator predisponente para infecção de outros locais, como a cavidade oral.

Kellokoski et al (1990b) realizaram estudo prospectivo com 334 mulheres com infecção genital por HPV com objetivo de verificar a freqüência de aparecimento de HPV oral nessas pacientes. A cavidade oral foi examinada à vista desarmada e foi realizado raspado de mucosa de vestíbulo da boca bilateralmente em 317 pacientes e, em 255 delas, foram também realizadas biópsias para estudo citológico e histológico. Foram encontradas lesões orais em 127 das 334 pacientes (38%), sendo que verruga vulgar só foi vista em três pacientes (0,9%) e nos demais foram encontradas outras lesões como hiperplasia fibrosa e papilar, infecção por cândida, língua fissurada e leucoplasia. Coilocitose foi encontrada em 0,9% das amostras coletadas por raspado e em 9,4% das amostras coletadas por biópsia.

Kellokoski et al (1992a) realizaram estudo em 262 mulheres com HPV genital no qual pesquisaram HPV por raspado, à vista desarmada, na mucosa do vestíbulo da boca utilizando DB. Foi encontrado DNA de HPV em 3,8% das amostras. Houve concordância dos tipos de HPV genital e oral em 30% dos casos e o tipo de HPV mais freqüentemente encontrado na cavidade oral e genital foi o tipo 6.

Kellokoski et al, no mesmo ano (1992b), realizaram biópsia oral à vista desarmada em 272 mulheres com HPV genital, sendo todas elas submetidas a estudo por SB e 85 delas por PCR. Foi encontrado DNA de HPV em 15,4% e 29,4% das biópsias por SB e PCR respectivamente. Houve concordância dos tipos de HPV genital e oral em apenas 8% dos casos e os tipos de HPV mais frequentemente encontrados na cavidade oral foram tipos 6 e 11 enquanto na região genital foi o tipo 16.

Van Doornum et al (1992) realizaram estudo com 65 homens e 111 mulheres nos quais foi realizada pesquisa de HPV nas regiões anogenital e oral. A pesquisa do HPV na cavidade oral foi feita por raspado à vista desarmada e o material analisado pela técnica de PCR. Em 24 homens e em 32 mulheres foram encontrados HPV na região anogenital, porém em nenhum deles foi encontrado HPV oral. Não há relato da frequência de aparecimento de lesões na cavidade oral.

Panici et al (1992) pesquisaram HPV na cavidade oral em 66 mulheres e 35 homens com HPV genital. O exame da cavidade oral foi realizado com auxílio do colposcópio e foi utilizado ácido acético como marcador de possíveis lesões orais por HPV, seguido de biópsia das mesmas. Por critérios histológicos, foi diagnosticado condiloma acuminado em 49 dos 101 casos (48%) e em 20 pacientes foi também realizada HIS das amostras da cavidade oral e o DNA do HPV foi encontrado em 45% dos casos. Em somente oito pacientes havia lesão oral à vista desarmada, sendo que em todos eles foi confirmado condiloma acuminado por critérios histológicos. Com o uso do colposcópio foram observadas lesões suspeitas em 83 pacientes e, por critérios histológicos, foi confirmado condiloma em 46% dos casos.

Giraldo et al (1996) pesquisaram HPV por estudo citológico na mucosa oral de 51 mulheres com HPV genital por raspado da cavidade oral à vista desarmada. Foi

considerada evidência citológica conclusiva da infecção pelo HPV a coilocitose, a qual esteve presente em 6% das amostras da cavidade oral analisadas. Não há relato da frequência de aparecimento de lesões na cavidade oral.

Sarruf e Dias (1997) realizaram estudo prospectivo no qual foram examinados 54 pacientes, 13 mulheres e 41 homens com infecção genital por HPV. Todos os pacientes foram submetidos a exame clínico à vista desarmada seguida de enxágüe bucal com ácido acético a 2% na tentativa de identificar a presença de áreas acetobranças. A coleta de material para estudo citológico e histológico da cavidade oral foi realizada nas áreas acetobranças ou, na ausência dessas, na região da mucosa do vestíbulo da boca bilateralmente. Somente pacientes com lesão oral foram submetidos à sua exérese e o material submetido à técnica de HIS para identificação do DNA do HPV. O exame da cavidade oral foi normal em 45 pacientes e áreas acetobranças foram encontradas em nove pacientes. A avaliação citológica e histológica identificou coilocitose em sete pacientes, correspondendo a 13% dos casos. Lesões orais só foram encontradas em dois pacientes e o estudo por HIS identificou DNA do HPV em um caso somente.

Badaracco et al (1998) encontraram HPV oral em cinco de dez mulheres com diagnóstico de HPV genital por PCR e em três delas havia lesão oral. Todos os pacientes foram submetidos a exame clínico da cavidade oral à vista desarmada e com colposcópico, sendo que o material foi coletado com raspado da face dorsal e ventral da língua ou de lesão previamente identificada. Houve concordância entre os tipos de HPV em três pacientes e, tanto na região genital como oral, o tipo de HPV mais encontrado foi o tipo 16.

Cañadas et al (2004) pesquisaram HPV nas regiões anogenital e oral de 166 mulheres por raspado e PCR. Foi encontrada concomitância da infecção anogenital e

oral pelo HPV em 12,7% dos casos, sendo que o HPV 16 e 6 foram os tipos mais freqüentes na região anogenital e oral respectivamente. Não há relato da freqüência de aparecimento de lesões na cavidade oral.

Smith et al (2004) realizaram estudo com 165 mulheres gestantes com diagnóstico de HPV genital com o objetivo de pesquisar HPV na cavidade oral por PCR. A cavidade oral foi examinada à vista desarmada e o material coletado com bochecho com solução salina por 30 segundos. Em 14 pacientes (8,5%) foi encontrado HPV na cavidade oral, sendo o HPV 16 o tipo mais freqüente tanto na cavidade oral como na região genital. Em nenhum paciente o tipo de HPV foi concordante nos dois sítios estudados e não há relato da freqüência de aparecimento de lesões na cavidade oral.

O resumo dos trabalhos à respeito da relação HPV anogenital e oral pode ser visualizado a seguir (Tab 3).

TABELA 3: HPV em mucosa oral de pacientes com HPV anogenital

AUTOR	Sexo	Tipo de coleta	Técnica utilizada	N pesquisado	N positivo	% de positivos	Lesão oral	Tipo de HPV mais freqüente		Concordância entre os tipos de HPV AG/O
								AG	O	
Kellokoski (1990b)	F	R / B	CITOL e HISTOL	317 / 255	3 / 24	0,9% / 9,4%	38%	-	-	-
Kellokoski (1992a)	F	R	DB	262	10	3,8%	0,8%	6	6	30%
Kellokoski (1992b)	F	B	SB / PCR	272 (SB) 85 (PCR)	42 25	15,4% (SB) 29,4% (PCR)	-	16	6/11	8% (PCR)
Van Doornum (1992)	M/F	R	PCR	24/32	0	0%	?	-	-	-
Panici (1992)	M/F	B	HISTOL/HIS	101 (HISTOL) 20 (HIS)	49 (HISTOL) 9(HIS)	48% (HISTOL) 45% (HIS)	7,9%		6/11	-
Giraldo (1996)	F	R	CITOL	51	3	6%	?	-	-	-
Sarruf, Dias (1997)	M/F	R/B	CITOL e HISTOL / HIS	54 (CITOL e HISTOL) 2 (HIS)	7 (CITOL e HISTOL) 1(HIS)	13% / 50%	3,7%	-	-	-
Badaracco (1998)	F	R	PCR	10	5	50%	30%	16	16	30%
Cañadas (2004)	F	R	PCR	166	21	12,7%	?	16	6	-
Smith (2004)	F	Bo	PCR	165	14	8,5%	?	16	16	0%

AG= anogenital; B= biópsia; Bo= bochecho; CITOL= citologia; DB= *Dot blot*; F= feminino; HIS= hibridização *in situ*; HISTOL= histologia; M= masculino; N= número; O= oral; PCR= reação de polimerase em cadeia; R= raspado; SB= *Southern blot*; ?: não determinado.

2. OBJETIVO

O objetivo do trabalho é determinar a frequência de aparecimento de HPV na mucosa oral de pacientes do sexo masculino com HPV anogenital confirmado por biologia molecular.

3. CASUÍSTICA E MÉTODO

O projeto de pesquisa, incluindo o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) (apêndice 1) em seres humanos da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, reunido dia 13 de abril de 2005. Este projeto está identificado no CEP sob o número 079/05.

3.1. Casuística

Para o desenvolvimento deste trabalho, critérios de inclusão e de exclusão foram predeterminados e descritos a seguir:

3.1.1. Critérios de inclusão

- A) Sexo masculino;
- B) Idade entre 15 e 60 anos;
- C) Presença de uma ou mais lesões na região anogenital - corpo ou glândula do pênis, escroto, região inguinal, intrauretral ou perianal/ anal – clínica(s) ou subclínica(s).

3.1.2. Critérios de exclusão

- A) Pacientes com glicemia de jejum maior ou igual a 126 mg/dL;
- B) Pacientes com doença no sistema linfoproliferativo como leucemia e linfoma, identificada pela história clínica e/ou hemograma completo;

C) Pacientes com sorologia positiva para HIV;

D) Pacientes em uso de droga imunossupressora como corticóides, ciclosporina, azatioprina, tacrolimus entre outros;

E) Pacientes que, apesar do exame histológico compatível com condiloma acuminado, o resultado por biologia molecular da lesão anogenital foi negativo para HPV.

3.2. Método

3.2.1. Preenchimento de TCLE

Para que o trabalho pudesse ser realizado, cada paciente foi previamente informado, verbalmente, sobre os exames clínicos e laboratoriais a serem realizados. Complementando, o TCLE era então entregue e assinado, em caso de acordo, pelo paciente e pelo autor (anexo 1).

3.2.2. Coleta de material

Durante o período de maio de 2005 a março de 2006 foi realizado um estudo seccional no qual foram recrutados 35 pacientes do Ambulatório de Dermatologia – Doenças Sexualmente Transmissíveis da Santa Casa de São Paulo.

As lesões clínicas e subclínicas pelo HPV na região anogenital foram submetidas a biópsia excisional sob anestesia local com lidocaína 2%. As verrugas foram consideradas as lesões clínicas pelo HPV na região anogenital.

Quando não existiam lesões macroscópicas, ou seja, lesão clínica anogenital, foi utilizado o colposcópico para a realização da genitoscopia, a qual compreendia a peniscopia e a uretroscopia. A genitoscopia foi empregada com o intuito de procurar lesões acetobranças na região anogenital, correspondendo a lesões subclínicas pelo HPV. As etapas da genitoscopia correspondem ao anexo 2.

O material coletado da lesões anogenitais foi dividido em dois fragmentos. Um deles foi colocado em tubo de Ependorf seco, o qual ficou armazenado em freezer - 20°C até o encaminhamento ao Instituto Ludwig, para estudo por biologia molecular. A outra parte do material foi colocado em tubo contendo formol 10% e encaminhado para o Departamento de Patologia da Santa Casa de São Paulo, para estudo histológico.

No mesmo dia em que os pacientes foram submetidos à biópsia excisional de sua lesão anogenital, sua cavidade oral foi examinada à vista desarmada, com o auxílio de luz artificial proveniente de fotóforo. Não foi utilizado colposcópico ou aplicação de ácido acético durante o exame da cavidade oral.

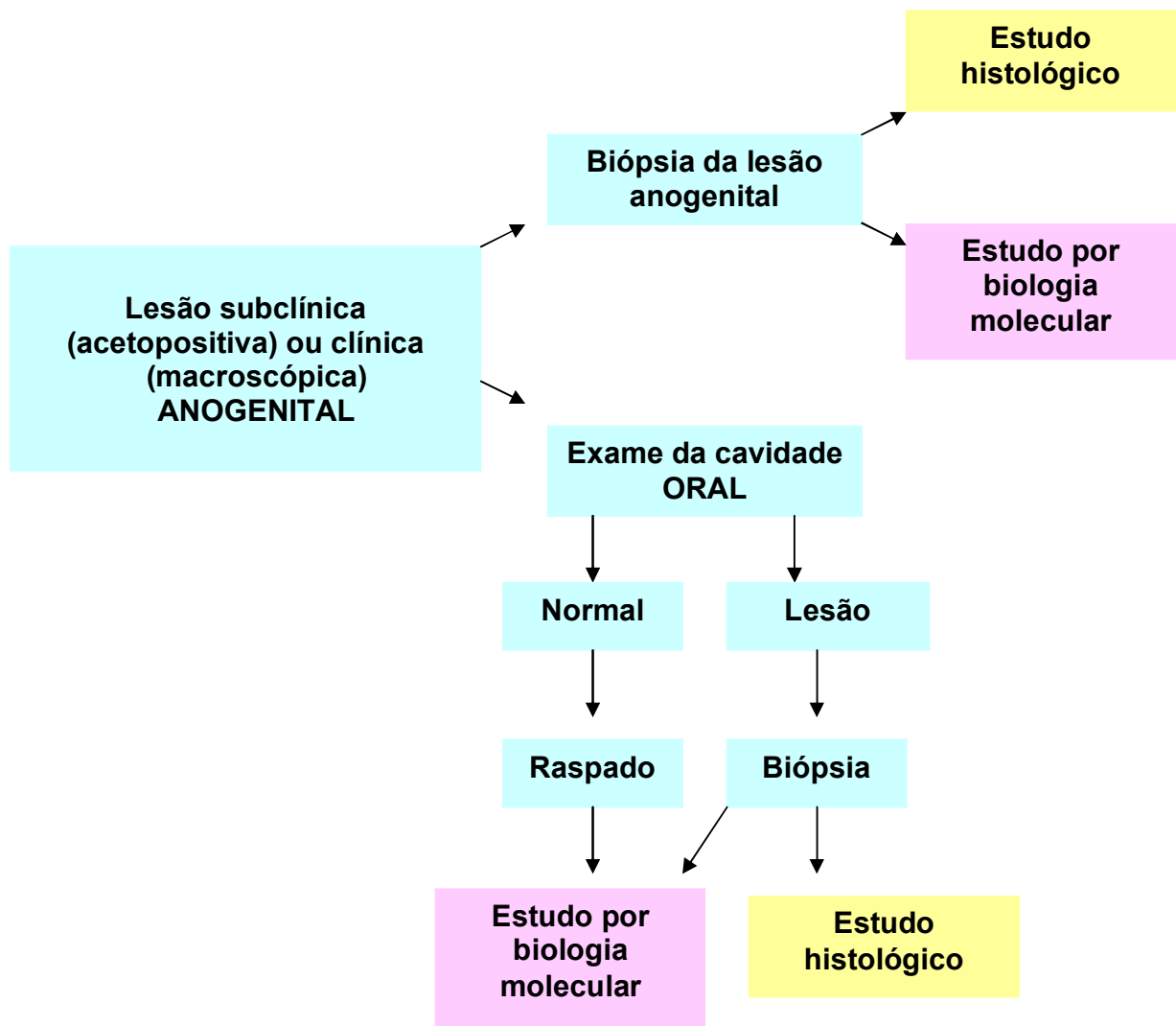
Uma vez identificada uma lesão oral, foi realizada biópsia excisional da mesma sob anestesia local com lidocaína 2%. O material obtido foi dividido em dois fragmentos. Um deles foi colocado em tubo de Ependorf seco, o qual ficou armazenado em freezer - 20°C até o encaminhamento ao Instituto Ludwig, para estudo por biologia molecular. A outra parte do material foi colocado em tubo contendo formol 10% e encaminhado para o Departamento de Patologia da Santa Casa de São Paulo, para estudo histológico.

Quando não encontrada nenhuma lesão na cavidade oral, a coleta de material foi feita por raspado com escova estéril (Kit para coleta de colpocitologia oncótica da *Libbs*®) da mucosa do vestibulo da boca bilateralmente, superfície dorsal e ventral de língua, palato duro e palato mole. A escova era então mergulhada em um tubo de

Ependorf com PBS (solução salina tamponada com fosfato) e o material foi congelado em freezer -20°C até o encaminhamento para o Instituto Ludwig, para estudo por biologia molecular.

O fluxograma da coleta do material e seu encaminhamento pode ser visto na fig 1.

FIGURA 1: Fluxograma da coleta do material e seu encaminhamento



3.2.3. Estudo histológico

O material coletado por biópsia foi colocado em tubos com formol 10%, processado com inclusão em parafina, submetido a secções em micrótomo rotativo, obtendo-se cortes com quatro micrômetros de espessura. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina e submetidos a exame histológico.

3.2.4. Estudo por biologia molecular

Uma vez encaminhadas as amostras para o Instituto Ludwig, a análise dos materiais por biologia molecular foi realizada, a qual compreendia o PCR e a HR.

Para amplificação do DNA do HPV, foi utilizado o PCR com o *primer* consenso MY09/11.

Para a tipagem dos diferentes tipos de HPV foi utilizada a HR “*Line Blot*” (LB) - Kit da Roche® – Roche Linear Array.

O protocolo para extração de DNA utilizado Instituto Ludwig para realização do PCR para HPV corresponde ao anexo 3, o protocolo para amplificação do DNA do HPV corresponde ao anexo 4 e o protocolo para identificação das amostras corresponde ao anexo 5.

3.2.5. Questionário

Para todos os pacientes foi aplicado um questionário, como pode ser visto no anexo 6.

3.2.6. Levantamento bibliográfico

Os levantamentos bibliográficos à respeito da prevalência de HPV na cavidade oral normal e em pacientes com HPV anogenital foram obtidos por meio de pesquisa na internet, junto ao “*Index Medicus*” (Medline) e LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde), para acesso à literatura mundial, além de livros e revistas científicas.

Os descritores usados para acesso aos artigos foram:

Papilomavírus

Infecções por papilomavírus

Papilomavírus humano

Cavidade oral

Mucosa oral

Cavidade bucal

Mucosa bucal

Canal anal

Genitália

Genitália masculina

3.2.7. Estatística

Foi calculado intervalo de confiança (IC) de 95% para todas as estimativas produzidas no estudo.

Foram realizados testes de sensibilidade e especificidade para verificar a validade do achado de colicitose no diagnóstico de HPV, utilizando como padrão ouro o exame por biologia molecular.

3.2.8. Tratamento dos pacientes

Todos pacientes foram submetidos ao melhor tratamento disponível na instituição em relação a suas lesões anogenitais e na cavidade oral.

4. RESULTADOS

Os resultados de todos os pacientes entrevistados podem ser vistos nas Tabs 4A e 4B.

TABELA 4A: Resultado individualizado dos pacientes 1-15

Nº do Paciente	Idade	Raça	Frequência Atividade Sexual (nº/semana)	Número de Parceiros	Lesão O atual/ pregressa (parceiro atual)	Lesão AG pregressa (parceiro atual)	Lesão AG atual (parceiro atual)	Lesão AG/O (parceiros anteriores)	Sexo oral	Sexo anal	Uso de preservativo	DST AG pregressa
1	22	N	0	0	não	não	não	não	não	não	AV	não
2	19	M	3	MONO/HETERO	não	não	não	sim (AG)	sim	não	AV	não
3	19	M	7	MONO/HETERO	não	não	não	não	não	não	AV	não
4	56	M	2	MONO/HETERO	não	não	não	não	não	não	AV	não
5	18	M	7	POLI/HOMO	não	não	não	?	não	sim	AV	GO
6	27	M	7	MONO/HETERO	não	não	não	não	não	não	não	não
7	20	B	4	MONO/HOMO	não	não	não	não	sim	sim	AV	não
8	22	B	5	MONO/HETERO	não	não	não	não	não	não	não	não
9	36	B	2	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	não	AV	não
10	54	B	0	0	não	não	não	não	não	não	AV	não
11	22	B	4	MONO/HETERO	não	não	não	?	sim	não	AV	não
12	23	M	3	MONO/HETERO	não	não	não	?	sim	sim	não	não
13	21	B	7	MONO/HETERO	não	não	não	não	não	não	AV	não
14	38	N	0	MONO/HETERO	não	não	não	não	não	não	não	não
15	36	M	2	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	não	AV	não

AG= anogenital; AV= às vezes; B= branco; GO= gonorréia; HETERO= heterossexual; HOMO= homossexual; M= mulato; MONO= monogâmicos; N= negro; O= oral; POLI= poligâmicos. Linha em laranja= paciente excluído da pesquisa. ?: não determinado.

Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

TABELA 4A: Resultado individualizado dos pacientes 1-15 (continuação)

Nº do Paciente	Queixa oral atual/pregressa	Diabetes	Hipertensão	Tabagismo	Etilismo	Drogas	Aspecto macroscópico lesão AG	Local lesão AG	AP lesão AG	Tipo HPV Lesão AG	Exame cavidade oral	AP lesão oral	PCR CAVIDADE ORAL
1	Não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	11	não	-	não
2	Não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	6	não	-	não
3	Não	não	não	não	não	não	V	CP	LP	16	não	-	não
4	Não	não	sim	sim	sim	não	V	RI	CA	6	sim	CA	não
5	Não	não	não	não	sim	não	V	RI	CA	11	não	-	não
6	Não	não	não	sim	não	não	V	IU	CA	6	não	-	não
7	Não	não	não	não	não	não	V	A	CA	6	sim	INFL	não
8	Não	não	não	não	não	não	V	E	CA	6	não	-	não
9	Não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	não	não	-	não
10	Não	não	não	sim	não	não	V	A	CA	6	não	-	não
11	Não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	42,52	não	-	não
12	Não	não	não	não	não	não	V	A	CA	6	não	-	não
13	Não	não	não	não	não	não	V	GP	CA	6,16,18	não	-	não
14	Não	não	sim	sim	não	não	V	A	CA	6	não	-	não
15	Não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	6	não	-	não

A= anal; AG= anogenital; CA= condiloma acuminado; CP= corpo do pênis; E= escroto; GP= glande do pênis; INFL= inflamação crônica inespecífica; IU= intrauretral; RI= região inguinal; V= verruga. Linha em laranja= paciente excluído da pesquisa.

Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

TABELA 4B: Resultado individualizado dos pacientes 16-35

Nº do Paciente	Idade	Raça	Frequência Atividade Sexual(nº/semana)	Número de Parceiros	Lesão O atual/ pregressa (parceiro atual)	Lesão AG pregressa (parceiro atual)	Lesão AG atual (parceiro atual)	Lesão AG/O (parceiros anteriores)	Sexo oral	Sexo anal	Uso de preservativo	DST AG pregressa
16	50	B	4	MONO/HETERO	não	não	não	sim (AG)	sim	sim	SP	HPV
17	43	M	2	MONO/HETERO	não	não	não	?	não	não	SP	HPV
18	22	M	7	POLI/HETERO	não	não	sim (HPV)	não	sim	sim	AV	HPV
19	32	B	1	MONO/HETERO	não	não	não	sim (AG)HPV	sim	não	não	não
20	27	B	7	MONO/HOMO	não	não	sim (HPV)	não	sim	sim	não	não
21	20	M	2	POLI/HETERO	não	não	não	não	sim	não	SP	não
22	22	M	7	POLI/HETERO	não	não	não	não	sim	sim	AV	não
23	27	M	1	MONO/HETERO	não	não	sim (HPV)	não	não	não	AV	não
24	67	N	1	POLI/HETERO	não	não	não	não	sim	não	AV	não
25	19	M	2	POLI/HETERO	não	não	não	não	sim	sim	AV	não
26	59	B	3	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	não	não	HPV
27	28	B	3	POLI/HETERO	não	não	não	não	sim	sim	não	não
28	34	M	1	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	não	AV	não
29	39	B	2	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	sim	AV	não
30	28	N	3	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	não	não	não
31	32	B	4	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	não	não	HPV
32	26	M	1	MONO/HETERO	não	não	não	não	sim	não	AV	HPV
33	33	B	1	POLI/HETERO	não	não	não	não	sim	sim	SP	HPV
34	29	B	3	MONO/HETERO	não	não	sim (HPV)	sim (AG) HPV	sim	não	AV	não
35	26	B	1	MONO/HETERO	não	Sim (HPV)	não	não	sim	sim	AV	não

AG= anogenital; AV= às vezes; B= branco; HETERO= heterossexual; HOMO= homossexual; M= mulato; MONO= monogâmicos; N= negro; O= oral; POLI= poligâmicos; SP= sempre. Linhas em laranja= pacientes excluídos da pesquisa. Linha em azul= único paciente com PCR positivo para HPV oral. ?: não determinado.

Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMS CSP

TABELA 4B: Resultado individualizado dos pacientes 16-35 (continuação)

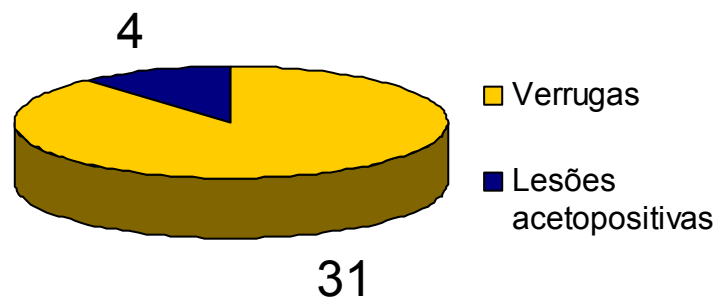
Nº do Paciente	Queixa oral atual/progressa	Diabetes	Hipertensão	Tabagismo	Etilismo	Drogas	Aspecto macroscópico lesão AG	Local lesão AG	AP lesão AG	Tipo HPV Lesão AG	Exame cavidade oral	AP lesão oral	PCR CAVIDADE ORAL
16	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	11,73	não	-	não
17	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	11	não	-	não
18	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	11	não	-	não
19	não	não	não	sim	sim	não	V	CP	CA	6	não	-	não
20	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	11	não	-	não
21	não	não	não	não	não	não	V	A	CA	6	não	-	não
22	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	6	não	-	não
23	não	não	não	sim	não	não	V	CP	CA	6	sim	CA	6
24	não	S	não	não	não	não	V	RI	CA	não	não	-	não
25	não	não	não	sim	não	sim	V	CP	CA	6	não	-	não
26	não	não	não	não	não	não	A+	CP	INFL	não	não	-	não
27	não	não	não	não	não	não	V	CP	INFL	6	não	-	não
28	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	6,53	não	-	não
29	não	não	não	não	não	sim	A+	CP	INFL	73	não	-	não
30	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	não	não	-	não
31	não	não	não	não	não	não	A+	CP	CA	6	não	-	não
32	não	não	não	não	não	não	A+	CP	INFL	não	não	-	não
33	não	não	não	não	não	não	V	CP	INFL	6	não	-	não
4	não	não	não	não	não	não	V	CP	INFL	11	não	-	não
35	não	não	não	não	não	não	V	CP	CA	6	não	-	não

A= anal; A+= lesão acetopositiva; AG= anogenital; CA= condiloma acuminado; CP= corpo do pênis; INFL= inflamação crônica inespecífica; RI= região inguinal; V= verruga. Linhas em laranja= pacientes excluídos da pesquisa. Linha em azul = único paciente com PCR positivo para HPV oral.

Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

Dos 35 pacientes, 88,6% (31/35) apresentaram verruga anogenital no exame físico, enquanto 11,4% (4/35) apresentaram lesão acetopositiva no exame de genitoscopia, como pode ser visto na fig 2.

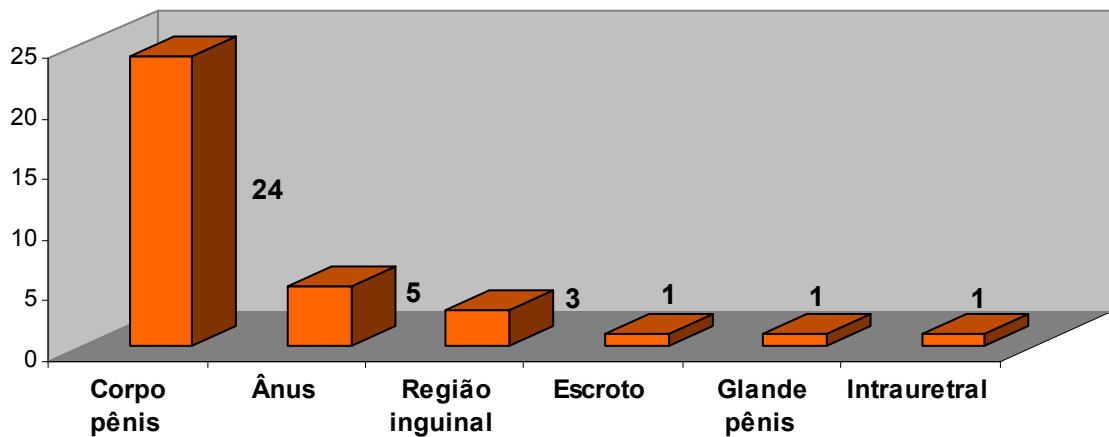
FIGURA 2: Lesões anogenitais: verrugas e lesões acetopositivas (n=35)



Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

Quanto à localização da lesão, 68,6% (24/35) situava-se no corpo do pênis, 14,2% (5/35) na região anal, 8,5% (3/35) na região inguinal, 2,9% (1/35) no escroto, 2,9% (1/35) na glândula do pênis e 2,9% (1/35) intrauretral (fig 3).

FIGURA 3: Localização das lesões anogenitais (n=35)

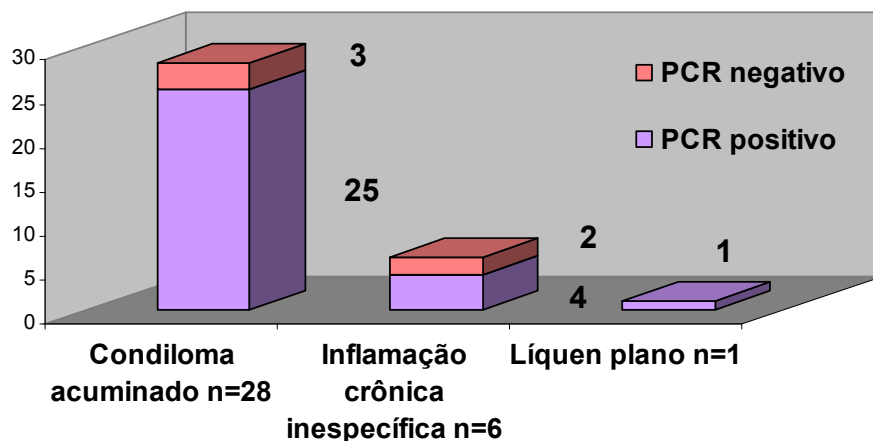


Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

O estudo histológico das amostras anogenitais evidenciou achados sugestivos de condiloma acuminado em 28 dos 35 dos pacientes (80% dos casos), porém em três destes casos não foi confirmada a presença de HPV pelo estudo por

biologia molecular, sendo sido, então, necessário a exclusão destes três pacientes (pacientes 9, 24 e 30 – tab 4A e 4B). Em seis dos 35 pacientes (pacientes 26, 27, 29, 32, 33 e 34) foram encontrados achados histológicos de inflamação crônica inespecífica, mas somente em dois deles não foi confirmada a presença de infecção por HPV por biologia molecular, os quais foram excluídos (pacientes 26 e 32). Em um paciente (paciente 3) foi diagnosticado líquen plano no estudo histológico da lesão anogenital, mas como este paciente teve HPV positivo pela análise por biologia molecular, ele não foi excluído do trabalho. Assim, cinco pacientes (pacientes 9, 24, 26, 30 e 32) foram excluídos da pesquisa pois a análise por biologia molecular da amostra anogenital não identificou o HPV. Os resultados histológicos e por biologia molecular das amostras anogenitais podem ser visualizados na fig 4.

FIGURA 4: Resultados histológicos e por biologia molecular das amostras anogenitais (n=30)



A associação entre os achados de coilocitose no estudo histológico e o resultado por biologia molecular pode ser vista na tab 5. A sensibilidade e

especificidade da coilocitose para identificar infecção pelo HPV, utilizando como

Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

padrão ouro o exame por biologia molecular, foi 83,3%, com IC (95%) de 64,5-93,7%) e 40% com IC (95%) de 7,3-83,0%, respectivamente.

TABELA 5: Correlação entre os achados de coilocitose e biologia molecular

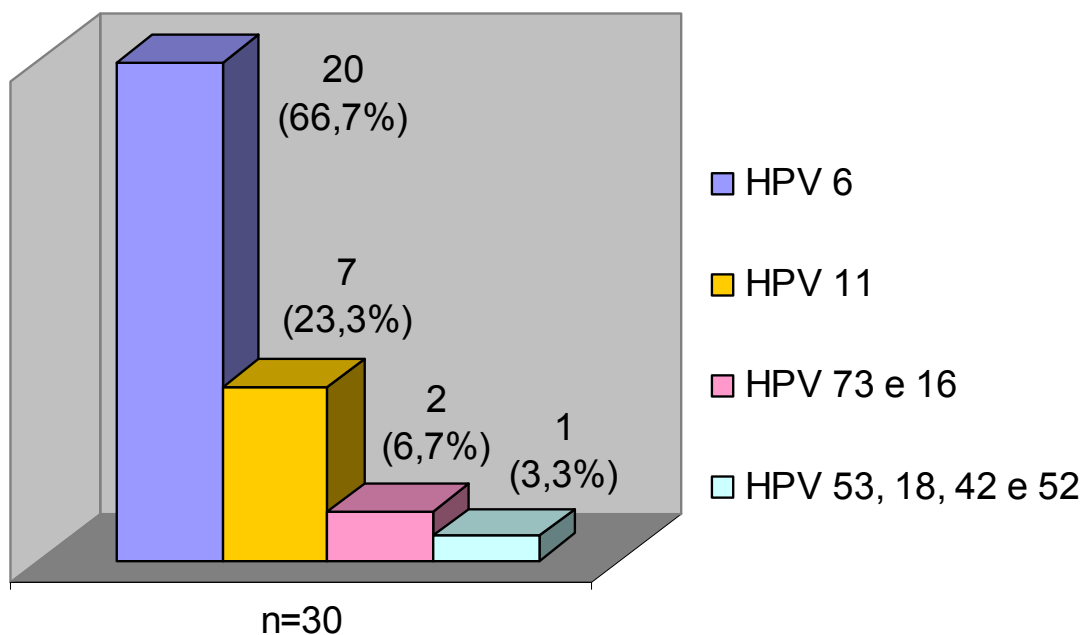
Coilocitose	Biologia Molecular	
	HPV positivo	HPV negativo
Presente	25	3
Ausente	5	2
Total	30	5

O HPV 6 foi tipo mais frequentemente encontrado na região anogenital, aparecendo em 66,7% dos casos (20/30). O segundo mais freqüente foi o HPV 11, encontrado em 23,3% dos casos (7/30). Outros tipos de HPV também foram

encontrados, tais como: HPV 73 e HPV 16 em 6,7% (2/30), HPV 53, HPV 18, HPV 42 e HPV 52 em 3,3% (1/30) (fig 5).

Em 4 pacientes foram encontrados mais de um tipo de HPV na amostra anogenital, que foram 42 e 52 ; 6,16 e 18; 11 e 73 ; 6 e 53.

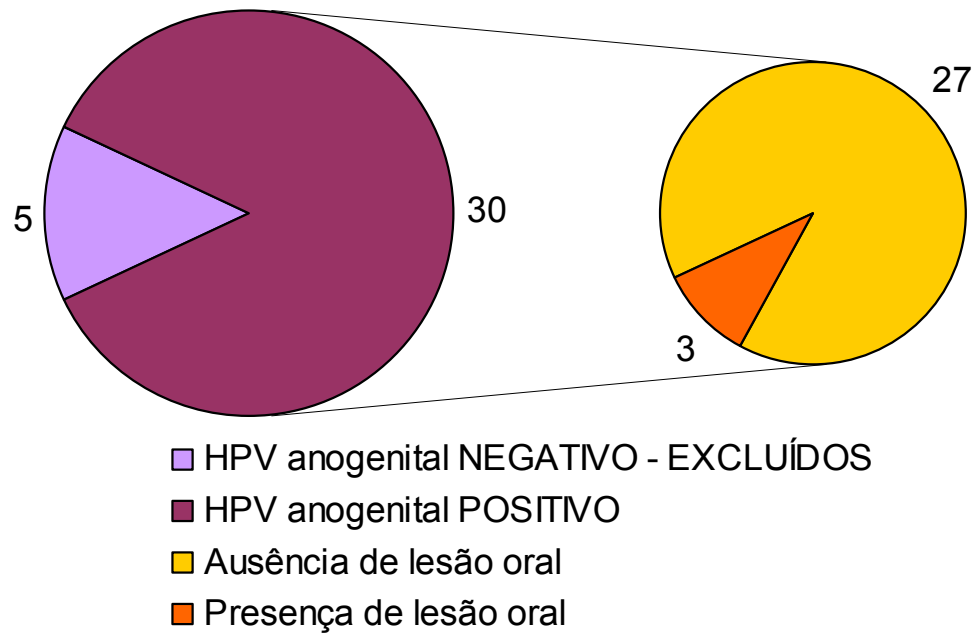
FIGURA 5: Tipos de HPV encontrados na região anogenital (n=30)



Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

Em relação à cavidade oral dos 30 pacientes com HPV anogenital confirmado por biologia molecular, 90% dos pacientes (27/30) apresentaram exame macroscópico normal e em 10% dos pacientes (3/30) foram observadas lesões, as quais foram submetidas a biópsias excisionais (pacientes 4, 7 e 23) (fig 6).

FIGURA 6: Resultado do exame da cavidade oral dos 30 pacientes com HPV anogenital



Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

As lesões orais encontradas em três pacientes serão detalhadas a seguir.

O paciente 4 (fig 7) apresentava lesão leucoplásica na mucosa do vestíbulo da boca à esquerda de aproximadamente 1,0 x 0,5 cm, de superfície lisa e não elevada, cujo diagnóstico histológico foi condiloma acuminado.

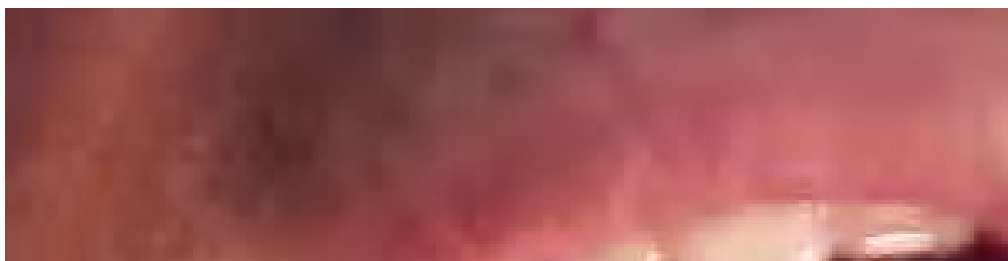
FIGURA 7: Caso 4 - Lesão na mucosa do vestíbulo da boca

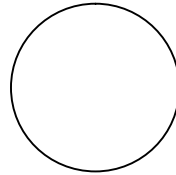


Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

O paciente 7 (fig 8) apresentava lesão em rebordo lingual esquerdo de 0,5 x 0,5 cm, circular, de superfície lisa, com coloração rósea e contornos mais elevados e esbranquiçados, cujo diagnóstico histológico foi processo inflamatório crônico inespecífico.

FIGURA 8: Caso 7 - Lesão em língua





Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

O paciente 23 (fig 9) apresentava lesão em frênulo da língua de aspecto vegetante, com base séssil, coloração rósea, superfície irregular de aproximadamente um cm de diâmetro, cujo diagnóstico histológico foi condiloma acuminado.

FIGURA 9: Caso 23 - Lesão em frênulo da língua

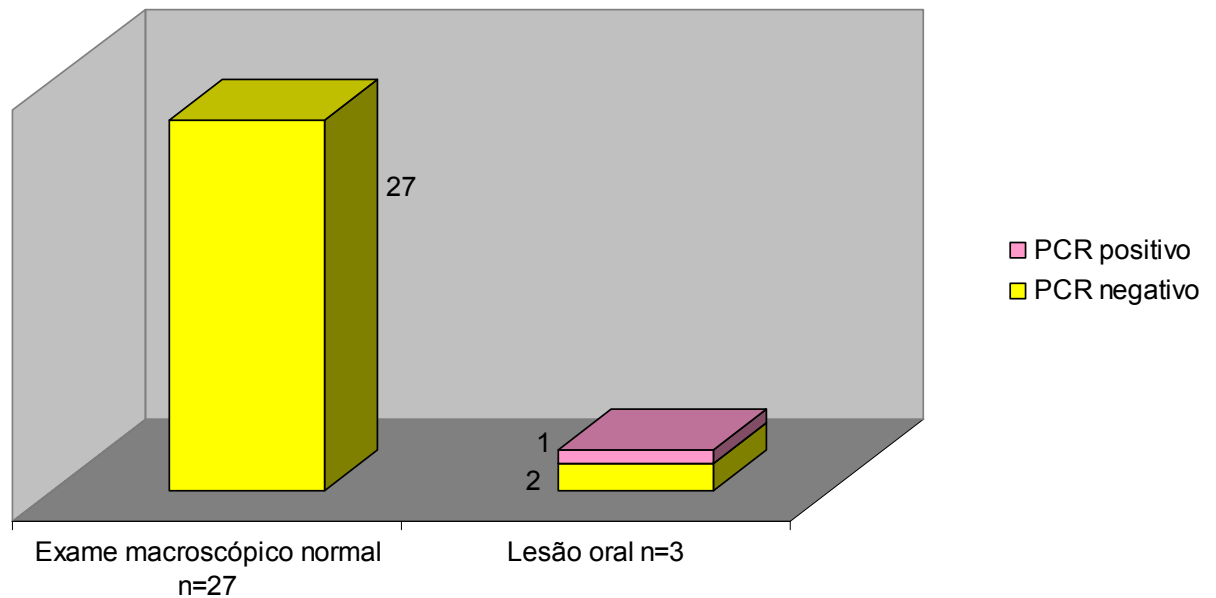


Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

Em relação ao estudo por biologia molecular, as amostras obtidas por raspado da cavidade oral foram todas negativas para HPV. Já nos pacientes com lesão oral, o estudo por biologia molecular para HPV foi negativo nos pacientes 4 e 7 e positivo (HPV 6) no paciente 23 (fig 10).

Assim, a frequência de aparecimento de HPV oral em pacientes com HPV anogenital foi 3,3% com IC (95%) de 0,2 a 19,1%.

FIGURA 10: Resultado do estudo por biologia molecular nas amostras da cavidade oral (n=30)



Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

4.1. Caracterização da amostra

A amostra a seguir descrita compreende 30 pacientes, já tendo sido excluídos os 5 pacientes com lesão anogenital com diagnóstico por biologia molecular negativo para HPV.

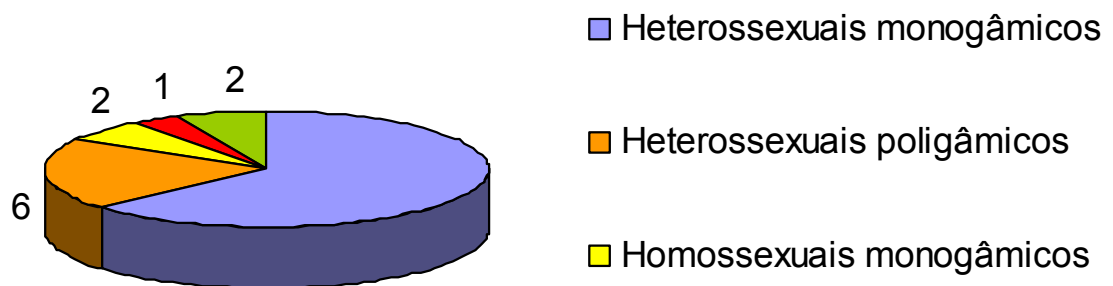
A média de idade dos casos estudados foi de 29,3 anos, variando de 18 a 56 anos, com desvio-padrão de 10,4.

Em relação à raça, 46,7% (14/30) eram mulatos, 46,7% (14/30) eram brancos e 6,7% (2/30) eram negros.

Quanto a vícios, 23,3% (7/30) eram tabagistas, 10% (3/30) eram etilistas e 6,7% (2/30) eram usuários de drogas.

Em relação aos parceiros sexuais, 63,3% (19/30) relataram ser heterossexuais monogâmicos, 20% (6/30) heterossexuais poligâmicos, 6,7% (2/30) homossexuais monogâmicos, 3,3% (1/30) homossexuais poligâmicos e 6,7% (2/30) não tinham parceiros sexuais nos últimos 6 meses (Fig 11).

FIGURA 11: Orientação sexual dos pacientes estudados (n=30)

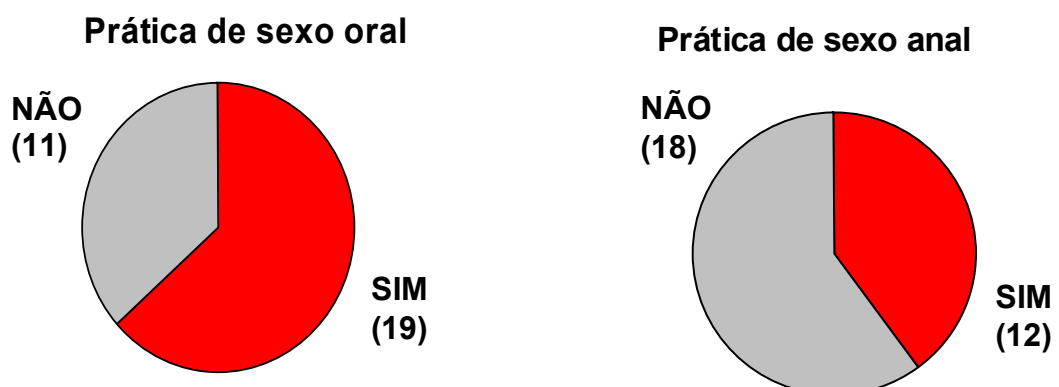


Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

Quando questionados a respeito de seu(s) parceiro(s) atual(is), todos negaram lesão oral atual ou pregressa, 86,6% (26/30) negaram HPV anogenital no momento e 96,6% (29/30) negaram HPV pregresso. Quando questionados a respeito de seu(s) parceiro(s) pregresso(s), 66,6% (20/30) negaram lesão anogenital e/ou oral, 25% (5/30) não sabiam à respeito e 25% (5/30) relataram lesões anogenitais e/ou orais.

Sessenta e três por cento (19/30) relataram que praticam sexo oral e 36,7% (11/30), não. Quarenta por cento (12/30) relataram que praticam sexo anal e 60% (18/30), não (fig 12).

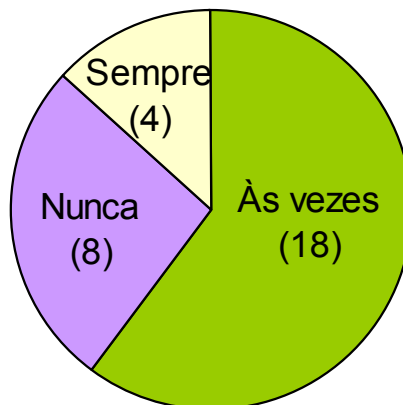
FIGURA 12: Prática de sexo oral e anal pelos pacientes estudados (n=30)



Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

Quanto ao uso de preservativo, 60% (18/30) responderam que “às vezes” o utilizam, 26,7% (8/30) responderam “nunca” e 13,3% (4/30) responderam que “sempre” o utilizam (fig 13).

FIGURA 13: Freqüência do uso de preservativo pelos pacientes estudados (n=30)



Fonte: Departamento de Dermatologia da FCMSCSP

Quanto a antecedente pessoal de lesão anogenital por alguma DST, 23,3% (7/30) afirmaram já terem tido HPV anogenital e 3,3% (1/30) afirmou ter tido gonorréia.

Nenhum paciente, nem mesmo aqueles com lesão oral macroscópica, referiram alguma queixa oral atual ou pregressa.

O único paciente que apresentou exame por biologia molecular positivo para HPV na cavidade oral (paciente 23) tinha 27 anos e referia ser heterossexual monogâmico; relatava parceira atual com lesão anogenital por HPV, porém negou prática de sexo oral. Às vezes fazia uso de preservativo e era tabagista. Sua lesão genital era uma verruga em corpo de pênis e os tipos de HPV encontrados foram do tipo 6 tanto na região genital quanto na cavidade oral.

5. DISCUSSÃO

Na nossa casuística, após a exclusão de cinco pacientes que apresentaram estudo por biologia molecular negativo para HPV na amostra anogenital, restaram 28 pacientes (93%) com lesão clínica e dois (7%) com lesão subclínica anogenital pelo HPV.

Os tipos de HPV mais encontrados na região anogenital dos pacientes com lesão clínica foram os tipos 6 (66,7%) e 11 (23,3%), que são os de baixo-risco ou “benignos” (Zur Hausen, De Villiers, 1994). Estes achados são condizentes com a literatura, que relata que são esses dois tipos os mais freqüentes em condilomas anogenitais (Reid et al, 1987; De Villiers, 1989; Syrjänen, Syrjänen, 2000).

Nos dois pacientes com lesão subclínica anogenital (pacientes 29 e 31) os HPV's encontrados na região anogenital foram tipo 6 e 73. Em um estudo com homens brasileiros com lesão subclínica anogenital por HPV, o HPV 16 foi o mais freqüentemente encontrado, seguido do HPV 18 (Franceschi et al, 2002).

Foram excluídos todos os pacientes com estudo por biologia molecular negativo para HPV na amostra anogenital independente da presença de coilocitose no exame histológico, apesar desta última ser considerada, por alguns autores, como achado patognomônico de HPV (Premoli-de-Percoco et al, 1993; Fornatora et al, 1996). A sensibilidade e especificidade do achado histológico da coilocitose é 88,9% e 29,41% respectivamente (Salvia et al, 2004), dados que se aproximam dos encontrados neste estudo (sensibilidade de 83,3% e especificidade de 40%). Estes resultados demonstram a necessidade de métodos mais precisos para a detecção do HPV (Salvia et al, 2004; Xavier et al, 2005).

Os métodos diagnósticos por hibridização são os métodos mais confiáveis para a detecção do HPV (Carvalho, 1999; Syrjänen, Syrjänen, 2000).

Syrjänen e Syrjänen (2000) acreditam que o melhor método de detecção do HPV seja a associação do PCR com algum outro método de hibridização para diminuir resultados falsos-positivos, como foi feito no presente estudo (PCR seguido de HR).

No exame de PCR, foi utilizado um sistema de *primer consensus* que se acopla na região L1 (região "tardia") do genoma do HPV e, segundo Bovicelli et al (2000), é o que tem maior sensibilidade e especificidade. O *primer consensus* utilizado foi o MY09/MY11, que é um dos mais utilizados dentre os que se acoplam na região L1 do HPV (Gravitt et al, 1998, 2000).

Foram excluídos pacientes com diabetes, portadores do HIV e com doenças do sistema linfoproliferativo como leucemia e linfoma, pois estas doenças podem alterar o sistema imunológico, levando a imunodeficiência. Também foram excluídos pacientes em uso de drogas imunossupressoras pela mesma razão. Sabe-se que os pacientes com imunodeficiência têm risco aumentado de infecção por HPV (Schneider et al, 1987; Caussy et al, 1990; Beutner et al, 1991; Ho et al, 1998; Kreimer et al, 2004), o que causaria um viés no presente estudo.

O HPV pode infectar várias regiões do nosso corpo como a pele, a cavidade oral, a laringe e a região anogenital (Garlick, Taichman, 1991) e é considerada uma DST muito freqüente na população (Koutsky et al, 1998; Nonnenmacher et al, 2002; Carvalho, 2004; Magi et al, 2006).

Segundo alguns autores (Cohen et al, 1990; Smith et al, 2004), a auto-inoculação pode ser um meio de transmissão do HPV, ou seja, a partir de infecções na pele ou na região anogenital pode ocorrer infecção na cavidade oral, assim como por sexo oral (Yoshpe, 1995) e pela via materno-fetal (Smith et al, 1991). No entanto, há discussão na literatura à respeito da importância destes modos de propagação da infecção pelo HPV para a cavidade oral (Maden et al, 1992; Winer et al, 2003; Smith et al, 2004).

Poucos trabalhos existem na literatura a respeito da relação HPV anogenital e sua concomitância na cavidade oral de um mesmo indivíduo (Kellokoski et al, 1990b, 1992 a,b; Van Doornum et al, 1992; Panici et al, 1992; Giraldo et al, 1996; Sarruf, Dias, 1997; Badaracco et al, 1998; Cañadas et al, 2004; Smith et al, 2004), com resultados bastante discrepantes entre si.

Em alguns destes trabalhos (Kellokoski et al, 1992a,b; Badaracco et al, 1998; Smith et al, 2004), tentou-se averiguar a concordância dos tipos de HPV nas regiões

anogenital e oral e os resultados variaram de 0 a 30%. No presente estudo, no único paciente com HPV oral (paciente 23), houve concordância do tipo de HPV oral e anogenital – em ambos locais foi encontrado HPV tipo 6. No início desta pesquisa, o intuito era, além de sabermos sobre a freqüência de aparecimento de HPV oral em homens com HPV anogenital, também relatar à respeito da concordância entre os tipos de HPV oral e anogenital em um mesmo indivíduo. No entanto, como somente um paciente apresentou HPV oral, não houve material suficiente para abordar tal aspecto.

Em todos estes trabalhos encontrados na literatura foram estudadas mulheres, somente em três deles foram estudados os dois sexos (Van Doornum et al, 1992; Panici et al, 1992; Sarruf, Dias, 1997), mas em nenhum deles foram estudados somente pacientes do sexo masculino como na presente pesquisa.

Dentre estes trabalhos, não há homogeneidade na técnica utilizada para detecção do HPV e no tipo de coleta do material anogenital e oral, o que dificulta a comparação dos resultados apresentados.

No presente estudo, utilizamos o estudo por biologia molecular com PCR e HR e encontramos 3,3% de freqüência de aparecimento de HPV oral em pacientes com HPV anogenital. Estudos que também utilizaram PCR como método de detecção do HPV, com (Kellokoski et al, 1992b) ou sem (Van Doornum et al, 1992; Badaracco et al, 1998; Cañadas et al, 2004; Smith et al, 2004) outro método de hibridização associado, apresentaram freqüência de aparecimento de HPV oral variando de 0 a 50%. Assim, o valor encontrado neste estudo (3,3%) não se distancia dos valores já observados na literatura, porém como estes últimos mostram uma grande variação, torna-se muito complexa a análise comparativa com os resultados deste estudo.

Há várias possibilidades que podem justificar a baixa frequência de aparecimento de HPV nas amostras da cavidade oral, que são:

A) Subdiagnóstico das infecções latentes

Para relatar à respeito das infecções latentes, é importante remeter ao modo de coleta de material da cavidade oral: o raspado.

O raspado, método escolhido em 27 pacientes que não apresentavam lesões orais, é um bom método para detecção de HPV na mucosa oral macroscopicamente normal (Lawton et al, 1992). Segundo este autor, o HPV tem estatisticamente mais chance de ser detectado por bochecho ou raspado se comparado com biópsia, sendo que o raspado e o bochecho não apresentam diferença estatisticamente significativa entre si na detecção do HPV. São métodos não invasivos e permitem que a amostra seja representativa de toda a mucosa oral, o que é bastante importante uma vez que as infecções por HPV tendem a ser multifocais na mucosa alvo (Maitland et al, 1987). Porém, com o raspado, há extração somente de células superficiais do epitélio as quais se infectam na vigência de infecção subclínica e clínica. Em contraste, não há remoção de células das camadas basal e supra-basal onde o vírus se aloja nas infecções latentes (Jalal et al, 1992).

Assim, uma vez utilizado o raspado para extração de material da cavidade oral, não foram identificadas as infecções latentes, somente as subclínicas e clínicas, o que pode ter gerado resultados falso-negativos. Realmente, a única amostra positiva na cavidade oral foi obtida por biópsia, pois se tratava de uma lesão clínica (paciente 23).

Mas qual seria o papel das infecções latentes na cavidade oral? Não acreditamos que seja relevante o achado de infecções latentes por HPV na mucosa oral por alguns motivos:

A1) Para ocorrer transmissão do HPV é necessária liberação de partículas virais da célula alvo do hospedeiro, o que geralmente só ocorre após a saída da célula alvo das camadas basais do epitélio, ficando exfoliada, solta na superfície (Howley, 1982,1983; Chang et al, 1991). Deste modo, as infecções latentes, restritas às camadas basais do epitélio, não seriam transmissíveis e, portanto, sem grande importância epidemiológica;

A2) Apesar da estabelecida relação do HPV com carcinoma de colo de útero (Walboomers et al, 1999), não há consenso na literatura à respeito do papel do HPV na carcinogênese oral, sem definição quanto ao risco de malignização das infecções latentes (Garlick, Taichman, 1991; Miller, Johnstone, 2001; Castro, 2004);

A3) Não há indicação de tratamento clínico ou cirúrgico para as infecções latentes pelo HPV e não há como prever se estas infecções se transformarão, ou não, em infecções subclínicas ou clínicas. A transição de uma infecção latente para uma lesão subclínica e clínica é resultado de múltiplas influências que incluem a permissividade do epitélio à proliferação do HPV, a competência imunológica do indivíduo, os efeitos de trauma local, efeitos hormonais e outras infecções virais concomitantes (Jenison et al, 1990). A frequência de aparecimento de HPV na cavidade oral normal é muito variável na literatura (Maitland et al, 1987; Löning et al, 1987; Scully et al, 1987; Brandsma, Abramson, 1989; Chang et al, 1989; Jenison et al, 1990; Yeudall, Campo, 1991; Jalal et al, 1992; Lawton et al, 1992; Maden et al, 1992; Cox et al, 1993; Fouret et al, 1995; Oswald et al, 1994; Mao, 1995; Eike et al, 1995; Nielsen et al, 1996; Cruz et al, 1996; Mao et al, 1996; Lambropoulos et al,

1997; Gopalakrishnan et al, 1997; Schwartz et al, 1998; Smith et al, 1998; Terai et al, 1999; Bouda et al, 2000; Jimenez et al, 2001; Klusmann et al; 2001; Sugiyama et al, 2003; Zhang et al, 2004; Kurose et al, 2004; Rose et al, 2006; Kinsky et al, 2006). Estudos prospectivos seriam importantes para avaliar a evolução dos pacientes com infecção latente pelo HPV. Deste modo, no atual momento, acreditamos que diagnosticar infecção oral latente pelo HPV não traria benefício real para o paciente, pelo contrário, poderia trazer prejuízo psicológico ao mesmo, o qual poderia ficar amedrontado com a possibilidade de desenvolver, no futuro, uma lesão oral ou transmitir o vírus para seu parceiro.

B). Subdiagnóstico das infecções subclínicas

No colo do útero, a utilização do ácido acético na identificação de áreas acetobranças é um método rotineiro na pesquisa colposcópica das lesões subclínicas associadas ao HPV (Jacynto et al, 1994; Sellors, Sankaranarayanan, 2003). De acordo com achados da colposcopia, passou-se a acreditar que os mesmos aspectos poderiam ser observados em outras áreas do corpo infectadas pelo HPV, como a cavidade oral (Panici et al, 1992).

Não utilizamos o ácido acético na cavidade oral, pois nesta região, seu uso leva a uma impregnação difusa da mucosa do vestibulo da boca e, deste modo, a identificação de áreas acetobranças não pode ser considerada um critério indicativo de infecção por HPV na cavidade oral (Kellokoski et al, 1990a; Sarruf, Dias, 1997).

O contato com tabaco, álcool e sexo oral, por exporem a mucosa oral a trauma mecânico e químico, podem justificar a facilidade da mucosa oral em se corar com o ácido acético em baixas concentrações (Newcomer, Udry, 1985).

Não foi utilizado colposcópico no exame da cavidade oral, optando-se somente pelo exame à vista desarmada. Segundo Panici et al (1992), o colposcópico é um instrumento importante no exame da cavidade oral uma vez que aumenta a sensibilidade de detecção de áreas com o vírus. No entanto, os critérios colposcópicos utilizados na cavidade oral foram os mesmos que os utilizados na região anogenital. Sabendo sobre a ineficácia do ácido acético na cavidade oral (Kellokoski et al, 1990a; Sarruf, Dias, 1997), realmente questionamos se não seria importante uma adequação dos critérios colposcópicos para esta região. Assim, foi optado por não utilizar o colposcópico na cavidade oral por falta de embasamento na literatura à seu respeito até o momento. Acreditamos que devam ser realizados mais estudos sobre a utilização dos critérios colposcópicos da região anogenital e sua adequação na cavidade oral.

No entanto, nos dois únicos trabalhos encontrados na literatura (Panici et al, 1992; Badaracco et al, 1998) que utilizam o colposcópico para diagnóstico de lesões associadas ao HPV na cavidade oral, as freqüências de aparecimento de HPV foram muito maiores se comparadas com o presente estudo e com os demais trabalhos que não utilizaram o colposcópico, podendo sugerir que o uso deste aparelho possa aumentar a sensibilidade diagnóstica no estudo do HPV na cavidade oral.

C) A saliva

Segundo Ochert et al (1994), alguns componentes da saliva poderiam inibir a detecção do HPV por método de PCR.

Há ainda a possibilidade da saliva ter um papel protetor contra infecções devido a presença de agentes antimicrobianos como as lisozimas, lactoferrina, IgA e citocinas segundo Miletic et al (1996).

D) O epitélio da cavidade oral

O epitélio pavimentoso estratificado da boca, em algumas áreas queratinizado, pode ser uma barreira para infecção por HPV, fazendo com que seja mais difícil o vírus atingir as camadas mais basais do epitélio como faz no trato genital (Smith et al, 2004).

E) Infecção transitória do HPV

Há possibilidade de ocorrer infecção por HPV na cavidade oral de modo transitório ou flutuante, assim como pode ocorrer no trato genital (Terai et al, 1999; Smith et al, 2004). Assim, a ausência de HPV na cavidade oral nas amostras pesquisadas podem refletir uma fase onde já houve desaparecimento da infecção local por HPV.

Alguns autores observaram baixa concordância entre os tipos de HPV encontrados nas regiões genitais de parceiros sexuais (Beutner et al, 1991; Kellokoski et al, 1992a,b; Franceschi et al, 2002; Smith et al, 2004). Para Beutner et al (1991) esta baixa concordância deve-se a uma provável diferença na atividade

biológica do vírus em homens e em mulheres, sendo que o homem tem maior tendência a um curso flutuante da infecção, com períodos de remissão espontânea, que pode ser decorrente do status imunológico, de fatores locais e das diferentes formas de organização do epitélio genital em ambos os sexos.

F) Baixa transmissibilidade por sexo oral e baixa freqüência de auto-inoculação

Não se conhece claramente ainda o processo de transmissão deste vírus para a mucosa oral. Supõe-se que seja por auto-inoculação (Cohen et al, 1990; Smith et al, 2004) ou pela da prática de sexo oral (Yoshpe, 1995).

Smith et al (2004) acreditam que a baixa freqüência de auto-inoculação justifica o fato da infecção oral por HPV não ser freqüente em muitos estudos.

Neste trabalho, o único paciente com HPV oral negou prática de sexo oral, o que condiz com alguns autores (Maden et al, 1992; Winer et al, 2003) os quais afirmam que não há indicação clara de que homens que praticam sexo oral tenham maior predisposição à infecção oral por HPV do que aqueles que nunca praticaram.

Os resultados deste trabalho mostram que a freqüência de aparecimento de HPV na cavidade oral em pacientes com HPV anogenital é baixa, com valor de 3,3% e IC (95%) de 0,2 a 19,1%.

Do ponto de vista prático, esta constatação é de fundamental importância para os pacientes com HPV anogenital, que têm extrema preocupação em relação à transmissibilidade do vírus para seu(s) parceiro(s) e também para outros locais de seu corpo. A partir do resultado desta pesquisa, acreditamos que possa não haver necessidade de exame da cavidade oral de rotina para investigação de infecção por

HPV em pacientes assintomáticos do ponto de vista otorrinolaringológico e que tenham HPV anogenital. A existência de uma infecção anogenital por HPV não parece predispor o indivíduo a ter infecção oral por HPV e, ainda, o achado de infecção latente poderia trazer preocupação ao paciente, sem outros ganhos no desenrolar do seu tratamento.

Por fim, há necessidade de realizar estudos com maior número de pacientes, a fim de esclarecer se há concordância entre os tipos de HPV oral e anogenital.

6. CONCLUSÃO

A frequência de aparecimento de HPV na mucosa oral de homens com HPV anogenital, confirmado por biologia molecular, é baixa (3,3%).

7. ANEXOS

ANEXO 1

Termo de consentimento livre e esclarecido

Eu, Sandra Doria Xavier, portadora do CIC 26909474805, RG 236201876, residente na cidade de São Paulo – SP, cujo telefone de contato é (11) 99720009, vou desenvolver uma pesquisa cujo título é “Frequência de aparecimento de papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de homens com HPV anogenital confirmado por biologia molecular”.

O objetivo deste estudo é saber quantas pessoas que já têm lesão pelo vírus do HPV na região anogenital – pênis, escroto, região inguinal e ânus - possuem este mesmo vírus na cavidade oral, com ou sem lesão visível a olho nu, para que

possamos entender se, uma pessoa com uma região infectada no corpo, outras regiões como a boca podem estar albergando o vírus e, assim, sendo fonte de persistência da doença ou reinfecção.

Sua participação nesta pesquisa é voluntária e constará de um exame com luz comum da sua boca, no qual procurarei por alguma lesão nesta região. Caso seja encontrada alguma lesão, a mesma será fotografada e removida sob anestesia local – lidocaína 2% – e, se necessário, são dados pontos com fio que não é necessário sua remoção posterior. É um procedimento simples, de poucos minutos, sem necessidade de internação. Caso não seja encontrada nenhuma lesão, será colhido um raspado com espátula de madeira da sua boca, sem necessitar de anestesia porque é totalmente indolor, para coleta de material para a mesma análise. Este procedimento não ocasionará nenhuma influência no seu tratamento do HPV genital.

Sua participação não trará qualquer benefício direto, mas proporcionará um melhor conhecimento a respeito da infecção pelo HPV nas diferentes regiões de mucosa do nosso corpo.

Não existe outra forma de obter dados com relação ao procedimento em questão e que possa ser mais vantajoso.

Informo que o Sr(a) tem a garantia de acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo – SP.

Também é garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo.

Garanto que as informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum dos participantes.

O Sr(a) tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas e caso seja solicitado, darei todas as informações que solicitar.

Não existirão despesas ou compensações pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Eu me comprometo a utilizar os dados coletados somente para pesquisa e os resultados serão veiculados através de artigos científicos, em revistas especializadas e/ou em encontros científicos e congressos, sem nunca tornar possível sua identificação.

Abaixo está o consentimento livre e esclarecido para ser assinado caso não tenha ficado qualquer dúvida.

Acredito ter sido suficiente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o trabalho “Frequência de aparecimento de papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de homens com HPV anogenital confirmado por biologia molecular”. Eu discuti com a médica Dra. Sandra Doria Xavier sobre minha decisão em participar deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso aos resultados e de esclarecer minhas dúvidas a qualquer tempo. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a

qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Data:

Assinatura do paciente ou responsável legal

Assinatura do pesquisador

ANEXO 2

Genitoscopia

1º tempo: Exame do pênis à vista desarmada, pesquisando-se condilomas acuminados, por vezes minúsculos, e pápulas cor da pele, transparentes, vermelhas, róseas, leucoplásicas ou pigmentadas.

2º tempo: O pênis foi envolto com gaze embebida em ácido acético a 5%, cobrindo sua superfície e elevando o prepúcio. O processo foi estendido até a região escrotal e anal. Aguardaram-se três a cinco minutos.

3º tempo: Avaliação com colposcópio.

4º tempo: Biópsia das lesões suspeitas.

5º tempo: Avaliação da uretra distal com colposcópio e biópsia de lesões suspeitas.

ANEXO 3

Protocolo de Extração de DNA

- 1) Descongelar os tecidos e, com o auxílio de uma lâmina, fracionar o tecido, colocar em um tubo eppendorf de 1.5 ml;
- 2) No caso das amostras com PBS, centrifugar por 2 minutos para formar um pellet e retirar o sobrenadante;
- 3) Adicionar em todas as amostras, 200 µl de Tampão de Proteinase K - TEP (10 mM de Tris-HCL; 1 mM de EDTA; 200 µg/ml de Proteinase K);
- 4) Homogenizar e incubar os tubos em banho-maria a 50° C por 48 horas.
- 5) Homogenizar ocasionalmente e dar um spin para sedimentar o material.
- 6) Após 24 horas de incubação, adicionar mais 50 µl de TEP.
- 7) Após o período de incubação com o TEP, deve ser inativada a 96° C por 15 minutos em banho-seco.
- 8) Adicionar 200 µl de Acetato de amônio 6M pH 8.5.
- 9) Agitar por 20 segundos e centrifugar a 12000 rpm por 15 minutos.
- 10) Remover cuidadosamente o sobrenadante e transferir para um tubo novo
- 11) Adicionar 600 µl de isopropanol gelado, deixar até o dia seguinte a 20° C.
- 12) Após este período centrifugar os tubos a 12000 rpm por 15 minutos em centrífuga refrigerada.
- 13) Descartar o sobrenadante e adicionar 1 ml de etanol 70%.

- 14) Homogenizar por inversão e repetir a centrifugação de 12000 rpm por 15 minutos por mais 2 vezes.
- 15) Inverter completamente os tubos após a última centrifugação, descartando o sobrenadante e deixando-o secar na mesma posição sobre papel absorvente.
- 16) O DNA deverá ser ressuspenso em 50 µl de TE pH 7,5.
- 17) Deixar uma noite na geladeira e depois congelar ou iniciar o processo de amplificação.

FONTE: Instituto Ludwig

ANEXO 4

Protocolo de Amplificação do DNA

As amostras foram tipadas pelo Kit da Roche – Roche Linear Array – Tipagem por hibridização reversa “*Line Blot*”.

Reação de PCR

- 1) Primers – PGMY 09 / 11 – 50 µM –(primers biotinilados que amplificam fragmentos de 450 pb da Região L1 ORF de HPVs genital.
- 2) Primers B-GH20 / BPCO4 – 50 µM – (primers biotinilados que amplificam fragmentos 268 pb do gene da β-globina humana.
- 3) 10X PCR buffer
- 4) dNTPs Blend (10mM ea. dATP, dCTP, dGTP e 30 mM dUTP)
- 5) MgCl₂ 25 Mm
- 6) TaqGold – AmpliTaqGold –(5 U/µl)
- 7) DNA – 4 µl
- 8) Água Milli – Q para completar um volume final de 50 µl.

Programa de Amplificação

- 1) Hold – 95° C – 9 min. – 1 ciclo
- 2) Ciclos – 95° C – 30 segs; 55° C 1 min.; 72° C 1 min. - 40 ciclos
- 3) Hold – 72° C - 5 min. – 1 ciclo
- 4) Hold– 4° C over night
- 5) Após a amplificação, correr um gel agarose 1% para verificar se todas as amostras amplificaram.

FONTE: Instituto Ludwig

ANEXO 5

Detecção das amostras

Após amplificação por PCR, a amostra amplificada com os primers específicos para HPV e β -globina são desnaturados quimicamente para formar um DNA de cadeia simples, através da adição de Solução de Desnaturação. A amostra desnaturada é transferida para o reservatório adequado da bandeja de tipagem, que contém tampão de hibridização e uma única Tira de Genotipagem para HPV, esta tira está revestida com bandas da sonda para HPV e β -globina. A amostra amplificada já marcada com biotina só irá hibridizar com as sondas oligonucleotídicas se ela contiver a seqüência correspondente da sonda complementar.

- 1) Aquecer o banho-maria com agitação a 53° C;
- 2) Aquecer solução lavagem e solução hibridização a 53° C;
- 3) Numa placa de 96 wells, colocar 40 ul do produto PCR mais 40 ul de solução de desnaturação. Deixar desnaturando por 10 min. em temperatura ambiente;
- 4) Identificar e acondicionar as tiras nas bandejas;
- 5) .Adicionar 3 ml de solução hibridização aquecida a 53° C para cada tira e aplicar 75 ul do produto de PCR sobre a tira correspondente a amostra. Deixar no banho-maria a 53 C com agitação por 40 minutos;
- 6) .Retirar (vácuo) a solução hibridização e lavar com 3 ml solução de lavagem a temperatura ambiente;
- 7) .Adicionar 3 ml de solução lavagem a 53 C e incubar em banho-maria com agitação durante 15 minutos;

- 8) Retirar(vácuo) a solução lavagem e adicionar 3 ml conjugado (SA-HRP-Streptavidin-horseradish peroxidase conjugate), deixar 30 minutos a temperatura ambiente com agitação;
- 9) Lavar com 3 ml solução lavagem a temperatura ambiente;
- 10) Colocar 3 ml sol. lavagem e agitar por 10 minutos a temperatura ambiente;
- 11) Aspirar (vácuo) a solução e colocar 3 ml solução de lavagem, agitar por 10min. a temperatura ambiente;
- 12) Aspirar (vácuo) a solução de lavagem e colocar 3 ml citrato de sódio 0.1M, deixar agitar por 15 minutos a temperatura ambiente;
- 13) Aspirar (vácuo) o citrato de sódio e colocar o Develop (solução de revelação – substrato A – citrato de sódio e 0,01% de H₂O₂; substrato B – 0,1% 3,3',5,5' Tetramethylbenzidine (TMB) em Dimethylformamide (DMF) a 40%), deixar agitar por 5 minutos a temperatura ambiente;
- 14) Aspirar (vácuo) o Develop, lavar com água para retirar o excesso de revelador e colocar 3 ml citrato de sódio 0.1M para cada tira;
- 15) Fazer a leitura através da intensidade de cor azul de cada linha, seguindo o padrão de tipos de HPV dado pelo kit, através de um esquema;
- 16) Após o processo de hibridização, a Tira de Genotipagem é lavada para remover qualquer material não ligado. Depois é adicionado o conjugado Estreptoavidina-Peroxidase à tira, após 30 minutos o conjugado liga-se a amostra marcada com biotina hibridizado com as sondas oligonucleotídicas, que se encontram na tira. A tira é lavada para remover o conjugado não ligado e uma solução de substrato contendo peróxido de hidrogénio e 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidina (TMB) é adicionada a cada tira. Na presença de peróxido de hidrogénio, a estreptoavidina-peroxidase que se encontra ligada, catalisa a oxidação de TMB para formar um complexo de coloração azul, que precipita nas posições da sonda onde ocorre hibridização. A Tira de Genotipagem é lida visualmente, comparando o padrão de bandas azuis com o guia de referência do teste.

ANEXO 6**Questionário**

NOME: _____ Registro: _____

Data: _____

Sexo: _____

Idade: _____

Raça: _____

Vícios: Cigarro: _____ Bebida alcoólica: _____ Uso de drogas: _____

Medicação em uso: _____

Queixa oral atual: _____

Lesão anogenital pregressa ou atual por HPV: _____

Lesão oral pregressa por HPV: _____

Frequência das atividades sexuais: _____

Sexo oral: _____

Sexo anal: _____

Número de parceira(o) atualmente: _____

Parceira(o) atual com lesão anogenital ou oral por HPV: _____

Parceira (o) anterior com lesão anogenital ou oral por HPV: _____

Uso de preservativo: _____

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Badaracco G, Venuti A, Lonardo AD, Scambia G, Mozetti S, Panici PB, et al. Concurrent HPV infection in oral and genital mucosa. *J Oral Pathol Med.* 1998; 27:130-4.

Beutner KR, Becker TM, Stone KM. Epidemiology of human papillomavirus infections. *Dermatol Clin.* 1991; 9:211-8.

Bouda M, Gorgoulis VG, Kastrinakis NG, Giannoudis A, Tsoli E, Danassi-Afentaki D, et al. "High risk" HPV types are frequently detected in potentially malignant and malignant oral lesions, but not in normal oral mucosa. *Mod Pathol.* 2000; 13:644-53.

Bovicelli A, Bristow RE, Montz FJ. HPV testing: Where are we now? *Anticancer Res.* 2000; 20:4673-80.

Brandsma JL, Abramson AL. Association of papillomavirus with cancers of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989; 115: 621-5.

Cañadas MP, Bosch FX, Junquera ML, Ejarque M, Font R, Ordoñez E, et al. Concordance of prevalence of human papillomavirus DNA in Anogenital and oral infections in a high-risk population. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(3):1330-2.

Carvalho JJM. Prevalência e padronização diagnóstica da infecção genital pelo HPV em homens atendidos em clínica urológica. Tese (Mestrado). São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 1999.

Carvalho JJM. Papilomavírus humano. In: Carvalho JJM. Manual prático do HPV: papilomavírus humano. São Paulo: Instituto Garnet; 2004. p.13-4.

Castro TMPPG. Prevalência do papilomavírus humano (HPV) na cavidade oral e na orofaringe. Tese (Mestrado). São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2004.

Caussy D, Goedert JJ, Palefsky J, Gonzalez J, Rabkin CS, Digioia RA, et al. Interaction of human immunodeficiency and papilloma viruses: association with anal epithelial abnormality in homosexual men. *Int J Cancer.* 1990; 46:214-9.

Chang F, Syrjänen S, Kellokoski J, Syrjänen K. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med.* 1991; 20:305-17.

Chang KW, Chang CS, Lai KS, Chou MJ, Choo KB. High prevalence of human papillomavirus infection and possible association with betel quid chewing and smoking in oral epidermoid carcinomas in Taiwan. *J Med Virol.* 1989; 28:57-61.

Cohen BA, Honig P, Androphy E. Anogenital warts in children. Clinical and virologic evaluation for sexual abuse (see comments). *Arch Dermatol.* 1990, 126:1575-80.

Cox M, Maitland N, Scully C. Human Herpes Simplex-1 and Papillomavirus Type 16 Homologous DNA sequences in normal, potentially malignant and malignant oral mucosa. *Oral Oncol Eur J Cancer.* 1993; 29B: 215-9.

Cruz IBF, Snijders PJF, Steenbergen RDM, Meijer CJLM, Snow GB, Walboomers JMM, et al. Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol Eur J Cancer.* 1996; 32B:55-62.

De Villiers EM. Heterogeneity of the human papillomavirus group. *J Virol.* 1989; 3:4898-903.

Eike A, Buchwald C, Rolighed J, Lindeberg H. Human papillomavirus (HPV) is rarely present in normal oral and nasal mucosa. *Clin Otolaryngol.* 1995; 20, 171-3.

Fornatora M, Jones AC, Kerpel S, Freedman P. Human papillomavirus associated oral epithelial dysplasia (koilocytic dysplasia): an entity of unknown biologic potential. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 82:47-56.

Fouret P, Martin F, Flahault A, Saint-Guily JL. Human papillomavirus infection in the malignant and premalignant head and neck epithelium. *Diagn Mol Pathol.* 1995; 4:122-7.

Franceschi S, Castellsagué X, Maso LD, Smith JS, Plummer M, Gelangel C, et al. Prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Br J Cancer.* 2002; 86:705-11.

Garlick JA, Taichman IB. Human papillomavirus infection of the oral mucosa. *Am J Dermatopathol.* 1991; 13: 386-95.

Giraldo PC, Simões JA, Ribeiro Filho DA, Tambascia JK, Dias ALV, Pacello PCC. Avaliação citológica da orofaringe de mulheres portadoras do HPV genital. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 1996; 18:737-42.

Gissmann L, Zur Hausen H. Partial characterization of viral DNA from human genital warts (condiloma acuminata). *Int J Cancer.* 1980; 25:605-9.

Gopalakrishnan R, Weghorst CM, Lehman TA, Calvert RJ, Bijur G, Sabourin CLK, et al. Mutated and wild-type p53 expression and HPV integration in proliferative

verrucous leucoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997; 83:471-7.

Gravitt PE, Peyton CL, Apple RJ, Wheeler CM. Genotyping of 27 Human Papillomavirus Types by Using L1 Consensus PCR Products by a Single-Hybridization, Reverse Line Blot Detection Method. *J Clin Microbiol.* 1998; 36: 3020-7.

Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlée F, Hildesheim A, et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:357-61.

Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998; 338:423-8.

Howley PM. The human papillomaviruses. *Arch Pathol Lab.* 1982;106: 429-32.

Howley PM. The molecular biology of papillomavirus transformation. *Am J Pathol.* 1983; 113:414-21.

Jacyneto C, Almeida Filho G, Maldonado P. HPV: infecção genital feminina e masculina. Rio de Janeiro. Revinter; 1994.

Jalal H, Sanders CM, Prime SS, Scully C, Maitland NJ. Detection of human papilloma virus type 16 DNA in oral squames from normal young adults. *J Oral Pathol Med.* 1992; 21:465-70.

Jenison SA, Yu X-P, Valentine JM, Koutsky LA, Christiansen AE, Beckmann AM, et al. Evidence of prevalent genital-type papillomavirus infections in adults and children. *J Infect Dis.* 1990; 162:60-9.

Jimenez C, Correnti M, Salma N, Cavazza ME, Perrone M. Detection of human papillomavirus DNA in benign oral squamous epithelial lesions in Venezuela. *J Oral Pathol Med.* 2001; 30: 385-8.

Kansky AA, Seme K, Maver PJ, Luzar B, Gale N, Poljak M. Human papillomaviruses (HPV) in tissue specimens of oral squamous cell papillomas and normal oral mucosa. *Anticancer Res.* 2006; 26:3197-201.

Kellokoski JK, Syrjänen SM, Kataja V, Yliskoski M, Syrjänen KJ. Acetowhite staining and its significance in diagnosis of oral mucosal lesions in women with genital HPV infections. *J Oral Pathol Med.* 1990a; 19:278-83.

Kellokoski JK, Syrjänen SM, Syrjänen KJ, Yliskoski M. Oral mucosal changes in women with genital HPV infection. *J Oral Pathol Med.* 1990b; 19:142-8.

Kellokoski JK, Syrjänen SM, Chang F, Yliskoski M, Syrjänen KJ. Southern blot and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. *J Oral Pathol Med.* 1992a; 21:459-64.

Kellokoski JK, Syrjänen SM, Yliskoski M, Syrjänen KJ. Dot blot hybridization in detection of human papillomavirus (HPV) infections in the oral cavity of women with genital HPV infections. *Oral Microbiol Immunol.* 1992b; 7:19-23.

Klussmann JP, Weissenborn SJ, Weiland U, Dries V, Kolligs J, Jungehuelsing M, et al. Prevalence, distribution, and viral load of human papillomavirus 16 DNA in tonsillar carcinomas. *Cancer.* 2001; 92:2875-84.

Koutsky LA, Galway DA, Holmes KK. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Epidemiol Rev.* 1998; 10:122-63.

Kreimer AR, Alberg AJ, Daniel R, Gravitt PE, Viscidi R, Garrett ES, et al. Oral Human Papillomavirus infection in adults is associated with sexual behavior and HIV serostatus. *J Infect Dis.* 2004; 189:686-98.

Kurose K, Terai M, Soedarsono N, Rabello D, Nakajima Y, Burk RD, et al. Low prevalence of HPV infection and its natural history in normal oral mucosa among volunteers on Miyako Island, Japan. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 98:91-6.

Lambropoulos AF, Dimitrakopoulos J, Fangoulides E, Katopodil R, Kotsis A, Karakasis D. Incidence of human papillomavirus 6,11,16,18 and 33 in normal oral mucosa of a Greek population. *Eur J Oral Sci.* 1997; 105:294-7.

Lawton G, Thomas S, Schonrock J, Monsour F, Frazer I. Human papillomavirus in normal oral mucosa: a comparison of methods for sample collection. *J Oral Pathol Med.* 1992; 21:265-9.

Löning T, Meichsner M, Milde-Langosch K, Hinze H, Orlt I, Hörmann K, et al. HPV DNA detection in tumours of the head and neck: a comparative light microscopy and DNA hybridization study. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 1987; 49:259-69.

Maden C, Beckmann AM, Thomas DB, McNight B, Sherman KJ, Ashley RL, et al. Human papillomaviruses, herpes simplex viruses, and the risk of oral cancer in men. *Am J Epidemiol.* 1992; 135:1093-102.

Magi JC, Brito EMS, Grecco ETO, Pereira SMM, Formiga GJS. Prevalência de papilomavírus humano (HPV) anal, genital e oral, em ambulatório geral de coloproctologia. *Rev Bras. Coloproctol.* 2006; 26:233-8.

Maitland NJ, Cox MF, Lynas C, Prime SS, Meanwell CA, Scully C. Detection of human papillomavirus DNA in biopsies of human oral tissue. *Br J Cancer.* 1987; 56:245-50.

Mao EJ. Prevalence of human papillomavirus 16 and nucleolar organizer region counts in oral exfoliated cells from normal and malignant epithelia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 80:320-9.

Mao EJ, Schwartz SM, Daling JR, Oda D, Tickman L, Beckmann AM. Human papilloma viruses and p53 mutations in normal, pre-malignant and malignant oral epithelia. *Int J Cancer*. 1996; 69:152-8.

Miletic ID, Schiffman SS, Miletic VD, Satterly-Miller EA. Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiop Behav*. 1996; 60:243-8.

Miller CS, Johnstone BM. Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982-1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001; 91:622-35.

Newcomer SF, Udry JR. Oral sex in adolescent population. *Arch Sex Behav*. 1985; 14:41-6.

Nielsen H, Norrild B, Vedtofte P, Praetorius F, Reibel J, Holmstrup. Human papillomavirus in oral premalignant lesions. *Oral Oncol Eur J Cancer*. 1996; 32B:4, 264-70.

Nonnenmacher B, Breitenbach V, Villa LL, Prolla JC, Bozzetti MC. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. *Rev Saude Publica*. 2002; 36:95-100.

Ochert AS, Boulter AW, Birnbaum W, Johnson NW, Teo CG. Inhibitory effect of salivary fluids on PCR: potency and removal. *PCR Methods Appl*. 1994; 3:365-8.

Ostwald C, Müller P, Barten M, Rutsatz K, Sonnenburg M, Milde-Langosch K, et al. Human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinomas and normal mucosa. *J Oral Pathol Med*. 1994; 23:220-5.

Panici PB, Scambia G, Perrone L, Battaglia F, Cattani P, Rabitti C, et al. Oral condyloma lesions in patients with extensive genital human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 167:451-8.

Premoli-de-Percoco G, Galindo I, Ramirez JL, Perrone M, Rivera H. Detection of human papillomavirus-related oral verruca vulgaris among Venezuelans. *J Oral Pathol Med*. 1993; 22: 113-6.

Reid R, Greenberg M, Jenson AB, Husain M, Willett J, Daoud Y, et al. Sexually transmitted papillomaviral infections: the anatomic distribution and pathologic grade of neoplastic lesions associated with different viral types. *Am J Obstet Gynecol*. 1987; 156:212-22.

Rose B, Wilkins D, Li W, Tran N, Thompson C, Cossart Y et al. Human papillomavirus in the oral cavity of patients with and without renal transplantation. *Transplantation*. 2006; 82: 570-3.

Salvia PND, Bergo SM, Bonesso-Sabadini PIP, Tagliarini EB, Hackel C, De Angelo LAL. Correlation between histological criteria and human papillomavirus presence base don PCR assay in cervical biopsies. *Int J Gynecol Cancer*. 2004; 14:126-32.

Sarruf MBJM, Dias EP. Avaliação citopatológica da cavidade bucal em pacientes portadores de infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV). *J Bras Doenças Sex Trans.* 1997; 9:4-18.

Schneider A, Hotz M, Gissman L. Increased prevalence of human papillomavirus in the lower genital tract of pregnant women. *Int J Cancer.* 1987; 40:198-201.

Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, Wipf GC, Carter JJ, Medeleine MM et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90:21,1626-36.

Scully C, Maitland NJ, Cox MF, Prime SS. Human papillomavirus DNA and oral mucosa. *Lancet.* 1987; 1:336.

Sellors JW, Sankaranarayanan R. An introduction to colposcopy: indications for colposcopy, instrumentation, principles and documentation of results. In: Sellors JW, Sankaranarayanan R. *Colposcopy and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a beginner's manual.* Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2003.

Smith EM, Johnson SR, Cripe TP, Pignatari S, Turek LP. Perinatal vertical transmission of human papillomavirus and subsequent development of respiratory tract papillomatosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1991; 100: 479-83.

Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek LP, Haugen TH. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope.* 1998; 108:1098-103.

Smith EM, Ritchie JM, Yankowitz J, Wang D, Turek LP, Haugen TH. HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2004; 12:45-56.

Sugiyama M, Bhawal UK, Dohmen T, Ono S, Miyauchi M, Ishikawa T. Detection of human papillomavirus 16 and HPV 18 DNA in normal, dysplastic, and malignant oral epithelium. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 95:594-600.

Syrjänen KJ, Syrjänen SM. Infections of the oral mucosa. In: Syrjänen KJ, Syrjänen SM. *Papillomavirus infections in human pathology.* London: John Wiley & Sons; 2000. p. 379-411.

Terai M, Takagi M, Matsukura T, Sata T. Oral wart associated with human papillomavirus type 2. *J Oral Pathol Med.* 1999; 28:137-40.

Van Doornum GJJ, Hooykaas C, Juffermans LHJ, Van der Lans SMGA, Van der Linden MMD, Coutinho RA, et al. Prevalence of human papillomavirus infections among heterosexual men and women with multiple sexual partners. *J Med Virol.* 1992; 37:13-21.

Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999; 189:12-9.

Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol.* 2003; 157:218-26.

Xavier SD, Bussoloti Filho I, Lancellotti CLP. Prevalência de achados sugestivos de papilomavírus humano (HPV) em biópsias de carcinoma espinocelular de cavidade oral e orofaringe: estudo preliminar. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2005; 71: 510-4.

Yeudall WA, Campo MS. Human papillomavirus DNA in biopsies of oral tissues. *J Gen Virol.* 1991; 72:173-6.

Yoshpe NS. Oral and laryngeal papilloma: A pediatric manifestation of sexually transmitted disease? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1995; 31:77-83.

Zhang Z, Sdek P, Cao J, Chen W. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 33:71-4.

Zur Hausen H, De Villiers EM. Human papillomaviruses (Review). *Ann Rev Microbiol.* 1994; 48:427-47.

FONTES CONSULTADAS

Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Pós-Graduação. Normatização para apresentação e teses em estudos experimentais e observacionais. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2004. 26p.

Terminologia anatômica. Terminologia Anatômica Internacional. Sociedade Brasileira de Anatomia. São Paulo: Editora SBA – Manole; 2001. 248p.

RESUMO

FREQÜÊNCIA DE APARECIMENTO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) NA MUCOSA ORAL DE HOMENS COM HPV ANOGENITAL CONFIRMADO POR BIOLOGIA MOLECULAR

Sandra Doria Xavier – 2007

O papilomavírus humano (HPV) é um pequeno vírus de DNA circular, de fita dupla, não-envelopado, que infecta pele e mucosa de várias regiões do corpo, como a região anogenital e cavidade oral. No sistema anogenital, o HPV é o agente etiológico dos condilomas acuminados, que são os tumores genitais benignos mais

comuns em ambos os sexos. É reconhecidamente a doença sexualmente transmissível mais freqüente, além de terem estreita relação com câncer de colo do útero. Na cavidade oral, é o agente etiológico dos papilomas de células escamosas, hiperplasia epitelial focal, condiloma *acuminatum* e a verruga *vulgaris*. O real significado da presença do HPV em cavidade oral normal ainda é incerto, assim como não se sabe quando o mesmo pode deixar de produzir uma infecção latente/subclínica e se transformar em uma lesão clínica. O contato sexual é o principal modo de transmissão do HPV, mas outras vias já foram descritas como a materno-fetal, a auto-inoculação a partir de lesões cutâneas ou anogenitais e o sexo oral. Poucos trabalhos existem na literatura a respeito da relação HPV anogenital e sua concomitância na cavidade oral. O objetivo do trabalho é determinar a freqüência de aparecimento de HPV na mucosa oral de homens com HPV anogenital confirmado por biologia molecular. Foram recrutados 30 pacientes com diagnóstico de HPV anogenital, de 15 a 60 anos, no Ambulatório de Dermatologia da Santa Casa de São Paulo. Todos os pacientes foram submetidos a exame da cavidade oral e, na ausência de lesão oral, foram recolhidas amostras através de raspado e, na presença de lesão oral, através de biópsia da lesão. Somente 3 pacientes apresentaram algum tipo de lesão oral. Nenhum paciente sem lesão oral apresentou HPV no estudo por PCR enquanto 1 dos 3 pacientes com lesão oral apresentou amostra da cavidade oral positiva para HPV. Deste modo, a freqüência de aparecimento de HPV oral em pacientes com HPV anogenital foi 3,3% neste estudo. Do ponto de vista prático, esta constatação é de fundamental importância para os pacientes com HPV anogenital, que têm extrema preocupação em relação à transmissibilidade do vírus para seu(s) parceiro(s) e também para outros locais de seu corpo. A partir do resultado desta pesquisa e também dos dados confrontados na literatura, acreditamos que não haja necessidade de exame da cavidade oral de rotina para investigação de infecção por HPV em pacientes assintomáticos do ponto de vista otorrinolaringológico e que tenham HPV anogenital. Concluimos que a freqüência de aparecimento de HPV na mucosa oral de homens com HPV anogenital, confirmado por biologia molecular, foi baixa (3,3%).

ABSTRACT

FREQUENCY OF APPEARANCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) IN ORAL MUCOSA OF MEN WITH ANOGENITAL HPV BY A MOLECULAR TECHNIQUE
Sandra Doria Xavier – 2007.

The human papillomavirus (HPV) is a small not enveloped virus with a double-stranded closed circular DNA, which infects the skin and the mucosa of several regions of the human body, like the genital region and the oral cavity. In the anogenital tract, HPV is the aetiological factor of condyloma acuminatum, which is the most common benign genital tumor in both genders. Currently, it is recognized that it is one of the most important sexually transmitted diseases. Furthermore, they have a very close relation to uterine cervix carcinoma and the penile carcinoma. In the oral cavity, it is the aetiological factor of squamous cell papillomas, focal epithelial

hyperplasia, condyloma *acuminatum* and *verruca vulgaris*. The real meaning of the presence of HPV in the normal oral cavity is still uncertain, as well it is still unknown when it can stop producing a latent/subclinical infection and become a clinical lesion. While the main route of transmission of genital HPV seems to be sexual contact, others modes of transmission cannot be excluded, including auto-inoculation from skin or anogenital lesions, vertical transmission and oral sex. There are few studies about the relationship of genital HPV and its concurrent presence in the oral cavity in the literature. The objective of this trial is to determine the prevalence of HPV in the oral cavity of male patients with a confirmed diagnosis of anogenital HPV infection through PCR technique and reverse hybridization. The aim of the present study was to establish the frequency of appearance of oral HPV infection in men with anogenital HPV infection by a molecular technique. Thirty patients aged between 15 to 60 years old, diagnosed with anogenital HPV infection, have been recruited at the Dermatology Ambulatory of Santa Casa Hospital of São Paulo. All of them have been submitted to a physical examination of their oral cavity. When lesions were not identified in the oral cavity the samples were collected through scraping method, and if there were oral lesions the samples were collected through biopsy. Only 3 patients have presented some type of oral lesion and just 1 of them presented a HPV positive sample in his oral cavity. No patient without oral lesion have presented HPV through PCR in this study. The frequency of appearance of oral HPV infection in men with anogenital HPV infection was 3,3%. From a practical point of view, this constatation has fundamental importance to the patients with anogenital HPV, who have extreme concern regarding the transmissibility of the virus to his partner(s) and also to others regions of the body. From the confrontation of the results of this trial with the literature data, we believe it is not necessary to perform the routine oral examination in order to investigate the HPV infection in patients presenting genital HPV and without oral complaints. In conclusion, our data demonstrate that the frequency of appearance of oral HPV infection in men with anogenital HPV infection was low (3,3%).

APÊNDICE

Apêndice 1



IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE SÃO PAULO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS
 Rua Dr. Cesário Mota Júnior, 112 Santa Cecília CEP 01277900 São Paulo -SP

PABX (11) 21767000 Ramais: 5502/5710 - Fax- 2176.7041 E-mail

São Paulo, 21 de julho de 2005.

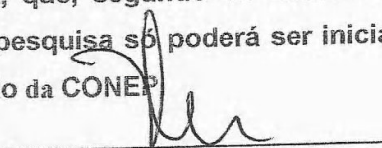
Projeto nº079/05
 Informe este número para
 identificar seu projeto no CEP

Ilmo.(a).Sr.(a).

Dr.(a).Sandra Doria Xavier
 Departamento de Otorrinolaringologia

O Comitê de Ética em Pesquisa da ISCMSP, reunido no dia 13/04/2005 e no cumprimento de suas atribuições, após revisão do seu projeto de pesquisa: "**Prevalência de papilomavirus humano (HPV) em mucosa oral de pacientes com diagnóstico de HPV genital**" emitiu parecer inicial em pendência e nesta data enquadrando-o na seguinte categoria:

- Aprovado inclusive o TCLE;**
- Com pendência** modificações ou informação relevante a serem atendidas em 60 dias (enviar as alterações em duas cópias)
- Retirado**, por não ser reapresentado no prazo determinado;
- Não aprovado:** e
- Aprovado** inclusive TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido versão), e encaminhado para apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - MS -CONEP, a qual deverá emitir parecer no prazo de 60 dias. Informamos, outrossim, que, segundo os termos da Resolução 196/96 do Ministério da Saúde a pesquisa só poderá ser iniciada após o recebimento do parecer de aprovação da CONEP


 Prof. Dr. Daniel R. Muñoz

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa-ISCMSP

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)