

DAVID ESQUENAZI

**A FREQUÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NA MUCOSA
ORAL MACROSCOPICAMENTE NORMAL DE ESTUDANTES DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
POR MEIO DA REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE**

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

**Área de concentração: Otorrinolaringologia
Orientador: Prof. Dr. Ivo Bussoloti Filho
Co – orientadora : Prof. Dra. Maria da
Glória Costa Carvalho**

São Paulo

2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

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

Esquenazi, David

Frequência do papillomavirus humano na mucosa oral macroscopicamente normal de estudantes de medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro por meio da reação em cadeia pela polimerase./ David Esquenazi. São Paulo, 2009.

Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de Pós-Graduação em Medicina.

Área de Concentração: Otorrinolaringologia

Orientador: Ivo Bussoloti Filho

Co-Orientador: Maria da Glória Costa Carvalho

1. Papillomaviridae 2. Infecções por papillomavirus/epidemiologia
3. Mucosa bucal 4. Estudantes de medicina 5. Universidades 6.
Reação em cadeia da polimerase

BC-FCMSCSP/29-09

Dedico este trabalho

Aos meus pais,

ISAAC (em memória) e MIRIAM

por me possibilitarem formação intelectual, moral e ética; pelo incentivo constante para atingir mais este objetivo em minha carreira.

À minha esposa

FÁTIMA

Às minhas filhas

KAREN E BRUNA

por estarem presentes em todos os momentos da minha luta na vida como médico e professor, pela paciência infinita e compreensão, criando condições indispensáveis para a realização deste objetivo.

“fácil, é uma palavra que não existe em
dicionário de adulto”...

(desconheço o autor)

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo que, através de seu Departamento de Otorrinolaringologia, acolheu-me como aluno novamente, aos 54 anos, oferecendo-me condições plenas para a realização deste curso.

Ao Prof. Dr. Ivo Bussoloti Filho, meu orientador, Professor Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo pelo incentivo e orientação na realização desta tese.

À Prof^a. Dr^a. Maria da Glória Costa Carvalho Professora Adjunta da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, chefe do Laboratório de Controle de Expressão Gênica do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho do Centro de Ciências da Saúde da UFRJ, pelo incentivo, orientação e dedicação na realização dos exames de PCR indispensáveis para a realização desta tese.

Ao Prof. Dr. Antonio Cirylo Gomes do Departamento de Otorrinolaringologia da UFRJ inesquecível orientador na minha tese de mestrado, pelo incentivo à realização do doutorado e orientações na vida acadêmica.

À Prof^a. Dr^a. Therezita Maria Peixoto Patury Galvão Castro pelo incentivo a realizar este curso.

Aos colegas do Laboratório de Expressão Gênica Brenda Maiolino e Fernanda Lattario Ribeiro pelo trabalho na realização dos exames de PCR indispensáveis para a realização desta tese.

Ao aluno graduando em medicina Fernando S. de Barros pela ajuda no recrutamento dos alunos voluntários, sem o que não seria possível a realização desta tese.

Aos alunos voluntários que, com seu espírito colaborador, possibilitaram a realização deste trabalho.

À Dra. Evelyn Lazardis médica residente do HSE, pelo apoio

À Dra. Andréia Ellery Frota médica residente do HSE, pelo incentivo

À Sonia Alves, secretária da pós-graduação, pelo auxílio, com grande eficiência e simpatia.

Ao amigo Rodrigo Coutinho Silveira pela colaboração.

A todos que, através de participação direta ou indireta, constante ou eventual, contribuíram para a realização deste trabalho.

ABREVIATURAS

AIDS.....	<i>Acquired immunodeficiency syndrom</i> (síndrome da imunodeficiência adquirida)
CCE.....	Carcinoma de células escamosas
CEC.....	Carcinoma espinocelular
CH.....	Captura híbrida
DB.....	hibridização Dot blot
DST.....	Doenças sexualmente transmissíveis
DNA.....	Ácido desoxiribonucléico
E.....	Proteínas precoces
ELISA.....	<i>Enzyme linked immuno sorbent assay</i> (ensaio de imunoabsorção enzimática)
GP5+/GP6+.....	<i>Primers consensus</i> ou gerais
HPV.....	Papilomavirus humano
HIS.....	Hibridização in situ
HIV.....	Vírus da imunodeficiência humana
HSV.....	Herpes vírus
IgA.....	Imunoglobulina A
L.....	Proteínas tardias
LCR.....	Long Control Region (Região de longo controle)
MY09/MY11...	<i>Primers consensus</i> ou gerais
nm.....	Nanômetro
PCR.....	<i>Polymerase chain reaction</i> (reação em cadeia pela polimerase)
pRB.....	Gene supressor de tumor (gene do retinoblastoma)

p53.....Gene supressor de tumor

RNA.....Ácido ribonucléico

SB.....Hibridização Southern Blot

UFRJ.....Universidade Federal do Rio de Janeiro

vDNA.....DNA viral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Considerações gerais sobre o papilomavírus	1
1.2. Patogênese da infecção pelo HPV	2
1.3. Métodos de diagnóstico do HPV	8
1.3.1. Diagnóstico clínico, citológico e por biópsia.....	8
1.3.2. Imunohistoquímica e Sorologia	9
1.3.3. Métodos de biologia molecular.....	10
1.4. O HPV na cavidade oral	11
1.5. Revisão da Literatura	13
2. OBJETIVO	25
3. CASUÍSTICA E MÉTODO	26
3.1. Casuística	26
3.1.1. Critérios de inclusão.....	26
3.1.2. Critérios de exclusão	26
3.2. Aspectos éticos	26
3.3. Método	27
3.3.1. Questionário	27
3.3.2. Coleta de material	27
3.3.3. Estudo por PCR	27
3.3.4. Levantamento bibliográfico	28
3.3.5. Estatística	28
4. RESULTADOS	29
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÃO	59
7. ANEXOS	60
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
FONTES CONSULTADAS	77
RESUMO	78
ABSTRACT	79
APÊNDICE	80

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Considerações gerais sobre o papilomavirus humano

Papilomavirus humano é um vírus que tem a pele e mucosa como principais sítios de infecção. Associa-se frequentemente com neoplasias benignas e malignas de cavidade oral, sendo, destas últimas, o carcinoma espinocelular o mais comum. O seu achado em epitélio de mucosa oral normal, divulgado na literatura, não permite inferências mais precisas quanto ao seu papel na carcinogênese, se agente etiológico principal, coadjuvante ou simples habitante do epitélio oral. Apesar do aprimoramento das técnicas de detecção do HPV nas lesões de mucosa oral, o seu envolvimento direto com os carcinomas orais ainda não foi devidamente comprovado (Oliveira et al, 2003). Porém, considerando, a prevalência do HPV confirmada nas lesões associadas ao vírus (Castro, Bussoloti Filho, 2006), sua participação na carcinogênese não pode ser descartada.

Os papilomavirus humanos (HPV) são vírus pertencentes ao gênero papilomaviridae, família papovaviridae e possuem uma dupla cadeia de DNA circular com aproximadamente oito mil pares de bases (Collier et al, 1998). São vírus pequenos, não envelopados e o genoma possui seus genes codificados. O capsídeo é icosaédrico com um diâmetro de 50nm a 60nm, não revestido por um envelope lipídico, possui 72 capsômeros e determinantes antigênicos espécies-específicas na superfície externa e internamente. Encerram uma cadeia dupla de genoma de DNA dividida em proteínas precoces (E), tardias (L) e regiões reguladoras. A região precoce (E1-E8) codifica genes para replicação viral e transformação de células hospedeiras. As E6 e E7, proteínas codificadas para tipos de HPV oncogênicos tem demonstrado papel no desajuste do ciclo celular por meio da ligação e inativação dos genes supressores de tumores p53 e pRB. As regiões tardias codificam L1 e L2 que são proteínas do capsídeo. L1 é o maior capsídeo e é altamente conservado entre os tipos de HPV. A região de longo controle (LCR) é uma região reguladora que contém a origem da replicação viral que

ocorre exclusivamente no núcleo da célula do hospedeiro (Baker, 1991; Swygart, 1997; Oliveira et al, 2003; Sinogas et al, 2004; Castro, 2007).

De acordo com a composição desses segmentos, são identificados vários tipos de HPV com diferentes características patogênicas. As lesões orais benignas estão associadas ao HPV de baixo risco, tipos 2, 4, 6, 7, 11, 13 e 32, que apresentam baixo potencial de transformação maligna. As lesões orais malignas estão associadas aos HPV de alto risco tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 66 (Garlick, Taichman, 1991; Fazel et al, 1999; Summersgill et al, 2001; Hou et al, 2002; Tinoco et al, 2004).

1.2. Patogênese da infecção pelo HPV

O HPV é incapaz de penetrar através de epitélio escamoso intacto. Infecta, *in-vivo*, a camada celular basal da pele ou mucosa mitoticamente ativa, por meio de micro abrasões ou feridas no epitélio (Ozbun, 2002). Dissemina-se pelo contato direto célula-célula sem uma viremia clássica (Howley, 1982, segundo Xavier, 2007).

Após a penetração na célula, o genoma viral é transportado para o núcleo onde é traduzido e transcrito. Os genomas virais são replicados nos seguintes estágios: primeiro, inicia-se a síntese de proteínas precoces (E1 e E2). Por ação das mesmas, replicam-se em cerca de dez a 200 cópias dos genomas por célula. No segundo estágio, durante o ciclo celular, ocorre replicação em células filhas em igual número. A expressão dos genes E6 e E7 conduz à transformação ou diferenciação celular. A célula passa a apresentar um ciclo de vida mais rápido e a dividir-se mais frequentemente, originando a formação de tumores benignos. Nesse estágio, o vírus promove sua proliferação no tecido, sem destruir a célula que o aloja. No terceiro estágio, denominado produtivo, as proteínas E1 e E2, em grande quantidade, passam a gerar milhares de cópias de ácido desoxirribonucléico viral (vDNA). Por outro lado há produção das proteínas tardias (L1 e L2) fundamentais na montagem de novos vírus. A libertação dos vírus ocorrerá nos queratinócitos localizados mais superficialmente. (Ozbun, 2002; Sinogas, et al, 2004).

Em infecções por vírus de alto risco, as proteínas virais E6 e E7, chamadas oncoproteínas, integradas, são muito ativas e interferem profundamente no ciclo celular. Isso resulta em uma divisão celular mais rápida do que em infecções por vírus de baixo risco aumentando a probabilidade de ocorrer integração do vDNA no genoma celular. Essa integração parece ser a causa da carcinogênese (Swygart, 1997; Zur Hausen, 2000; Hou et al, 2002; Sinogas et al, 2004).

O contato sexual é o principal modo de transmissão do HPV (Zur Hausen, de Villiers, 1994). Em relação à transmissão para a cavidade oral, parece existir uma via materno-fetal e após o período neonatal, outros mecanismos podem estar envolvidos, como a auto-inoculação a partir de lesões cutâneas (Gutman et al, 1993; Cason et al, 1995). Segundo Tominaga et al, 1996, em adultos, a principal via de contágio da infecção oral pelo HPV parece ser por meio da prática do sexo orogenital.

Segundo Okada et al, 2000, infecção genital pelo HPV é considerada a doença viral mais freqüente na população ativa sexualmente. A transmissão do trato genital para a mucosa oral ou vice versa, não está esclarecida. Em estudos sobre a ocorrência de concomitância da presença do HPV em área ginecológica com HPV oral, Kellokoski et al, 1992 encontraram o vírus em biópsias de mucosa oral normal de mulheres com HPV genital, pelo método hibridização Southern Blot (SBH), 15,6% (33/212) e pela reação em cadeia pela polimerase (PCR) 23,1% (18/78) de positividade para o HPV oral (tipos 6, 11, 16 e 18). Castro, 2007, encontrou 0% de positividade para o HPV oral em raspados de mucosa oral normal de 30 portadoras de HPV ginecológico confirmado pelo PCR e Xavier, 2007, em homens (n=27) com lesão anogenital e sem lesão oral, a freqüência do HPV na mucosa oral normal também foi de 0%. Neste mesmo trabalho, mesmo em caso de material colhido de três indivíduos com lesões anogenitais e lesões orais concomitantes, apenas um apresentou HPV positivo.

Com relação às evidências de carcinogênese, Soares et al, 2002 encontraram por meio de hibridização *in situ*, a presença do HPV tipo 16 e 18 em carcinoma de células escamosas de cavidade oral e Oliveira et al, 2003b, em revisão bibliográfica sobre carcinogênese oral, observaram, que os HPV dos tipos 16 e 18 estão associados às proteínas precoces que se ligam, sequestram e degradam genes supressores de tumor sendo E6 agindo sobre o p53, e E7 que age de forma similar com a pRB e ainda, Dezmeikian et al, 1987; Alvarez et al, 1997, observaram integração do vDNA integrado nas células tumorais após sua divisão sugerindo sua participação na oncogênese.

Formas de apresentação do HPV na cavidade oral

1 – Latente:

Ocorre quando o vírus é encontrado apenas por meio dos métodos de biologia molecular em material colhido por raspado aleatório em mucosa de cavidade oral macroscopicamente normal, sem a menor suspeita.

2 – Subclínica:

Castro, 2007, cita estudos de Pereyra, Tacla, 2000 e Carvalho, 2004 onde observaram que a forma subclínica é a mais freqüente de HPV no colo uterino diagnosticado apenas com o microscópio. Segundo Russomano, 2000, no trato genital a forma subclínica de infecção pelo HPV caracteriza-se por áreas difusas de hiperplasia epitelial que se tornam esbranquiçadas após aplicação do ácido acético. A definição de lesão subclínica em cavidade oral não obedece a critério tão nítido, pois, neste local, a utilização do ácido acético não é um meio adequado para a detecção de lesão pelo HPV (Kellokoski et al, 1990; Sarruf, Dias, 1997).

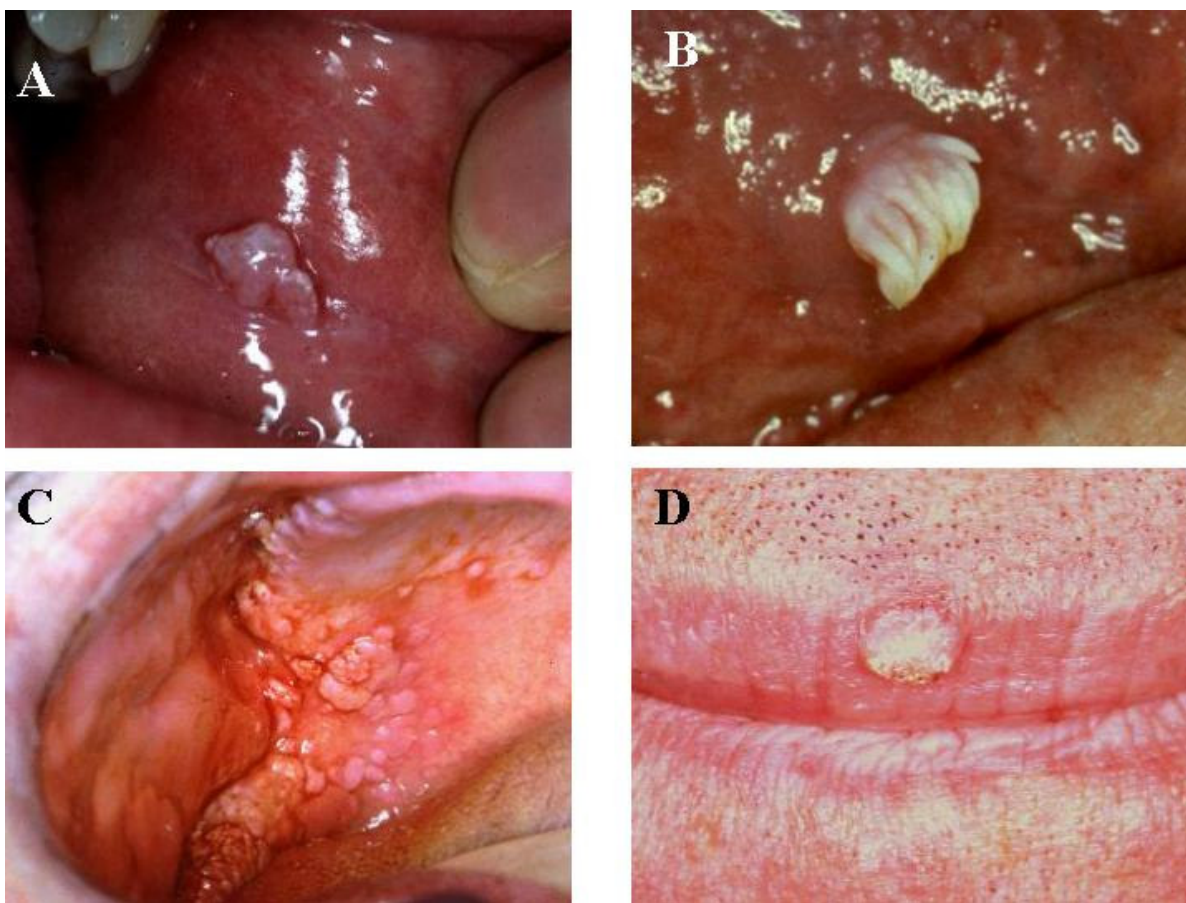
2 – Clínica

Esta forma é detectada à vista desarmada apresentando-se como formações verrucóides, papulares, leucoplásicas ou polipóides descritas comumente como papilomatosas. Pode estar associado a lesões benignas ou malignas. Em levantamento realizado por Castro, 2007, o grau de infectividade é relativamente alto, variando de 25% a 65%.

Exemplos de lesões benignas estão representados nas FIGURAS 1, 2, 3, e 4, a seguir:

FIGURA 1:

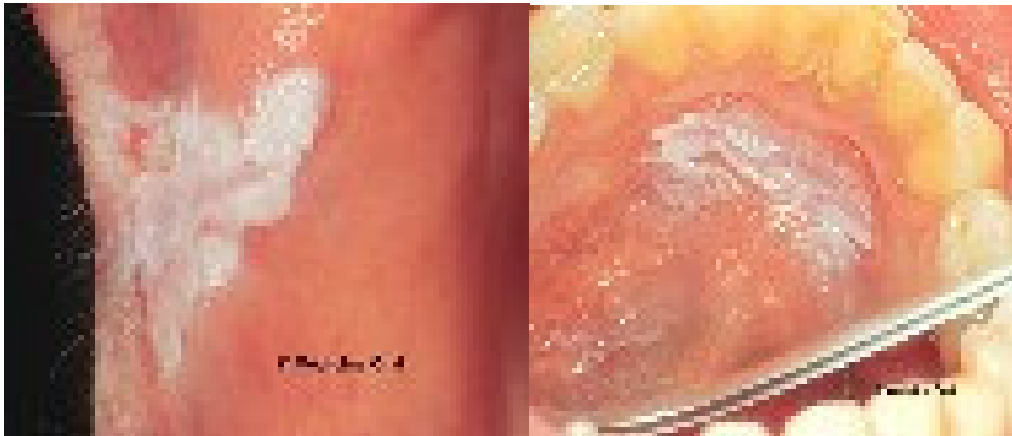
Formações verrucóides, papulares e polipóides



Manifestações clínicas de lesões benignas (continuação):

FIGURA 2:

Leucoplásica

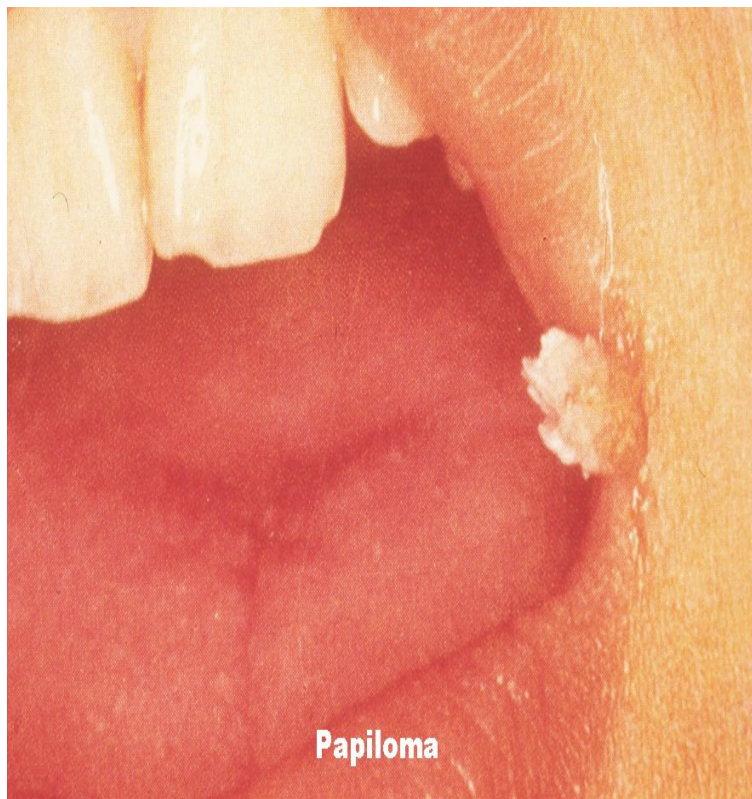


www.uv.es/.../Docencia/atlas/leucoplasia/1.htm

FIGURA 3:



Jimenez C et al Acta odontol. venez v.39 n.2 Caracas abr. 2001

FIGURA 4:

Jimenez C et al Acta odontol. venez v.39 n.2 Caracas abr. 2001

Quanto a lesões malignas, Segundo Xavier et al, 2005, o carcinoma espinocelular (CEC) representa cerca de 90% de todos os tumores malignos que afetam a cavidade oral e observaram que, em levantamento bibliográfico, a frequência do HPV em pacientes portadores do CEC bucal pode variar de 0% a 100%. Os mesmos autores, em estudo realizado em 20 pacientes com lâminas confirmando o CEC oral e orofaríngeo, encontraram coilocitose em 75% (15/20) dos casos indicando alta prevalência do HPV no tumor.

Pode apresentar-se como tumor nodular ou mesmo como uma úlcera crônica. Independentemente do consumo de álcool e de tabaco a presença do HPV de alto risco pode ser considerada fator predisponente para o câncer de cabeça e pescoço. Nos grandes consumidores de álcool, porém, parece haver uma ação sinérgica do uso com a infecção pelo HPV

de alto risco (Smith et al, 2004). A exposição ao sol, o consumo alcoólico e tabágico individualmente aumentam o risco de câncer oral, porém, a associação desses dois últimos fatores pode produzir incremento ainda maior na ocorrência do desenvolvimento dessa doença (Woods et al, 1993). Exemplo de CEC pode ser observado na figura 5:

FIGURA 5:

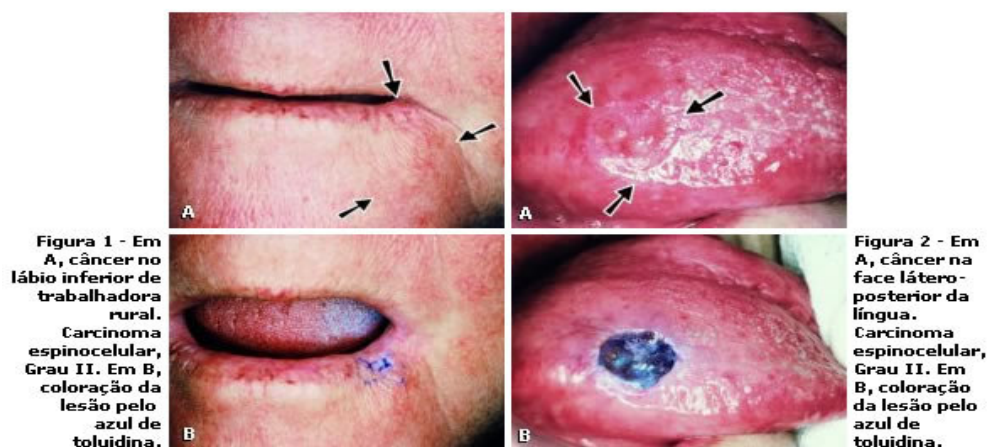


Figura 1 - Em A, câncer no lábio inferior de trabalhadora rural. Carcinoma espinocelular, Grau II. Em B, coloração da lesão pelo azul de toluidina.

Figura 2 - Em A, câncer na face látero-posterior da língua. Carcinoma espinocelular, Grau II. Em B, coloração da lesão pelo azul de toluidina.

www.coeb.odo.brimagenscancer_boca.jpg

1.3. Métodos de diagnóstico do HPV:

1.3.1. Diagnóstico clínico, citológico e por biópsia

Algumas lesões clínicas descritas no item anterior podem apresentar aspecto característico de infecção por HPV ao exame da cavidade bucal à vista desarmada, sendo, porém, necessária a confirmação histopatológica. Segundo Sarruf, Dias, 1997, embora infecte a cavidade bucal, esse local não parece ser propício à replicação virótica do HPV. Segundo Castro, 2007, a saliva pode ter um papel protetor contra a infecção por HPV devido à presença de agentes antimicrobianos como a lisozima, a lactoferrina, a imunoglobulina A e citocinas. Segundo Kellokoski et al, 1990, e Sarruf, Dias, 1997, o exame clínico cuidadoso, mesmo com aplicação de ácido acético, não são meios adequados para detecção de infecção pelo HPV oral.

A obtenção do material para análise laboratorial também pode ser feita de diversas formas: biópsia (Maitland et al, 1987; Kellokoski et al,

1992), secreção aspirada (Sedlacek et al, 1989), enxágüe oral (Smith et al, 1998; Smith et al, 2004), raspado com swab (Mund et al, 1997; Koch et al, 1997; Chatterjee et al, 1998; Xiaoping et al, 1998; Summersgill et al, 2001), raspado com espátula de madeira (Sarruf, Dias, 1997) e raspado com escova (Jenison et al, 1990; Puranen et al, 1996; Schwartz et al, 1998; Rice et al, 2000). Segundo Hoffmann et al, 1998, e Melo et al, 2005, o material, escovado, fresco mantido sob refrigeração apresenta maior positividade na detecção do DNA do HPV em carcinomas espinocelulares do que em material armazenado, envolvido em parafina e fixado em formalina ou congelado.

Bastante importantes, os aspectos histomorfológicos como: a coilocitose, a disceratose, a papilomatose, a hiperkeratose, a acantose e grânulos de cerato-hialinos proeminentes, quando encontrados em conjunto funcionam como um forte indicador da infecção por HPV. A coilocitose é considerada, do ponto de vista histopatológico, um “critério maior” da infecção por HPV (Xavier et al, 2005). Os demais efeitos citopáticos, no conjunto da análise morfológica, devem ser considerados como fortes indicadores de infecção viral (Oliveira et al, 2003). A identificação da coilocitose à citopatologia é rara na ausência de lesões clínicas (Sarruf, Dias, 1997) e as porcentagens de infecção com carga viral alta aumentam significativamente, à medida que aumentam os graus de lesões histológicas (Tena et al, 2005). Xavier et al, 2005 encontraram coilocitose em cerca de 75% (15/20) das lâminas obtidas de biópsias de carcinomas espinocelulares de cavidade oral e orofaringe. Syrjänen et al, 1983 encontraram coilocitose em 35% (14/40) dos casos em pacientes com carcinomas de células escamosas, além de outras alterações histológicas, como disceratose em 87,5% (35/40).

1.3.2. Imunohistoquímica e Sorologia:

A Imunohistoquímica apresenta baixa sensibilidade, é útil para a detecção da presença do HPV particularmente na forma produtiva,

falhando nas infecções latentes e subclínicas. Não exprime informação sobre os tipos dos vírus (Tinoco et al, 2004).

A baixa resposta humoral de anticorpos às proteínas da cápside viral do HPV limita a utilidade do teste Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) como um instrumento diagnóstico (Swygart, 1997).

1.3.3. Métodos de biologia molecular:

O DNA do HPV pode ser detectado por vários métodos de biologia molecular, conforme a seguir:

A hibridização Southern Blot (SB) é considerada padrão ouro para a detecção do DNA do HPV por ser um teste sensível e com alta especificidade, porém o consumo de trabalho e tempo e, conseqüentemente, os altos custos necessários à sua realização são fatores limitadores para seu emprego regular (Swygart, 1997; Ribeiro, 2002; Castro, 2007).

A hibridização Dot Blot (DB) é um método mais simples, rápido, menos dispendioso, mas com menor especificidade se comparado com o SB (Swygart, 1997; Zahm et al, citado por Castro, 2007).

A captura híbrida (CH) não radioativa, não faz distinção entre os tipos específicos de HPV. Como método de pesquisa apresenta aplicabilidade limitada, porém pode representar um bom teste para uso clínico de rotina. Somente detectado nas infecções virais com mais de 10 a 20 cópias de genomas por célula. É muito menos sensível do que os dois testes anteriores (SB e DB) (Swygart, 1997; Vidal et al, 2001; Ribeiro, 2002; Castro, 2007).

A PCR é um método para amplificação de seqüências de DNA-alvo em milhões de vezes a partir de quantidades mínimas. São necessários sistemas iniciadores ditos *primers*, que consistem em seqüência de pares de bases de DNA, que vão se acoplar em regiões específicas do DNA alvo, seja na região precoce (E) seja na tardia (L) do HPV. Os *primers* específicos detectam um tipo de HPV, enquanto os *primers consensus* (também chamados de gerais ou genéricos) podem detectar um painel de diferentes tipos de HPV em uma única reação. Os *primers consensus*

mais utilizados são os designados como MY09/MY011 e GP5+/GP6+ (Castro, 2007; Ribeiro, 2002). Trata-se de um método útil e confiável para a detecção do DNA do HPV (Niv et al, 2000).

1.4. O HPV na cavidade oral

A presença do HPV na mucosa oral normal, observada na literatura, variando de 0% a 100%, sugere a possibilidade de a mucosa oral atuar como reservatório do HPV e, de modo similar ao trato genital, o vírus parece existir em forma de infecção latente na vasta maioria dos casos. A ocorrência concomitante de verrugas de pele com a infecção oral pelo HPV pode sugerir alguma espécie de imunossupressão específica para o vírus. Estes DNA-vírus epiteliotrópicos na cavidade oral têm sido fortemente implicados como agentes etiológicos no papiloma de células escamosas, no condiloma acuminado, na verruga vulgar, na hiperplasia epitelial focal, na leucoplasia, no líquen plano, no carcinoma de células escamosas, do ceratocisto odontogênico e do ameloblastoma juvenil (Kellokoski et al, 1992; Terai et al, 1999). O papiloma recorrente das vias aéreas não é comum na cavidade oral (Cohen et AL, 1980).

Não se conhece ainda, claramente, o processo de transmissão do HPV para a mucosa oral. A via sexual em adultos, parece ser a principal via de contágio por meio da prática regular do sexo orogenital (Tominaga et al, 1996) e, em crianças, em situações de abuso sexual (Okada et al, 2002; Ozbun, 2002; Rintala et al, 2005). A presença de papiloma laríngeo em crianças com menos de dois anos, sugere a presença do HPV no líquido amniótico, no sangue e cordão umbilical de gestantes e de seus recém natos, indicando a existência de transmissão transplacentária do HPV antes do nascimento (Xiaoping et al, 1998; Russomano, 2000) ou, ainda, durante o parto normal ou cesárea (Smith et al, 1991; Summersgill et al, 2001). A inoculação digital (ou auto-inoculação) de um sítio para outro, o contato casual, não sexual por membros da família em convívio íntimo com a criança e a transmissão via fomitos (talheres, toalhas, roupas íntimas etc.) também talvez seja

viável por um curto período de tempo, embora não se saiba por quanto tempo o vírus resista fora do organismo (Okada et al, 2000; Ozbun, 2002, Rintala et al, 2005).

Os locais da cavidade oral onde o HPV pode instalar-se são: lábios, úvula, véu palatino, gengiva, língua, tonsilas e assoalho da boca. Neste último, devido à retenção de saliva, agentes cancerígenos, como álcool e tabaco, acumulados facilitariam a infecção viral (Marone, Gusmão, 2000; Castro, Duarte, 2004). Parece haver alguma preferência da associação do DNA do HPV em casos de carcinomas tonsilares. A simples dificuldade da eliminação mecânica de agentes infecciosos, como o HPV, situados na profundidade das invaginações das criptas tonsilares, daria origem aos carcinomas no seu interior (Klussmann et al, 2001; Klussmann et al, 2003).

Considerando a presença em mucosa oral normal sob forma de infecção latente, as fortes evidências do envolvimento do HPV em lesões benignas que podem evoluir de modo agressivo e na participação nos mecanismos carcinogênicos, a possibilidade de aquisição da infecção por outros órgãos, pelo conhecimento limitado e por vezes contraditório de seu comportamento em indivíduos normais ou doentes e as evidências de aumento de risco de desenvolvimento de lesões malignas em portadores de HPV de alto risco, é de grande importância pesquisar o HPV na mucosa oral macroscopicamente normal cavidade oral de indivíduos sãos.

1.5. Revisão da literatura

Para melhor compreensão dos mecanismos de funcionamento da doença na cavidade bucal, têm sido feitos esforços para conhecer o comportamento do HPV na mucosa oral normal. Trabalhos realizados relativos à infecção pelo HPV tais como vias de transmissão, fatores de risco e associação com CEC seguem abaixo:

Cohen, et al, em 1980, observaram que papiloma recorrente de vias aéreas pode instalar-se em pregas vocais supraglote, subglote, traquéia e brônquios. Sua incidência maior ocorre em crianças em torno dos cinco anos e adultos dos 20 aos 30 anos. As manifestações clínicas podem variar desde a disфонia, a tosse persistente e infecções respiratórias recorrentes até dispnéia importante com ruído característico (estridor). O diagnóstico é feito por meio do exame laringoscópico, onde se vê o papiloma, geralmente, nas bordas livres das pregas vocais e/ou na comissura anterior. Não é comum em cavidade oral.

Maitland et al, em 1987, pesquisaram a presença do HPV em biópsias de mucosa oral em pacientes com alterações e em mucosa oral normal de indivíduos sem história ou evidências clínicas de infecção pelo HPV. Os resultados apresentaram o HPV nas amostras com a seguinte frequência: carcinoma, 46% (7/15), displasia severa, 0% (0/1), displasia suave – ceratose, 100% (1/1), ceratose reativa, 100% (2/2), ceratose não específica, 75% (6/8), hiperplasia verrucosa, 0% (0/1), líquen plano, 87,5% (7/8) e em mucosa oral normal, 41% (5/12). Em todas as biópsias, o HPV encontrado foi do tipo 16. Os autores concluem que os resultados indicam haver participação de outros elementos no desenvolvimento das doenças, além do vírus.

Scully et al, em 1987, encontraram, por meio de SB, a presença do HPV 16 em 41% (4/12) pacientes normais, e em proporção variável em caso de líquen plano, leucoplasia e carcinoma. O autor considera que se devem interpretar com cautela os achados de HPV nessas lesões.

Jenison et al, 1990 pesquisaram a presença do HPV em 35 homens sadios de 36 a 72 anos, por raspado de mucosa oral. Por meio do PCR, os homens normais apresentaram resultados positivos para o HPV em 11/35 (31%) sendo os tipos 6b (6) 17% e 16-(8)23%. Em 92 mulheres atendidas em clínica de doenças sexualmente transmitidas e 81 crianças

hospitalizadas. Os autores concluem que a aquisição do HPV tipos 6b e 16 deve ocorrer por outras vias que não a sexual.

Yeudall, Campo, em 1991, relataram os seguintes resultados da frequência do HPV, em biópsias de mucosa oral normal de pacientes com alterações, adjacente à lesão displásica, à lesão maligna e de um grupo controle de 25 indivíduos normais. As amostras foram analisadas pelo PCR. Em 39 casos de câncer, foram encontrados 46% (18/39) com HPV, sendo 25,6% (10/39) com HPV 16 e 20,5% (8/39) com HPV 18. Nos pacientes normais (grupo controle), o HPV tipo 18 foi encontrado em 8% (2/25). Os autores concluem que os dados sugerem que os diferentes tipos de DNA do HPV podem infectar o epitélio oral, sem que, necessariamente, resulte em patologia histológica ou clínica.

Jalal et al, em 1992, pesquisaram a frequência de HPV em mucosa oral de três grupos (não especifica a razão para a divisão nesses grupos) de adultos jovens sem história ou evidência clínica de infecção pelo papilomavirus. O material foi obtido por raspados da mucosa oral e como grupo controle, amostras de sangue com isolamento de células mononucleares (linfócitos) do sangue periférico. Após a extração de DNA, o material foi submetido ao teste de PCR. Em um primeiro grupo de 30 indivíduos foi encontrado resultado positivo para o DNA do HPV em 56% (17/30) na mucosa oral, sendo que nos mononucleares, foi encontrado resultado negativo para o HPV. No segundo grupo de 32 indivíduos, por questões técnicas, somente 18 amostras de mucosa oral foram viáveis sendo 44% (8/18) destas com HPV positivo e duas amostras de mononucleares foram positivas. Os autores consideraram este último resultado como tendo havido possibilidade de contaminação das amostras do grupo controle. Em um terceiro grupo com 42 indivíduos, só com amostras de linfócitos, todos os resultados foram HPV negativos. Em todas as amostras HPV positivas o tipo encontrado foi o HPV 16. Os autores concluem que, uma vez que HPV ocorre em uma proporção de indivíduos normais, não se pode afirmar que o HPV seja o único agente etiológico responsável pela neoplasia.

Kellokoski et al, 1992 em biópsias realizadas em mucosa oral normal de mulheres com HPV genital encontraram, pelo método SBH

15,6% (33/212) e pelo PCR 23,1% (18/78) de positividade para o HPV (tipos 6, 11, 16 e 18). A concordância dos tipos virais, oral/genital, porém, ocorreu em apenas 8% (2/25). Em seus parceiros, ocorreu presença do HPV em 27,3%. Porém, não houve concordância dos tipos de vírus genitais das mulheres, quando comparado com os tipos de HPV anogenitais encontrados nos mesmos. Observaram ainda que a frequência de verrugas nas mãos foi significativamente maior em pacientes com HPV em mucosa oral. Concluem que, quanto à infecção oral pelo HPV, o vírus parece existir em forma latente na imensa maioria dos casos. Os autores, ao observarem a grande variação das frequências encontradas na literatura, de 5% a 80%, ponderam que isso resultaria da diferença de sensibilidade nos métodos de detecção do HPV.

Zur Hausen, de Villiers, 1994, observam que as infecções anogenitais pelo HPV são transmitidas pelo contato sexual e sua alta prevalência parece ter relação direta com o ápice da maturidade sexual e com fatores socioeconômicos. Os autores relatam que as adolescentes virgens usualmente não apresentam HPV anogenital detectável.

Creatsas, 1995, observou que o aumento de morbidade de DST em adolescentes com vida sexual precoce ocorre principalmente devido a falta de conhecimento, informação ou higiene, tanto no sexo masculino quanto no feminino. A prostituição também é outro fator predisponente de DST onde se inclui a infecção pelo HPV. O câncer cervical ocorre mais comumente em mulheres que começaram suas atividades sexuais em idade precoce. Observaram ainda que a infecção pelo HPV, particularmente dos tipos 16, 18, 31 e 33, é um fator adicional no desenvolvimento da neoplasia intraepitelial cervical.

Cason et al, 1995 observaram em pares de recém natos-mães, 54,1% (33/62) a presença do HPV 16 e 16,1% (10/62) do HPV 18 oral ou genital nas primeiras 24 horas de vida. Quatro recém natos HPV 16 positivos nasceram de mães HPV 16 negativas. De 25 crianças que apresentaram HPV positivo nas 24 horas, 84% (21/25) permaneceram com HPV positivo após seis semanas. Aos seis meses, 17 das 62 crianças que retornaram tiveram seus exames positivos para o HPV 16 em 64,7% (11/17). Os autores observaram que a transmissão do HPV das mães para

seus bebês, ocorre em 69% para o HPV 16 e em 76,9% para o HPV 18 e ainda, que não houve diferença significativa nas freqüências do HPV oral ou genital e entre os sexos masculino e feminino, Concluem que há um impacto importante na transmissão vertical do vírus na epidemiologia da infecção pelo HPV de alto risco.

Cruz et al., 1996 relataram, por meio do PCR, a presença do HPV tipos 6, 16 e de tipo não identificado em 54% (19/35) em biópsias de pacientes portadores de carcinoma espinocelular de cavidade oral. No grupo controle (12 indivíduos sadios) não houve positividade para o HPV. Observaram também que houve um aumento significativo da prevalência do vírus em 77,8% dos pacientes com idade abaixo dos 60 anos. Os autores citam Oswald et al, 1994, que encontraram aumento da positividade do HPV na mucosa, à medida que diminui a distância do CEC, sugerindo a participação do vírus na carcinogênese. Concluem, os autores que, é provável que haja diferentes vias de desenvolvimento do CEC, com e sem a participação do HPV, na dependência de outros fatores como diferenças geográficas, culturais, étnicas e socioeconômicas.

Woods et al, 1993, encontraram, também por meio do PCR, a presença do DNA do HPV em 100% (5/5) das metástases cervicais de carcinomas orais de células escamosas. Suas observações os levaram a concluir não haver evidências da interferência do HPV no potencial metastático de células tumorais.

Tominaga et al, 1996 realizaram biópsias controle em amígdalas normais de pacientes portadores de condiloma acuminado oral. Nos 3/3 casos biopsiados houve positividade para o vírus HPV pelo PCR, porém negativos com o teste SB. Os autores observam que em adultos, a principal via de contágio da infecção oral pelo HPV parece ser por meio da prática do sexo oro-genital.

Alvarez et al, 1997, observaram, por meio do PCR, a presença do HPV tipos 6b e 16 em 25% (14/56) em biópsias de pacientes portadores de carcinoma espinocelular de cavidade oral. Observaram ainda, integração do vDNA integrado nas células tumorais após sua divisão.

Concluem que a integração do vDNA no genoma da célula hospedeira sugere sua participação na oncogênese.

Badaracco et al, 1998 pesquisaram a presença de HPV em 29 mulheres de 21 a 48 anos sendo duas portadoras de lesões clínico-morfológicas de HPV somente em cavidade oral, seis portadoras de lesões somente em regiões genitais e 05 com lesões orais e genitais. As restantes, 16, eram normais. Todas as 7/7 que apresentavam lesão oral portavam condiloma acuminado na língua. Todas as pacientes foram submetidas a exame desarmado e com microscópio, colhido material com swab e as amostras analisadas através do PCR. Das 29 pacientes, 11 (38%) apresentaram HPV positivo (tipos 6,11,16,31,44,56 e 57). As sete pacientes portadoras de condiloma lingual apresentaram todas HPV positivo (tipos 6,16,31,44,56 e 57). Das 22 pacientes com mucosa oral normal (quatro das quais com alterações genitais), quatro (18%) apresentaram HPV positivo (tipos 6,11,16 e 31). Das 16 pacientes normais, três apresentaram HPV positivo (tipo 6,11,16 e 31). Observaram ainda haver concorrência do vírus encontrados na cavidade oral e nas áreas ginecológicas em alta prevalência. Com relação à concordância, de 11 pacientes com HPV ginecológico e oral, apenas uma apresentou concordância com o tipo de vírus (16). Os autores concluem que esses dados demonstram a ocorrência de infecção pelos diferentes tipos de HPV e que, a alta prevalência observada e a concordância dos tipos de HPV nas diferentes áreas indicam que há possibilidade de diferentes reservatórios para os diferentes tipos de HPV.

Schwartz et al, 1998 pesquisaram a presença de HPV em 284 portadores de carcinoma espinocelular oral (165 homens e 119 mulheres de 18 a 65 anos) e em grupo controle com 477 indivíduos (302 homens e 175 mulheres de 18 a 65 anos). Os métodos de colheita de material foram amostras de sangue e raspado de mucosa tanto para os casos de carcinoma quanto para os controles normais. A análise dos materiais foi feita pelo PCR. Em 22 casos (9%) do grupo de 237 amostras viáveis de portadores de carcinoma espinocelular, houve detecção do DNA do HPV e em 40(9%) das 435 amostras viáveis dos indivíduos normais também apresentaram HPV positivos. Os tipos de HPV encontrados em ambas as

amostras foram 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35. Observaram ainda, que, entre indivíduos do sexo masculino, o risco de CEC oral aumenta quanto mais precoce for os primeiros contatos sexuais, aumento de número de parceiros e história de verrugas genitais. Os autores concluem que a infecção pelo HPV 16 pode ter contribuído para o desenvolvimento de uma pequena proporção dos carcinomas orais de células escamosas, mais provavelmente em combinação com o fumo, na população estudada.

Smith et al, 1998 pesquisaram a presença do HPV em pacientes com câncer de cavidade oral e orofaríngea (n=93) 67 homens e 26 mulheres e grupo controle de pacientes normais com faixa etária de 20 a 70 anos (n=205), 131 homens e 74 mulheres com material esfoliado colhido através de enxágüe oral e submetido à PCR. A frequência do HPV nos pacientes com câncer foi de 15% (14/93) dos tipos 13, 16, 18, 22 e 23, e nos indivíduos normais (controle) a frequência foi de 4,8%(10/93) dos tipos 12, 16, 23, 38, 58, 72 e não classificado. Os autores concluem que, nesse estudo, os pacientes, presumivelmente com baixo risco, por não consumirem fumo ou álcool, mas com HPV positivo, são potencialmente de alto risco, para desenvolver a doença.

Terai et al, 1999, coletaram swabs de mucosa oral de 30 voluntários normais (19 homens e 11 mulheres com idade variando de 22 a 48 anos com média de 32 anos) e de 7 pacientes com verrugas de pele (3 homens e 4 mulheres com 22 a 62, com média de 41 anos). As amostras, pela PCR apresentaram nos indivíduos normais, HPV positivo em 100% dos casos (tipos 6, 16, 18, 59, 61 e X71) e nos portadores de verrugas 100% apresentaram HPV positivo (tipos 18, 59 e 61) em mucosa oral normal. No total, 37 das 37 mucosas orais normais apresentaram HPV positivos. Os autores concluem que este estudo demonstrou que a infecção subclínica ou latente pelo HPV é comum. Os autores concluem que esses tipos de infecção sugerem que a cavidade oral comporta-se como reservatório para o HPV. E ainda, esta infecção associada a outros fatores estaria associada ao desenvolvimento de lesões escamosas de cavidade oral e câncer.

Russomano, 2000, relata que o contágio pelo HPV acontece no início da vida sexual, na adolescência, ou por volta dos 20 anos. Esta

infecção será transitória, na maioria das vezes, e não haverá evidência clínica de doença, que poderá ser suprimida ou até curada, salvo se houver uma incompetência imunológica. Relata ainda que algumas dessas infecções persistentes, com tipos virais de alto risco poderão progredir para câncer genital. O diagnóstico dessa infecção será feito em sua maior parte entre os 25 e 29 anos enquanto que os diagnósticos de câncer cervical são mais frequentes entre 35 e 39 anos.

Sand et al, 2000, pesquisaram a presença do HPV em biópsias de 53 pacientes (33 homens e 20 mulheres com faixa etária de 47 a 84 anos) com diferentes doenças orais e de 12 pacientes do grupo controle (de 42 a 71 anos). As análises foram realizadas através do PCR. 12,5% (3/24) dos pacientes com câncer oral apresentaram suas biópsias com HPV positivo para os tipos 18, 16, 6/11 e outro com tipo desconhecido e 27,3% (6/22) dos liquens planos foram HPV positivos, cinco com HPV 18 e um do tipo desconhecido. Duas (29,6%) de sete leucoplasias foram HPV positivas. Nenhum dos 12 pacientes do grupo controle foi HPV positivo. Os autores concluem que estes estudos demonstraram não haver diferença estatisticamente significativa entre o uso do tabaco e do álcool e a prevalência do HPV, que houve associação da infecção pelo HPV com lesões orais e ainda, que a influência patogênica da infecção pelo HPV permanece obscura.

Kado et al, 2001 relatam que há diferenças nos resultados obtidos com diferentes *primers* e que deve-se considerar alguns fatores ao interpretar resultados de detecção do HPV por meio da PCR com a utilização de apenas um par de *primers*. Observam que infecções mistas podem levar a um resultado da PCR confuso, visto que diferentes pares de *primers* amplificam diferentes genótipos de HPV. Concluem que as infecções mistas só poderão ser detectadas com uso de vários conjuntos de *primers* na realização da PCR.

Soares et al, 2002, encontraram por meio da hibridização *in situ*, DNA do HPV tipos 16/18 em carcinomas orais de células escamosas. Observaram ainda, maior incidência de lesões malignas, de mucosa oral em homens na faixa etária de 50 a 80 anos. Citam estudos epidemiológicos onde a incidência ocorre cinco vezes mais em homens

do que em mulheres. Os autores concluem que a presença dos HPV encontrados em lesões malignas de mucosa oral, sugere o envolvimento do HPV na transformação maligna celular desse local.

Ha et al, 2002, em artigo revisional, relataram que a detecção do HPV na mucosa oral normal sugere que nem todas as infecções pelo HPV necessariamente levam à carcinogênese e que, seria importante identificar quais fatores levam à capacidade de induzir à transformação maligna. Consideram que, devido aos diversos tipos de técnicas para a detecção do vírus, uma gama de valores normais tem sido citada na literatura, variando de 0% a 70% e ainda há variação nas taxas de detecção, dependendo do método de colheita do material da mucosa, se com raspado, lavado ou biópsia.

Giuliano et al, 2003, relataram que o aumento do consumo de carotenóides (luteína/zeaxantina, β criptoxantina) e vitamina C duas ou mais vezes por semana parece estar associado com o risco reduzido de persistência de infecção por HPV. Correspondentemente, consumo de mamão (papaya - a maior fonte dietética de carotenóides) e laranja (fonte de vitamina C) foram associados com o risco reduzido de persistência da infecção pelo HPV.

Herrero et al, 2003 observaram que a incidência de CEC em pacientes que mascavam tabaco as taxas de DNA do HPV foram menores do que as taxas dos pacientes que não tinham este hábito e, ainda, a frequência aumentada naqueles com mais de um parceiro sexual e que praticavam sexo oral. Os autores concluem que o HPV parece desempenhar um papel etiológico em muitos cânceres de orofaringe e que o HPV tipo 16 é o mais comum e ainda que, os mecanismos de transmissão do vírus na cavidade oral necessitam outras investigações.

Dahlstrom et al, 2003, notaram, por meio do ELISA, a presença do HPV 16 em 41%(49/120) em amostras de sangue venoso de pacientes portadores de carcinoma espinocelular de cavidade oral. Os autores concluem que, em relação ao fumo, não houve diferença estatisticamente significativa das frequências nas taxas de positividade para o HPV entre os portadores de CEC fumantes, e os que nunca fumaram.

Cañadas et al, 2004, relatam risco de aquisição do HPV anogenital é associado principalmente com experiência sexual precoce, número de parceiros sexuais e contato sexual com parceiros altamente promíscuos. A prevalência do HPV anogenital em mulheres abaixo dos 20 anos é maior do que acima dessa idade. No caso do HPV oral não houve diferença com relação à faixa etária. Os autores observaram em sua pesquisa que a prevalência de HPV anogenital em profissionais do sexo é 10 vezes maior do que na população geral. Citaram trabalho de Sanjose et al, 2000, onde observaram um aumento de apenas três vezes na prevalência do HPV nesses profissionais. Os autores concluíram que, em sua amostra, acima de 80% das infecções por HPV detectadas em trato genital, predominância do HPV de alto risco, enquanto que, na cavidade oral, predominância de HPV de baixo risco sugerindo diferentes graus de afinidades dos tipos de HPV com os diferentes sítios.

Smith et al, 2004, pesquisaram a presença do HPV por meio da PCR em 201 portadores de câncer de cabeça e pescoço (186 com CEC e 15 com outros tipos histológicos) com idade variando de 18 a 70 anos, sendo 132 homens e 69 mulheres. No grupo controle 333 indivíduos normais com idade variando dos 18 aos 70 anos sendo 196 homens e 137 mulheres, sem antecedentes ou presença ao exame físico de tumores de cabeça e pescoço. A obtenção do material nos pacientes portadores de tumores foi feita através de biópsia e dos pacientes normais, amostras de mucosa oral, obtidas através de lavado. Nos pacientes com tumores, as frequências do HPV de alto risco (HPV tipos 16, 18 e 33) foram de 22,9%(n=57) contra 10,8% (n=61) nos indivíduos normais (HPV tipos 16,18,31 e 58 sendo o 16 o tipo mais encontrado). Comparados com pacientes HPV negativo, só indivíduos com HPV de alto risco tiveram ocorrência aumentada no desenvolvimento do câncer de cabeça e pescoço. O risco de desenvolvimento de câncer de cabeça e pescoço em pacientes com HPV de baixo risco foi similar ao daqueles que apresentaram HPV negativo. Os autores concluíram que o HPV de alto risco é um fator independente do consumo de álcool e fumo como fator de risco na formação do cancer cabeça e pescoço.

Piyathilake et al, 2004 observaram evidências de que a associação do aumento nos níveis de ácido fólico é inversamente proporcional à infecção pelo HPV de alto risco. Os autores concluem que pode haver participação do ácido fólico na aquisição da infecção pelo HPV de alto risco e do risco de câncer cervical.

Syrjänen, 2004, em artigo de revisão observa aumento da incidência dos CEC em populações onde o consumo tabágico e alcoólico reduziram em algum período, indicando probabilidade de existência de outros fatores de risco e ainda que, em companheiros de mulheres com HPV genital, associado ao câncer cervical, tiveram risco aumentado ao carcinoma tonsilar. Os autores concluem que tais observações sugerem que o HPV pode estar associado à gênese do tumor.

Tinoco et al, 2004, Relataram por meio da imunohistoquímica, a presença do HPV em 100% (8/8) dos papilomas, 95% (19/20) das hiperplasias epiteliais permitindo estabelecer associação entre estas lesões e o vírus. Os autores concluem que a presença do HPV em apenas 44,7% (16/38) dos carcinomas espinocelulares, não permitiu estabelecer relação estatisticamente significativa entre a infecção pelo HPV e este tumor.

Centurioni, et al, 2005, encontraram taxa de 15,9% de infecção de cérvix uterina pelo HPV, em concordância com outros achados em populações européias. Concluem que o alto nível de instrução da população estudada pode ter afetado os índices devido ao acesso mais fácil aos serviços de saúde.

Xavier et al, 2005 relataram que em levantamento bibliográfico a frequência do HPV em pacientes portadores do CEC bucal varia de 0% a 100%. Encontraram a presença de coilocitose em 75% (15/20) de portadores do tumor. A localização preferencial do mesmo foi no palato (35%), seguido de assoalho da boca (25%), língua (10%), gengiva (5%) e mucosa jugal (5%). Os autores concluem que a alta frequência (75%) de coilocitose em exame histopatológico dos 20 pacientes com CEC sugere alta prevalência do HPV nesses tumores.

Em relação à frequência do HPV na mucosa oral normal os dados encontrados na literatura variam bastante. Conforme trabalhos sobre o

assunto, no período de 1987 a 2004 a frequência do HPV variou de 0% a 100% como pode ser visto na **TABELA 1**, na página seguinte:

PESQUISA DO HPV EM MUCOSA ORAL NORMAL DE INDIVÍDUOS SADIOS

<i>AUTOR ano</i>	<i>Faixa etária</i>	<i>material coletado</i>	<i>Método coleta</i>	<i>Técnica exame</i>	<i>n^o total</i>	<i>HPV+ total</i>	<i>total</i>	<i>Tipos de HPV</i>
Maitland et al, 1987	adulto	mucosa oral	biópsia	hibridização	12	5	41,6%	16
Scully et al, 1987	adulto	mucosa oral	biópsia	hibridização	12	4	41,0%	16
Jenison et al, 1990	adultos	mucosa oral	raspado	PCR	35	11	31%	6,16
Yeudall, Campo, 1991	adultos	mucosa oral	biópsia	PCR	25	2	8%	18
Jalal et al, 1992	adultos	mucosa oral	raspado	PCR	48	25	52%	16
Kellokoski et al., 1992	adultos	mucosa oral	biópsia	PCR	78	18	23,1%	6,11,16,18
				SB	212	33	15,6%	6,11,16,18
Cruz et al., 1996	adultos	gengiva normal	biópsia	PCR	12	0	0%	
Badaracco et al., 1998	adultos	mucosa oral	raspado	PCR	22	4	18%	6,11,16,31
Schwartz et al, 1998	adultos	mucosa oral	raspado	PCR	435	39	9%	6,11,16,18, 31,33,35
Smith et al, 1998	adultos	mucosa oral	lavado	PCR	205	10	4,80%	12,16,23,38 58,72 e não classificado
Terai et al, 1999	adultos	mucosa oral	raspado	PCR	30	30	100%	6,16,18,59 61
Sand et al, 2000	adultos	mucosa oral	biópsia	PCR	12	0	0%	
Smith et al, 2004	adultos	mucosa oral	lavado	PCR	333	61	10,80%	16,18,31,58

HPV=papilomavirus humano

PCR=reação em cadeia pela polimerase; SB=hibridização Southern Blot

OBJETIVO

2. OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi pesquisar a frequência do papilomavirus humano (HPV) em mucosa oral macroscopicamente normal de estudantes de medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) por meio da reação em cadeia pela polimerase (PCR).

CASUÍSTICA E MÉTODO

3. CASUÍSTICA, ASPECTOS ÉTICOS E MÉTODO

31. Casuística

O trabalho, prospectivo, em coorte transversal, realizado durante o período de 17 de maio de 2006 a 11 de abril de 2007. Foram recrutados 100 estudantes do oitavo período do curso de medicina da UFRJ, voluntários, seguindo alguns critérios de inclusão e exclusão, descritos abaixo:

3.1.1 Critérios de inclusão

- adultos jovens de ambos os sexos, faixa etária de 20 a 31 anos
- ausência de história atual ou pregressa de lesão oral por HPV.
- ausência de lesões orais ou orofaríngeas causadas pelo HPV.

3.1.2. Critérios de exclusão

- indivíduos com história prévia ou presença de lesões orais ou de orofaringe causadas pelo HPV, visíveis ao exame direto e confirmadas pelo PCR.

3.2 Aspectos éticos

O trabalho foi submetido previamente à apreciação e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro cadastrado na Comissão de Investigação Científica (CIC) com as seguintes numerações: CEP:090/06 e CIC:062/06 (Apêndice 1). Os indivíduos voluntários envolvidos na pesquisa foram informados da coleta de dados por meio de questionário numerado e não identificado e quanto ao procedimento de coleta das amostras orais numeradas e não identificadas e ao sigilo das informações prestadas e ainda, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido por escrito (Anexo 1).

3.3.1. Questionário

Todos s indivíduos responderam a um questionário (Anexo 2) não identificado, numerado de acordo com as amostras e padronizado. Nesta anamnese foram abordados fatores epidemiológicos envolvidos na transmissão do HPV, tais como idade, sexo, cor, tabagismo, etilismo, consumo de outras drogas, hábitos sexuais, número de parceiros, uso de preservativos e hábitos alimentares relativos ao consumo de carotenóides e vitamina C (Anexo 2).

3.3.2. Coleta de material

Todos os indivíduos foram submetidos, em sala anexa à enfermaria do 10º andar do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, ao exame detalhado da cavidade oral e de orofaringe com iluminação direta com fotóforo. Em seguida, foi realizada coleta de amostras com escovas estéreis, embaladas individualmente da marca Endobrush®, de mucosa de bochechas, direita e esquerda. Após a coleta do material, as escovas foram devolvidas às suas embalagens, lacradas, numeradas, mantidas sob refrigeração e enviadas ao laboratório para detecção do HPV pela técnica da PCR.

3.3.3. PCR

Uma vez encaminhadas as amostras de escovados citológicos de mucosa de cavidade oral para o Laboratório de Expressão Gênica do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro, feito o teste de PCR, conforme protocolo constante no Anexo 3.

3.3.4. Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico considerou dados sobre a frequência do HPV na mucosa oral normal de indivíduos normais, incluídos aqueles de grupos controle. E ainda, naqueles em que houve referência sobre a frequência do HPV em lesões orais

associadas ou não a lesões de região genital relacionadas à infecção pelo vírus. Foram obtidos por meio de pesquisa na Internet junto ao Index Medicus (Medline) e Lilacs, além de teses e revistas científicas.

Os descritores usados foram:

Infecção pelo HPV:

Reação em cadeia pela polimerase

Polymerase chain reaction

Papillomavirus humano

Mucosa bucal

3.3.5. Estatística

As técnicas estatísticas aplicadas neste trabalho foram inteiramente descritivas com o auxílio de medidas de localização, tal como a média e de dispersão, como por exemplo, o desvio padrão. A apresentação dos resultados deu-se em forma de tabelas resumidas, e, onde houve necessidade, foram apresentadas medidas descritivas referentes às variáveis. Para algumas delas, foi utilizado o “teste t” para amostras independentes, para que a diferença entre os níveis de uma mesma variável qualitativa fosse testada. Para as variáveis qualitativas com mais de dois níveis de agregação, como por exemplo, a raça, foi utilizado o “teste F” da análise de variância, em que se consegue comparar a média para todos os níveis de uma mesma variável. Em todos os testes foi considerada uma probabilidade de se rejeitar a hipótese nula (H_0) em 0,05. Ou seja, para testes com um “valor p” abaixo desse patamar rejeitou-se H_0 mostrando, assim, haver diferenças significativas entre os diferentes níveis de uma mesma variável. Caso contrário, nada se pode dizer sobre diferença entre os níveis. O *software* utilizado para todas as análises estatísticas foi o *Statistical Analysis System* (SAS) versão 9.1.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Os resultados individualizados de todos os pacientes entrevistados, podem ser vistos nos quadros 1.1, 1.2, 1.3 e 1.4, a seguir:

ind nº	idade	sexo	cor	mucosa oral	HPV prévio	Fuma	cigarros por dia	álcool	dias/sem	hetero	1parc/sem.	2a3/sem	>3/sem	sexo pleno	sexo oral	bj na boca	preser vativo	outras drogas	papaya	cítricos
1	20	F	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	2x/sem	2x/sem
2	25	M	B	normal	não	não		sim	3x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	3x/sem	>3x/sem
3	23	F	B	normal	não	sim	10a20	sim	3x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	não
4	22	F	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	1x/sem	1x/sem
5	22	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem
6	23	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	1x/sem
7	23	F	B	normal	não	sim	>5/dia	sim	1x/sem	sim		sim		sim	sim	3/sem	às vezes	não	não	1x/sem
8	22	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
9	21	M	B	normal	não	não		não		sim	sim					1/sem	-	não	não	>3x/sem
10	21	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	2x/sem
11	21	F	B	normal	não	não		não		sim						1/sem	-	não	1x/sem	>3x/sem
12	22	F	N	normal	não	não		sim	2x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem
13	22	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem
14	21	M	B	normal	não	não		sim	2x/sem	sim		sim		sim	não	3/sem	às vezes	não	1x/sem	2x/sem
15	23	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	2x/sem	2x/sem
16	31	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	2x/sem
17	20	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim		1/sem	-	não	não	1x/sem
18	22	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim		1/sem	sempre	não	não	1x/sem
19	23	M	B	normal	não	não		não		sim			sim	sim		1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
20	24	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	não
21	24	M	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim		1/sem	sempre	não	não	1x/sem
22	20	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	2x/sem
23	23	M	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim		1/sem	sempre	não		1x/sem
24	22	M	B	normal	não	não		sim	3x/sem	sim	sim			sim		1/sem	sempre	não	não	1x/sem
25	23	M	N	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem
26	25	M	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	1x/sem
27	24	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim		sim		sim	sim	1/sem	às vezes	não	1x/sem	1x/sem
28	26	M	Pd	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	1x/sem
28	24	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim						1/sem	-	não	1x/sem	2x/sem
30	22	F	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	1x/sem

OBS: as células achuradas contêm alterações e fator; fonte:estudantes de medicina da UFRJ;

HPV=papiloma; sem=semana; B=brancos; P=pardos; N=negro; x=vezes;

F=feminino; M=masculino; bj=beijo; ind=indivíc >=maior; /sem=por semana

ind nº	idade	sexo	cor	mucosa oral	HPV prévio	Fuma	cigarros por dia	álcool	dias/sem	heteros	1 parc/sem	2a3/sem	>3/sem	sexo pleno	sexo oral	bj na b nº parc.	preservati	outras drogas	papaya	cítricos
31	23	M	B	normal	não	sim	5a10	sim	3x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	2x/sem
32	25	M	Pd	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não		2x/sem
33	22	F	N	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	2x/sem
34	27	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim		sim		sim	sim	1/sem	sempre	não	>3/sem	1x/sem
35	23	F	B	normal	não	não		não		sim	ñ tem				não	não		não	não	1x/sem
36	23	F	B	normal	não	não		sim	2x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	2x/sem
37	24	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	ñ tem				não	1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
38	21	F	B	normal	não	não		sim	3x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	2x/sem	2x/sem
39	23	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim			sim	sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem
40	24	F	A	normal	não	não		não		sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
41	20	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	1x/sem	1x/sem
42	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	1x/sem	2x/sem
43	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	1x/sem	2x/sem
44	23	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	2x/sem
45	30	F	B	normal	não	não		não		sim	<1				não	<1/sem	sempre	não	não	não
46	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	1x/sem
47	23	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	1x/sem	1x/sem
48	22	F	Pd	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não		3x/sem
49	23	M	B	normal.	não	não		sim	1x/sem	sim	<1				não	<1/sem		não	não	1x/sem
50	22	F	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
51	21	M	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	não	2x/sem
52	20	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	2x/sem
53	22	F	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	3x/sem	2x/sem
54	20	F	B	normal	não	não		sim	3x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	
55	24	F	B	normal	não	não		não		sim	ñ tem				não	não		não	não	2x/sem
56	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	não
57	21	F	Pd	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	não
58	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
59	23	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
60	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem

OBS: as células achuriadas contém alterações e fatores de fonte:estudantes de medicina da UFRJ;
 HPV=papiloma; sem=sem; N=negros; x=vezes; F=feminin bj=beijo;
 parc=parceiros; B=brancos; Pd=pardos M=masculi >=maior; ind=indivíduo; /sem=por semana

ind	nº	idade	sexo	cor	mucosa	HPV	Fuma	cigarros	álcool	dias/sem	heteros	1 parc/	2a3/	>3/	sexo	sexo	bj na b/	preservati	outras	papaya	cítricos
					oral	prévio	por dia			sem				sem	sem	pleno	oral	nº parc.	drogas		
61	21	F	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	não
62	24	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	não	1/sem	sempre	não	>3/sem	>3/sem
63	21	F	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	1x/sem
64	26	M	M	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem
65	23	M	N	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	3x/sem
66	21	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	nunca	não	não	não
67	25	M	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	1x/sem	2x/sem
68	20	M	Pd	normal	não	não		não			sim	sim			sim	não	1/sem	nunca	não	1x/sem	>3/sem
69	22	M	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	1x/sem	1x/sem
70	21	M	P	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	nunca	não	não	1x/sem
71	21	M	B	normal	não	não		não			sim	<1			sim	não	<1/sem	sempre	não	não	1x/sem
72	24	M	Pd	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	nunca	não		2x/sem
73	24	F	B	normal	sim*	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	>3/sem
74	22	M	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	não	1x/sem
75	23	F	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	2x/sem
76	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	não	1/sem	sempre	não		1x/sem
77	21	F	Pd	normal	não	não		não			sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	não	3x/sem
78	24	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	2x/sem
79	20	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	nunca	não	>3/sem	2x/sem
80	26	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	1x/sem
81	26	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	nunca	não	2x/sem	1x/sem
82	22	F	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	não	1x/sem
83	25	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	às vezes	não	1x/sem	1x/sem
84	22	M	Pd	normal	não	não		não			sim		sim		sim	sim	3/sem	nunca	não	1x/sem	2x/sem
85	21	M	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	2x/sem
86	23	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	sempre	não	1x/sem	não
87	22	F	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não	não	3x/sem
88	21	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	não	1/sem	sempre	não	1x/sem	>3/sem
89	21	F	B	normal	não	não		não			sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	>3/sem
90	24	F	Pd	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim				sim	sim	1/sem	nunca	não	não	não

OBS: as células achuriadas contém alterações e fator fonte:estudantes de medicina da UFRJ
 HPV=papiloma; sem=sem; N=negros; x=vezes; F=feminin; bj=beijo; /sem=por semana
 parc=parceiros; B=brancos; Pd=pardos; M=masculi; >=maior; ind=indivíduo; sim*=ant. HPV ginecológico

ind nº	idade	sexo	cor	mucosa oral	HPV prévio	Fuma	cigarros por dia	álcool	dias/serr	heteros	1 parc/sem	2a3/sem	>3/sem	sexo pleno	sexo oral	bj na bj nº parc.	preservati	outras drogas	papaya	cítricos
91	24	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não		>3/sem
92	23	F	B	normal	não	não				sim	sim			sim	não	1/sem	sempre	não		1x/sem
93	23	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	1x/sem
94	26	M	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	1x/sem
95	23	M	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	não	2x/sem
96	22	F	B	normal	não	não		não		sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	1x/sem	3x/sem
97	24	F	B	normal	não	não		não		sim	sim			não	1/sem	_		não	não	1x/sem
98	20	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	nunca	não	_	>3/sem
99	22	F	B	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	às vezes	não	2x/sem	não
100	22	F	N	normal	não	não		sim	1x/sem	sim	sim			sim	sim	1/sem	sempre	não	não	1x/sem

OBS: as células achuriadas contém alterações e fatores de fonte:estudantes de medicina da UFRJ;

HPV=papiloma; sem=sem; N=negros; x=vezes; F=feminin; bj=beijo;

parc=parceiros; B=brancos; Pd=pardos; M=masculi; >=maior; ind=indivíduo; /sem=por semana

4.1. Caracterização da amostra

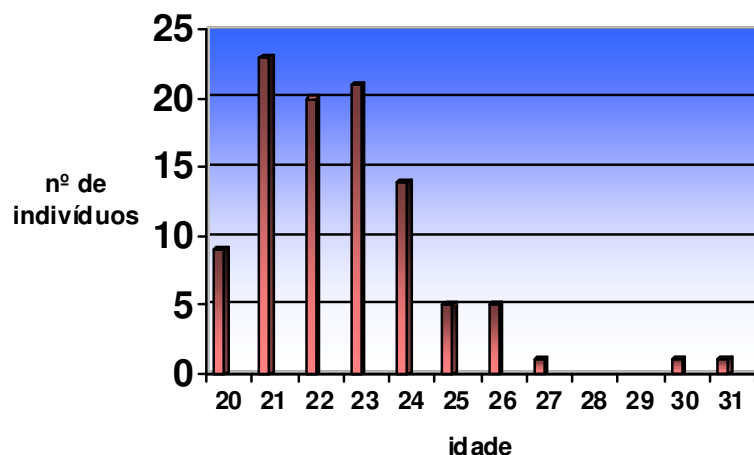
A amostra estudada compreende os cem indivíduos, sem história ou lesões orais provocadas pelo HPV, cujos resultados foram negativos pela PCR. A média de idade dos casos foi de 22,65 anos, com idade variando de 20 a 31 anos. As distribuições etárias, raciais, sexuais, de consumo de drogas, hábitos sexuais e alimentares dos 100 pacientes constam nas Tabelas e Gráficos a seguir, sendo a distribuição etária na TABELA 2:

TABELA 2: Distribuição etária dos indivíduos

<i>Faixa etária</i>	<i>média</i>
De 20 a 31 anos	22,65 anos

A distribuição etária dos indivíduos está ilustrada no GRÁFICO 1:

GRÁFICO 1 - Distribuição etária dos indivíduos estudados (n=100)



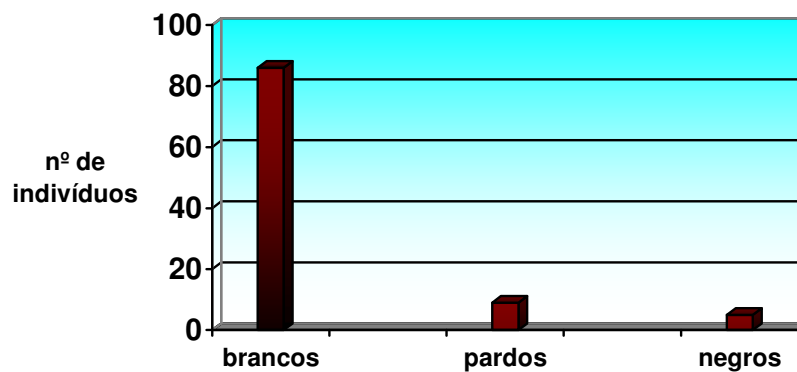
Em relação à distribuição racial alegada pelos indivíduos, houve predomínio de brancos, seguidos de pardos e negros, conforme dados constantes na TABELA 3:

TABELA 3: Distribuição entre as raças alegadas

<i>brancos</i>	<i>pardos</i>	<i>negros</i>
86% (86/100)	9% (9/100)	5% (5/100)

Os dados estão ilustrados no GRÁFICO 2:

**GRÁFICO 2 - Distribuição entre as raças alegadas
(n=100)**



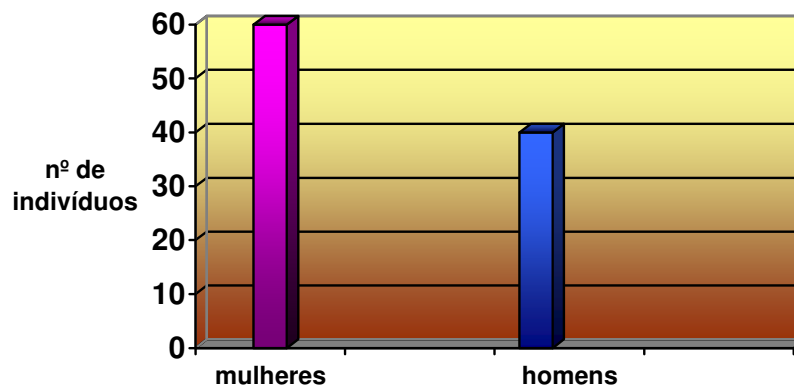
Em relação à distribuição entre os sexos, houve predomínio de mulheres, conforme dados constantes na tabela 4:

TABELA 4: Distribuição entre os sexos

<i>Homens</i>	<i>mulheres</i>
40% (40/100)	60% (60/100)

Os dados estão ilustrados no GRÁFICO 3:

GRÁFICO 3 - Distribuição entre os sexos (n=100)



Os dados relativos aos indivíduos não fumantes e fumantes estão na TABELA 5:

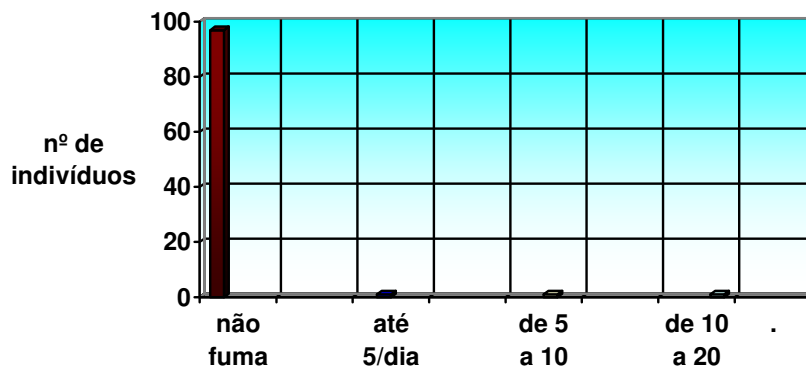
TABELA 5 - Consumo de fumo, em número de cigarros por dia
não consome até 5 por dia de 5 a 10/dia de 10 a 20/dia

97% (97/100)	1% (1/100)	1% (1/100)	1% (1/100)
--------------	------------	------------	------------

/dia= por dia

A distribuição entre não fumantes, predominantes (97%), e os fumantes (3%) - está ilustrada no GRÁFICO 4:

GRÁFICO 4 - Distribuição entre não fumantes e fumantes, em número de cigarros por dia (n=100)



Os dados relativos à distribuição entre não consumidores de álcool e os que consomem, que predominaram, constam na TABELA 6:

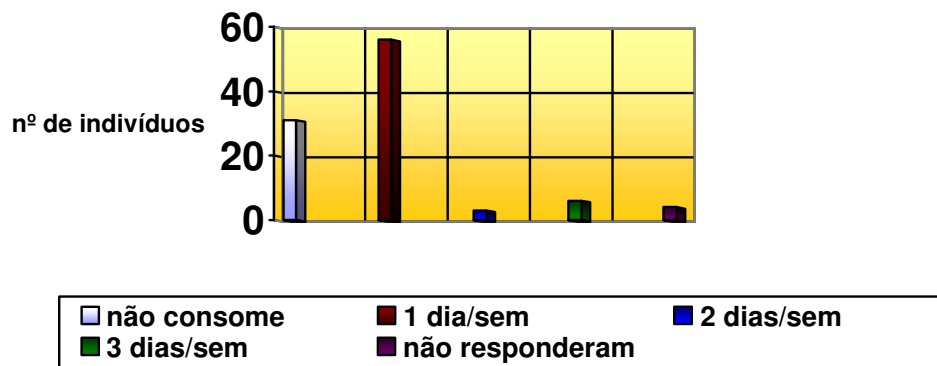
TABELA 6 – Consumo de álcool (em dias por semana)

<i>não consome respondeu</i>	<i>1 vez/semana</i>	<i>2 vezes/sem</i>	<i>3 vezes/sem</i>	<i>não</i>
31% (31/100) 4%(4/100)	56% (56/100)	3% (3/100)	6% (6/100)	

/sem= por semana

A distribuição entre os não consumidores e os consumidores de álcool, em dias por semana, está ilustrada no GRÁFICO 5:

GRÁFICO 5 - Distribuição entre os que não consomem álcool, e os que consomem, em dias por semana (N=100)



/sem = por semana

Com relação aos hábitos sexuais, a distribuição entre os indivíduos, no que se refere à inclinação sexual alegada e a prática de sexo pleno, constam nas TABELAS 7 e 8, respectivamente :

TABELA 7: Inclinação sexual alegada

<i>heterossexuais</i>	<i>homossexuais</i>
100% (100/100)	0% (0/100)

TABELA 8: Praticam sexo pleno

<i>sim</i>	<i>não</i>
91% (91/100)	9%(9/100)

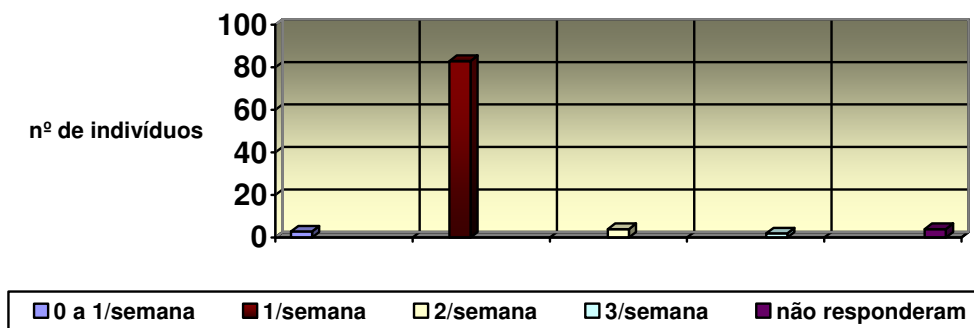
Os dados acerca da distribuição dos indivíduos, heterossexuais (100%), com hábitos de praticar relações sexuais plenas com um (83%) ou mais parceiros, o que evidencia predominância dos monogâmicos, estão na TABELA 9:

TABELA 9: Número de parceiros com quem pratica sexo pleno por semana

<i>menos que um responderam</i>	<i>um</i>	<i>2 a 3</i>	<i>mais que 3</i>	<i>não responderam</i>
6% (3/100)	85% (83/100)	5% (5/100)	2% (2/100)	2%(2/100)

A distribuição dos indivíduos, heterossexuais (100%), com hábitos de praticar relações sexuais plenas, com um (85%) ou mais parceiros, evidencia predominância dos monogâmicos e está ilustrada no GRÁFICO 6:

GRÁFICO 6 - Distribuição entre os indivíduos com e sem hábitos monogâmicos para sexo pleno, em parceiros por semana (n=100)



/semana = por semana

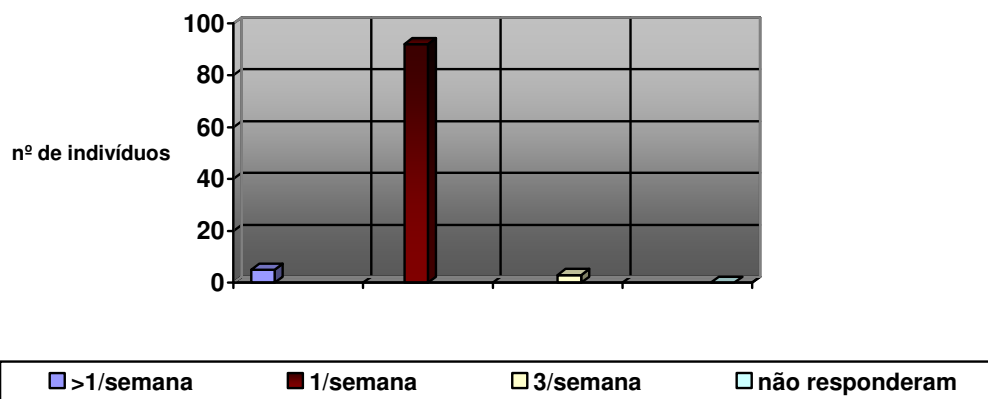
Os dados referentes à distribuição dos que praticam o beijo na boca com um (92%) ou mais de um parceiro por semana reforçam predominância monogâmica da amostra e estão na TABELA 10:

TABELA 10: Praticam beijo na boca, em número de parceiros por semana

<i>Menos que um</i>	<i>um</i>	<i>três</i>	
5%(5/100)	92%(92/100)	3%(3/100)	-

Os dados estão ilustrados no GRÁFICO 7:

GRÁFICO 7 - Distribuição entre os indivíduos que praticam o beijo na boca, em número de parceiros por semana (n=100)



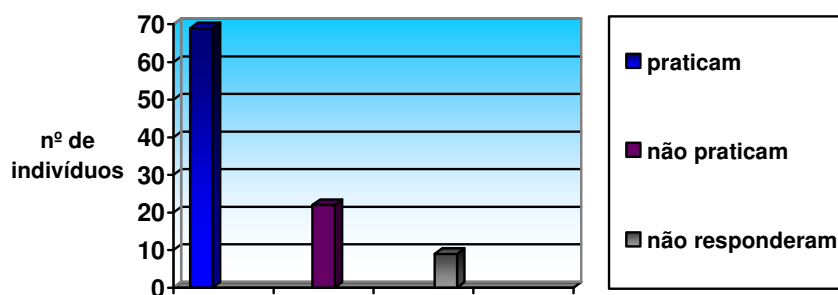
Os dados referentes à distribuição dos indivíduos que praticam, e os que não praticam, o sexo orogenital, está representada na TABELA 11:

TABELA 11: Praticam sexo orogenital

<i>sim</i>	<i>não</i>	<i>não responderam</i>
69%(69/100)	22% (22/100)	9%(9/100)

A predominância dos indivíduos que praticam, ou não, o sexo orogenital, está ilustrada no GRÁFICO 8:

GRÁFICO 8 - Distribuição dos indivíduos que praticam e os que não praticam o sexo orogenital (n=100)

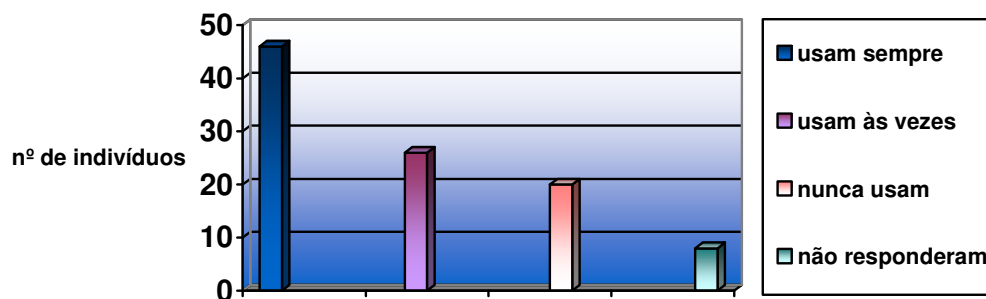


Os dados referentes à distribuição, quanto ao hábito do uso de preservativos, durante os atos sexuais, metade dos 92 indivíduos que responderam, não o fazem regularmente e estão representados na TABELA 12:

TABELA 12: Hábito do uso de preservativos

<i>sempre</i>	<i>às vezes</i>	<i>nunca</i>	<i>não responderam</i>
46%(46/100)	26% (26/100)	20% (20/100)	8%(8/100)

Quanto ao hábito do uso de preservativos durante os atos sexuais, 46% não o fazem regularmente, ilustrado no GRÁFICO 9:

**GRÁFICO 9 - Hábito do uso de preservativos
(n=100)**

Com relação aos hábitos alimentares, os dados referentes aos que consomem e aos que não consomem vitamina C (cítricos), 88% (88/100) o fazem uma a três vezes por semana e estão representados na TABELA 13.

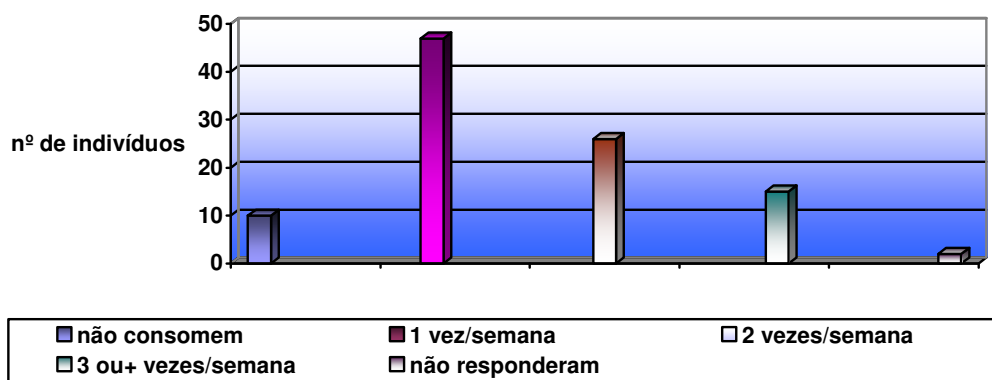
TABELA 13: Consumo de cítricos (vitamina C), em vezes por semana

<i>não consomem</i> <i>responderam</i>	<i>uma vez/sem</i>	<i>duas vezes/sem</i>	<i>3 ou + vezes/sem</i>	<i>não</i> <i>responderam</i>
10% (10/100) 2%(2/100)	47% (47/100)	26% (26/100)	15% (15/100)	

/sem=por semana, + = mais

A distribuição dos que consomem e não consomem vitamina C está ilustrada no GRÁFICO 10:

GRÁFICO 10 - Distribuição dos indivíduos que não consomem e dos que consomem Vitamina C (cítricos) em vezes por semana (n=100)



/semana = por semana , + = mais

Com relação ao consumo de carotenóides (papaya), a distribuição dos que não consomem e dos que consomem 1 a 3 vezes por semana os está detalhada na TABELA 14:

TABELA 14: Consumo de carotenóides (papaya) , em vezes por semana

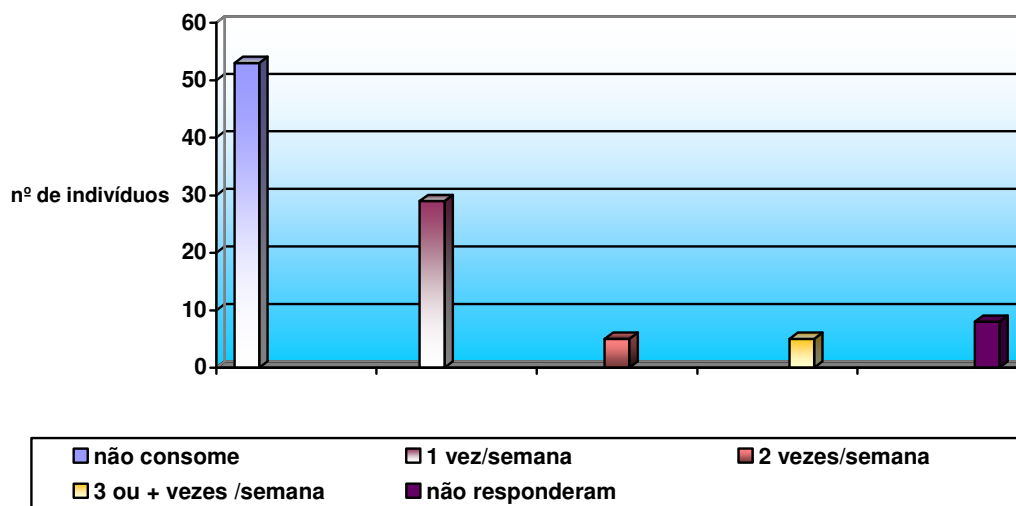
não consome 1 vez/sem 2 vezes/sem 3 ou + vezes/sem não responderam

53% (53/100) 29% (29/100) 5% (5/100) 5% (5/100) 8% (8/100)

/sem = por semana, + = mais

A distribuição dos indivíduos que não consomem e dos que consomem papaya está ilustrada no GRÁFICO 11:

GRÁFICO 11 - Distribuição dos indivíduos que consomem e os que não consomem carotenóides (papaya), em vezes por semana (n=100)



Nos 100 indivíduos entrevistados e examinados foram encontrados os seguintes resultados de exames físicos na TABELA 15 e da PCR na TABELA 16, a seguir:

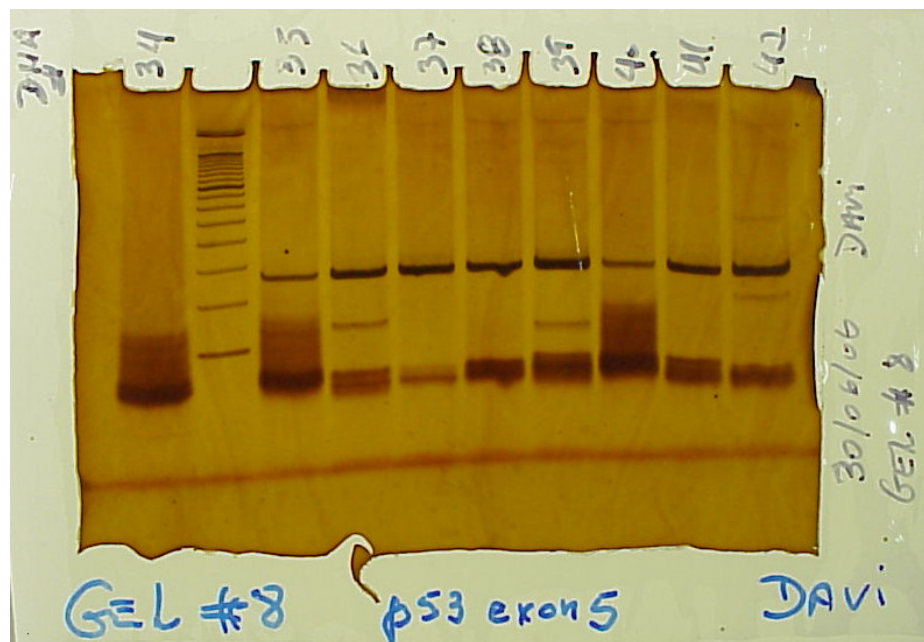
TABELA 15: Resultados dos exames físicos

Número de amostras	Exames normais	Exames anormais
100	100%(100/100)	0 (0%)

TABELA 16: Resultados da PCR com raspado de mucosa oral normal

PCR	número de amostras	percentagem
PCR NEGATIVO	100	100%
PCR POSITIVO	0	0%
TOTAL	100	100%

Exemplos dos resultados da PCR na FIGURA 6:

FIGURA 6:

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Participaram do estudo, 100 indivíduos adultos jovens, com vida sexual ativa, com média de idade de 22,65 anos, variando de 20 a 31 anos, de ambos os sexos (60 mulheres e 40 homens), sem antecedentes de lesão por HPV oral, alunos da Faculdade de Medicina da UFRJ. Todos responderam ao questionário e foram submetidos ao exame clínico de cavidade oral com iluminação artificial direta com fotóforo, colheita de material de mucosa da bochecha por meio de raspado que foi submetido à pesquisa do HPV pela PCR que foi negativa em todos os indivíduos. Seguiremos discutindo os resultados de nossa pesquisa:

Fator de exclusão, transmissão, concordância oral/genital

Não excluimos de nossa amostra, o indivíduo de número 73, com antecedente de HPV ginecológico. Seu exame clínico e pesquisa do vírus da mucosa oral pela PCR estavam negativos. Para isso, consideramos que Castro, 2007, por meio de estudo em mulheres (n=30) com HPV genital, encontrou 0% de frequência de HPV na mucosa oral normal e que Xavier, 2007, em homens (n=27) com lesão anogenital e sem lesão oral, a frequência do HPV na mucosa oral normal foi de 0%. A concordância de vírus oral/genital pode sofrer variação. Kellokoski et al, 1992, em biópsias realizadas em mucosa oral normal de mulheres com HPV genital, encontraram, pelo método SBH 15,6% (33/212) e pelo PCR 23,1% (18/78) de positividade para o HPV (tipos 6, 11, 16 e 18). A concordância dos tipos virais, oral/genital, porém, ocorreu em apenas 8% (2/25). Em seus parceiros, ocorreu presença do HPV em 27,3%. Porém, não houve concordância dos tipos de vírus genitais das mulheres, quando comparado com os tipos de HPV anogenitais encontrados em seus parceiros. Isso sugere existir outras vias diferentes da sexual na transmissão do vírus. Badaracco et al, 1998, observaram concordância em apenas 1/11 (9%) de pacientes com infecções concorrentes, oral/genital. Essa concordância parcial sugere uma transmissão indireta da cavidade oral para a genital ou vice-versa, apesar da assertiva de Zur

Hausen, de Villiers, 1994, onde observam que as infecções anogenitais pelo HPV são transmitidas pelo contato sexual.

Questionário:

Não incluímos em nosso questionário, dados sobre o início da atividade sexual e número total de parceiros tidos desde então e não participaram alunos de todas as séries do curso de graduação, apenas aqueles do oitavo período. Essas informações poderiam acrescentar mais detalhes sobre o perfil de hábitos sexuais da amostra estudada, bem como maior abrangência da faixa etária da amostra.

Fatores socioeconômicos:

Zur Hausen, de Villiers, 1994 e Creatsas, 1995, Cañadas et al, 2004, observam que infecções anogenitais pelo HPV parecem ter relação direta com fatores socioeconômicos. Os autores relatam que as adolescentes virgens usualmente não apresentam HPV anogenital detectável e, por outro lado, aquelas com vida sexual iniciada precocemente, assim como a prostituição, são fatores predisponentes de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo aí, o HPV. Centurioni et al, 2005, observam que baixos níveis de infecção pelo HPV parecem estar relacionados com os altos níveis socioeconômicos da população européia. Nossas observações coincidem com a desses autores, pois, em nossa amostra, os alunos, estudantes universitários, com nível socioeconômico similar ao da população européia apresentaram resultados negativos para a PCR.

Hábitos sexuais:

Em nossa amostra, nas questões relativas aos hábitos sexuais, todos alegaram ser heterossexuais (100%, 100/100). Apesar de não termos encontrado nenhum estudo sobre a freqüência de HPV orogenital

em homossexuais, é sabido que nestes, a frequência da multiplicidade de parceiros é maior. Consideramos, portanto, que a heterossexualidade contribuiu para a redução da frequência das taxas do vírus em nossa amostra. Nesta, os indivíduos apresentaram hábitos predominantemente monogâmicos em seus resultados onde 6% (6/100) alegaram menos de um parceiro por semana, 85% (85/100) apenas um parceiro por semana, 5% (5/100) dois a três parceiros por semana, 2% (2/100) mais que três parceiros por semana e 2%(2/100) não informaram. Esses dados são reforçados com os resultados onde 92% (92/100) dos indivíduos alegaram contato com apenas um parceiro por semana, no que se refere ao beijo na boca. Sabemos do hábito caracterizado por multiplicidade de contatos em um mesmo dia, bastante comum atualmente entre os jovens na nossa sociedade (daí a inclusão dessa pergunta no questionário). Além disso, temos que considerar a importância da frequência do uso alegado de preservativos sexuais, sempre em 46% (46/100) e às vezes 26% (26/100). Os poucos indivíduos, 3% (3/100), que admitiram um contato sexual com três parceiros por semana e não utilizando, 1% (1/100), ou utilizando preservativos às vezes, 2% (2/100), também apresentaram seus resultados negativos para o HPV. As características predominantemente monogâmicas e de uso de preservativos pelos indivíduos componentes da amostra podem ter contribuído para a ausência do HPV em seus testes. Apesar do hábito frequente do sexo oro-genital, em 69% (69/100) que, segundo Tominaga et al, 1996, seria a principal via de contágio do HPV oral, concordamos com Castro, 2007, e Xavier, 2007 que concluem não haver uma indicação clara nem comprovada, de que a prática, de sexo oral resulte em maior predisposição à infecção oral pelo HPV.

Influência do fumo e do álcool:

Diferente do observado em câncer genital (Minkoff et al, 2004), a influência do fumo no desenvolvimento do HPV de alto risco em cânceres de cavidade oral e orofaringe apresenta maior controvérsia, ora havendo evidências de sua não interferência (Smith et al., 2004), ora do aumento (García-Millián et al, 1998) e ora da redução da mesma

(Herrero et al, 2003; Dahlstron et al, 2003; Syrjänen et al, 2004). Apesar de relatos indicarem que o fumo e o álcool podem ser fatores de risco para os carcinomas orais e faríngeos, o aumento da incidência do CEC em populações onde o consumo tabágico e alcoólico reduziram em algum período, indica probabilidade de existência de outros fatores de risco (Syrjänen et al, 2004). Reforçando essa idéia, Ritchie et al, 2003, observaram, em pacientes do sexo masculino com CEC de cavidade oral e orofaringe que, quanto maior o consumo tabágico, menor os índices de infecção pelo HPV.

Concordamos com Sinogas et al, 2004, quando ponderam que haveria um efeito preventivo do tabaco na infecção por HPV na cavidade oral e orofaríngea, provavelmente resultante do aumento da queratinização nas superfícies mucosas, o que as tornaria mais resistentes a traumatismos pequenos e menos susceptíveis à infecção das células da camada basal pelo HPV.

Com relação ao hábito de fumar em nossa amostra, apenas 3% (3/100), se declararam consumidores, o que, certamente, não influenciou nos resultados.

Quanto ao consumo de álcool, 32% (32/100) alegaram não consumir, 55% (55/100) alegaram ser consumidores esporádicos (uma vez por semana), 3% (3/100) alegaram consumir duas vezes por semana, 6% (6/100) alegaram consumir três vezes por semana e 4% (4/100) não responderam. Vê-se, portanto, que a incidência do consumo alcoólico também foi reduzida e pouco expressiva. Em casos de grandes consumidores de álcool, parece haver uma ação sinérgica do uso com a infecção pelo HPV de alto risco (Smith et al, 2004), o que não se aplica na amostra utilizada neste trabalho.

Observamos, portanto, que há contradições no comportamento da infecção pelo HPV na mucosa oral, no que se refere à interferência do consumo de fumo e de álcool, que ainda não estão esclarecidas.

Hábitos nutricionais:

Menção relativa à ingestão regular de carotenóides (luteína/zeaxantina e β -criptoxantina) e vitamina C, indicou redução na persistência da infecção pelo HPV (Giuliano et al, 2003) e evidências de que o aumento nos níveis de ácido fólico é inversamente proporcional à infecção pelo HPV de alto risco (Piyathilake et al, 2004).

Em nossa amostra, o consumo de nutrientes (vitamina C e carotenóides) apareceu com frequência considerável, sendo que 88% (88/100) alegaram consumir cítricos (fontes de vitamina C), entre uma e três vezes por semana e 39% (39/100) alegaram consumir papaia (fonte de carotenóides) entre uma e três vezes por semana. Fatores esses que podem ter contribuído na redução da frequência do HPV na amostra.

Infelizmente a obtenção da referência sobre a interferência dos níveis de ácido fólico ocorreu após a conclusão da aplicação dos questionários, estando omitidas, por esse motivo as questões relativas aos hábitos de consumo desse nutriente.

Exame físico, uso do microscópio e do ácido acético:

Não foi utilizado microscópio no exame da mucosa oral. Poucos autores citam a microscopia em sua rotina metodológica do exame da cavidade oral, resultando em falta de embasamento na literatura a esse respeito (Badaracco et al, 1998). Consideramos ter sido um erro não utilizar o microscópio na realização desse trabalho e concordamos com Sarruf, Dias, 1997, que têm o microscópio como um instrumento valioso que deve ser introduzido na rotina da oroscopia. A falta de embasamento na literatura, justificada por vários autores para a não utilização do microscópio no exame da cavidade oral, poderia ser revertida, abrindo a possibilidade para o fornecimento de novas informações no esclarecimento de lesões não detectáveis à visão desarmada.

Não utilizamos o ácido acético. Perez et al, 2000, definem a lesão subclínica genital como sendo aquela onde há coloração pelo ácido

acético. A definição de lesão subclínica em cavidade oral não obedece a critério tão nítido, até porque, neste local, a utilização do ácido acético não é um meio adequado para a detecção de lesão pelo HPV (Kellokoski et al, 1990; Sarruf, Dias, 1997).

Utilização do exame histopatológico:

Não realizamos o exame histopatológico, porque, para fins de diagnóstico do HPV, é um exame pouco sensível e inespecífico em otorrinolaringologia, não havendo alterações patognomônicas associadas ao vírus em mucosa oral normal. A coilocitose é o achado morfológico que mais se aproxima disso e, mesmo assim, é inespecífico, podendo ser encontrado em outras patologias não ligadas ao HPV (Marone, Gusmão, 2000). E ainda, a identificação da coilocitose à histopatologia é rara na ausência de lesões clínicas (Sarruf, Dias, 1997). Nossa amostra incluiu apenas indivíduos sem lesão clínica.

Freqüência do HPV na literatura:

A freqüência do HPV na mucosa oral normal obtida por meio da PCR é muito variável na literatura, conforme a TABELA 1, sendo Maitland et al, 1987, com 41,6%, Scully et al, 1987, com 40 %, Jenison et al, 1990, com 31%, Yeudall, Campo, 1991, com 8%, Jalal et al, 1992 com 52%, Tominaga et al, 1996, com 100%, Kellokoski et al, 1992, com 23,1%, Cruz et al, 1996 com 0%, Badaracco et al, 1998, com 18%, Schwartz et al, 1998, com 9%, Smith et al, 1998 com 4,8%. Terai et al, 1999, com 100%, Sand et al 2000, com 0%, Smith et al, 2004, com 10,8%. Vemos discrepâncias nestes resultados com prevalência maior para o HPV 16.

Em comparação com outros estudos na literatura sobre a freqüência do HPV em mucosa oral normal, por meio da PCR, encontramos os mesmos resultados de Cruz et al, 1996 e Sand et al, 2000 onde a freqüência do HPV foi de 0%. Castro, 2007 cita outros estudos onde a freqüência do vírus foi de 0% (Eike et al, 1995, Mao et al, 1996,

Bustos et al, 1999, Pillai et al, 1999 e Bouda et al, 2000). Vemos aí que, não raro, a frequência do HPV na mucosa oral ocorre dessa forma.

Em outros levantamentos efetuados pelos vários autores. Terai et al, 1999, observam a existência de poucos estudos específicos para a pesquisa do HPV em mucosa oral normal. Oliveira et al, 2003, cita resultados variando entre 0% a 81%. Ha, Califano, 2004 encontraram percentuais variando de 0% e 70%. Castro, Bussoloti Filho, 2006 citam levantamento que variou de 22% a 60%. Castro, 2007, realizou levantamento onde observou variação de 0% a 81,%. Estes resultados foram obtidos utilizando diversos métodos laboratoriais na detecção do HPV. Em nosso levantamento encontramos a variação do HPV em mucosa oral macroscopicamente normal variando de 0% a 100%. Comparando com o HPV em mucosa genital normal, o vírus apresenta variação importante nas frequências encontradas na literatura, conforme descrito por Russomano, 2000, onde relata que na população brasileira observou frequência do HPV genital variando entre 13 e 20% e Terai et al, 1999, relatam que a frequência do HPV em mucosa genital normal pode variar entre 5% e 100%.

A grande variação observada nos diferentes levantamentos sugere que inúmeros elementos devam participar da infecção pelo HPV e sua persistência na cavidade oral. Concordamos com Cruz et al, 1996, quando observa que fatores socioeconômicos, geográficos, culturais e étnicos e, acrescentamos, fatores alimentares, imunológicos, consumo de drogas, diferenças nos métodos de pesquisa e outros poderiam interferir nos resultados conforme veremos mais adiante. A presença freqüente do HPV 16 e 18, de alto risco, além de outros tipos menos freqüentes, também de alto risco (31, 33, 35, 52, 59) na mucosa oral normal (Maitland et al, 1987, Scully et al, 1987, Jenison et al, 1990, Yeudall, Campo, 1991, Jalal et al, 1992, Kellokoski et al, 1992, Badaracco et al, 1998, Schwartz et al, 1998, Smith et al, 1998, Terai et al, 1999 e Smith et al, 2004), como infecção latente com um baixo número de cópias, sem lesões, indica a possibilidade de a mucosa oral atuar como reservatório. Isso, provavelmente até o momento em que ocorram mudanças e induzindo à agressividade no comportamento do vírus. Em nosso

levantamento os tipos de HPV encontrados foram 6-11-12-16-18-23-31-33-35-38-58-59-61-72 e não classificado. Incluídos aí, portanto, os vírus de baixo e alto risco.

Associação com o CEC:

Relativo à associação com o câncer, Schwartz et al, 1998 pesquisaram a presença de HPV em 284 portadores de carcinoma espinocelular oral (165 homens e 119 mulheres de 18 a 65 anos) e em grupo controle com 477 indivíduos (302 homens e 175 mulheres de 18 a 65 anos). Os métodos de colheita de material foram amostras de sangue e raspado de mucosa tanto para os casos de carcinoma quanto para os controles normais. A análise dos materiais foi feita pelo PCR. Em 22 casos (9%) do grupo de 237 amostras viáveis de portadores de carcinoma espinocelular, houve detecção do DNA do HPV e em 40(9%) das 435 amostras viáveis dos indivíduos normais também apresentaram HPV positivos. Os tipos de HPV encontrados em ambas as amostras foram 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35. Os autores concluem que a infecção pelo HPV 16 pode ter contribuído para o desenvolvimento de uma pequena proporção dos carcinomas orais de células escamosas, na população estudada. Podemos verificar que, não por coincidência, os dados sugerem ainda, que nessa população, na mesma região geográfica a existência específica dessa combinação dos mesmos tipos de vírus encontrados, na mesma frequência (9%), exatamente da mesma forma em indivíduos normais, como em portadores do CEC, possa existir um padrão regional, ou mesmo geográfico, na infecção pelo HPV e também caberia a especulação onde uma determinada combinação dos tipos de vírus induziria a uma agressividade maior ou menor visto que as proteínas precoces (E) de cada tipo de vírus apresentam comportamentos diferentes em sua ação inibitória dos genes supressores de tumor. Concordamos com a ponderação de Jalal et al, 1992 onde, uma vez que HPV ocorre em uma proporção de indivíduos normais, não se pode afirmar que o HPV seja o único agente etiológico responsável pela neoplasia.

Considerando o número reduzido de publicações específicas para pesquisa da frequência do HPV na cavidade oral normal, utilizamos em nossa revisão da literatura os grupos controle de indivíduos normais, citados nos diferentes trabalhos. A discussão aprofundada relativa aos diversos aspectos sobre o CEC e outros tumores e ainda manifestações clínicas de cavidade oral do HPV, não foi nosso objetivo.

Persistência da infecção pelo HPV:

Russomano, 2000, relata que o contágio pelo HPV acontece no início da vida sexual, na adolescência, ou por volta dos 20 anos. Na maioria das vezes, esta infecção deverá ser transitória, sem evidência clínica da doença que poderá ser suprimida ou até curada, salvo se houver uma incompetência imunológica. Relata ainda que algumas dessas infecções persistentes, com tipos virais de alto risco poderão progredir para câncer genital. O diagnóstico dessa infecção será feito em sua maior parte entre os 25 e 29 anos. Sinogas et al, 2004 verificaram que há evidências de que a infecção pelo HPV é um fenômeno transitório ou intermitente, com uma duração média de 12 meses. Xavier, 2007, cita observação de Beutner et al, 1991, haver diferença na atividade biológica do vírus entre homens e mulheres, sendo que os homens têm maior tendência flutuante da infecção com períodos de remissão espontânea que pode ser decorrente da situação imunológica, fatores locais e das diferentes formas de organização do epitélio genital em ambos os sexos. Nossa casuística estudou indivíduos que, em sua maioria compunha uma faixa etária relativamente estreita, sendo, a média de idade de nossa amostra, de 22,65 anos, de ambos os sexos (60 mulheres e 40 homens), podendo ter coincidido em período de cura na amostra.

Influência das limitações dos métodos de diagnóstico:

Há ainda, variação nas taxas de detecção, dependendo do método de colheita do material da mucosa, se com raspado, lavado ou biópsia (Ha et al, 2002) e do método de realização da PCR.

Apesar da utilização do raspado, mantendo o material fresco sob refrigeração, que apresentaria maior positividade na detecção do DNA do HPV (Hoffmann et al, 1998 e Melo et al, 2005), este método extrai somente células superficiais do epitélio que se infectam na vigência de infecção subclínica e clínica. Não há, portanto, remoção de células da camada basal e suprabasal onde o vírus se aloja nas infecções latentes (Jalal et al, 1992). Isso pode ter induzido a resultados falso-negativos.

Foram utilizados os *primers* MY09 e MY11 e GP5+/GP6+ na realização deste trabalho, os mais rotineiramente utilizados em pesquisa de DNA do HPV e que detectam um painel de diferentes tipos do vírus, em uma única reação (Ribeiro, 2002; Gravitt et al, 2000, segundo Castro, 2007). Trata-se de um método útil e confiável para a detecção do DNA do HPV (Niv et al, 2000). Contudo, há relato de diferença nos resultados obtidos com diferentes *primers* para uma mesma amostra, significando que diferentes *primers* amplificam diferentes genótipos do HPV. A detecção das infecções mistas só poderia ser realizada com uso de vários pares de *primers* na realização da PCR (Kado et al, 2001). Considerando essa limitação, a não utilização de vários pares de *primers* em nosso trabalho seria uma possibilidade a mais, na origem de resultados falso-negativos. A grande variação nas taxas de frequências observadas nos diferentes trabalhos pode ser parcialmente explicada pela diferença de sensibilidade nos métodos de detecção do HPV. Kellokoski et al, 1992 encontraram em diferentes amostras, com diferentes métodos (SB e PCR), resultados bastante diferentes em biópsias de pacientes normais e com lesão. Seu estudo, porém, não utilizou a mesma amostra para testar ambos os métodos, o que daria elementos comparativos mais consistentes. Observação semelhante feita por Tominaga et al, 1996, embora utilizando casuística pequena, encontrou positividade para o HPV por meio do PCR em três pacientes, sendo que pelo SB, os exames dos mesmos pacientes foram negativos, reforçando a assertiva inicial de que os resultados dependerão da sensibilidade de cada teste.

Fatores locais, como, a possibilidade de que a saliva, com componentes que poderiam ter algum efeito protetor com a presença de lisozimas, lactoferrina, IgA e citocinas (Miletic, segundo Xavier, 2007)

,e ainda, a baixa transmissibilidade pela auto-inoculação e pelo sexo oro-genital (Castro, 2007). E ainda, o epitélio pavimentoso estratificado da mucosa oral , queratinizado em algumas áreas, pode ser uma barreira para a infecção pelo HPV, fazendo com que seja mais difícil ao vírus atingir as camadas mais basais do epitélio (Smith et al, 2004).

Estatística:

Com relação ao estudo estatístico, pelo fato de não se constatar indivíduos com a presença do HPV, não foram aplicados testes qui-quadrados de associação entre as variáveis qualitativas com a que continha a informação do HPV.

Considerações finais:

Sintetizando as características da nossa amostra, podemos dizer que a ausência de hábitos de consumo de fumo e de álcool em quantidades expressivas, alto nível socioeconômico, padrão alimentar incluindo ingestão regular de alimentos ricos em vitamina C e carotenóides, comportamento predominantemente monogâmico, e do uso de preservativos provavelmente interferiram pressionando para baixo a frequência do HPV oral, no resultado final.

Apesar da frequência do vírus variar de 0% a 100%, sugerir a possibilidade de a mucosa oral atuar como reservatório (Kellokoski et al, 1992; Terai et al, 1999), o HPV pode ser considerado como um fator de risco para o câncer oral. A integração do DNA do HPV encontrado no genoma do CEC aponta para a tese de que o vírus seria um importante fator etiológico na histogênese de alguns dos carcinomas da região de cabeça e pescoço (Dezmekian et al, 1987; Alvarez et al, 1997). Associado a isso, Oliveira et al, 2003, observaram, que os HPV dos tipos 16 e 18 estão associados às proteínas precoces que se ligam, seqüestram e degradam genes supressores de tumor sendo E6 agindo sobre o p53, e E7 que age de forma similar com a pRB.

Acreditamos que outros estudos devam ser realizados buscando o entendimento dos mecanismos de ação do HPV na mucosa oral normal para que possam trazer elementos para esclarecer de que modo ocorre o desenvolvimento da carcinogênese oral e para qual direção as pesquisas nesse sentido devam ser realizadas no futuro.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

A frequência da infecção por HPV na mucosa oral macroscopicamente normal de estudantes de medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro pela PCR é de 0% neste estudo.

ANEXOS

7. ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO



SERVIÇO DE
OTORRINOLARINGOLOGIA



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PREVALÊNCIA DE PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) EM MUCOSA ORAL DE INDIVÍDUOS ASSINTOMÁTICOS

Proposta e Situação – Problema

O papilomavirus humano (HPV) tem sido considerado um forte participante na formação de doenças na região de cabeça e pescoço (papilomas orais, hiperplasia epitelial focal, leucoplasias, papilomatose repetida de aparelho respiratório e também tumores cancerosos). Sabemos da existência de mais de 100 tipos desses vírus. Muitos desses vírus não produzem quaisquer problemas, mas outros são os responsáveis pelas alterações acima.

Nas últimas décadas, grandes esforços vêm sendo feitos para encontrar e identificar esses vírus. Tem sido feitas pesquisas com a intenção de aumentar o conhecimento a respeito do comportamento desses vírus no ser humano, com objetivo de criar condições para produção de meios preventivos e tratamentos capazes de combatê-los. Estamos realizando este trabalho com o intuito de acrescentar dados neste contexto que servirão de base para futuros estudos dentro deste tema.

Você está sendo convidado a participar de forma voluntária desta pesquisa, que consiste basicamente em responder a um questionário com informações sobre você e ser submetido a pesquisa do vírus papilomavirus (HPV) em sua cavidade oral (boca).

Você receberá uma cópia dos exames. Em caso de alterações, você receberá acompanhamento rotineiro no ambulatório de Otorrinolaringologia.

1. Procedimentos

Se concordar em participar neste estudo:

- Eu responderei a um questionário padronizado sem identificação do meu nome que investigará aspectos do meu perfil sócio-econômico (exemplos: idade, cor, sexo, profissão), avaliará meu passado de certas doenças infecciosas principalmente as sexualmente transmissíveis, hábitos sexuais (dados sobre doenças anteriores e outros problemas)
- o questionário identificará fatores de risco que possam estar associados à presença do vírus em minha cavidade oral (boca)
- serei submetido a colheita de material com uma pequena escova na minha cavidade oral (bochecha).

2. Tempo

Os procedimentos demorarão no máximo 10 minutos.

3. Local do Estudo

Estes procedimentos serão realizados nas salas do ambulatório do Serviço de Otorrinolaringologia, do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho.

4. Riscos/Desconfortos

Algumas das questões que constam do questionário podem produzir sentimentos indesejáveis, mas caso eu ache necessário eu poderei interromper a entrevista a qualquer momento.

Algum desconforto pode ser produzido quando colher o raspado da minha mucosa oral (bochecha).

5. Tratamento e compensação por danos

Se eu tiver algum problema de saúde em decorrência deste estudo, o tratamento será fornecido pelas instituições participantes. O custo deste tratamento será totalmente coberto pelo Hospital Clementino Fraga Filho. Poderei receber indenizações legalmente estabelecidas.

6. Alternativas

Se eu decidir não participar deste estudo ou interromper a minha participação a qualquer momento, não sofrerei qualquer penalização acadêmica ou serei impedido de receber atendimento médico no Hospital Clementino Fraga Filho da UFRJ.

7. Custos e compensações para os entrevistados

Eu não pagarei nenhuma quantia de dinheiro para a minha participação neste estudo.

Não receberei qualquer remuneração financeira por minha participação voluntária neste estudo.

8. Confidenciabilidade dos dados.

A participação em projetos de pesquisa pode resultar em perda de privacidade, entretanto procedimentos serão tomados pelos responsáveis por este estudo, no intuito de proteger a confidenciabilidade das informações que eu forneça. As informações serão codificadas e mantidas num local reservado o tempo todo. Somente o Dr. David Esquenazi e os demais coordenadores terão acesso às informações e aos questionários. Após o término deste estudo, as informações serão transcritas dos questionários para arquivos no computador, porém o acesso permanecerá restrito aos mesmos pesquisadores. Os dados deste estudo poderão ser discutidos com pesquisadores de outras instituições e publicados em revistas científicas, mas nenhuma identificação pessoal dos voluntários será fornecida.

9. Exclusividade do uso do material

O material colhido destina-se exclusivamente para esta pesquisa e não será armazenado para ser destinado a outras pesquisas.

Receberei uma cópia deste termo de consentimento para mantê-lo comigo.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com o Dr. David Esquenazi, sobre a minha decisão em participar nesse 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 a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento nesta Instituição.

Eu consinto em que meu endereço e telefone sejam anotados numa folha separada, para facilitar contato comigo quando necessário.

Nos próximos dias, se tiver qualquer dúvida sobre sua participação neste estudo, poderei telefonar para o pesquisador responsável, Dr. David Esquenazi através do número de telefone abaixo relacionado.

Se eu tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, poderei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)- sala O ID-46- 10 andar, fone 2562-2480 – E.mail: ccp@hucff.ufrj.br.

Dr. David Esquenazi - tel: (21) 22080239

Nome completo do voluntário: _____

Assinatura do Voluntário: _____

Nome do entrevistador: _____

Assinatura do Entrevistador: _____

Responsável pela colheita do material: _____

Assinatura do responsável pela colheita do material: _____

Data ___/___/___

Local: _____

ANEXO 2

Nº

Questionário da pesquisa HPV em mucosa oral

Não identificar

Idade: Sexo Cor

Tem alterações em mucosa oral? Não () Sim()

Tem antecedente de HPV (papiloma)

oral? Não () Sim ()

genital? Não () Sim ()

outros locais? Não () Sim ()

Quais? _____

Hábitos:

Fumante Não () Sim

Menos que 5/dia () de 5 a 10/dia () de 10 a 20/dia() mais que 20/dia

Consome bebidas alcoólicas: Não () Sim ()

01 vez /semana () 2 vezes /semana () 3 vezes /semana ()

mais que 3 vezes/semana ()

Consome outras drogas: Não () Sim ()

Injetáveis: sim () Não ()

Frutas

Consumo regular de mamão Papaya: não ()

1 vez /semana () 2 vezes por semana () 3 vezes por semana () > 3/semana ()

Consumo regular de Laranja, tangerina, acerola ou limão (natural ou em sucos)

1 vez /semana () 2 vezes/ semana () 3 vezes/ semana () + que 3 vezes/semana ()

Hábitos sexuais

Heterossexuais () Homossexuais () Bissexuais ()

Beijo na boca:

1 parceiro / semana () 3 parceiros/ semana mais que 3 parceiros /semana ()

Sexo pleno

Só 01 parceiro () 2 ou 3 parceiros () mais que 3 parceiros ()

Pratica sexo oral: não() sim ()

Usa preservativos: sempre () às vezes () nunca()

Reservado ao examinador

Exame físico da cavidade oral e orofaringe à vista desarmada utilizando o fotóforo:

Exame normal Sim () Não ()

Descrever as alterações:

ANEXO 3

Protocolo de extração e amplificação do DNA e identificação dos tipos de HPV pelo PCR, realizado no Laboratório de Expressão Gênica do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

1. Princípio do Método:

A reação em cadeia pela polimerase (Polymerase Chain Reaction – PCR) é uma reação enzimática que resulta em múltiplas cópias de um segmento específico de fragmento de ácido desoxiribonucléico, DNA, mediante a amplificação desta região por ciclos repetitivos de síntese de segmento deste DNA. Sendo assim, a seqüência particular de interesse dentro de todo o genoma do organismo analisado pode ser amplificada tornando-se majoritária na amostra de DNA total.

O método pelo qual a PCR funciona é o seguinte: dois pequenos fragmentos de DNA, tipicamente 20 pares de bases, chamados de *primers* complementares a cada uma das extremidades da seqüência do DNA de interesse, são adicionados à amostra de DNA junto com uma enzima, Taq polimerase (*Thermus aquaticus*), em meio à mistura de reação contendo os demais componentes necessários para síntese de DNA. A seguir, a mistura da reação é colocada em uma máquina, o termociclador e submetida a ciclos repetidos de amplificação, geralmente 35 vezes a temperaturas diferentes obedecendo geralmente às seguintes fases da reação:

-desnaturação a 94°C

-hibridização a 60°C

-síntese a 72°C

Em cada ciclo da PCR, a fita de DNA sintetizada serve de molde para uma subsequente reação de amplificação, de tal forma que o número de moléculas de cada segmento do DNA dobra em cada ciclo. O produto final amplificado será analisado por eletroforese em gel de poliacrilamida.

A PCR também pode ser utilizada para amplificar RNA mensageiro (mRNA). Para isto porem, é necessário como primeira etapa, sintetizar DNA a partir do mRNA. O DNA é sintetizado utilizando-se a enzima transcriptase reversa gerando um novo DNA dito DNA complementar (cDNA) que será posteriormente amplificado utilizando-se a metodologia básica da PCR acima descrita. O método tem como sigla RT-PCR (reverse transcriptase).

2. Cuidados fundamentais para prevenção e controle da contaminação nas reações de amplificação de ácidos nucléicos (PCR).

Como o método de PCR é de alta sensibilidade e especificidade, a utilização dessa técnica em laboratório exige cuidados especiais com o objetivo de prevenir o risco potencial de eventuais contaminações que levam a resultados falso-positivos. Há diversas fontes de contaminação (“PCR-carryover”) que podem interferir na reação.

2.1 Os procedimentos básicos para se realizar a reação de PCR requerem áreas físicas determinadas no laboratório, conforme determinado pelo “PCR protocols”- A guide to Methods and Applications “Edited by Michaels A Injis, David H. Gelfand, John J. Sninsky, Thomas J. White. Basicamente os espaços alocados para o PCR devem incluir:

Área A: Preparo de amostras: extração de DNA

Essa deverá ser feita em uma cabine forrada com material lavável contendo uma luz ultra-violeta, cuidados necessários para que o ambiente ofereça segurança não só quanto a pureza da amostra quanto ao operador. Denominado em inglês de “DNA Workstation”, o referido ambiente segue o desenho recomendado para as boas práticas de protocolo para PCR. Em nosso laboratório chamamos essa área de DNA Workstation A.

Área B: Área de preparo de reagentes –DNA Workstation B

- preparo de tampões
- preparo de soluções de estoque para PCR (Proteinase K, Rnase)
- preparo de mistura de reação para PCR
- diluição de primers

Obs: nenhum produto amplificado deverá ser colocado nessa área

Área C: Amplificação das amostras

Área D: Detecção dos produtos amplificados

- processamento dos produtos da PCR
- análise eletroforética dos produtos da PCR
- análise de restrição e sequenciamento dos produtos amplificados

2.2 Cada área específica deve conter seu conjunto de estantes e materiais plásticos estéreis, descartáveis e no tamanho adequado (micropipetas, luvas, ponteiras, canetas, tubos etc). As pipetas devem ser marcadas e usadas somente para soluções específicas. Deve-se utilizar ponteira com barreiras para aerossol para pipetar o produto amplificado da PCR.

2.3 Soluções estoques devem ser preparadas e alíquotadas em pequenas quantidades de tubos de plástico descartáveis.

2.4 O material para extração de DNA deve ser estéril e descartável.

2.5 Todos os procedimentos devem ser realizados com luvas estéreis e descartáveis.

2.6 As áreas de preparo de amostras e de pré-amplificação devem ser descontaminadas através de utilização de lâmpadas de luz ultravioleta (254nm) que devem ser ligadas de 10 a 12 horas antes do início de cada trabalho, tempo necessário para inativar completamente possíveis ácidos nucléicos contaminadores. A luz ultravioleta (UV) com comprimento de onda de 254nm é absorvida fortemente pelas bases nitrogenadas gerando como fotoprodutos dímeros, impedindo assim a amplificação de DNAs contaminadores.

- 2.7 A superfície das bancadas deve ser limpa com hipoclorito de sódio a 10% (Biotechniques, v.12,p358-360, 1992). As superfícies metálicas devem ser limpas com álcool etílico a 70% ou isopropílico a 70%.
- 2.8 Todas as reações devem incluir controles. O controle negativo, contendo todos os componentes da reação exceto o DNA. O controle positivo onde será amplificado um gene padrão conhecido.
- 2.9 O analista deverá usar avental, luvas, máscara e equipamentos de proteção individual

3.0 Exame : PCR-HPV (vírus do papiloma humano)

análise qualitativa

O vírus do papiloma humano pertence à família Papilomaviridae, gênero papiloma vírus. As partículas virais contêm um capsídeo icosaédrico com 72 capsômeros e seu genoma é composto de DNA circular de fita dupla. O genoma pode ser dividido em três regiões:

1-Região de transcrição precoce contendo os genes E1 a E7 (codificam proteínas envolvidas na replicação do DNA viral).

2-Região de transcrição tardia, contendo os genes L1 e L2 (codificam proteínas do capsídeo viral).

3-Região controladora da transcrição, chamada de LCR

O gene E1: codifica uma proteína com atividade de helicase, envolvida no início da replicação do DNA.

O gene E2: envolvido na regulação da transcrição.

O gene E3: função ainda não identificada

O gene E4: aparentemente envolvido na ruptura do esqueleto celular (citoesqueleto).

O gene E5: codifica uma proteína que interage com os fatores de crescimento celular.

O gene E6: codifica uma proteína que se liga ao produto do gene supressor de tumor, a proteína p53, levando à sua degradação.

O gene E7: codifica uma proteína que se liga a uma proteína celular chamada de retinoblastoma (Rb).

A inibição das proteínas p53 e Rb parece ser o principal mecanismo pelo qual a infecção por este vírus facilitaria o desenvolvimento de lesões neoplásicas.

Existem dois mecanismos de replicação do HPV. Na camada mais baixa da epiderme incluindo as células basais, o DNA viral é mantido estável sob a forma de múltiplas cópias de plasmídeo. O genoma viral replica em média uma vez em sincronia com a fase do ciclo celular, assegurando uma infecção persistente e latente. A replicação vegetativa ocorre nas células epiteliais mais diferenciadas, havendo transcrição da região tardia e tradução das proteínas L1 e L2, necessárias para a formação de novas partículas virais. O DNA dos HPVs oncogênicos podem também se integrar ao genoma humano e para que isto ocorra há necessidade de linearização de seu genoma. Esta ruptura ocorre geralmente na região controladora da transcrição, o gene E2.

Exame: Genotipagem do HPV

- Princípio da técnica: PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polimorphisms)

Os produtos de PCR são digeridos por enzimas de restrição e os fragmentos assim obtidos, analisados por eletroforese em gel de acrilamida. O padrão dos fragmentos gerados (mapa de restrição) é analisado por comparação com padrão de restrição descrito na literatura (Bernard Hans Ulrich et al., The Journal of Infectious Diseases 1994;170:1077-85)

-Aplicação clínica: Determinação do subtipo de HPV

1-Amostra de material-Técnica de extração de DNA de escova (utilizada nesta pesquisa:

1. esfregar 20 vezes na parte interna da bochecha com movimentos circulares e verticais.
2. Mergulhar em tubo eppendorf de 1,5 ml contendo 500uL de tampão de lise (SEB) contendo 15uL de 10mg/mL PK, fazer movimentos circulares para retirar o material da escova.

Tampão de lise		concentração final
1M Tris-HCl pH 7,5	120uL	10mM
0,5M EDTA	240uL	10mM
5M NaCl	24uL	10mM
10% SDS	2,4 mL	2%
H2O para volume final	12mL	

Preparo da PK (proteínase K) a 10mg/mL (guardada a -20°C) (concentração final em 500uL -0,3mg/mL)

Tampão Tris-HCl pH 7.5	10mM
NaCl	100mM
Glicerol	10%

3. Incubar 2 horas a 56°C
4. Adicionar 500uL de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico, agitar o tubo 1 minuto
5. Centrifugar 8000rpm por 5 minutos
6. Retirar a fase aquosa (2Xs 180uL) com tip de barreira e transferir para outro tubo previamente marcado.
7. Adicionar 15uL de 5M NaCl e 1000uL de Etanol 95%, misturar por inversão.
8. Incubar a -20°C por no mínimo 01 hora
9. Centrifugar 20min 8000rpm
10. Retirar o sobrenadante por sucção.
11. Suspende o DNA em 26uL de água.
12. Ressuspende o DNA em 26uL de água.
13. Retirar 1uL para PCR (volume final (12uL)

-Padrões controles

controle negativo da reação: tubo sem adição de ácido nucléico

controle positivo da reação : amplificação de gene para HPV (obtido de DNA de células HeLa)

2-Funcionabilidade do DNA

Mistura de reação para PCR: gene p 53

	1 X	5 tubos
H2O	35,4	177uL
10X PCR buffer	5uL	25uL
25mM MgCl ₂	3uL	15uL
25mM dNTPs	0,4uL	2uL
Primer R	1uL (10 pmol)	5uL
Primer F	1uL	5uL
5U/uL Taq – Promega	0,2uL	1uL
Volume final	46uL	230uL

3-Análise do produto amplificado pela PCR (qualitativa)

– Gel de acrilamida 10%

	Total 5ml	Total 10ml
1 - Acri-Bis (30:0.8):	1,66ml	3,32ml
2 - TBE 5x:	1,00ml	2,00ml
3 - H2O:	2,22ml	4,44ml
4 - AMP 10%	120uL	240uL
5- TEMED:	1,33uL	2,66uL

4-Mistura de reação para PCR:HPV

	1X	5 tubos
H2O	28,35uL	141,75uL
10XPCR buffer	5uL	25uL
25mM MgCl ₂	6uL	30uL
25mM dNTPS	0,4uL	2uL
Primer R	3 (30pmol)	15uL
PrimerF	3 (30pmol)	15uL
5U/uL Taq – Promega	0,25uL	1,25uL
Volume final	46uL	230uL

-Usar em todas as etapas tips com barreiras

-Distribuir 12uL em tubos eppendorf e colocar 1uL de DNA, 1 gota de óleo com tip de 1000uL

-Coloração do gel de restrição pela prata

1ª etapa

Solução fixadora	Para Volume 50mL	Para Volume 100mL
------------------	------------------	-------------------

Etanol	5mL	10mL
Ac. Acético	0,375	0,75mL
H2O qsp	44,625mL	89,25mL

Deixar 15 minutos na solução com agitação leve, retirar com a pêra e guardar a solução

2ª etapa

Corar com a prata	Para Volume 50 mL	Para Volume 100mL
Nitrato de Prata	0,1g	0,2g
H2O qsp	50ml	100ml

Deixar 10 minutos com agitação leve e guardar a solução

3ª etapa

Lavagem rápida da prata 2 vezes

Revelação da prata:

Volume 50ml	Volume 100ml
NaOH – 1,5mg	3g
H2O –qsp 49,6mL	99,2mL
Formaldeído – 0,4mL	0,8mL

Obs: o formaldeído só deverá ser colocado após a total dissolução do NaOH.

Agitar suavemente até a coloração satisfatória das bandas. Retirar a solução com a pêra e recolocar o gel na solução fixadora.

-Análise do material por enzimas de restrição:

<i>TUBO</i>	<i>AMOSTRA</i>	<i>ENZIMA</i>	<i>REACT</i>
<i>ÁGUA</i>			
	Produto do PCR		
1.	10uL	Bam HI 2uL	3... 2uL 6uL
2.	10uL	Pst I 2uL	2... 2uL 6uL
3.	10uL	Hae III 2uL	2... 2uL 6uL
4.	10uL	Ddel I 2 uL	3... 2uL 6uL
5.	10uL	Rsa I 2uL	1... 2uL 6uL
6.	10uL	Hinf I 2uL	2... 2uL 6uL
7.	10uL	Sau3AI 2uL	4... 2uL 6uL

-Cálculos

Não tem

-Controle de qualidade:

Para testarmos a eficácia da reação enzimática e o controle de qualidade das enzimas de restrição, será feita a análise do HPV 18 padrão, obtido do DNA de células HeLa.

-Valores de referência e interpretação:

O tamanho dos fragmentos serão comparados com o mapa de restrição descrito no trabalho “The Journal of infectious Disease 1994;170:1077-85”. Os resultados serão descritos conforme percentual de semelhança com os subtipos virais descritos no trabalho acima citado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez IA, Lazo PS, Gonzalez SR, Tapia PR, Batalla FN, Nieto CS. Using polymerase chain reaction to human papillomavirus in oral and pharyngolaryngeal carcinomas. *Am J Otolaryngol* 1997;18:375-81.

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

Baker TS, Newcomb WW, Olson NH, Cowser LM, Olson C, Brown JC. Structures of bovine and human papillomaviruses. *Biophys. J.* 1991;60:1445-56.

Cañadas MP, Bosh FX, Junquera ML, Ejarque M, Font R, Ordoñez E, Sanjosé S. Concordance of Prevalence of Human Papillomavirus DNA in Anogenital and Oral Infections in a High Risk Population. *J Clin Microbiol* 2004:1330-2.

Cason J, Kaye JN, Jewers RJ, Kambo PK, Bible JM, Kell B et al. Perinatal infection and persistence of human papillomavirus types 16 and 18 in infants. *J Med Virol* 1995;47:209-18.

Castro TMPPG, Bussoloti Filho I, Prevalência do papilomavirus humano (HPV) na cavidade oral e na orofaringe. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72:272-82

Castro TMPPG. A frequência de papilomavirus humano (HPV) na mucosa oral de mulheres portadoras de HPV genital confirmado pela PCR. Tese (Doutorado). São Paulo. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2007.

Centurioni MG, Puppo A, Merlo DF, Pasciucco G, Cusimano ER, Sirito R et al. Prevalence of human papillomavirus cervical infection in an Italian asymptomatic population. *BMC Infect Dis* 2005;5:77.

Chatterjee R, Mukhopadhyay D, Murmu D, Mitra PK. Correlation between human papilloma virus DNA detection in maternal cervical smears and buccal swabs of infants. *Ind J of Experiment Biol* 1998;36:199-202.

Cohen SR, Seltzer S, Geller KA, Thompson JW. Papilloma of the larynx and tracheobronchial tree in children. *Ann Otol* 1980; 89:497-503.

Collier B, Goodbar-Larson L, Sokolowski, Schwartz S. Translation Inhibition in Vitro of Human Papillomavirus Type 16 L2 mRNA Mediated through Interaction with Heterogenous Ribonucleoprotein K and

Poly (rC)- binding Proteins 1 and 2. *The J Biol Chem* 1998 ; 273: 22648-56

Creatsas G. Sequelae of premature sexual life. *J R Soc Med* 1995;88: 369-71

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

Dahlstrom KR, Adler-Storthz K, Etzel CJ, Liu Z, Dillon L, El-Naggar AK, Spits MR, et al. Human Papillomavirus Type 16 Infection and Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck in Never-Smokers. *Clin Cancer Res* 2003;9:2620-6.

Dekmezian RH, Batsakis JG, Goepfert H. In situ hybridization of papillomavirus DNA in head and neck squamous cell carcinomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1987;113:819-21.

García-Milián G, Hernández H, Panadé L, Rodríguez C, González N, Valenzuela C et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in benign and malignant tumours of laryngeal epithelium. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1998;118:754-8.

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

Giuliano AR, Siegel EM, Roe DJ, Ferreira S, Baggio ML, Galan L. Dietary Intake and Risk of Persistence Human Papillomavirus (HPV) Infection: The Ludwig-McGill HPV Natural History Study. *J of Infect Dis* 2003;188:1508-16.

Gutman LT, Herman-Giddens ME, Phelps WC. Transmission of human genital papillomavirus disease: comparison of data from adults and children. *Pediatrics* 1993;91:31-8.

Ha PK, Pai SI, Westra WH, Gillison ML, Tong BC, Sidransky D et al. Real time quantitative PCR demonstrates low prevalence of human papillomavirus type 16 in premalignant and malignant lesions of the oral cavity. *Clin Cancer Res* 2002;8:1203-09.

Ha PK, Califano JA. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:188-96.

Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P. Human Papillomavirus and Oral Cancer: The International Agency for Research on Cancer Multicenter Study. *Journal of the National Cancer Institute* 2003;95:1772-83.

Hoffmann M, Khan T, Mahnke CG, Goeroegh T, Lippert BM, Werner JA. Prevalence of human papillomavirus in squamous cell carcinoma of the head and neck determined by polymerase chain reaction and southern blot hybridization: proposal for optimized diagnostic requirements. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1998; 118:138-44.

Hou SY, Wu SY, Chieng C. Transcriptional activity among high and low risk human papillomavirus E2 proteins correlates with DNA binding. *J Biol Chem* 2002;277:45619 – 29.

Jalal H, Sandres 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 AS, Xiu-ping Y, Valentine J, Koutsky LA, Christiansen AE, Beckman AM et al. Evidence of prevalent genital-type human papillomavirus infections in adults and children. *JID* 1990;162:60-9.

Kado S, Kawamata Y, Shino Y, Kasai T, Kubota K, Iwasaki H et al. Detection of human papillomavirus in cervical neoplasias using multiple sets of generic polymerase chain reaction primers. *Gynecol Oncol* 2001;81:47-52.

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

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

Klussmann JP, Weissenborn SJ, Wieland U, Dries V, Kolligs J, Jungehuelsing M.. Prevalence, distribution and viral load of human papillomas virus 16 DNA in tonsilla carcinomas. *Cancer* 2001;92:2875-84.

Klussmann JP, Weissenborn SJ, Wieland U, Dries V, Eckel HE, Pfister HJet al. Human papillomavirus-positive tonsilar carcinomas: a different tumor entity? *Med Microbiol Immunol* 2003;192:129-32.

Koch A, Hansen SV, Nielsen NM, Palefsky J, Melbye M. HPV detection in children prior to sexual debut. *Int J Cancer* 1997;73:621-4.

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.

Marone AS, Gusmão RJ. HPV em outras especialidades, epidemiologia, diagnóstico e tratamento. In: 1º Consenso Brasileiro de HPV 2000, São Paulo: Editora BG Cultural. 2000:87-95

Melo A, Roa I, Montenegro S, Capurro I, Roa JC. Estudio comparativo de detección del virus papiloma humano (VPH) en muestras citológicas y biopsias de cuello uterino. *Rev Med Chile* 2005;133:639-44.

Minkoff H, Feldman JG, Strickler HD, Watts DH, Bacon MC, Levine A, et al. Relationship between Smoking and Human Papillomavirus Infections in HIV-Infected and -Uninfected Women. *J Inf Dis* 2004;189: 1821-8.

Mund K, Han C, Daun R, Helfrich S, Müller M, Fisher SG, Schiller JT, Gissmann L. Detection of human papillomavirus tkype 16 DNA and of antibodies to human papillomavirus type 16 proteins in children. *Intervirolgy* 1997;40:232-7.

Niv A, Sion-Vardi N, Gatot A, Nash M, Fliss DM. Identification and typing of human papillomavirus (HPV) in squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *J Laryngol and Otol* 2000;114:41-6.

Okada MMK, Gonçalves MAG, Giraldo PC. Epidemiologia e patogênese do papilomavírus humano (HPV). In: 1º Consenso Brasileiro de HPV 2000. 1ª edição: São Paulo; Editora BG. 2000:01-6.

Oliveira MC, Soares RC, Pinto LP, Costa ALL. HPV e carcinogênese oral: revisão bibliográfica. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2003;69:553-9.

Ozbun MA. Infectious human papillomavirus type 31b: purification and infection of an immortalized human keratinocyte cell line. *J Gen Virol* 2002: 2753-63.

Perez M, Gil AO, Wroclawski ER, Guidi HGC, Schiavini JL, Carvalho JJM. HPV no homem. 1º Consenso de HPV – 1ª ed. São Paulo: BG Editora. 2000;4:07-16.

Piyathilake CJ, Henao OL, Macaluso M, Cornwell PE, Meleth S, Heimbarger DC et al. Folate is associated with the natural history of high-risk human papillomaviruses. *Cancer research* 2004;64:8788-93.

Ribeiro KMX. Estudo da ocorrência do papilomavirus humano em tonsilas palatinas na população pediátrica. Tese (Mestrado) São Paulo; 2002

Rintala MAM, Grénman SE, Puranen MH, Isolauri E, Ekblad U, Kero PO, Syrjänen SM. Transmission of High-Risk Human Papillomavirus (HPV) between Parents and Infant: a Prospective Study of HPV in Families in Finland. *J Clin Microbiol* 2005;43:376-81.

Ritchie JM, Smith EM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang D, Klussmann JP et al. Human papillomavirus infection as a prognostic factor in carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Int J Cancer* 2003;104:336-44.

Russomano F, 2000. Presença de HPV nos fluidos em geral. Available from: URL: <http://www.cervical.com.br>.

Sand L, Jalouli J, Larsson PA, Hirsch JM. Human papilloma viruses in oral lesions. *Anticancer Res* 2000;20:1183-8.

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.

Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, Wipf GC, Carter JJ, Madeleine MM, Er-Jia M, Fitzgibbons ED, Shixuan H, Beckmann AM, McDougal JK, Galloway DA. Oral Cancer Risk in Relation to Sexual History and Evidence of Human Papillomavirus Infection. *J Nat Cancer Inst* 1998;90:1626:36.

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

Sedlacek TV, Lindheim S, Eder C, Hasty L, Woodland M, Ludomirsky A et al. Mechanism for human papillomavirus transmission at birth. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:55-9.

Sinogas C, Rodrigues A, Reis D. Papilomavírus Humano Biologia e Epidemiologia. Universidade de Évora, Departamento de Biologia. <http://evunix.uevora.pt/~sinogas/TRABALHOS/2004/papiloma.htm>

Smith EM, Johnson SR, Cripe TP, Pignatari S, Turek L. 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 L, Haugen TH. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope* 1998;108:1098-103.

Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang DH, Haugen TH et al. Human Papillomavirus in Oral Exfoliated Cells and Risk of Head and Neck Cancer. *J Nat Cancer Inst* 2004;96:449-55.

Soares CP, Malavasi I, Reis RI, Neves, KA, Zuanon JAS, Benatti Neto C, Spolidório LC, Oliveira MRB. Presença de papilomavirus humano em lesões malignas de mucosa oral. *Rev Soc Bras de Med Trop* 2002;35:439-44.

Summersgill KF, Smith EM, Levy BT, Allen JM, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2001;91:62-9.

Swygart C. Human papillomavirus: disease and laboratory diagnosis. *British J Biomed Science*, 1997;54:299-303

Syrjänen K, Syrjänen S, Lamberg M, Pyrhönen S, Nuutinen J. Morphological and Immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg* 1983;12:418-24.

Syrjänen S. HPV infections and tonsillar carcinoma. *J Clin Pathol* 2004;57:449-55.

Tena D, Garrido N, Menéndez M, Delgado JJ, Romanyk J, Gonzalez MR et al. Utilidad de la detección del virus del papiloma humano de alto riesgo mediante Hybrid Capture II® en mujeres con citologías anormales del cuello uterino. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23:474-8.

Terai M, Hashimoto K, Yoda K, Sata T. High prevalence of human papillomaviruses in the normal oral cavity of adults. *Oral Microbiol Immunol* 1999;14:201-5.

Tinoco JA, Silva AF, Oliveira CAB, Rapoport A, Fava AS, Souza RP. Correlação da infecção viral pelo papilomavírus humano com as lesões papilomatosas e o carcinoma epidermóide na boca e orofaringe. *Rev Assoc Med Bras* 2004;50:252-6.

Tominaga S, Fukushima K, Nishizaki K, Watanabe S, Masuda Y, Ogura H. Presence of human papillomavirus type 6f in tonsillar condiloma

acuminatum and clinically normal tonsillar mucosa. *Jpn J Clin Oncol* 1996;26:393-6.

Vidal AKL, Caldas Jr AF, Brandão VRA, Rocha GI, Taromaru E, Lima DLT, Lima MCD, Silva PGP. Detecção do papilomavírus humano (HPV) pela captura híbrida (tecnologia digene) em lesões malignas da mucosa bucal. *Rev Cons Reg Odontol Pernambuco* 2001;4:129-36.

Woods KV, Shillitoe EJ, Spitz M, Schantz S, Adler-Stortz K. Analysis of human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 1993;22:101-8

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

Xavier SD, 2007, Frequência de aparecimento do papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de homens com HPV anogenital confirmado por biologia molecular. Tese (Mestrado). São Paulo. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2007.

Xiaoping W, Qingyi Z, Huiling R. Maternal-fetal transmission of human papillomavirus. *Chin Med J* 1998;111:726-7.

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

Zur Hausen, de Villiers EM. Human Papillomaviruses. *Annu Rev Microbiol* 1994;48:427-47.

FONTES CONSULTADAS

9.FONTES CONSULTADAS:

1. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Pós-graduação – Normatização para apresentação de dissertações e teses. São Paulo, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 2004. 26p.

RESUMO

10. RESUMO

Os papilomavirus humanos (HPV) são um grupo de DNA vírus pertencentes à família papilomaviridae, divididos em dois grupos, de baixo risco e alto risco, que infectam a pele e a mucosa, podendo induzir a formação de tumores epiteliais benignos e malignos. São encontrados na pele como verruga vulgar, plana, plantar e na epidermodisplasia verruciforme. Na mucosa oral, estes vírus têm sido associados a papilomas orais, hiperplasias epiteliais focais, leucoplasias e neoplasias orais. No trato respiratório, o HPV é responsável pela papilomatose recorrente de vias aéreas, que tem sido associada a neoplasias de cabeça e pescoço. No trato genital, os papilomavirus podem induzir ao aparecimento de verugas genitais, lesões escamosas intra-epiteliais cancerosas ou não.

Participaram desse estudo, cem indivíduos adultos jovens, voluntários, faixa etária de 20 a 31 anos, alunos do curso de graduação da Faculdade de Medicina da UFRJ, sem história, queixas ou lesões visíveis macroscopicamente ao exame físico, de cavidade oral e orofaringe infectada por PCR pelo papilomavirus. Foi colhido material de mucosa oral por raspado e analisado pelo PCR. Os resultados mostraram ausência de HPV em todas as amostras. Parece ter havido participação do alto nível socioeconômico com alimentação rica em carotenóides e vitamina C, baixo consumo tabágico e etílico e comportamento predominantemente monogâmico com uso regular de preservativos.

O objetivo deste trabalho visa aumentar o conhecimento da epidemiologia e da frequência de HPV em pessoas sadias para que, em estudos posteriores, seja possível determinar quais os fatores de proteção eventualmente existentes nestes indivíduos, quais mecanismos e como tais vírus participam na gênese dos tumores para que medidas práticas profiláticas ou terapêuticas sejam tomadas em benefício de populações maiores.

ABSTRACT

11. ABSTRACT

The human papillomavirus (HPV) is a group of DNA virus which belongs to papillomaviridae family divided in to groups, the low risk group and the high risk group which infect skin, mucous membrane and induce into benign and malign tumors formation. They are found on skin like vulgar warts, plain warts, plantar warts and verruciform displasia. In oral mucosa they have been associated with oral papilloma, focal epithelial hyperplasia, leucoplasia and oral neoplasia. In the respiratory tract, HPV is responsible for the recurrent papillomatosis which has been associated to head and neck neoplasias. In the genital tract HPV can induce to genital warts, squamous intra-epithelial lesions cancerous or not.

100 volunteers, young adults, healthy, aged between 20 to 31 years old, students of the graduation of Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro with no history, complains, oral or oropharyngeal lesions confirmed by PCR, found at the oroscopy and oropharyngoscopy. The samples were harvested by brushing and analyzed by PCR. The results were negative to HPV in all samples.

It seems to have the participation of the high instruction and socioeconomic level like carotenoyds and vitamin C ingestion habits, low smoking and alcohol consuming and sexual habits with predominant monogamy and regular use of condoms.

Our objective in this research is to increase the knowledge of the epidemiology of the HPV frequency in the healthy people to in order to in the further studies can be possible to determinate which protection factors eventually existing in this individuals, which mechanisms and how these viruses participate in the tumor genesis to develop prophylactic and therapeutic practice measures be done in benefit of great populations.

APÊNDICE



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Comissão de Investigação Científica /11E49/DG

CI-124/06 – CIC/DG

Rio de Janeiro, 04 de julho de 2006

Do : Coordenador da CIC (Prof.Armando Nogueira)

Ao:(a) Dr. David Esquenazi

Serviço: **Otorrinolaringologia**

Prezado Pesquisador (a),

Tendo o seu projeto de pesquisa com o título “ Prevalência do papilomavirus humano(HPV) em mucosa oral de indivíduos assintomático.” (**Aprovado**) no CEP e cadastrado na CIC, com as seguintes numerações, **CEP:090/06 e CIC:062/06.**

Com isso, a CIC oferece os seguintes serviços ao pesquisador, posters e consultoria estatística, para projetos desenvolvidos totalmente ou parcialmente no **HUCFF.**

Agradecemos o envio do projeto a esta Comissão e contamos com sua visita para que possamos trabalhar em equipe, para o enriquecimento da pesquisa científica no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho.

Obs: Gostaríamos de ressaltar que a partir de abril/03 a CIC, vem realizando o serviço de PLOTAGEM, pelo qual é cobrado a quantia de R\$ 50,00(cinquenta reais) para o papel fosco, e R\$ 60,00(sessenta reais) para o papel brilhoso com fundo branco, e R\$ 70,00(setenta reais) brilhoso com fundo colorido, para maiores informações telefonar para o ramal 2594.

Atenciosamente,

Prof. Armando Nogueira
Coordenador da CIC
F. G. 9377/04
CIN 44.234/06-8

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](#)