

Universidade Federal do Maranhão  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno Infantil – Mestrado  
Acadêmico

DETECÇÃO DE DNA-HPV NA MUCOSA ORAL E SUA  
ASSOCIAÇÃO COM DNA-HPV GENITAL

Lisandra Rocha Vidotti

São Luís

2012

Lisandra Rocha Vidotti

DETECÇÃO DE DNA-HPV NA MUCOSA ORAL E SUA  
ASSOCIAÇÃO COM DNA-HPV GENITAL

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

Área de concentração: Medicina II

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Ferreira Lopes

Co-Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito

Coordenadora: Profa. Dra. Maria Bethânia da Costa Chein

São Luís

2012

Lisandra Rocha Vidotti

## DETECÇÃO DE DNA-HPV NA MUCOSA ORAL E SUA ASSOCIAÇÃO COM DNA-HPV GENITAL

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

A Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado apresentada em sessão pública, considerou a candidata aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

---

Profa. Dra. Fernanda Ferreira Lopes (Orientador)  
(Universidade Federal do Maranhão)

---

Profa. Dra. Clélea de Oliveira Calvet (Examinador)  
(UNICEUMA)

---

Profa. Dra. Sally Cristina Moutinho Monteiro (Examinador)  
(Universidade Federal do Maranhão)

---

Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal (Examinador)  
(Universidade Federal do Maranhão)

São Luís

2012

Para Robinson, Joaquim, Assunção, Aline  
e Natália.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o presente da vida e por ser a minha mais profunda fonte de inspiração.

Ao meu marido, meus pais e minhas irmãs, por todo amor incondicional, compreensão, apoio e estímulo que me dedicam.

A Profa. Dra. Fernanda Ferreira Lopes, pelo incentivo, paciência e orientação na realização deste trabalho.

A Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito, pela forma especial com a qual me ensinou a amar a pesquisa.

As Profas. Dras. Sally Monteiro e Flávia Vidal, e ao Prof. MsC. João Victor Leal Salgado, do Banco de Tumores e DNA do Maranhão, pela inestimável ajuda nas análises laboratoriais, pela solicitude e pela amizade sempre presente.

Aos meus amigos discentes do Mestrado em Saúde Materno Infantil, em especial, Mariana, Afef, Michele, Rosângela e Thaiana pela amizade e por acreditarem em mim.

Ao querido amigo Jomar Diogo, por sua amizade e ajuda indispensável na realização deste trabalho.

Aos estudantes de medicina da UFMA, Paulo, Bianca, Mairla, Maisa e Channa, e ao estudante de Odontologia da UFMA Vinícius Cutrim, pelo auxílio e pela energia da juventude que muito me ajudaram a executar este trabalho.

A querida funcionária França, do Centro de Pesquisas Clínicas (CEPEC), pelo seu bom humor, solicitude, ética e competência.

Aos demais Professores que tive a honra de conhecer durante o Mestrado, Dra. Maria Bethânia da Costa Chein, Dra. Ana Emília Figueiredo de Oliveira, Dra. Cláudia Coelho, Dra. Cecília Cláudia, Dr. Jaime Cury e Dr. Renzo, que serão sempre minha referência, pelos ensinamentos concedidos.

Aos funcionários do Mestrado, Helena, Theylande, dona Fátima e Manoel, por toda atenção e colaboração sempre que solicitado.

À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de auxílio financeiro.

Ao Instituto Nacional do Câncer (INCA), pela cooperação técnica nas análises laboratoriais.

À Fundação Sousândrade (FSADU), em especial à Srta. Joanilda Martins pelo apoio neste projeto.

*“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto as cheias as baixam para a terra, sua mãe”.*

*Leonardo da Vinci*

## RESUMO

**Introdução:** A infecção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV) é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais prevalentes no mundo, e pode ser encontrada em vários sítios anatômicos, como trato anogenital, pele, laringe, conjuntiva, mucosa traqueobrônquica, esôfago e cavidade oral. A via de transmissão do HPV para a cavidade oral ainda não está completamente compreendida, e por isso, diversas pesquisas, estão sendo realizadas objetivando esclarecer se a infecção genital por este vírus pode ser um fator predisponente. **Metodologia:** Trata-se de um estudo de coorte transversal: A amostra foi constituída por mulheres atendidas no Ambulatório de Ginecologia do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário da UFMA (CEPEC/HUUFMA). Após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), todas as pacientes responderam um questionário sobre informações sociais, história médica, hábitos de tabagismo, consumo alcóolico e comportamento sexual e também foram submetidas a coleta de material celular da cavidade oral e da região genital para pesquisa do ácido desoxirribonucleico (DNA) do HPV pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). **Resultados e Conclusões:** A prevalência do HPV na cavidade oral foi maior nas portadoras de HPV nos genitais, com associação significativa entre a presença do DNA-HPV oral com o DNA-HPV genital: A prática de sexo oral, o tabagismo e o etilismo não estiveram relacionados à presença do DNA-HPV na cavidade oral.

**Palavras-chave:** HPV. Cavidade oral. Genital. PCR-nested.

## ABSTRACT

**Background:** Human Pappilomavirus infection is one of the most common sexually transmitted disease, and can be found at various anatomical sites, such as the anogenital tract, skin, larynx, conjunctiva, tracheobronchial mucosa, esophagus and oral cavity. The path of HPV transmission to the oral cavity is not completely understood, and so many studies are being undertaken aiming to clarify if the genital infection by the virus may be a predisposing factor. **Methodology:** This is a cross-sectional cohort study. The sample consisted of women attending in ambulatory of the Centro de Pesquisas Clínicas-CEPEC / HUUFMA. After signing the TCLE, all patients answered a questionnaire about social information, medical history, smoking habits, alcohol consumption and sexual behavior and were also subjected to collection of cellular material from the oral cavity and genital area for research of Desoxirribonucleic Acid by polymerase chain reaction technique (PCR). **Results And Conclusions:** The prevalence of human papillomavirus in the oral cavity was higher in women with genital HPV. With a significant association between the presence of oral HPV DNA and genital HPV DNA: The practice of oral sex, smoking and drinking were not related to the presence of HPV DNA in the oral cavity.

**Keywords:** HPV. Oral cavity. Genital. Nested PCR.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descritiva geral das variáveis clínicas numéricas .....	38
Tabela 2 - Descritiva geral das variáveis clínicas e sociais categóricas .....	39
Tabela 3 - Variáveis clínicas e sociais categóricas associadas ao HPV oral .....	41
Tabela 4 - Variáveis clínicas e sociais numéricas associadas ao HPV oral .....	42
Tabela 5 - Variáveis clínicas e sociais categóricas associadas ao HPV oral .....	44
Tabela 6 - Variáveis clínicas e sociais numéricas associadas ao HPV oral .....	45
Tabela 7 - Variáveis clínicas e sociais categóricas associadas ao HPV oral .....	46
Tabela 8 - Variáveis clínicas e sociais numéricas associadas ao HPV oral .....	47

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação em cadeia pela polimerase (PCR) .....	19
Figura 2 - Programação termociclador para PCR de HPV I .....	34
Figura 3 - Programação termociclador para PCR de HPV II .....	36
Fluxograma 1 - Associação entre HPV oral e HPV genital .....	43

## LISTA DE SIGLAS

BTMA	- Banco de Tumores e DNA do Maranhão
CEC	- Carcinoma Espinocelular
CEPEC	- Centro de Pesquisas Clínicas
CEP-HUUFMA-	Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
DP	- Desvio Padrão
HPV	- Papiloma Vírus Humano
HR-HPV	- Presença de HPV de Alto Risco
HUUFMA	- Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
INCA	- Instituto Nacional do Câncer
KD	- Kilo Dalton
LCR	- <i>Long Control Region</i>
NM	- Nanômero
PCR	- <i>Polymerase Chain Reaction</i>
TBE	- Tris Etilenodiaminotetracílico
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	16
<b>2.1 O papilomavírus humano</b>	16
<b>2.2 Características Biológicas do HPV</b>	16
<b>2.3 Mecanismo de infecção e replicação viral</b>	17
<b>2.4 Teste de biologia molecular para identificação do HPV</b>	18
<b>2.5 Manifestações clínicas orais</b>	19
2.5.1 Condiloma acuminado	19
2.5.2 Verruga vulgar	20
2.5.3 Papiloma de célula escamosa	20
2.5.4 Hiperplasia epitelial focal	20
2.5.5 Líquen plano	21
2.5.6 Leucoplasia oral	21
2.5.7 Carcinoma oral	21
2.6 Prevalência do HPV oral	22
2.6.1. Prevalência do HPV em mucosa oral normal	22
2.6.2. Prevalência do HPV em pacientes com lesões orais	23
2.6.3 Prevalência do HPV em mulheres portadoras de HPV genital	23
<b>2.7 Mecanismo de transmissão para cavidade oral</b>	24
<b>3 OBJETIVOS</b>	26
<b>3.1 Geral</b>	26
<b>3.2 Específicos</b>	26
<b>4 METODOLOGIA</b>	27
<b>4.1 Tipo de estudo e amostragem</b>	27
<b>4.2 Cálculo amostral</b>	27
<b>4.3 Critérios de inclusão e não inclusão</b>	27
4.3.1. Critérios de inclusão	27
4.3.2 Critérios de não-inclusão	28
<b>4.4 Coleta de dados</b>	28
<b>4.5 Definições das variáveis</b>	28
4.5.1 Variáveis dependentes	28

4.5.2 Variáveis independentes .....	28
4.5.3 Variáveis de controle .....	29
4.5.4 Coleta de material na região genital e na cavidade oral para identificação do HPV por técnica de PCR .....	29
<b>4.6 Diagnóstico laboratorial .....</b>	<b>30</b>
4.6.1 Detecção da Presença do HPV .....	30
4.6.2 Extração de DNA – Swab bucal e Swab genital .....	30
4.6.3 Eletroforese em gel de agarose .....	31
4.6.4 Quantificação de DNA .....	31
4.6.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR) .....	32
4.6.6 Visualização dos produtos amplificados por gel de Agarose a 2% .....	36
<b>4.7 Análise estatística .....</b>	<b>37</b>
<b>4.8 Aspectos éticos .....</b>	<b>37</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>
<b>7 ANEXOS .....</b>	<b>53</b>
7. 1 Anexo A .....	53
7.2 Anexo B .....	54
<b>8 APÊNDICE.....</b>	<b>56</b>
8.1 Apêndice A.....	56
<b>9 PRIMEIRO ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>57</b>
<b>9.1 Nome do Periódico com sua classificação na WEBQUALIS da CAPES (A1, A2, B1, B2 ou B3) na área de Avaliação Medicina II .....</b>	<b>57</b>
<b>9.2 Normas editoriais/Normas para autores .....</b>	<b>57</b>
<b>9.3 Artigo .....</b>	<b>67</b>
<b>10 SEGUNDO ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>81</b>
<b>10.1 Nome do Periódico com sua classificação na WEBQUALIS da CAPES (A1, A2, B1, B2 ou B3) na área de Avaliação Medicina II .....</b>	<b>81</b>
<b>10.2 Normas editoriais/Normas para autores .....</b>	<b>81</b>
<b>10.3 Artigo .....</b>	<b>89</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A infecção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV), sigla em inglês para Papiloma Vírus Humano, é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais prevalentes no mundo (DUNNE et al., 2007).

Este patógeno intracelular possui considerável tropismo pelo tecido epitelial e mucoso (CAMARGOS E MELO, 2001; CAMPISI E GIOVANELLI, 2009; OLIVEIRA et al., 2003), e por esta razão, a infecção causada por este vírus pode ser encontrada em vários sítios anatômicos, como trato anogenital, pele, laringe, conjuntiva, mucosa traqueobrônquica, esôfago e cavidade oral (SAINI et al., 2010).

Nas últimas décadas, tem sido observado em homens e mulheres, um aumento crescente no número de infectados pelo HPV (CAMARGOS E MELO, 2001; OLIVEIRA et al., 2003). O comportamento sexual de homens e mulheres pode estar associado a infecção do HPV na cavidade oral em mulheres (RAGIN et al., 2011).

O HPV associa-se frequentemente com neoplasias benignas e malignas da cavidade oral, e dentre elas, o carcinoma espinocelular é a mais comum. O seu achado em epitélio de mucosa oral normal, divulgado na literatura, ainda não permite inferências mais precisas quanto ao seu papel na carcinogênese, ou seja, se é agente etiológico principal, coadjuvante ou simples habitante do epitélio oral (ESQUENAZI et al., 2010).

Embora, os fatores de risco tradicionais para o desenvolvimento de câncer orofaríngeo continuam sendo o uso de tabaco e o consumo excessivo de álcool, o HPV pode desempenhar um papel significativo no desenvolvimento e progressão desta patologia (GILLISON et al., 2000; GOON et al., 2009). Algumas evidências epidemiológicas sugerem que o HPV também pode ser um fator de risco independente para o câncer de orofaringe, revelando que este vírus aumenta em três vezes as chances de lesões orais pré-cancerosas, e quase cinco vezes em câncer de orofaringe em comparação com mucosa oral normal (GILLISON et al., 2000; VAN HOUTEN et al., 2001).

A infecção pelo HPV, especialmente pelos tipos 16 e 18, com alto potencial oncogênico, tem sido apontado como um possível fator de risco para o desenvolvimento de carcinoma na cavidade oral (SYRJÄNEN, 2010).

A via de transmissão do HPV para a cavidade oral ainda não está compreendida completamente, e por isso, diversas pesquisas, estão sendo realizadas objetivando esclarecer se a infecção genital por este vírus pode ser um fator predisponente (VAN DOORNUM et al., 1992; PEIXOTO, et al., 2011).

SHIMAS et al. (2000) sugeriram que achados comuns dos mesmos tipos de HPV (6,11,16 e 18) em mucosa genital e oral são uma forte indicação para a transmissão orogenital, podendo ser adquirido por transmissão sexual (TERAI; TAKAGI, 2001). Hipóteses sugerem que a transmissão viral para a cavidade oral também pode ocorrer durante o parto vaginal, ou através da auto-inoculação e da prática de sexo oral (ZUR HAUSEN, 1996).

Desse modo, como ainda não há um consenso na literatura que defina claramente sobre a presença do HPV na cavidade oral e sua relação com o HPV genital, adicionado a ausência de dados sobre a prevalência de infecção pelo HPV oral no município de São Luís, justifica-se o presente trabalho, para realizar uma maior investigação científica sobre este assunto que causa um impacto psicológico negativo nos pacientes acometidos, especialmente no que se refere à auto-contaminação e à possibilidade de transmissão deste patógeno para outras partes do corpo.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 O papilomavírus humano

O HPV é um vírus de DNA, epitéliotrópico, que tem como principais sítios de infecção a pele e as mucosas (OLIVEIRA et al., 2003).

Na maioria dos casos, as lesões têm crescimento limitado e habitualmente regridem espontaneamente, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2012). O papilomavírus humano foi descoberto por Shope, em 1933, porém, o interesse em estudá-lo só se evidenciou em 1976 e 1989, quando Zur Hausen sugeriu a associação entre este vírus e o câncer cervical (SHOPE E HURST, 1933). Desde então, o HPV vem sendo pesquisado em vários países, na intenção de se desvendar totalmente esta associação e explicar os mecanismos patogênicos inerentes a esta infecção (BOSHART et al., 1984).

### 2.2 Características Biológicas do HPV

O papiloma vírus humano é membro da família *Papillomaviridae*, gênero *Papilomavírus* (ROSENBLATT et al., 2005). Apresenta DNA de fita dupla circular, com aproximadamente 8000 pares de base, com diâmetro de aproximadamente 55 nanômetros (nm), não envelopado, envolvido por um capsídeo icosaédrico de 9 kilo Dalton (kD) (HENESSEY et al., 2009).

O genoma do HPV pode ser dividido em uma região controladora longa, denominada *Long Control Region* (LCR), que totaliza cerca de 10% deste, e uma outra região onde se localizam os genes de transcrição precoce (E) e tardia (L). A organização genética das regiões que codificam proteínas virais é definida pelo alinhamento das sequências de DNA do HPV, que estão localizadas em uma só fita deste DNA. Os genes E são normalmente expressos logo após a infecção e codificam as proteínas envolvidas na indução e regulação da síntese do DNA viral. Já os genes L, são expressos em estágios posteriores da infecção e codificam as proteínas do capsídeo viral. Os genes E são subdivididos em E1, E2, E3, E4, E5, E6

e E7, e os genes L, são subdivididos em L1 e L2. Sendo que, os genes E5, E6 e E7 são os mais importantes na transformação celular (HENESSEY et al., 2009).

O HPV infecta células mucosas e cutâneas do tecido epitelial pavimentoso estratificado e produz vírions na medida em que estas células se diferenciam. E por esta razão, o ciclo de vida do HPV é denominado ciclo viral dependente da diferenciação (WATTLEWORTH, 2011).

Atualmente já foram descritos mais de 200 diferentes tipos de HPV (INCA, 2012), e destes, mais de 30 subtipos já foram identificados em lesões orais: 1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 20, 28, 31, 32, 33, 35, 38, 40, 45, 52, 54, 55, 57, 58, 59, 68, 69, 72, 73, 77, 85 (SYRJÄNEN, 2003). O vírus HPV é classificado em tipo de baixo risco, intermediário e alto risco, dependendo de seu potencial de causar lesões malignas (PASSOS E GIRALDO, 2011). No HPV de alto risco, as oncoproteínas (E6 e E7) interferem na função de genes supressores tumorais (p53 e pRb), levando ao crescimento excessivo de células (ZUR HAUSEN, 1996).

### **2.3 Mecanismo de infecção e replicação viral**

O vírus HPV pode infectar células da camada basal do epitélio desde que exista solução de continuidade da superfície, ou seja, a infecção pelo papilomavírus ocorre através de micro traumas no epitélio, fazendo com que as células basais sejam expostas e fiquem susceptíveis à entrada do vírus (RAPAPORT, 2005). Porém, a maioria das infecções é eliminada pelo sistema imune competente, não evoluindo assim, para manifestação clínica (HORMIA et al., 2005).

A replicação do HPV ocorre no núcleo de células epiteliais da camada basal e parabasal, locais onde apenas genes precoces são transcritos (OLIVEIRA et al., 2002). A multiplicação extensiva do DNA viral e a transcrição de todos os genes virais, assim como a formação do capsídeo, ocorre somente nas camadas mais superficiais do epitélio, formando inclusões eosinófilas e uma degeneração celular específica (BUSTOS et al., 2001).

As lesões originadas por este vírus possuem características histológicas que refletem as propriedades biológicas do papilomavírus, sendo que as mudanças morfológicas são provocadas por produtos gênicos virais específicos (RAPAPORT, 2005).

Assim, à medida que a célula se diferencia, há maior produção de antígenos e replicação viral nas células superficiais, de modo que a quantidade de DNA aumenta em direção à superfície do epitélio (RAPAPORT, 2005).

## 2.4 Teste de biologia molecular para identificação do HPV

Várias técnicas de biologia molecular têm sido utilizadas para a detecção do HPV, tais como: captura híbrida, hibridizações *Southern blot*, *Northern blot*, *dot blot* e *in situ* (UOBE et al., 2001), e a *polymerase chain reaction* (PCR) - reação em cadeia pela polimerase (PCR) (RIVERO E NUNES, 2006). Essas técnicas apresentam sensibilidade e especificidade distintas entre si (ZHANG et al., 2004).

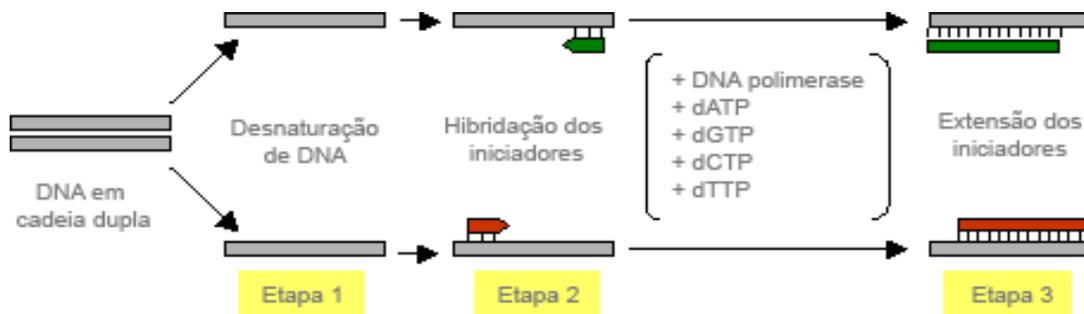
Quando não há manifestações clínicas, apenas os testes moleculares são capazes de identificar o DNA do HPV, e assim confirmar a existência da infecção (SOUZA; MELO; CASTRO, 2001).

A técnica mais utilizada para o diagnóstico molecular é a PCR. O sequenciamento do produto desta reação é um método que permite a tipagem viral que identifica precisamente os tipos de HPV (FONTAINE et al., 2007).

A técnica de PCR baseia-se no processo de replicação de DNA que ocorre *in vivo*, caracteriza-se pela amplificação de quantidades diminutas de sequência de DNA-alvo em milhões de vezes. É um processo térmico cíclico que inclui três etapas: desnaturação, onde a fita dupla de DNA é separada em fitas simples; anelamento, onde os iniciadores anelam especificamente com as suas sequências complementares de DNA-alvo fita simples, e finalmente, a extensão do iniciador, onde uma DNA polimerase termoestável gera cópias de DNA que encontram-se entre dois iniciadores. A partir de então as duplas fitas recém-geradas servem como modelos para um ciclo de PCR subsequente (RIBEIRO, 2002).

O processo envolvendo estes três passos, pode ser repetido várias vezes (25 a 45 ciclos) sendo possível aumentar, em cada ciclo, o número de cópias da região flanqueada pelos primers (figura 1).

**Figura 1 - Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)**



Fonte: Instituto Superior Técnico (2005)

A PCR convencional detecta a presença ou ausência do vírus HPV. Quando a amostra a ser analisada possui vários genótipos deste vírus, a identificação da sequência fica mais difícil (MOLIJN et al., 2005), só sendo possível realizar a genotipagem com a utilização da PCR alelo específica para identificar cada tipo viral (SANJOSÉ et al., 2007).

## 2.5 Manifestações clínicas orais

A literatura aponta as manifestações clínicas orais que podem estar associadas ao HPV, das quais se destacam as seguintes: condiloma acuminado, verruga vulgar, papiloma, hiperplasia epitelial focal, líquen plano, leucoplasia, carcinoma de células escamosas e carcinoma verrucoso (SARRUF E DIAS, 1997; KELLOKOSKI et al., 1992; CHANG et al., 1991).

### 2.5.1 Condiloma acuminado

Na cavidade oral, o condiloma pode ser transmitido pela auto-inoculação ou pela prática de sexo oral. As manifestações clínicas se caracterizam por múltiplos nódulos, de tamanho pequeno, rosados ou esbranquiçados, que se proliferam em projeções papilares e podem ser pediculados ou sésseis. O contorno da superfície

na maioria dos casos é mais do tipo couve-flor do que de papilomas. Os HPV 6 e 11 são os mais encontrados (PREMOLI-DE-PERCOCO E CHRISTENSEN, 1992; TOMINAGA et al.,1996; BAIA et al.,1999).

### 2.5.2 Verruga vulgar

Estas lesões apresentam como principais características uma consistência firme, superfície rugosa e base séssil. Clínica e histopatologicamente se assemelham ao papiloma e ao condiloma. São encontradas frequentemente na língua e lábio. Os HPVs 2 e 4 foram os mais prevalentes (SARRUF E DIAS, 1997).

### 2.5.3 Papiloma de célula escamosa

É um tumor de característica benigna, que pode ocorrer em qualquer idade. Na maioria dos casos afeta o palato mole. Clinicamente, se apresenta como lesão exofítica, de superfície rugosa, coloração rosada ou esbranquiçada e pode ser pediculada ou séssil. Os HPV 6 e 11 são os tipos mais frequentes neste tipo de lesão (NASSIF; BÓROS; B. JÚNIOR, 2003).

### 2.5.4 Hiperplasia epitelial focal

Os aspectos clínicos desta lesão caracterizam-se por múltiplos nódulos, elevados, de consistência mole e arredondados, são assintomáticos e a coloração varia entre o rosa pálido à cor normal da mucosa. Essa lesão é uma proliferação localizada e induzida por vírus no epitélio escamoso oral, sendo produzida por subtipos do HPV (HPV- 13 e 32) (SCHWENGER; VON BUCHWALD; LINDEBERG, 2002; SYRJÄNEN, 2003).

### 2.5.5 Líquen plano

Apesar de alguns trabalhos sugerirem a associação do vírus HPV, principalmente dos tipos 6 e 11, com o líquen plano, o papel etiológico viral ainda não está bem esclarecido. Na cavidade oral, as lesões são representadas por pápulas brancas radiadas ou cinzas, aveludadas, filiformes, em arranjo linear, anular ou retiforme (CHANG; LIN; CHIANG, 2003).

### 2.5.6 Leucoplasia oral

A leucoplasia é uma lesão relativamente comum na cavidade oral, que afeta de 0,2 a 4,9% da população em geral. Caracteriza-se por uma mancha branca ou placa que não pode ser definida clínica ou histologicamente como qualquer outra doença. Os aspectos histológicos da leucoplasia podem variar de alterações epiteliais que vão desde atrofia até a displasia epitelial com ou sem hiperqueratose (LEE et al., 2006). Foram encontrados HPV 6, 11 e 16 em alguns casos de leucoplasias, porém o papel do HPV na etiologia da leucoplasia oral ainda não está claro (NASSIF; BÓROS; B. JÚNIOR, 2003).

### 2.5.7 Carcinoma oral

É o câncer que afeta lábios e o interior da cavidade oral. A estimativa de novos casos para o ano de 2012 é de 14.170, sendo 9.990 homens e 4.180 mulheres. Os principais fatores de risco para o câncer na cavidade oral são o tabagismo, o etilismo e as infecções por HPV (INCA, 2012). Em 1983, um trabalho feito por SYRJÄNEN et al. (1983), sugeriu o envolvimento do HPV com o câncer oral, quando associaram as alterações celulares encontradas em lesões malignas e pré-malignas da boca às mesmas que ocorriam no câncer da cérvix uterina. O HPV

16 parece ser o tipo de HPV mais frequente associado aos carcinomas orais (CHANG et al., 1998).

## 2.6 Prevalência do HPV oral

A literatura apresenta uma vasta gama de resultados no que diz respeito à prevalência do vírus HPV na cavidade oral, e isto ocorre principalmente por não haver uniformidade na população estudada, no método de diagnóstico escolhido para a identificação do vírus e na forma da coleta da amostra a ser estudada.

### 2.6.1 Prevalência do HPV em mucosa oral normal

Estudos transversais, de base populacional, têm mostrado grande variação de prevalência de HPV na mucosa oral normal, variando de 0,6% para 81% (KELLOKOSKI et al., 1992; D'SOUZA et al., 2009).

A conclusão de uma revisão sistemática que analisou 18 estudos publicados que investigaram o DNA de HPV na cavidade oral em 4.581 pessoas saudáveis, determinou a prevalência agrupada de HPV 16, HPV oncogênico e qualquer tipo de HPV. Os resultados mostraram que 1,3% dos indivíduos saudáveis tinham HPV 16 na cavidade oral, 3,5% indivíduos tinham HPV oncogênico e 4,5% indivíduos tinham HPV de qualquer tipo. O HPV 16 correspondeu a 28% de todos os HPVs detectados na região oral. A prevalência de HPV oral foi a mesma em homens e mulheres (4,6% vs 4,4%, respectivamente) (KREIMER et al., 2011).

No entanto, na pesquisa prospectiva de coorte transversal realizada por ESQUENAZI et al. (2010), com cem voluntários, adultos jovens e saudáveis, e que analisou através da PCR amostras da cavidade oral, encontrou negatividade para o HPV em todas as amostras.

### 2.6.2. Prevalência do HPV em pacientes com lesões orais

O estudo realizado por KAMINAGAKURA et al. (2012) objetivou investigar uma possível relação entre o carcinoma espinocelular (CEC) e a presença de HPV de alto risco (HR-HPV) em pacientes com quarenta anos ou menos que tinham este tumor. Utilizaram como técnica de detecção a PCR e encontraram a presença de HPV em 68,2% destes pacientes, concluíram que a maior prevalência de tipos de HPV de alto risco, especialmente HPV16, pode ser um fator contribuinte para a carcinogênese oral em indivíduos mais jovens.

Segundo D'SOUZA et al. (2007) e KREIMER et al. (2005), o HPV é o principal fator de risco para o câncer cervical e está associado a cerca de 25% dos cânceres que envolvem cabeça e pescoço, e 36% dos cânceres de orofaringe.

Estudos caso-controle de câncer de cabeça e pescoço têm mostrado associações com número de parceiros sexuais, história de contato oral-genital, a história de verrugas genitais, e idade da primeira relação sexual. Homens com tumores HPV-positivos também têm mais probabilidade de relatar uma parceira com história de Papanicolau anormais ou displasia cervical (SMITH et al., 2004). Isto sugere que fatores de risco relacionados ao comportamento sexual aumentam as chances de exposição a tipos de HPV de alto risco.

### 2.6.3 Prevalência do HPV em mulheres portadoras de HPV genital

A pesquisa realizada por GIRALDO et al. (2006), com mulheres infectadas pelo HPV genital, observou 89,7% de positividade para a cavidade oral, sugerindo que pacientes com infecção genital por este vírus podem ser mais predispostas a apresentarem esta infecção em outros sítios mucosos.

Uma meta-análise de TERMINE et al. (2011), avaliou a prevalência de infecção oral por HPV em mulheres com infecção genital por este vírus, onde a prevalência combinada de infecção oral por HPV foi de 18,1% (IC 95%: 10,3-25,9). O único preditor significativo de infecção oral por HPV foi uma idade mais jovem da

primeira relação sexual e não foi encontrada associação entre infecção oral por HPV e sexo oral / genital. No entanto, o sexo do parceiro sexual não foi considerado nestas análises e ainda não está claro se a relação entre o comportamento sexual e o risco de infecção oral por HPV difere de acordo com o sexo do parceiro. Além disso, há evidências crescentes em estudos caso-controle que o HPV oral pode estar relacionado ao comportamento sexual, e particularmente pelo sexo oral.

## **2.7 Mecanismo de transmissão para cavidade oral**

Segundo RAGIN et al. (2011), o Papilomavírus Humano é o principal fator de risco para o câncer cervical e está associado com cerca de 36% dos casos de câncer de orofaringe. Há evidências crescentes de que a transmissão oral por HPV está relacionada ao comportamento sexual. A questão-chave na infecção oral por HPV está alicerçada no questionamento se ela pode ser associada a uma infecção genital por HPV, ou se pode ser considerado como um evento independente (TERMINE et al., 2011).

Desta forma, o mecanismo de transmissão para a cavidade oral ainda não está totalmente esclarecido, sendo que algumas teorias apontam para: transmissão vertical, auto-inoculação, através de fômites e sexo oral com parceiros HPV positivo, sendo que este último tem sido considerado o principal modo de transmissão de HPV para a cavidade oral (CAMPISI E GIOVANELLI, 2009).

D'SOUZA et al. (2009) realizaram pesquisa da presença do HPV em pacientes com mucosa oral normal e avaliaram os possíveis fatores de risco associados. Como resultado, encontraram o tabagismo, sexo oral e beijo com boca aberta, este último foi indicado como forma de transmissão pelos autores, pois foi observada presença de DNA-HPV na cavidade oral de pessoas que não tinham iniciado sua vida sexual.

Alguns pesquisadores sugerem que os achados dos mesmos tipos de HPV (6, 11, 16 e 18) na região genital e oral apontam para a transmissão orogenital e sendo assim, a maioria das infecções por este vírus é o resultado da auto-inoculação de um sítio genital ou oral próprio para o outro (OLIVEIRA et al., 2003.; CASTRO et al., 2004).

Porém, outros estudiosos relatam que a infecção oral por HPV ocorre independentemente da infecção pelo HPV na região genital, ou seja, o sexo oral parece não ser o modo de transmissão do HPV oral (SYRJÄNEN et al., 2006; MATSUSHITA et al., 2011).

Muitos aspectos pertinentes à associação entre a infecção oral e genital ainda permanecem obscuros. Desta maneira, identificar a presença do HPV nas células da mucosa oral de pacientes portadores de infecção genital e avaliar os potenciais fatores de risco para a infecção por HPV na cavidade oral, contribuiria para esclarecer os possíveis mecanismos de transmissão do Papilomavírus Humano.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Estudar a prevalência da infecção por HPV na cavidade oral de mulheres atendidas no Ambulatório de Ginecologia do Centro de Pesquisas Clínicas (CEPEC) do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA).

#### **3.2 Específicos**

- a) Estabelecer a prevalência do DNA-HPV na cavidade oral de mulheres portadoras de DNA - HPV genital;
- b) Estabelecer a prevalência do DNA-HPV na cavidade oral de mulheres não portadoras de DNA - HPV genital;
- c) Relacionar variáveis sócio-demográficas com a transmissão viral na população estudada;
- d) Identificar se existe comportamento de risco para a transmissão na população estudada.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Tipo de estudo e amostragem**

Trata-se de um estudo de coorte transversal e não intervencional. A população arrolada para compor a amostra, foi constituída por mulheres atendidas no Ambulatório de Ginecologia do CEPEC/HUUFMA que se adequaram ao projeto.

### **4.2 Cálculo amostral**

Para o cálculo amostral considerou-se os dados da pesquisa realizada por GIRALDO et al. (2006), que encontrou positividade para HPV oral pela técnica PCR em 29 (20.7%) das 140 mulheres, aplicou-se o Poder do Teste de 85% e Nível alfa de 5%, resultando num tamanho amostral mínimo de 60.

### **4.3 Critérios de inclusão e não inclusão**

#### **4.3.1 Critérios de inclusão**

- a) Mulheres atendidas no Ambulatório Ginecologia do CEPEC/HUUFMA, em São Luis-MA;
- b) Ser sexualmente ativa há mais de seis meses;
- c) Disponível para participar do projeto.

#### 4.3.2 Critérios de não-inclusão

- a) Presença de quadros inflamatórios evidentes que não sejam HPV induzidos na cavidade oral;
- b) Presença de doenças crônicas degenerativas.

#### 4.4 Coleta de dados

Para coletar os dados, foi aplicado um Questionário (ANEXO B) sobre informações sociais, história médica, hábitos de tabagismo, consumo alcóolico e comportamento sexual. Todas as pacientes foram submetidas a exame e coleta de material celular da cavidade oral e região genital para pesquisa do DNA do HPV pela técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR).

#### 4.5 Definições das variáveis

##### 4.5.1 Variáveis dependentes

Presença do DNA-HPV na cavidade oral: confirmada por estudo de biologia molecular (PCR). Classificado presente e ausente.

##### 4.5.2 Variáveis independentes

- a) **Presença de DNA-HPV genital:** clínico ou subclínico. Classificado em presente e ausente.

- b) **Tabagismo:** presente ou ausente, conforme prática regular nos últimos seis meses, referido pela paciente.
- c) **Etilismo:** presente ou ausente, conforme prática regular nos últimos seis meses, referido pela paciente.
- d) **Prática de sexo oral:** de acordo com o referido pela paciente – prática positiva, quando o contato boca-pênis ocorrer, pelo menos, uma vez por mês; prática negativa – quando esse ocorrer numa frequência menor ou nunca ter ocorrido.

#### 4.5.3 Variáveis de controle

- a) **Idade:** em anos completos por ocasião da consulta
- b) **Etnia:** auto declarada.

#### 4.5.4 Coleta de material na região genital e na cavidade oral para identificação do HPV por técnica de PCR

Para a região genital, durante o exame de video colposcopia, coletou-se amostras de raspados citológicos utilizando escova estéril do kit *hc<sub>2</sub> DNA Collection Device* (QIAGEN, Valencia, CA) nas regiões: genital externo, vagina e colo uterino.

No mesmo dia, fez-se também o exame da cavidade oral à vista desarmada, onde foi realizada a coleta com outra escova estéril do kit *hc<sub>2</sub> DNA Collection Device* (QIAGEN, Valencia, CA) girando-se em sentido anti-horário por seis vezes em cada região eleita: palato duro, mucosa jugal, assoalho bucal, língua, espaço retro-molar, pilares anteriores e bochechas da cavidade oral.

O material foi colocado em tubo identificado com 1mL de meio de transporte de amostra (contendo azida sódica) do mesmo kit e então armazenado a +4° C.

## 4.6 Diagnóstico laboratorial

### 4.6.1 Detecção da Presença do HPV

As amostras foram analisadas para a pesquisa do HPV, pelo método de PCR Nested, no Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA)/HUUFMA e no Instituto Nacional do Câncer (INCA/RJ).

### 4.6.2 Extração de DNA – Swab bucal e Swab genital

a) **Princípio do Teste:** isolamento de DNA a partir de swab bucal, através da propriedade de ligação em sílica dos ácidos nucléicos.

b) **Procedimento para cada amostra:**

Para extração do DNA de Swab Bucal e Swab genital foi utilizado o kit *QIAamp DNA Mini and Blood Mini* (QIAGEN, Valencia, CA). A extração foi realizada como descrito no manual do fabricante com algumas adaptações. Iniciou-se a digestão adicionando 400µL da amostra em um tubo de 0,2 mL juntamente com 400 µL do tampão de digestão (AL) e 20 µL da enzima Proteinase K. A amostra foi homogeneizada por 15 segundos no vortex e incubada a 56°C por 10 minutos. Depois desta fase, 400 µL de etanol (96-100%) foi adicionado em cada tubo e homogeneizado no vortex por 05 segundos e posteriormente centrifugado brevemente (spin).

Neste momento foi adicionado 700 µL da mistura anterior a uma coluna com tubo coletor e o material centrifugado a 8.000 rpm por 01 minuto a temperatura ambiente. Foi adicionado em seguida sobre a coluna 500 µL de tampão de lavagem (AW1) e realizada nova centrifugação a 8.000 rpm por 01 minuto em temperatura ambiente. Uma alíquota de 500 µL de tampão de lavagem (AW2) foi acrescentada à

coluna e as amostras centrifugadas a 14.000 rpm por 03 minutos em temperatura ambiente.

Para eluição do DNA, foi acrescentado sobre a coluna 200  $\mu$ L do tampão de eluição (AE). Após incubação de 01 minuto, o material foi centrifugado a 8.000 rpm por 01 minuto em temperatura ambiente. Esta coluna foi descartada e o tubo contendo a amostra eluída foi armazenado em freezer a +4°C até o próximo procedimento.

#### 4.6.3 Eletroforese em gel de agarose

A integridade do DNA foi observada posteriormente por eletroforese em gel de agarose 0,8% em TBE 1X e 0,1% do corante Gel Red (Invitrogen, Carlsbad, California). Para cada 4  $\mu$ L de DNA foi adicionado 4  $\mu$ L de tampão de carregamento e 4  $\mu$ L de Gel Red (intercalante de DNA) sendo esta a mistura aplicada no gel. O tampão de carregamento era composto de glicerol 50% (V/V), azul de bromofenol 0,25% (P/V) e xileno cianol (P/V). A eletroforese foi realizada por 30 minutos a 5 V/cm<sup>2</sup> em cuba horizontal (Life Technologies, EUA). Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (BIO-RAD Laboratories, EUA).

#### 4.6.4 Quantificação de DNA

No sentido de estimar a concentração de DNA, uma alíquota do material extraído (2  $\mu$ L) foi quantificada através da leitura de absorbância em espectrofotômetro Nanovue (GE) utilizando comprimento de onda igual a 260 nm. Para se considerar uma amostra de DNA adequada para análise, a pureza do DNA foi verificada a partir da leitura a 280 nm, para a detecção de uma eventual contaminação da amostra por proteínas. Quando a relações das densidades ópticas,  $A_{260}/A_{280}$ , foi igual ou maior que 1,7 o material foi considerado puro.

#### 4.6.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Para avaliação da capacidade de amplificação das amostras envolvidas no estudo, as regiões do DNA genômico correspondente ao gene de  $\beta$ -globina humana foi amplificada pela técnica de PCR. Para amplificação da região hipervariável do gene *L1* de HPV as amostras foram submetidas à técnica de PCR Nested. Os primers (iniciadores) utilizados foram MY09-11 (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia) e GP +5/+6 (Invitrogen, Carlsbad, California).

As condições específicas das reações estão ilustradas no quadro 1, sendo que estas e as concentrações finais dos reagentes foram padronizadas no laboratório de Biologia Molecular do INCA-RJ.

**Quadro 1** - Primers utilizados para detectar HPV em amostras clínicas

Primer	Nome do Primer	5' - 3' sequencia
<b>HPV - GP5+/GP6+</b>	GP5+	TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC
	GP6+	GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C
<b><math>\beta</math>-globina humana</b>	PC04	d(CAACTTCATCCACGTTCCACC)
	GH20	d(GAAGAGCCAAGGACAGGTAC)
<b>HPV – MY09/MY11</b>	MY09	CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC
	MY11	GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

### a) Condições das reações de PCR

Como o PCR para HPV é do tipo Nested, foram utilizados dois diferentes tipos de primers em duas reações distintas. A composição de cada reação está descrita abaixo. Os reagentes para realização das reações de PCR fornecidos pela empresa Invitrogen.

#### - 1ª Reação

Preparação do Mix para PCR (quadro 2)

**Quadro 2 – 1º Round**

<b>MY 09/11</b>	
Tampão 10X	2,5 µL
MgCl <sub>2</sub> 50 mM	1,5 µL
dNTP 10 mM	1,0 µL
Primer F 10 µM	3,0 µL
Primer R 10 µM	3,0 µL
Taq <u>Platinum</u>	0,3 µL
H <sub>2</sub> O ultra pura	8,7 µL

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

O mix foi preparado em um tubo de 1,5 mL em capela de fluxo laminar estéril e posteriormente, distribuído em tubos de 0,2 mL. As amostras de DNA foram adicionadas nos tubos contendo o mix fora do fluxo laminar para evitar contaminação. No caso dos controles negativos (mix + água), um controle foi fechado dentro do fluxo e o outro foi fechado depois de se distribuir as amostras de DNA fora do fluxo. Dessa forma pode ser observado, se houvesse contaminação, se ela ocorreu dentro ou fora do fluxo. E para cada análise de PCR havia um controle positivo.

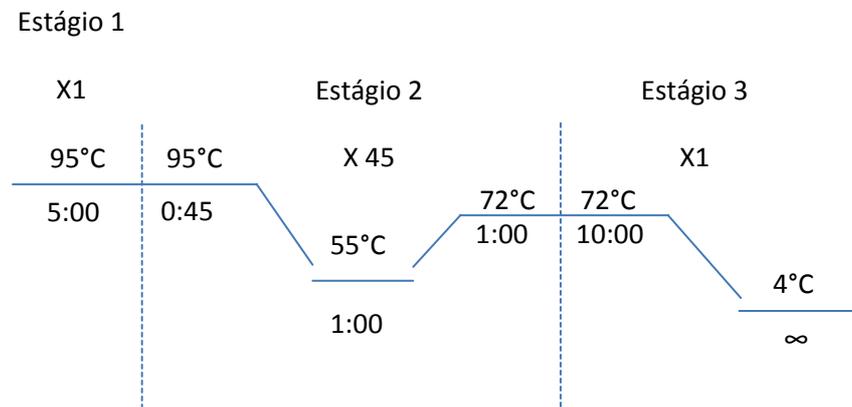
Após adição das amostras ao mix, elas foram homogeneizadas e rapidamente centrifugadas (mini spin) para posterior processo de ciclagem no termociclador (BIO-RAD Laboratories, EUA).

O termociclador foi programado para a primeira reação de PCR de HPV que consiste:

- Pré-desnaturação de 5 minutos a 95 °C;
- 45 ciclos consistindo de três etapas: desnaturação (45 segundo a 95°C), anelamento (1 minuto a 55°C) e extensão (1 minuto a 72°C);
- Ciclo adicional de 10 min a 72°C.

A figura 2 apresenta um diagrama da reação.

**Figura 2** - Programação Termociclador para o PCR de HPV I



Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

- **2ª Reação**

Preparação do Mix, conforme o quadro 3.

**Quadro 3 – 2º Round**

<b>GP+5/+6</b>	
Tampão 10X	2,5 µL
MgCl <sub>2</sub> 50 mM	1,5 µL
dNTP 10 mM	1,0 µL
Primer F 10 µM	2,5 µL
Primer R 10 µM	2,5 µL
Taq <u>Platinum</u>	0,3 µL
H <sub>2</sub> O ultra pura	9,7 µL

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

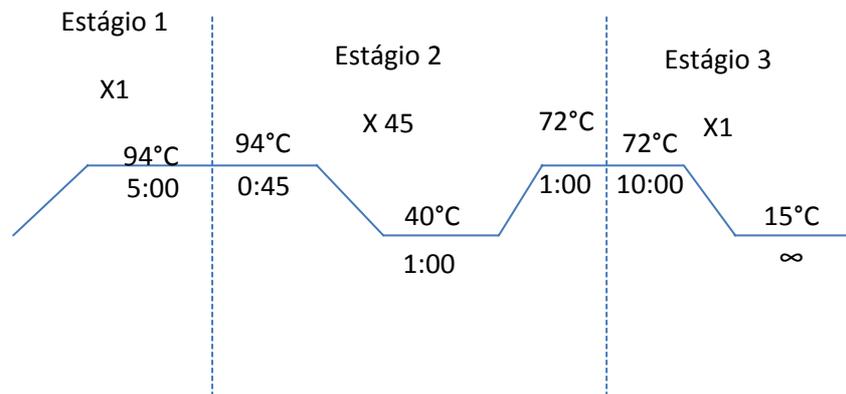
Para a 2ª reação de PCR, o produto formado na 1ª reação foi utilizado como molde (template). O mix foi preparado dentro de uma capela de fluxo laminar e as amostras de DNA produto da 1ª reação foram adicionadas aos tubos de 0,2 mL fora do fluxo a fim de evitar contaminação.

Após adição das amostras e dos controles positivo e negativo ao mix, elas foram homogeneizadas e rapidamente centrifugadas. O termociclador foi programado para a segunda reação de PCR de HPV que consiste:

- Pré-desnaturação de 5 minutos a 94 °C;
- 45 ciclos consistindo de três etapas: desnaturação (45 segundo a 94°C), anelamento (1 minuto a 40°C) e extensão (1 minuto a 72°C);
- Ciclo adicional de 10 min a 72°C.

Na figura 3 segue um diagrama da reação.

**Figura 3** - Programação do Termociclador para PCR de HPV II



Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

#### 4.6.6 Visualização dos produtos amplificados por gel de Agarose a 2%

O produto da reação foi visualizado por eletroforese em gel de agarose 2% em tampão Tris Etilenodiaminotetracílico (TBE) 1X e 0,1% do corante Gel Red (Invitrogen, Carlsbad, California). A 10 µL de DNA foi adicionado 2 µL de tampão de carregamento e 2 µL de Gel Red sendo toda a mistura aplicada no gel. O tampão de carregamento era composto de glicerol 50% (V/V), azul de bromofenol 0,25% (P/V) e xileno cianol (P/V). A eletroforese foi realizada por 30 minutos a 5 V/cm<sup>2</sup> em cuba horizontal (Life Technologies, EUA). Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (BIO-RAD Laboratories, EUA).

## 4.7 Análise estatística

A análise descritiva apresentou sob forma de tabelas os dados observados, expressos pela frequência (n) e percentual (%) para dados categóricos e média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo para dados numéricos.

Com o objetivo de verificar se existe associação significativa entre as variáveis clínicas e sociais com o HPV oral foram aplicados os seguintes métodos:

- a) para comparações de dados categóricos foi aplicado o teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher; e
- b) para comparação de dados numéricos foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

Foi utilizado método não paramétrico, pois as variáveis não apresentaram distribuição normal (distribuição Gaussiana), devido a grande dispersão dos dados e rejeição da hipótese de normalidade segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov. O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A análise estatística foi processada pelo *software* estatístico SAS<sup>®</sup> System, versão 6.11 (SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina).

## 4.8 Aspectos éticos

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário, da Universidade Federal do Maranhão e foi aprovado sob Parecer Consubstanciado nº 082/11 em 25/03/2011 (ANEXO A) e só teve seu início mediante a leitura, compreensão e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) pelas pacientes arroladas para compor a amostra, de acordo com a Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde.

## 5 RESULTADOS

Totalizou-se um número de 105 mulheres estudadas, sendo que 61 eram portadoras de DNA HPV nos genitais e 44 não portadoras.

### Caracterização da amostra em estudo

Com o objetivo de traçar um perfil geral das 105 pacientes estudadas, foi descrito na tabela 1 a média, desvio padrão (DP), mediana, mínimo e máximo das variáveis numéricas, e a tabela 2 fornece a frequência (n) e o percentual (%) das variáveis categóricas clínicas e sociais.

**Tabela 1** - Descritiva geral das variáveis clínicas numéricas

Variável	Média	DP	mediana	mínimo	máximo
Idade (anos)	33,9	12,7	32	14	72
Número de gravidez	2,5	2,8	2	0	15
Número de abortos	0,33	0,74	0	0	4
Número de parceiros sexuais	3,0	2,4	2	0	15
Número de relações sexuais vaginais /semanal	2,1	1,1	2	0	5

DP: desvio padrão

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

**Tabela 2** - Descritiva geral das variáveis clínicas e sociais categóricas

<b>Variável</b>	<b>categoria</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Idade	≥ 30 anos	61	58,1
	< 30 anos	44	41,9
Etnia	branca	42	40,0
	parda	48	45,7
	negra	13	12,4
	mestiça	2	1,9
Escolaridade	analfabeta	7	6,7
	ensino fundamental Incompleto	15	14,3
	ensino fundamental completo	11	10,5
	ensino médio incompleto	18	17,1
	ensino médio completo	37	35,2
	ensino superior incompleto	4	3,8
Tabagismo	sim	8	7,6
	não	97	92,4
Etilismo	sim	35	33,3
	não	70	66,7
No de gravidez	≥ 2	57	54,3
	< 2	48	45,7
Abortos	sim	82	78,1
	não	23	21,9
No de parceiros sexuais	≥ 3	52	49,5
	< 3	53	50,5
DST	sim	56	53,3
	não	49	46,7
Tratamento de HPV	sim	26	24,8
	não	79	75,2

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

**Tabela 2** - Descritiva geral das variáveis clínicas e sociais categóricas (cont.)

Variável	categoria	n	%
Parceiro com HPV	sim	14	38,9
	não	22	61,1
No de relações sexuais vaginais /semanais	≥ 3	31	29,5
	< 3	74	70,5
Sexo oral	sim	32	30,5
	não	73	69,5
Sexo anal	sim	19	18,1
	não	86	81,9
Expressão do HPV genital	clínica	23	37,7
	subclínica	38	62,3
HPV genital	presente	61	58,1
	ausente	44	41,9
HPV oral	presente	25	23,8
	ausente	80	76,2

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

**Verificação da existência da associação significativa entre as variáveis clínicas e sociais com a presença de HPV oral versus ausência de HPV oral.**

A tabela 3 fornece a frequência (n) e o percentual (%) das variáveis clínicas e sociais categóricas segundo HPV oral presente (n = 25) e ausente (n = 80) e o correspondente nível descritivo (p valor) do teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher. A tabela 4 fornece a média  $\pm$  desvio padrão e mediana das variáveis numéricas segundo HPV oral presente (n = 25) e ausente (n = 80) e o correspondente nível descritivo (p valor) do teste de Mann-Whitney.

**Tabela 3** - Variáveis clínicas e sociais categóricas associadas ao HPV oral

Variável	categoria	c/ HPV oral (n = 25)		s/ HPV oral (n = 80)		p valor <sup>a</sup>
		n	%	n	%	
Idade	≥ 30 anos	12	48,0	49	61,3	0,24
	< 30 anos	13	52,0	31	38,8	
Etnia	branca	13	52,0	29	36,3	0,16
	não branca	12	48,0	51	63,8	
Tabagismo	sim	1	4,0	7	8,8	0,38
	não	24	96,0	73	91,3	
Etilismo	sim	8	32,0	27	33,8	0,87
	não	17	68,0	53	66,3	
No de gravidez	≥ 2	12	48,0	45	56,3	0,47
	< 2	13	52,0	35	43,8	
Abortos	sim	19	76,0	63	78,8	0,77
	não	6	24,0	17	21,3	
No de parceiros sexuais	≥ 3	12	48,0	40	50,0	0,86
	< 3	13	52,0	40	50,0	
DST	sim	13	52,0	43	53,8	0,87
	não	12	48,0	37	46,3	
No de relações sexuais vaginais /semanais	≥ 3	5	20,0	26	32,5	0,23
	< 3	20	80,0	54	67,5	
Sexo oral	sim	5	20,0	27	33,8	0,19
	não	20	80,0	53	66,3	
Sexo anal	sim	5	20,0	14	17,5	0,49
	não	20	80,0	66	82,5	
HPV	genital	25	<b>100,0</b>	36,0	<b>45,0</b>	<b>&lt; 0,0001</b>

<sup>a</sup> teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher.

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

Observou-se que existe associação significativa entre o HPV oral com HPV genital ( $p < 0,0001$ ), ou seja, o subgrupo com HPV oral apresentou HPV genital (100%) significativamente maior que o subgrupo sem HPV oral (45%), conforme ilustra o fluxograma 1.

Não existe associação significativa, ao nível de 5%, com as demais variáveis clínicas e sociais categóricas.

**Tabela 4** - Variáveis clínicas e sociais numéricas associadas ao HPV oral

Variável	c/ HPV oral (n = 25)		s/ HPV oral (n = 80)		p valor <sup>a</sup>
	média ± DP	mediana	média ± DP	mediana	
Idade (anos)	31,8 ± 13,9	28	34,6 ± 12,3	33	0,18
No de gravidez	2,5 ± 3,1	1	2,5 ± 2,8	2	0,75
No de abortos	0,36 ± 0,86	0	0,33 ± 0,71	0	0,84
No de parceiros sexuais	3,0 ± 2,3	2	3,0 ± 2,4	2,5	0,98
No de relações sexuais vaginais / semana	1,8 ± 1,2	2	2,2 ± 1,1	2	0,14

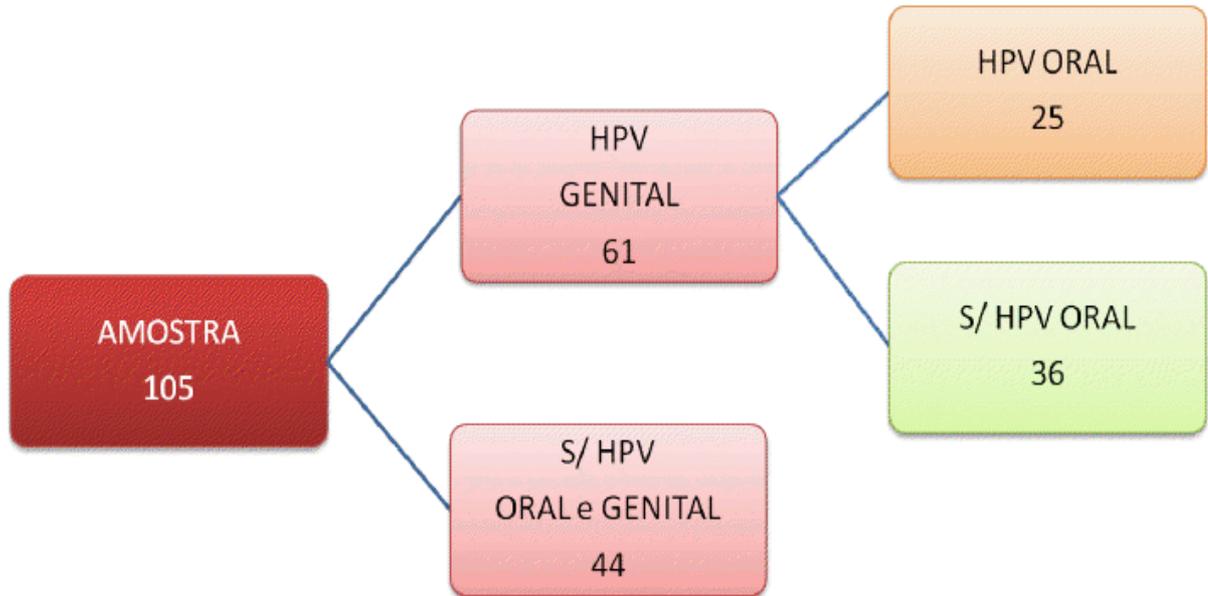
DP: desvio padrão.

<sup>a</sup> teste de Mann-Whitney.

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

Verificou-se que não existe diferença significativa, ao nível de 5%, nas variáveis clínicas e sociais numéricas entre os subgrupos com e sem HPV oral.

### Fluxograma 1 - Associação entre HPV oral e HPV genital



Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

**Verificação da existência de associação significativa entre as variáveis clínicas e sociais com a presença de HPV oral versus ausência de HPV oral.**

A tabela 5 fornece a frequência (n) e o percentual (%) das variáveis clínicas e sociais categóricas segundo HPV oral presente (n = 25) e ausente (n = 44) e o correspondente nível descritivo (*p valor*) do teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher. A tabela 6 fornece a média  $\pm$  desvio padrão e mediana das variáveis numéricas segundo HPV oral presente (n = 25) e ausente (n = 44) e o correspondente nível descritivo (*p valor*) do teste de Mann-Whitney.

**Tabela 5** - Variáveis clínicas e sociais categóricas associadas ao HPV oral

Variável	categoria	HPV oral (n = 25)		HPV oral ausente (n = 44)		p valor <sup>a</sup>
		n	%	n	%	
Idade	≥ 30 anos	12	48,0	25	56,8	0,48
	< 30 anos	13	52,0	19	43,2	
Etnia	branca	13	52,0	15	34,1	0,14
	não branca	12	48,0	29	65,9	
Tabagismo	sim	1	4,0	6	13,6	0,19
	não	24	96,0	38	86,4	
Etilismo	sim	8	32,0	15	34,1	0,85
	não	17	68,0	29	65,9	
No de gravidez	≥ 2	12	48,0	25	56,8	0,48
	< 2	13	52,0	19	43,2	
Abortos	sim	19	76,0	37	84,1	0,30
	não	6	24,0	7	15,9	
No de parceiros sexuais	≥ 3	12	48,0	21	47,7	0,98
	< 3	13	52,0	23	52,3	
DST	sim	13	52,0	21	47,7	0,73
	não	12	48,0	23	52,3	
No de relações sexuais vaginais /semanais	≥ 3	5	20,0	15	34,1	0,21
	< 3	20	80,0	29	65,9	
Sexo oral	sim	5	20,0	12	27,3	0,50
	não	20	80,0	32	72,7	
Sexo anal	sim	5	20,0	6	13,6	0,35
	não	20	80,0	38	86,4	
HPV	genital	25	<b>100,0</b>	<b>0,0</b>	0,0	<b>&lt; 0,0001</b>
	sem HPV	0	0,0	44,0	100,0	

<sup>a</sup> teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher  
 Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

Observou-se que existe associação significativa entre o HPV oral com HPV genital ( $p < 0,0001$ ), ou seja, o subgrupo com HPV oral apresentou 100% de infecção por HPV genital significativamente maior que o subgrupo controle (0%). Não existe associação significativa, ao nível de 5%, com as demais variáveis clínicas e sociais categóricas.

**Tabela 6** - Variáveis clínicas e sociais numéricas associadas ao HPV oral

Variável	c/ HPV oral (n = 25)		s/ HPV oral (n = 44)		p valor <sup>a</sup>
	média ± DP	mediana	média ± DP	mediana	
Idade (anos)	31,8 ± 13,9	28	33,7 ± 11,7	32,5	0,28
No de gravidez	2,5 ± 3,1	1	2,1 ± 2,2	2	0,99
No de abortos	0,36 ± 0,86	0	0,25 ± 0,65	0	0,45
No de parceiros sexuais	3,0 ± 2,3	2	2,6 ± 2,1	2	0,55
No de relações sexuais vaginais / semana	1,8 ± 1,2	2	2,2 ± 1,0	2	0,11

DP: desvio padrão.

<sup>a</sup> teste de Mann-Whitney

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

Nesta pesquisa não foi observada diferença significativa, ao nível de 5%, nas variáveis clínicas e sociais numéricas entre os subgrupos com HPV oral e controle.

**Verificação da existência de associação significativa entre as variáveis clínicas e sociais com a presença de HPV oral versus HPV genital (sem HPV oral).**

A tabela 7 fornece a frequência (n) e o percentual (%) das variáveis clínicas e sociais categóricas segundo HPV oral presente (n = 25) e HPV genital (n = 36) e o correspondente nível descritivo (*p valor*) do teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher. A tabela 8 fornece a média ± desvio padrão e mediana das variáveis numéricas segundo HPV oral presente (n = 25) e HPV genital (n = 36) e o correspondente nível descritivo (*p valor*) do teste de Mann-Whitney.

**Tabela 7** - Variáveis clínicas e sociais categóricas associadas ao HPV oral

Variável	categoria	HPV oral (n = 25)		HPV genital * (n = 36)		p valor <sup>a</sup>
		n	%	n	%	
Idade	≥ 30 anos	12	48,0	24	66,7	0,14
	< 30 anos	13	52,0	12	33,3	
Etnia	branca	13	52,0	14	38,9	0,31
	não branca	12	48,0	22	61,1	
Tabagismo	sim	1	4,0	1	2,8	0,65
	não	24	96,0	35	97,2	
Etilismo	sim	8	32,0	12	33,3	0,91
	não	17	68,0	24	66,7	
No de gravidez	≥ 2	12	48,0	20	55,6	0,56
	< 2	13	52,0	16	44,4	
Abortos	sim	19	76,0	26	72,2	0,74
	não	6	24,0	10	27,8	
No de parceiros sexuais	≥ 3	12	48,0	19	52,8	0,71
	< 3	13	52,0	17	47,2	
DST	sim	13	52,0	22	61,1	0,47
	não	12	48,0	14	38,9	
No de relações sexuais vaginais /semanais	≥ 3	5	20,0	11	30,6	0,35
	< 3	20	80,0	25	69,4	
Sexo oral	sim	5	20,0	15	41,7	0,076
	não	20	80,0	21	58,3	
Sexo anal	sim	5	20,0	8	22,2	0,83
	não	20	80,0	28	77,8	

<sup>a</sup> teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher.

\* corresponde ao subgrupo com apenas HPV genital, sem o HPV oral.

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

Observou-se que não existe associação significativa, ao nível de 5%, com as variáveis clínicas e sociais categóricas.

**Tabela 8** - Variáveis clínicas e sociais numéricas associadas ao HPV oral

Variável	c/ HPV oral (n = 25)		HPV genital * (n = 36)		p valor <sup>a</sup>
	média ± DP	mediana	média ± DP	mediana	
Idade (anos)	31,8 ± 13,9	28	35,8 ± 13,2	34,5	0,17
No de gravidez	2,5 ± 3,1	1	2,9 ± 3,4	2	0,53
No de abortos	0,36 ± 0,86	0	0,42 ± 0,77	0	0,67
No de parceiros sexuais	3,0 ± 2,3	2	3,4 ± 2,7	3	0,51
No de relações sexuais vaginais / semana	1,8 ± 1,2	2	2,1 ± 1,3	2	0,31

DP: desvio padrão.

<sup>a</sup> teste de Mann-Whitney.

\* corresponde ao subgrupo com apenas HPV genital, sem o HPV oral.

Fonte: Lisandra Rocha Vidotti

Não foi observada diferença significativa, ao nível de 5%, nas variáveis clínicas e sociais numéricas entre os subgrupos com HPV oral e HPV genital.

## 6 REFERÊNCIAS

- BAIA, K. L. R. et al. Manifestações orais induzidas por HPV: revisão de literatura e relato de caso. **JBC j. bras. clín. estet. odontol**, v. 3, n. 13, p. 62-6, jan./fev. 1999.
- BOSHART, M. et al. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. **EMBO J**, v. 3, n. 5, p. 1151-57, May 1984.
- BUSTOS, D. A. et al. Human papillomavirus infection in cyclosporin: induced gingival overgrowth in renal allograft recipients. **J Periodontol**, v. 72, n. 6, p. 741-4, Jun. 2001.
- CAMARGOS, A. F.; MELO, V. H. **Ginecologia ambulatorial**. Belo Horizonte: Coopamed, 2001.
- CAMPISI, G.; GIOVANNELLI, L. Controversies surrounding human papilloma virus infection, head e neck vs oral cancer, implications for prophylaxis and treatment. **Head Neck Oncol**, n. 1, p. 8, Mar. 2009.
- CASTRO, T. M. P. G. R. et al. Manifestações orais associadas ao papilomavírus humano (HPV) conceitos atuais. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 70, n. 4, p. 546-50, jul./ago. 2004.
- CHANG, D. D. et al. Characterization of transformation related genes in oral cancer cells. **Oncogene**, v. 16, n. 15, p. 1921-30, Apr. 1998.
- CHANG, F. et al. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. **J Oral Pathol Med**, v. 20, n. 7, p. 305-17, Aug. 1991.
- CHANG, J. Y.; LIN, M. C.; CHIANG, C. P. High-risk human papillomaviruses may have an important role in non-oral habits-associated oral squamous cell carcinomas inTaiwan. **Am J ClinPathol**, v. 120, n. 6, p. 909-16, 2003.
- D'SOUZA, G. et al. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papilomavirus infection. **J Infect Dis**, v. 199, n. 9, p. 1263-9, 2009.
- D'SOUZA, G. et al. Six-month natural history of oral versus cervical human papilomavirus infection. **Int J Cancer**, n. 121, p. 143-50, 2007.
- DUNNE, E. F. et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. **JAMA**, v. 297, n. 8, p. 813-9, Feb. 2007.
- ESQUENAZI, D. et al. The frequency of human papillomavirus findings in normal oral mucosa of healthy people by PCR. **Braz J Otorhinolaryngol**, v. 76, n. 1, p. 78-84, Jan./Feb. 2010.

FONTAINE, V. et al. Evaluation of combined general primers-mediated PCR sequencing and type-specific PCR strategies for determination of human papillomavirus genotypes in cervical cells specimens. **J Clin Microbiol**, v. 45, n. 3, p. 928-34, 2007.

GILLISON, M. I. et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. **J Natl Cancer Inst**, v. 92, n. 9, p. 709-20, 2000.

GIRALDO, P. et al. Human papillomavirus in the oral mucosa of women with genital human papillomavirus lesions. **Eur J Obst Gyn**, n. 126, p. 104-6, 2006.

GOON, P. K. et al. HPV & head and neck cancer: a descriptive update. *Head Neck Oncol*, n. 1, p. 36, 2009.

HAUSEN, Z. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers. **Biochim Biophys Acta**, v. 1288, n. 2, p. 55-78, Oct. 1996.

HENNESSEY, P. T. et al. Human papillomavirus and head and neck squamous cell carcinoma: recent evidence and clinical implications. **J Dent Res**, v. 88, n. 4, p. 300-6, Apr. 2009.

HORMIA, M. et al. Marginal periodontium as a potential reservoir of human papillomavirus in oral mucosa. **J Periodontol**, v. 76, n. 3, p. 358-63, Mar. 2005.

INCA - Instituto Nacional de Câncer. **HPV: perguntas e respostas mais freqüentes**. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em: 12 maio 2012.

INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO. **PCR - Amplificação de DNA in vitro: básico**. 2005. Disponível em: <<http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=339>>.

KAMINAGAKURA, E. et al. High-risk human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma of young patients. **Inter J Cancer**, v. 130, n. 8, p. 1726-32, Apr. 2012.

KELLOKOSKI, J. K. et al. Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. **J Oral Pathol Med**, n. 21, p. 459-64, 1992.

KREIMER, A. R. et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, n. 14, p. 467-75, 2005.

KREIMER, A. R. et al. The epidemiology of oral HPV infection among a multinational sample of healthy men. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 20, n. 1, p. 172-82, 2011.

LEE, Y. S. et al. Cell cycle regulatory protein expression profiles by adenovirus p53 infection in human papilloma virus-associated cervical cancer cells. **Cancer Res Treat**, v. 38, n. 3, p. 168-77, 2006.

MATSUSHITA, K. et al. Oral and cervical human papillomavirus infection among female sex workers in Japan: Department of Viral Infection and International Health, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa 920-8640, Japan. *Jpn. J Infect Dis*, v. 64, n. 1, p. 34-9, 2011.

MOLIJN, A. et al. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. **J Clin Virol**, v. 32, p. S43-51, Mar. 2005. Supplement 1.

NASSIF, A. C. F.; BÓROS, L. F.; B. JÚNIOR, J. Infecção da cavidade oral pelo papilomavírus humano. In: CAMPOS, C. A. H.; COSTA, H. O. **Tratado de otorrinolaringologia**. São Paulo: Roca, 2003. p. 314-6.

OLIVEIRA, L. H. S. et al. Analysis of the p53 gene and papillomavirus detection in smears from cervical lesions. **São Paulo Med J**, v. 120, n. 1, p. 20-2, Jan. 2002.

OLIVEIRA, M. C. et al. HPV e carcinogênese oral: revisão bibliográfica. **Rev. bras. Otorrinolaringol**, v. 69, n. 4, p. 553-559, jul./ago. 2003.

PASSOS, M. R. L.; GIRALDO, P. C. **Deesetologia no bolso**: o que deve saber um profissional que atende DST. São Paulo: Rqv e Revinter, 2011.

PEIXOTO, A. P. et al. Asymptomatic oral human papillomavirus (HPV) infection in women with a histopathologic diagnosis of genital HPV. **J Oral Sci**, v. 53, n. 4, p. 451-9, Dec. 2011.

PREMOLI-DE-PERCOCO, G.; CHRISTENSEN, R. Human papillomavirus in oral verrucal-papillary lesions. A comparative histological, clinical and immunohistochemical study. **Pathologica**, v. 84, n. 1091, p. 383-92, May/June 1992.

RAGIN, C. et al. Infection and sexuality: a cross-sectional study in women. *Int J Mol Sci*. **Epub**, v. 12, n. 6, p. 3928-40, June 2011.

RAPAPORT, D. Biologia do HPV. In: ROSENBLATT, C. et al. **HPV na prática clínica**. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 7-23.

RIBEIRO, K. M. X. **Estudo da ocorrência do papilomavírus humano em tonsilas palatinas na população pediátrica**. 2002. Dissertação (Mestrado) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2002. Disponível em: <<http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=339>>. Acesso em: 14 abr. 2012.

RIVERO, E. R. C.; NUNES, F. D. HPV in oral squamous cell carcinomas of a Brazilian population: amplification by PCR. **Braz Oral Res**, v. 20, n. 1, p. 21-4 2006.

ROSENBLATT, C. et al. **HPV na prática clínica**. São Paulo: Atheneu, 2005.

SAINI, R. et al. High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. **Virology Journal**, n. 7, p. 131, 2010.

SANJOSE, S. et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **Lancet Infect Dis**, v. 7, n. 7, p. 453-9, July 2007.

SARRUF, M. B. J.; DIAS, E. P. Avaliação Citopatológica da cavidade bucal em pacientes portadores de infecção genital pelo Papilomavírus Humano (HPV). **J Bras Doenças Sex Trans**, v. 9, n. 2, p. 4-18, 1997.

SCHWENGER, J. U.; VON BUCHWALD, C.; LINDEBERG, H. Oral focal epithelial hyperplasia. Any risk of confusion with oral condylomas?. **Ugeskr Laeger**, v. 164, n. 37, p. 4287-90, Sep. 2002.

SHIMAS, K. et al. Incidence of human papillomavirus 16 and 18 infection and p53 mutation in patients with oral squamous cell carcinoma in Japan. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 38, n. 5, p. 445-50, 2000.

SHOPE, R. E.; HURST, E. W. Infectious papillomatosis of rabbits; with a note on the histopathology. **J Exp Med**, v. 58, n. 5, p. 607-24, Oct. 1933.

SMITH, E. M. et al. Human Papillomavirus in Oral Exfoliated Cells and Risk of Head and Neck Cancer. **J Natl Cancer Inst**, n. 96, p. 449-55, 2004.

SOUZA, N. S. T.; MELO, V. H.; CASTRO, L. P. F. Diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões do colo do útero em mulheres HIV positivo: acuidade da histopatologia. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 23, n. 6, p. 355-61, 2001.

SYRJÄNEN, K. et al. Oral contraceptives are not an independent risk factor for cervical intraepithelial neoplasia or high-risk human papillomavirus infections. **Anticancer Res**, v. 26, n. 6C, p. 4729-40, Nov./Dec. 2006.

SYRJÄNEN, S. Human papillomavirus infections and oral tumors. **Med Microbiol Immunol (Berl)**, v. 192, n. 3, p. 123-8, Aug. 2003.

SYRJÄNEN, S. The role of human papillomavirus infection in head and neck cancers. **Ann Oncol**, v. 21, p. vii243-5, Oct. 2010. Supplement 7.

TERAI, M.; TAKAGI, M. Human papillomavirus in the oral cavity. **Oral Med Pathol**, n. 6, p. 1-12, 2001.

TERMINE, N. et al. Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: new data from an Italian cohort and a metanalysis of the literature. **Oral Oncol**, v. 47, n. 4, p. 244-50, Apr. 2011.

TOMINAGA, S. et al. Presence of human papillomavirus type 6f in tonsillar condiloma acuminatum and clinically normal tonsillar mucosa. **Jpn J Clin Oncol**, n. 26, p. 393-6, 1996.

UOBE, K. et al. Detection of HPV in Japanese and Chinese oral carcinomas by in situ PCR. **Oral Oncol**, v. 37, n. 2, p. 146-52, 2001.

VAN DOORNUM, G. J. et al. Prevalence of human papillomavirus infections among heterosexual men and women with multiple sexual partners. **J Med Virol**, v. 37, n. 1, p. 13-21, May 1992.

VAN HOUTEN, V. M. et al. Biological evidence that human papillomaviruses are etiologically involved in a subgroup of head and neck squamous cell carcinomas. **Int J Cancer**, v. 93, n. 2, p. 232-5, July 2001.

WATTLEWORTH, R. Human papillomavirus infection and the links to penile and cervical cancer. **J Am Osteopath Assoc**, v. 111, p. 3-10, Mar. 2011. Supplement 2.

ZHANG, Z. Y. et al. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 33, n. 1, p. 71-4, 2004.

## 7 ANEXOS

### 7.1 Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética



Universidade Federal do Maranhão  
Hospital Universitário  
Diretoria Adjunta de Ensino, Pesquisa e Extensão  
Comitê de Ética em Pesquisa



#### PARECER CONSUBSTANCIADO

**Parecer N° 082/11**

**Registro do CEP: 109/09-01 Processo N°: 003358/2009-30**

**Pesquisador (a) Responsável: Fernanda Ferreira Lopes**

**Equipe executora:** Luciane Maria Oliveira Brito, João Victor Leal Salgado e Lisandra Rocha Vidotti

**Tipo de pesquisa:** PROJETO DE PESQUISA

**Instituição onde será desenvolvido:** Hospital Universitário (HU/UFMA). Serviço de Ginecologia/CEPEC.

**Situação: APROVADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Federal do Maranhão analisou o projeto de Pesquisa **“DETECÇÃO DE DNA-HPV NA MUCOSA ORAL EM MULHERES COM DIAGNÓSTICO POSITIVO PARA O DNA-HPV GENITAL”** cujo objetivo geral é: **Estudar a prevalência da infecção por HPV na cavidade oral de mulheres com Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) atendidas no Ambulatório de Ginecologia do Centro de Pesquisas Clínicas (CEPEC) do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA)**, que é parte do projeto de pesquisa: Processo **“IDENTIFICAÇÃO DE TIPOS DE PAPILOMAVÍRUS E DE OUTROS FATORES DE RISCO PARA A NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL CERVICAL**, que foi analisado e **APROVADO** na sessão do dia **25.03.11** (Processo N°: **000836/2010-90**), tendo como pesquisador (a) responsável: **Fernanda Ferreira Lopes**

Assim, mediante a importância social e científica que o projeto apresenta, a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde / MS.

Solicita-se ao (à) pesquisador (a) o envio a este CEP, de relatórios parciais sempre quando houver alguma alteração no projeto, bem como o relatório final gravado em CD-ROM.

São Luís, 25 de março de 2011

  
Prof. Dr. João Inácio Lima de Souza  
Coordenador do CEP-HUUFMA  
Ethica homini habitat est

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

Rua Barão de Itapary, 227 Centro C.E.P. 65. 020-070 São Luís – Maranhão Tel: (98) 222-5508 / Fax: (98) 231-1161 e 231-4595  
E-mail: cep@huufma.br

## 7.2 Anexo B – Questionário aplicado

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL

### “Detecção de DNA-HPV na Mucosa Oral e sua Associação com DNA-HPV Genital”.

Idade da paciente \_\_\_\_\_ anos.

Nome: \_\_\_\_\_

End: \_\_\_\_\_

Cor da paciente: Branca ( ) Parda ( ) Mestiça ( ) Amarela ( ) Negra ( )

Até que série completou na escola? \_\_\_\_\_

Fumo? Sim ( ) Não ( ) Quantos cigarros por dia? \_\_\_\_\_

Etilismo? Sim ( ) Não ( )

Usa método para evitar filhos? Sim ( )

Qual? \_\_\_\_\_ Não ( )

Quantas vezes ficou grávida? \_\_\_\_\_ Quantos filhos nasceram vivos? \_\_\_\_\_

Quantos abortos teve? \_\_\_\_\_

Com quantos homens já manteve relação sexual?(inclui parceiro atual) \_\_\_\_\_

Você já teve alguma DST? Sim ( ) Não ( )

Qual(is)? \_\_\_\_\_

Você já realizou tratamento para HPV, condiloma ou verrugas genitais?

Sim ( ) Não ( )

Algum parceiro seu tem ou já teve HPV? Sim ( ) Não ( ) Não sabe ( )

Quantas relações sexuais você tem por semana?

Pratica sexo oral? Sim ( ) Não ( )

### Resultado dos Exames

#### Exame Clínico Ginecológico:

Presença de HPV genital? Sim ( ) Não ( )

#### Localização:

Vulva nº \_\_\_ Vagina nº \_\_\_ Colo nº \_\_\_ Ânus \_\_\_

Forma de expressão do HPV: Clínica ( ) Sub-clínica ( )

#### Exames complementares:

Citologia oncótica: Normal ( ) HPV ( ) NIC 1 ( ) NIC 2 ( ) NIC 3 ( )

Colposcopia: Normal ( ) Condilomas ( ) ZTA ( )

*Histopatológico:* HPV ausente ( ) HPV presente ( )

*Pesquisa de PCR:* HPV ausente ( ) HPV presente ( )

**Presença de HPV oral:** Sim ( ) Não ( )

**Formas de expressão do HPV oral:** Clínica ( ) Sub-clínica ( )

**Localização:** lábios ( ) Palato ( ) Língua ( ) Gengiva ( ) Úvula ( ) Tonsilas ( )

Assoalho ( )

## 8 APÊNDICE

### 8.1 Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL

**Título do Projeto: “Detecção de DNA-HPV na Mucosa Oral e sua Associação com DNA-HPV Genital”.**

Prezada Senhora,

Você está sendo convidada a participar do projeto de pesquisa sobre “**Detecção de DNA-HPV na Mucosa Oral e sua Associação com DNA-HPV Genital**”, sob responsabilidade da Dra. Luciane Maria Oliveira Brito. Esta pesquisa tem como finalidade investigar se mulheres que possuem um vírus que vive no colo do útero, o HPV, também possuem o mesmo vírus na cavidade oral.

Você não terá nenhum tipo de despesa ao autorizar sua participação nesta pesquisa, bem como nada será pago pela sua participação.

Ao participar deste estudo, você estará contribuindo para o esclarecimento do papel do HPV na cavidade oral. As coletas serão feitas no Serviço de Ginecologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão.

A coleta do material na cavidade oral será realizada raspando-se suavemente o céu da boca, as bochechas e a língua com uma escova pequena ( *swab* estéril de Dacron) e também com exame clínico de quatro dentes a serem realizados no serviço de Ginecologia/CEPEC do HUUFMA sem nenhum risco ou constrangimento a paciente.

Todas as informações coletadas neste estudo serão estritamente confidenciais.

Os dados da voluntária serão identificados com um código, e não com o nome.

Apenas os membros da pesquisa terão conhecimento dos dados, assegurando assim sua privacidade.

Ao participar desta pesquisa você não terá prejuízo. Entretanto, esperamos que este estudo contribua com informações importantes que sirvam para aumentar os nossos conhecimentos sobre o assunto estudado, onde os pesquisadores se comprometem a divulgar os resultados obtidos em meio científico.

Você foi esclarecido também que tem o direito de retirar-se (sair) da pesquisa, em qualquer momento, bastando para isso, comunicar aos responsáveis pela investigação, sem prejuízo algum para seu atendimento.

Sempre que quiser, poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do coordenador do projeto e, se necessário, por meio do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

**NOME DOS PESQUISADORES:**

**Dra. Luciane Maria Oliveira Brito** – Praça Gonçalves Dias 21, 2º andar, Prédio da Medicina, telefone: 3232-0286.

**Comitê de Ética em Pesquisa – Hospital Universitário** – Rua Barão de Itapary 227, 4º andar, Centro – **Coordenador:** João Inácio Lima de Sousa, telefone; 2109-1223.

São Luis, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2011.

\_\_\_\_\_  
Assinatura da Paciente

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito  
Coordenadora do Projeto

## **9 PRIMEIRO ARTIGO CIENTÍFICO**

### **9.1 Nome do Periódico com sua classificação na WEBQUALIS da CAPES (A1, A2, B1, B2 ou B3) na área de Avaliação Medicina II**

Journal of Oral Pathology & Medicine com sua classificação na WEBQUALIS da CAPES (B1) na área de Avaliação Medicina.

### **9.2 Normas editoriais/Normas para autores**

#### **1. GERAL**

Journal of Oral Pathology & Medicine publica manuscritos de elevada qualidade científica representando trabalho original, de diagnóstico clínico ou experimental em patologia oral e medicina. Documentos sobre avanço da ciência ou prática destas disciplinas serão bem-vindos, especialmente aqueles que trazem novos conhecimentos e observações a partir da aplicação de técnicas dentro das esferas da microscopia eletrônica, da cultura, de tecido, órgão e imunologia, histoquímica, imunocitoquímica e biologia molecular. Artigos de revisão sobre questões atuais e relevantes receberão uma alta prioridade e artigos que requerem publicação rápida por causa da sua importância e atualidade serão incluídos como relatos breves não superiores a três páginas impressas. Todos os manuscritos submetidos que se enquadrem no âmbito geral do Jornal serão avaliados por avaliadores devidamente qualificados, mas os manuscritos em um formato incorreto serão devolvidos ao autor, sem revisão. Por favor, leia atentamente as instruções abaixo para obter detalhes sobre a submissão de manuscritos, os requisitos da revista e as normas, bem como informações sobre o procedimento para depois que o manuscrito for aceito para publicação no Journal of Oral Pathology & Medicine. Os

autores são encorajados a visitar Wiley-Blackwell para mais informações sobre a preparação e apresentação de artigos e figuras.

## **2. DIRETRIZES ÉTICAS**

O Journal of Oral Pathology & Medicine adere às orientações éticas abaixo para publicação e pesquisa.

**2,1. Autoria e Agradecimentos:** asseguram que o trabalho não foi publicado antes, não está sendo considerado para publicação em outro lugar e foi lido e aprovado por todos os autores. Journal of Oral Pathology & Medicina adere à definição de autoria instituído pelo Comitê Internacional de Editores de Periódicos Médicos (ICMJE). De acordo com os critérios de autoria do ICMJE deve ser baseado em contribuições substanciais para a concepção e desenho, ou aquisição de dados ou análise e interpretação dos dados e redação do artigo ou revisão crítica de importante conteúdo intelectual.

É uma exigência que todos os autores sejam credenciados conforme o caso, mediante a apresentação do manuscrito. Contribuintes que não se qualificam como autores devem ser mencionados nos Agradecimentos.

**Agradecimentos:** Reconheça apenas as pessoas que fizeram contribuições substanciais para o estudo. Os autores são responsáveis pela obtenção de autorização por escrito de todos, reconhecida pelo nome porque os leitores podem inferir seu endosso dos dados e conclusões.

**2,2. Aprovações éticas :** Experimentação envolvendo seres humanos só serão publicadas se essa investigação foi conduzida em plena conformidade com os princípios éticos, incluindo a Declaração de Associação Médica Mundial de Helsinki (versão de 2002 [www.wma.net/e/policy/b3.htm](http://www.wma.net/e/policy/b3.htm)) e o requisito adicional , se houver, do país onde a pesquisa foi realizada. Os manuscritos devem ser acompanhados de uma declaração de que os experimentos foram conduzidos com o entendimento e consentimento por escrito de cada sujeito e de acordo com os princípios acima mencionados. Uma declaração sobre o fato de que o estudo foi revisado e aprovado de forma independente por um conselho de ética também devem ser incluídos. Editores se reservam o direito de rejeitar trabalhos se houver dúvidas sobre se os procedimentos adequados foram utilizados. Quando os animais experimentais são usados na seção de métodos deve-se indicar claramente que medidas adequadas

foram tomadas para minimizar a dor ou desconforto. Os experimentos devem ser realizados de acordo com as orientações estabelecidas pelo Instituto Nacional de Saúde (NIH) nos EUA sobre o cuidado e uso de animais em procedimentos experimentais ou com o Conselho Diretivo da Comunidade Europeia de 24 de Novembro de 1986 (86/609 / CEE) e em conformidade com as leis e regulamentos locais.

**2.3 Ensaio Clínico:** Os ensaios clínicos devem ser reportados utilizando as diretrizes do CONSORT disponíveis em [www.consortstatement.org](http://www.consortstatement.org). A lista CONSORT também deve ser incluída no material de submissão.

**2.4 Conflito de Interesses:** Todas as fontes institucionais, privadas e corporativas que deram apoio financeiro deve ser plenamente reconhecida no manuscrito, e todos os potenciais detentores de subvenção devem ser listados.

**2.5 Recurso da Decisão:** Os autores que desejarem recorrer da decisão sobre o seu trabalho apresentado poderá fazê-lo enviando um e-mail para o editor com uma explicação detalhada de por que eles encontram razões para recorrer da decisão.

**2.6 Permissões:** Se a totalidade ou parte das ilustrações utilizadas forem de outro autor, a permissão deve ser obtida do detentor dos direitos em causa. É de responsabilidade do autor para obter estes por escrito e fornecer cópias para os editores.

**2.7 Cessão de Direitos Autorais:** Autores que apresentam um papel de fazê-lo no entendimento de que o trabalho e a sua essência não tenham sido publicado antes e não está sendo considerado para publicação em outra revista. A submissão do manuscrito pelos autores significa que os autores automaticamente concordam em ceder os direitos autorais exclusivo para Wiley-Blackwell, se e quando o manuscrito for aceite para publicação. O trabalho não deve ser publicado em outro lugar, em qualquer idioma sem o consentimento por escrito do editor. Os artigos publicados nesta revista são protegidos por direitos do autor, que abrange os direitos de tradução e o direito exclusivo de reproduzir e distribuir todos os artigos impressos na revista. Nenhum material publicado na revista pode ser armazenado em microfilme ou videocassetes ou em banco de dados eletrônico e similares ou reproduzido fotograficamente sem a prévia autorização por escrito do editor. Os

autores serão obrigados a assinar um Acordo de Transferência de Direitos Autorais (CTA) para todos os trabalhos aceitos para publicação. Assinatura do CTA é uma condição da sua publicação. Os autores devem enviar a CTA concluída ao receber notificação de aceitação do manuscrito, ou seja, não envie o formulário em sua apresentação.

**3. SUBMISSÃO DO SEU MANUSCRITO**• Depois de ter registrado em seu "Centro de Autor ", submeter seu manuscrito, clicando no link sob submissão dos Recursos autor'.• Clique no botão 'Browse' e localize o arquivo em seu computador.- Selecione a designação de cada arquivo no menu suspenso ao lado do botão Browse.- Quando você tiver selecionado todos os arquivos que deseja carregar, clique no botão 'Arquivos Upload'.• Analise a sua apresentação (em formato HTML e PDF) antes de completar a sua apresentação, enviando-lhe o Journal. Clique no botão 'Enviar' quando você terminar de ver.

**3.1. Arquivos manuscrito aceito:** Os manuscritos devem ser enviados como Word (.doc) Ou Rich Text Format (.doc) arquivos (não protegido contra gravação), além de arquivos de figuras distintas. GIF, JPEG, PICT ou arquivos de bitmap são aceitáveis para a apresentação, mas apenas de alta resolução TIF ou arquivos EPS são adequados para impressão. Os arquivos serão automaticamente convertidos para HTML e PDF em upload e será utilizado para o processo de revisão. O arquivo de texto deve conter o manuscrito inteiro, incluindo página de título, resumo, texto, referências, agradecimentos e declaração de conflito de interesse, tabelas e legendas de figuras, mas não há números embutidos. No texto, por favor, como valores de referência para a 'Figura 1' instância, etc 'Figura 2' para combinar com o nome da marca que você escolher para os arquivos de figuras individuais enviados. Os manuscritos devem ser formatados conforme descrito nas Diretrizes para Autores abaixo.

**3.2. Revisão cega:** Todos os manuscritos submetidos ao Journal of Oral Pathology & Medicine serão analisados por dois especialistas na área. Journal of Oral Pathology & Medicine usa revisão cega única. Os nomes dos revisores, portanto não vão ser divulgados ao autor que submeteu seu trabalho.

**3.3. Sugerir um Revisor:** Journal of Oral Pathology & Medicine tenta manter o processo de revisão o mais curto possível para permitir a rápida publicação

de novos dados científicos. Para facilitar este processo, o nome e o endereço de e-mail atual de um revisor potencial internacional a quem você considera capaz de rever o seu manuscrito é solicitada. Além disso, você pode mencionar revisores não-preferenciais também.

**3,4. Suspensão da Submissão no meio do caminho do processo de submissão:** Você pode suspender a entrega em qualquer fase antes de clicar no botão 'Enviar' e salvá-lo para apresentar mais tarde. O manuscrito pode ser localizado em "Manuscritos Unsubmitted 'e você pode clicar em' Continuar Submissão 'para continuar sua apresentação, quando você escolher.

**3,5. E-mail Confirmação da submissão:** Após o envio você receberá um e-mail para confirmar o recebimento do seu manuscrito. Se você não receber o e-mail de confirmação depois de 24 horas, verifique o seu endereço de e-mail com cuidado no sistema.

**3,6. Estado Manuscrito:** Você pode acessar Manuscritos Scholar One (anteriormente conhecido como Manuscript Central) a qualquer momento para verificar o seu "Centro de Autor 'para o status de seu manuscrito.

**3,7. Submissão de manuscritos revisados:** Para enviar um manuscritos revistos por favor localizar o seu manuscrito em 'Manuscritos com decisões' e clique em "Enviar uma Revisão". Por favor, lembre-se de apagar todos os arquivos antigos enviados quando você enviar o seu manuscrito revisto.

#### **4. TIPOS :**

**ARTIGOS ORIGINAIS DE PESQUISA-** de elevada qualidade científica representando trabalho original, de diagnóstico clínico ou experimental em patologia oral e medicina oral. Documentos sobre o avanço da ciência ou prática destas disciplinas serão bem-vindos, especialmente aqueles que trazem novos conhecimentos e observações a partir da aplicação de técnicas dentro das esferas de luz e microscopia eletrônica de tecido, órgão e da cultura, imunologia, histoquímica, imunocitoquímica e biologia molecular.

#### **ARTIGOS DE REVISÃO:**

**RELATOS DE CASOS:** o Journal of Oral Pathology & Medicine não aceita submissões de relatos de casos. Relatórios breves: material de pesquisa

original exige a publicação rápida por causa da sua importância e atualidade serão incluídos como relatos breves. Eles não devem ultrapassar três páginas.

**CARTAS AO EDITOR:** se de interesse amplo, são incentivados. As cartas não devem ser confundidas com breves relatórios. Cartas podem tratar de artigos publicados no Journal of Oral Pathology & Medicine ou podem levantar novas questões, mas deve ter implicações importantes.

## 5. FORMATO DO MANUSCRITO

Artigo com número de páginas publicadas superiores a 6, estão sujeitas a uma taxa de USD 163 por página adicional. Uma página publicada equivale aproximadamente a 5.500 caracteres (excluindo figuras e tabelas).

**Formato Idioma-** O idioma da publicação é o Inglês. Autores para quem o Inglês é uma segunda língua podem optar por ter seu manuscrito profissionalmente editado antes da apresentação para fazer as correções no Inglês.

**Abreviaturas, símbolos e nomenclatura-** Use apenas abreviações padrão (Vancouver System). Todas as unidades serão métricas. Use não números romanos no texto. Em números decimais, um ponto decimal, e não uma vírgula, será usado. Evite abreviações no título. Ao preparar o seu arquivo, por favor, use apenas fontes padrão, como Times, Times New Roman ou Arial para o texto, e fonte Symbol para letras gregas, para evitar substituições de caracteres inadvertidas. Em particular, por favor não use japoneses ou outras fontes asiáticas. Não usar a hifenização automática ou manual.

**Estrutura:** Todos os trabalhos submetidos à Revista de Patologia Oral e Medicina devem incluir: página de título, resumo, texto principal, referências e tabelas, figuras, legendas de figuras e declaração de conflito de interesse se for o caso. Os manuscritos devem estar de acordo com o estilo da revista. Os manuscritos que não cumpram com o formato de revista serão devolvidos ao autor (s). Página título: deve fazer parte do documento manuscrito enviado para análise e incluem: O título do artigo, um título de execução de no máximo 50 letras e espaços, 2-5 palavras-chave, nomes completos e instituição de cada autor, nome do autor correspondente, endereço, endereço de e-mail e número de fax.

Resumo: é limitado a 250 palavras e não deve conter abreviaturas. O resumo deve ser incluído no documento manuscrito enviado para análise, bem como

inseridos separadamente, caso especificado no processo de submissão. O resumo deve transmitir o propósito essencial e a mensagem do papel em uma forma abreviada. Para os artigos originais o resumo deve ser estruturado com os seguintes títulos, de acordo com o Index Medicus (Medical Subject Headings): fundo, métodos, resultados e conclusões. Para outros tipos de artigo, por favor escolha rubricas adequadas para o artigo.

Texto principal dos artigos originais: deve ser dividido em introdução, material e métodos, resultados e discussão.

**Introdução:** deve indicar claramente o propósito do artigo. Dê apenas referências estritamente pertinentes.

**Materiais e Métodos:** deve ser pormenorizado o suficiente de tal forma que, em combinação com as referências citadas, todos os ensaios clínicos e experiências relatadas podem ser totalmente reproduzidas. Como condição de publicação, os autores são obrigados a fazer materiais e métodos utilizados livremente disponíveis para pesquisadores acadêmicos para seu próprio uso. Editores se reservam o direito de rejeitar trabalhos se houver dúvidas sobre se os procedimentos adequados foram utilizados. Quando os animais experimentais são usados na seção de métodos deve-se indicar claramente que medidas adequadas foram tomadas para minimizar a dor ou desconforto. Os experimentos devem ser realizados de acordo com as orientações estabelecidas pelo Instituto Nacional de Saúde (NIH) nos EUA sobre o cuidado e uso de animais em procedimentos experimentais ou com a Directiva Europeia Conselho Comunidades de 24 de Novembro de 1986 (86/609 / CEE) e em conformidade com as leis e regulamentos locais.(lii)

**Fornecedores:** Fornecedores de materiais devem ser nomeados e sua localização (cidade, estado / município, país) incluídos.

**Resultados:** Apresentar os resultados em sequência lógica no texto, tabelas e ilustrações. Não repetir no texto todos os dados nas tabelas, ilustrações, ou ambos: enfatizar ou resumir somente as observações importantes.

**Discussão:** enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões que deles derivam. Não repetir em detalhe dados apresentados na

seção Resultados. Incluir na Discussão as implicações dos achados e suas limitações e relacionar as observações com outros estudos relevantes.

Texto principal de artigos de revisão incluem uma introdução e um texto corrido estruturado de uma forma adequada de acordo com o assunto tratado. A seção final com as conclusões podem ser adicionadas.

**Agradecimentos:** Reconheça apenas as pessoas que fizeram contribuições substanciais para o estudo.

**Referências:** As referências devem ser reduzidas ao mínimo pertinente e numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto. Identificar as referências no texto, as tabelas e as legendas por números arábicos (entre parênteses). As referências citadas somente nas tabelas ou legendas de figuras devem ser numeradas de acordo com uma sequência estabelecida pela primeira identificação da figura ou tabela no texto. Use o estilo dos exemplos abaixo, que são baseados nos formatos usados em Medicus. Tente evitar o uso de resumos como referências. Os títulos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus e do Sistema de Vancouver. Recomendamos o uso de uma ferramenta como o Reference Manager para gerenciamento de referências e formatação. Estilos de referência Reference Manager pode ser pesquisado por aqui: [www.refman.com / support / rmstyles.asp](http://www.refman.com/support/rmstyles.asp).

**Exemplos do estilo das referências da revista:**

(1) Padrão artigo de jornal (Liste todos os autores com 6 ou menos. Com 7 ou mais lista, apenas os 3 primeiros e acrescentar et al: BUCHNER A, JJ Sciubba. Tumores periféricos epiteliais odontogênicos: uma revisão. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1987; 63: 688-97. (2) Autor institucional : Estudo Colaborativo Europeu. Fatores de risco de transmissão do HIV-1 da mãe para filho. Lancet 1992; 339: 1007-1012.

(3) Autor não determinado /Anônimo: "A importância de ser" cedo [líder]. Br J Dent 1991; 170: 167.

(4) suplemento de Jornal: Moller-PETERSEN J. Avaliação de testes de diagnóstico. Design e fases. Scand J Clin Lab Invest 1992; 52: Suppl. (208): 35-50. CROSS SS, SCHOLFIELD JH, KENNEDY A, ALGODÃO DWK. Medição da dimensão fractal das fronteiras tumorais. J Pathol 1992; 168: 117A (Abstr).

(5) Jornal paginado por fascículo: Hillam C. Odontologia na Europa na década de 1790. *Historiador Dent* 1992; 22: (Maio): 31-4.

(6) Livro: PINDBORG JJ. Atlas de doenças da mucosa oral. Copenhagen: Munksgaard, 1992: 50-66.

(7) Capítulo de livro: Van der Waal I. Estadiamento de neoplasias. In: PRABHU SR, WILSON DF, DAFTARY DK, JOHNSON NW, eds. Doenças orais nos trópicos. Oxford: Oxford Medical, 1992; 478-86.

(8) Citação em outra publicação: DRINNAN AJ. Revisão da literatura: aspectos educacionais da medicina oral. In: MILLARD HD, MASON DK, eds. Oficina Mundial sobre medicina oral. Chicago: Livro do Ano de Medicina, 1989; 5-11.

(9) Publicação de Agência: MUIR C, Waterhouse J, MACK T, J POWELL, Whelan incidência de câncer nos cinco continentes: vol. 5. Lyon: Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer, 1987; IARC Scientific Publications n ° 88.

(10) Dissertação ou tese: CHUNGPANICH S. O potencial diagnóstico e prognóstico das regiões organizadoras de nucléolos em displasia epitelial oral. MMedSci Thesis, University of Sheffield, 1989.5,5.

#### **Tabelas, Figuras e Legendas de Figuras :**

**Tabelas:** devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos. Digite cada tabela em folha separada, com os títulos, tornando-as auto-explicativa.

**Figuras:** Todos os valores devem esclarecer o texto e o seu número é mantido a um mínimo. Texto sobre os valores devem ser em letras MAIÚSCULAS. As linhas devem ser desenhadas profissionalmente; meios-tons devem apresentar alto contraste.

Todas as figuras e obras de arte devem ser fornecidas em formato eletrônico. As legendas das figuras devem estar numa seção separada do manuscrito, e deve começar com um título breve para toda a figura e continuar com uma breve descrição de cada painel e símbolos utilizados: eles não devem conter quaisquer pormenores sobre os métodos. Envie suas figuras como EPS, TIFF ou PDF. Use resolução de 300 dpi para imagens fotográficas e resolução de 600 dpi

para detalhes art.Full linha a partir da apresentação de obras de arte estão disponíveis em <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

## **6. APÓS A ACEITAÇÃO**

**6.1. Direitos autorais:** Um Acordo de Transferência concluída Copyright (CTA), encontrado em [www.wiley.com / go / ctaaglobal](http://www.wiley.com/go/ctaaglobal) deve ser recebido pelo Editor de Produção antes de qualquer manuscrito ser publicado. Os autores devem enviar o CTA original devidamente preenchido pelo correio ao receber notificação de aceitação do manuscrito, ou seja, não enviar o CTA em sua apresentação.

**6.2 As provas:** As provas serão enviadas via e-mail como um arquivo PDF Acrobat (Portable Document Format). O servidor de e-mail deve ser capaz de aceitar anexos de até 4 MB de tamanho. O Acrobat Reader será necessário para ler este arquivo.

**6.3 Separatas:** O autor correspondente receberá uma separata livre PDF que pode ser baixada através dos Serviços de Autor. Por favor se inscrever para o serviço, se você gostaria de acessar seu artigo livre separata PDF e desfrutar de muitos outros benefícios que o serviço oferece. Visite <http://authorservices.wiley.com/bauthor> para mais informações.

**6.4 Serviços ao Autor:** Rastreamento de produção on-line através Wiley-Blackwell permite aos autores acompanhar o seu artigo - uma vez que foi aceito - através do processo de produção para publicação on-line e impresso. Os autores podem verificar o status de seus artigos on-line e optar por receber e-mails automáticos para as principais fases da produção. O autor receberá um e-mail com um link exclusivo que lhes permite registrar e ter seus artigos adicionados automaticamente ao sistema. Visite <http://authorservices.wiley.com/bauthor> para obter mais detalhes sobre a produção de rastreamento on-line e por uma riqueza de recursos, incluindo FAQs e dicas sobre a preparação do artigo, submissão e muito mais.

### 9.3 Artigo

ASSOCIAÇÃO ENTRE DNA-HPV ORAL e DNA-HPV GENITAL  
THE ASSOCIATION BETWEEN ORAL DNA-HPV and GENITAL DNA-HPV

THE ASSOCIATION BETWEEN ORAL HPV and GENITAL HPV

Palavras-chave: HPV. Cavidade oral. Genital. PCR nested.

Key words: HPV. Oral cavity. Genital. Nested PCR.

Lisandra Rocha Vidotti

Aluna do Curso de Mestrado em Saúde Materno Infantil pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Fernanda Ferreira Lopes

Professora Doutora em Patologia Oral da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Luciane Maria Oliveira Brito

Professora Doutora do Departamento de Medicina II, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Sally Cristina Moutinho Monteiro

Professora Doutora do Curso de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Flávia Castello Branco Vidal

Professora Doutora do Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA)-  
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Jomar Diogo Costa Nunes

Aluno do Curso de Mestrado em Saúde Materno Infantil pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Autor correspondente:

Lisandra Rocha Vidotti

Praça Gonçalves Dias, nº 21, Prédio de Medicina, 2º andar, Centro. São Luís - MA,  
Brasil. CEP: 65020-240.

e-mail: [ppgsmin@yahoo.com.br](mailto:ppgsmin@yahoo.com.br) e [lisandrarochoa@terra.com.br](mailto:lisandrarochoa@terra.com.br).

Telefax. (55)98-33019600

## RESUMO

**Fundo:** estimar a prevalência de HPV na cavidade oral e verificar sua associação com a presença de HPV genital e fatores comportamentais: a prática de sexo oral, etilismo e tabagismo. **Métodos:** Foi aplicado um Questionário sobre informações sociais, história médica, hábitos de tabagismo, consumo alcóolico e comportamento sexual de 105 mulheres. Também foi realizada a coleta de material celular da cavidade oral e região genital para pesquisa do DNA do HPV pela técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). Para extração do DNA de Swab Bucal e de Swab Genital foi utilizado o kit *QIAamp DNA Mini and Blood Mini* (QIAGEN, Valencia, CA). Foi aplicado o teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher ( $\alpha=0,05$ ) para verificar se existe associação significativa entre as variáveis clínicas e sociais. **Resultados:** Dentre as 105 mulheres estudadas, 61 eram portadoras de DNA HPV nos genitais e 44 não portadoras. Observou-se que existe associação significativa entre o HPV oral com HPV genital ( $p < 0,0001$ ), ou seja, o subgrupo com HPV oral apresentou HPV genital (100%) significativamente maior que o subgrupo sem HPV oral (45%). **Conclusões:** A prevalência do Papillomavírus Humano na cavidade oral foi maior nas portadoras de HPV nos genitais, com associação significativa entre a presença do DNA-HPV oral com o DNA-HPV genital. A prática de sexo oral, o tabagismo e o etilismo não estiveram relacionados à presença do DNA-HPV na cavidade oral.

Palavras-chave: HPV. Cavidade oral. Genital. PCR nested.

Key words: HPV. Oral cavity. Genital. Nested PCR.

## Introdução

A infecção pelo papilomavírus humano (HPV) é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais prevalentes no mundo (1). Nas últimas décadas, tem sido observado em homens e mulheres, um aumento crescente no número de infectados pelo HPV (2) e também, que o comportamento sexual destes pode estar associado a infecção do HPV na cavidade oral em mulheres (3).

Este vírus associa-se frequentemente com neoplasias benignas e malignas da cavidade oral, e dentre elas, o carcinoma espinocelular é a mais comum (4). Algumas pesquisas sugerem que o HPV pode desempenhar um papel significativo no desenvolvimento e progressão desta patologia (5). Evidências epidemiológicas sugerem que o HPV também pode ser um fator de risco independente para o câncer de orofaringe, revelando que este vírus aumenta em três vezes as chances de lesões orais pré-cancerosas, e quase cinco vezes em câncer de orofaringe em comparação com mucosa oral normal (6-7).

Nos países desenvolvidos, o câncer oral se apresenta como o sexto tipo de câncer mais comum, representando quase 3% dos tumores malignos, e mais de 95% deles são carcinomas de células escamosas (8). Os principais fatores de risco para o câncer da cavidade oral são o tabagismo, o etilismo e as infecções pelo HPV. Estudos apontam que o hábito de fumar e beber estabelece um sinergismo entre esses dois fatores de risco, aumentando 30 vezes o risco para o desenvolvimento desse tipo de câncer. As taxas de incidência para câncer da cavidade oral relacionado à infecção pelo HPV, como amígdala, base da língua e orofaringe, aumentam entre adultos jovens em ambos os sexos e uma parcela desse aumento pode ser atribuído a mudanças no comportamento sexual (9).

A via de transmissão do HPV para a cavidade oral ainda não está compreendida completamente, e por isso, diversas pesquisas, estão sendo realizadas objetivando esclarecer se a infecção genital por este vírus pode ser um fator predisponente (10).

Desse modo, como ainda não há um consenso na literatura que defina claramente sobre a presença do HPV na cavidade oral e sua relação com o HPV genital. Assim, justifica-se o presente trabalho, que objetiva estimar a prevalência de HPV na cavidade oral e verificar sua associação com a presença de HPV genital e fatores comportamentais: a prática de sexo oral, etilismo e tabagismo.

## **Materiais e Métodos**

Trata-se de um estudo de coorte transversal e não intervencional. A população arrolada para compor a amostra, foi constituída por mulheres atendidas no Ambulatório de Ginecologia do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário da UFMA (CEPEC/HUUFMA). A pesquisa foi iniciada após ter sido aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário, da Universidade Federal do Maranhão sob Parecer Consubstanciado nº082/11 e realizada no período entre abril de 2011 a maio 2012, com uma amostra 105 mulheres. O cálculo amostral baseou-se nos dados da pesquisa realizada por Giraldo et al. (11), e aplicou-se o Poder do Teste de 85% e Nível alfa de 5%, resultando num tamanho amostral mínimo de 60.

Foi aplicado um Questionário sobre informações sociais, história médica, hábitos de tabagismo, consumo alcóolico e comportamento sexual. Todas as pacientes foram submetidas a exame e coleta de material celular da cavidade oral e região genital para pesquisa do DNA do HPV pela técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR).

Para a região genital, durante o exame de vídeo colposcopia, coletou-se amostras de raspados citológicos utilizando escova estéril do kit *hc<sub>2</sub> DNA Collection Device* (QIAGEN, Valencia, CA) nas regiões: genital externo, vagina e colo uterino.

No mesmo dia, fez-se também o exame da cavidade oral, onde foi realizada a coleta com escova estéril do kit *hc<sub>2</sub> DNA Collection Device* (QIAGEN, Valencia, CA) girando-se em sentido anti-horário por seis vezes em cada região eleita: palato duro, mucosa jugal, assoalho bucal, língua, espaço retro-molar, pilares anteriores e bochechas da cavidade oral.

O material coletado da região genital e oral foi colocado em tubos previamente identificados (data, iniciais do nome das pacientes e região coletada) com 1mL de meio de transporte de amostra (azida sódica) do mesmo kit e então armazenado a 4° C. As amostras foram analisadas para a pesquisa do HPV, pelo método de PCR Nested, no Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA)/HUUFMA e no Instituto Nacional do Câncer (INCA/RJ).

Para extração do DNA de Swab Bucal e de Swab Genital foi utilizado o kit *QIAamp DNA Mini and Blood Mini* (QIAGEN, Valencia, CA). Iniciou-se a digestão adicionando 400µL da amostra em um tubo de 0.2 mL juntamente com 400 µL do tampão de digestão (AL) e 20 µL da enzima Proteinase K. A amostra foi

homogeneizada e incubada a 56°C por 10 minutos. Depois desta fase, 400 µL de etanol (96-100%) foi adicionado em cada tubo e homogeneizado por 05 segundos e posteriormente centrifugado brevemente (spin). Neste momento foi adicionado 700 µL da mistura anterior a uma coluna com tubo coletor e o material centrifugado a 8.000 rpm por 01 minuto a temperatura ambiente. Foi adicionado em seguida sobre a coluna 500 µL de tampão de lavagem (AW1) e realizada nova centrifugação a 8.000 rpm por 01 minuto em temperatura ambiente. Uma alíquota de 500 µL de tampão de lavagem (AW2) foi acrescentada à coluna e as amostras centrifugadas a 14.000 rpm por 03 minutos em temperatura ambiente. Para eluição do DNA, foi acrescentado sobre a coluna 200 µL do tampão de eluição (AE). Após incubação de 01 minuto, o material foi centrifugado a 8.000 rpm por 01 minuto em temperatura ambiente. Esta coluna foi descartada e o tubo contendo a amostra eluída foi armazenado em freezer a -20°C até o próximo procedimento.

A integridade do DNA foi observada posteriormente por eletroforese em gel de agarose 0.8% em TBE 1X e 0.1% do corante Gel Red (Invitrogen, Carlsbad, California). Para cada 4 µL de DNA foi adicionado 4 µL de tampão de carregamento e 4µL de Gel Red (INTERCALANTE DE DNA) sendo esta a mistura aplicada no gel. A eletroforese foi realizada por 30 minutos a 5 V/cm<sup>2</sup> em cuba horizontal (Life Technologies, EUA). Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (BIO-RAD Laboratories, EUA). No sentido de estimar a concentração de DNA, uma alíquota do material extraído (2 µL) foi quantificada através da leitura de absorbância em espectrofotômetro Nanovue (GE) utilizando comprimento de onda igual a 260 nm. Para avaliação da capacidade de amplificação das amostras envolvidas no estudo, as regiões do DNA genômico correspondente ao gene de β-globina humana foram amplificadas pela técnica de PCR. Para amplificação da região hipervariável do gene *L1* de HPV as amostras foram submetidas à técnica de PCR Nested. Os primers (iniciadores) utilizados foram MY09-11 (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia) e GP +5/+6 (Invitrogen, Carlsbad, California). O produto da reação foi visualizado por eletroforese em gel de agarose 2% em tampão TBE 1X e 0.1% do corante Gel Red (Invitrogen, Carlsbad, California).

A análise descritiva apresentou-se sob forma de tabelas os dados observados, expressos pela frequência (n) e percentual (%) para dados categóricos e média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo para dados numéricos. E com o

objetivo de verificar se existe associação significativa entre as variáveis clínicas e sociais com o HPV oral

Aplicou-se o teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher para comparações dos dados categóricos.

Foi utilizado método não paramétrico, pois as variáveis não apresentaram distribuição normal (distribuição Gaussiana), devido a grande dispersão dos dados e rejeição da hipótese de normalidade segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov. O critério de determinação de significância adotado foi o nível de 5%. A análise estatística foi processada pelo *software* estatístico SAS<sup>®</sup> System, versão 6.11 (SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina).

## Resultados

Totalizou-se um número de 105 mulheres estudadas, sendo que 61 eram portadoras de DNA HPV nos genitais e 44 não portadoras (Figura 1). Para verificar se existia associação significativa entre as variáveis clínicas e sociais com a presença de HPV oral *versus* ausência de HPV oral, os dados estão dispostos na Tabela 1, que fornece a frequência (n) e o percentual (%) das variáveis clínicas e sociais categóricas segundo HPV oral presente (n = 25) e ausente (n = 80) e o correspondente nível descritivo (*p valor*) do teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher. Não existe associação significativa, ao nível de 5%, com as demais variáveis clínicas e sociais categóricas.

A associação significativa entre o HPV oral com HPV genital ( $p < 0,0001$ ) é bem evidenciada na Figura 1, onde ilustra que todos os indivíduos com HPV oral apresentaram HPV genital.

## Discussão

O Papilomavírus Humano não se restringe, exclusivamente, aos órgãos genitais, pois também o encontramos em outros sítios como as mucosas orais (12). Neste estudo, observou-se uma maior prevalência de DNA-HPV na região genital do que na cavidade oral (58.10% vs. 23.81%), corroborando com a literatura, que descreve que apesar das semelhanças entre as mucosas oral e genital, a infecção pelo HPV, faz-se notar muito mais nos genitais que na cavidade oral (13-16).

Alguns pesquisadores (17-18) sugerem que a saliva pode ter um papel protetor contra a infecção pelo HPV por conter agentes antimicrobianos como as

lisozimas, lactoferrina, imunoglobulinas A (IgA) e citocinas. A IgA está associada ao controle das infecções virais nas mucosas em geral (19), no entanto, a cavidade oral é dotada de mecanismos de defesa específicos, entre eles a IgA secretória, podendo ser um importante fator de proteção contra infecções virais (15).

O tabagismo é citado como um dos principais fatores ambientais associados ao aparecimento de patologias orais (20), inclusive aquelas induzidas pelo HPV, podendo ser cofator para a colonização das mucosas pelo Papilomavírus Humano (21). No entanto, neste estudo não se pôde observar associação entre o hábito de fumo e a presença de HPV oral, pois, a prática do tabagismo foi verificada em apenas 4% das pacientes com HPV oral e em 8.8% das pacientes negativas para HPV oral.

Uma possível explicação para esse resultado pode estar alicerçada no possível efeito do tabaco na cavidade oral e orofaríngea, pois o hábito de fumar provoca o aumento da queratinização nas superfícies mucosas, o que as tornar mais resistentes aos microtraumas e, conseqüentemente, menos susceptíveis à infecção das células da camada basal pelo HPV (22).

Quanto ao consumo de álcool pelas pacientes com positividade para HPV oral, 32% alegaram consumir, enquanto 68% alegaram não ser consumidoras. Já nas mulheres sem HPV oral, 33.8% confirmaram o consumo de bebidas alcólicas e 66.3% negaram. 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 consumo com a infecção pelo HPV de alto risco (23), porém, segundo Cleveland et al. (24), os cânceres de orofaringe associados à infecção pelo HPV, ocorrem mais frequentemente entre os homens brancos e pessoas que não usam tabaco ou álcool.

As mulheres brancas e mais jovens (< de 30 anos) estiveram mais presentes entre as que possuíam HPV oral, porém, não houve diferenças estatisticamente significativas com relação à presença de HPV na cavidade oral, segundo a raça ou idade, e estes resultados estão em consonância com os encontrados no estudo realizado por Ragin et al. (3).

A presente pesquisa revelou associação significativa entre a presença de HPV oral e HPV genital, pois todas as portadoras de HPV na cavidade oral eram portadoras de HPV genital (Teste Exato de Fisher,  $p < 0,0001$ ). Resultado similar ao mostrado por Gonçalves et al. (15), quando pesquisou o material proveniente da

cavidade oral de mulheres portadoras e não portadoras de HPV genital, e observou maior prevalência de HPV oral em mulheres portadoras de HPV genital (37.1% x 4.3%).

Não se pode prever ou determinar, que mulheres com exames positivos para HPV genital terão este vírus em outras áreas de seu corpo. Neste estudo, se fizermos uma análise preliminar, existe uma tendência a se considerar que poderia haver uma contaminação da região genital para a mucosa oral. Porém, ao se observar que os resultados apontam para o fato de que a prática de sexo oral não exerceu influência na presença do HPV na mucosa oral, pode-se supor que talvez haja algum outro fator associado que não este. Em concordância com esta hipótese, o trabalho realizado por Brown et al. (25) encontrou a prevalência de HPV oral em somente 7,6% das mulheres que praticavam sexo oral.

Verificou-se que a prática de sexo oral foi relativamente maior em mulheres sem positividade para HPV oral (33.8% vs. 20%), no entanto, esse hábito foi citado como a principal via de contágio do HPV oral em alguns estudos (23, 26). Porém, outros autores concluem não haver uma indicação clara e nem comprovada, de que a prática de sexo oral resulte em maior predisposição à infecção oral pelo HPV (18, 27), corroborando com nossos achados que revelaram não haver associação significativa entre a prática de sexo dessa forma com o a presença do DNA-HPV na cavidade oral.

Vale ressaltar que a associação entre o HPV genital e oral ainda não está clara (28) e a via de transmissão do HPV para a cavidade oral ainda não está determinada (29). Desta forma, acredita-se que mais estudos devem ser realizados sobre o HPV oral e sua associação com o HPV genital, a fim de que se possa esclarecer os fatores de risco e mecanismos de transmissão entre eles.

### **Considerações finais**

- a) A prevalência do Papillomavírus Humano na cavidade oral foi maior nas portadoras de HPV nos genitais, com associação significativa entre a presença do DNA-HPV oral com o DNA-HPV genital.
- b) A prática de sexo oral, o tabagismo e o etilismo não estiveram relacionados à presença do DNA-HPV na cavidade oral.

## Referências

1. DUNNE EF, UNGER ER, STERNBERG M et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007; 297: 813-9.
2. OLIVEIRA CM, SOARES RC, PINTO LP, COSTA ALL. HPV e carcinogênese oral: revisão bibliográfica. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2003; 69:553-9.
3. RAGIN C, EDWARDS R, LARKINS-PETTIGREW M et al. Oral HPV infection and sexuality: a cross-sectional study in women. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 3928-40.
4. ESQUENAZI D, BUSSOLOTI FILHO I, CARVALHO MDA G, BARROS FS. The frequency of human papillomavirus findings in normal oral mucosa of healthy people by PCR. *Braz J Otorhinolaryngol* 2010;76: 78-84.
5. GOON PK, STANLEY MA, EBMEYER J et al. HPV e head and neck cancer: a descriptive update. *Head Neck Oncol* 2009; 1:36.
6. GILLISON ML, KOCH WM CRB, SPAFFORD M et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:709-20.
7. VAN HOUTEN VM, SNIJDERS PJ, VAN DEN BREKEL MW et al. Biological evidence that human papillomaviruses are etiologically involved in a subgroup of head and neck squamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 2001; 93: 232-5.
8. MEHTA V, YU GP, SCHANTZ SP. Population-based analysis of oral and oropharyngeal carcinoma: changing trends of histopathologic differentiation, survival and patient demographics. *Laryngoscope* 2010; 120: 2203-12.
9. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. HPV: perguntas e respostas mais freqüentes. [acesso 12 maio 2012]. Disponível em: [http://www1.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=327](http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=327).
10. PEIXOTO AP, CAMPOS GS, QUEIROZ LB, SARDI SI. Asymptomatic oral human papillomavirus (HPV) infection in women with a histopathologic diagnosis of genital HPV. *J Oral Sci* 2011; 53:451-9.
11. GIRALDO P, GONÇALVES AK, PEREIRA SA et al. Human papillomavirus in the oral mucosa of women with genital human papillomavirus lesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; 126: 104-6.
12. CRAWFORD R, GRIGNON AL, KITSON S et al. High prevalence of HPV in non-cervical sites of women with abnormal cervical cytology. *BMC Cancer* 2011, 11:473.

13. PEREYRA EA, TACLA M. HPV na mulher: colposcopia. In: CARVALHO JM, OYAKAWA N. 1º Congresso Brasileiro do HPV. São Paulo: BG Cultural, 2000; 17-34.
14. CARVALHO JJM. Papilomavírus Humano. In: CARVALHO JJM. Manual prático do HPV: papilomavírus humano. São Paulo: Instituto Garnet, 2004; 13-4.
15. GONÇALVES AK, GIRALDO P, BARROS-MAZON S et al. Secretory immunoglobulin A in saliva of women with oral and genital HPV infection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; 124: 227-31.
16. THEREZITA MPPGC, BUSSOLOTI-FILHO I, NASCIMENTO VX, XAVIER SD. Detecção de HPV na mucosa oral e genital pela técnica PCR em mulheres com diagnóstico histopatológico positivo para HPV genital. *Rev. Bras. Otorrinolaringol* 2009; 75:
17. MILETIC ID, SCHIFFMAN SS, MILECTIC VD, SATTERLY-MILLER EA. Salivary IGA secretion rate in young and elderly persons. *Physiop Behav* 1996; 60:243-8.
18. XAVIER SD. Frequência de aparecimento do papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de homens com HPV genital confirmado por biologia molecular. MSc Dissertação, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 2007.
19. RUSSEL MW, MESTECKY J. Humoral immune responses to microbial infections in genital tract. *Microbes Infect* 2002; 4: 667-77.
20. SYRJÄNEN S. HPV infections and tonsillar carcinoma. *J Clin Pathol* 2004; 57: 449-55.
21. SARANATH D, TANDLE AT, DEDHIA PM et al. p.53 inactivation chewing tobacco-induced oral cancers and leukoplakias from india. *Oral Oncol* 1999; 35: 242-50.
22. SINOGAS C, RODRIGUES A, REIS D. Papilomavírus humano biologia e epidemiologia. [acesso 20 abr 2012]. Disponível em: <http://evunix.uevora.pt/~sinogas/TRABALHOS/2004/papiloma.htm>.
23. SMITH EM, RITCHIE JM, SUMMERSGILL KF et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int. J. Cancer* 2004;108:766-72.
24. CLEVELAND JL, JUNGER ML, SARAIYA M, MARKOWITZ LE, DUNNE EF, EPSTEIN JB. The connection between human papillomavirus and oropharyngeal squamous cell carcinomas in the United States: implications for dentistry. *J Am Dent Assoc* 2011; 142: 915-24.

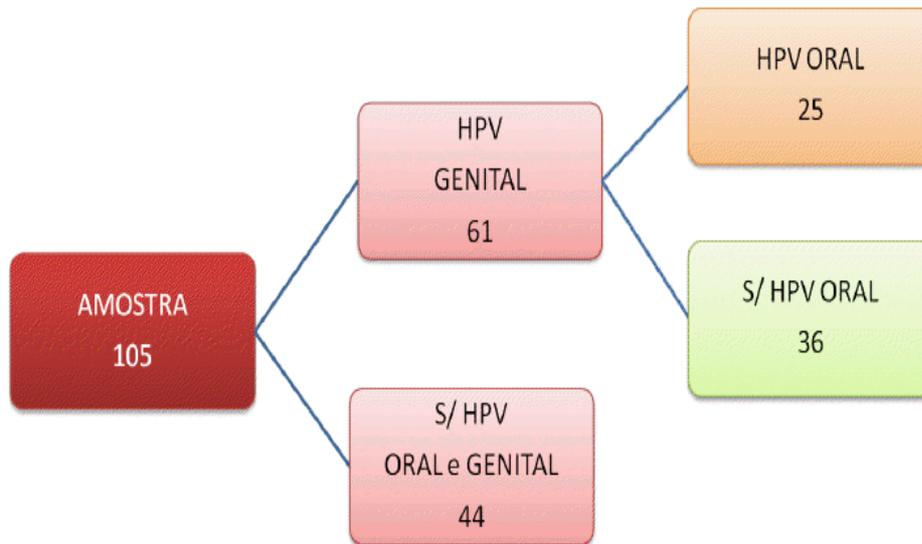
25. BROWN B, BLAS MM, CABRAL A et al. Oral sex practices, oral human papillomavirus and correlations between oral and cervical human papillomavirus prevalence among female sex workers in Lima, Peru. *Int J STD AIDS* 2011; 22: 655-8.
26. TOMINAGA S, FUKUSHIMA K, NISHIZAKI K, WATANABE S, MASUDA Y, OGURA H. Presence of human papillomavirus type 6f in tonsillar condiloma acuminatum and clinically normal tonsillar mucosa. *Jpn J Clin Oncol* 1996; 26: 393-6.
27. CASTRO TMPPG. A frequência de papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de mulheres portadoras de HPV genital confirmado pela PCR. MMedSci Tese, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 2007.
28. SAINI R, KHIM TP, RAHMAN SA, ISMAIL M, TANG TH. High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. *Virology Journal* 2010, 7:131.
29. ZUR HAUSEN H. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers. *BBA* 1996; 1288: 55-78.

Tabela 1 - Variáveis clínicas e sociais categóricas associadas ao HPV oral

Variável	Categoria	c/ HPV oral (n = 25)		s/ HPV oral (n = 80)		p valor <sup>a</sup>
		n	%	n	%	
Idade	≥ 30 anos	12	48.0	49	61.3	0.24
	< 30 anos	13	52.0	31	38.8	
Etnia	Branca	13	52.0	29	36.3	0.16
	não branca	12	48.0	51	63.8	
Tabagismo	Sim	1	4.0	7	8.8	0.38
	Não	24	96.0	73	91.3	
Etilismo	Sim	8	32.0	27	33.8	0.87
	Não	17	68.0	53	66.3	
Sexo oral	Sim	5	20.0	27	33.8	0.19
	Não	20	80.0	53	66.3	
HPV	Genital	25	<b>100.0</b>	36.0	<b>45.0</b>	<b>&lt; 0.0001</b>
	sem HPV	0	0.0	44.0	55.0	

<sup>a</sup> teste de  $\chi^2$  ou exato de Fisher

Fluxograma 1 – Associação entre HPV oral e HPV genital



## **10 SEGUNDO ARTIGO CIENTÍFICO**

### **10.1 Nome do Periódico com sua classificação na WEBQUALIS da CAPES (A1, A2, B1, B2 ou B3) na área de Avaliação Medicina II**

Revista Brasileira de Odontologia – RBO com sua classificação na WEBQUALIS da CAPES (B3) na área de Avaliação Medicina.

### **10.2 Normas editoriais/Normas para autores**

1.1 Os trabalhos quando enviados por correio devem ser apresentados impressos em folhas de papel tamanho A4 (lauda), fonte Arial tamanho 11, com espaço duplo e margem de 3 cm de cada lado, numeradas com algarismos arábicos no ângulo inferior direito e ter até o máximo de 11 (onze) laudas, com 25 (vinte e cinco) linhas cada. A página de identificação não constará do total de 11 laudas e deverá conter o título (português/inglês), resumo/abstract (máximo de 120 palavras), palavras-chave/keywords, nome dos autores (com titulação máxima, disciplina e instituição a que cada autor está afiliado, cidade, estado e país). Se o autor não pertencer a nenhuma instituição de ensino, deverá colocar sua formação (por exemplo: cirurgião-dentista ou clínico privado).

1.2 Tabelas (ou gráficos) e quadros: Deverão ser numerados em algarismos romanos, com apresentação resumida e objetiva, para compreensão do trabalho. Os dados originais deverão ser apresentados sintetizados, enviando somente a média dos resultados e não os valores das amostras individualmente. As tabelas de análise de variância devem ser evitadas. Sempre que possível, valores quantitativos deverão ser apresentados na forma de gráficos, que devem ser mandados em Excell em arquivo separado. O autor deverá optar por tabela ou gráfico e não será permitida utilização das duas modalidades mencionadas. As tabelas ou gráficos e quadros farão parte da contagem total de 11 páginas pedidas para cada artigo.

1.3 Figuras (desenhos, fotografias e gráficos): Deverão se limitar a 4 (quatro) por trabalho e numeradas em algarismos arábicos. Imagens fotográficas deverão ser apresentadas como fotografias e com cópia, tendo dimensões de 12 x 9 cm ou 9 x 9 cm (quando quadradas), em papel brilhante e de preferência em cores, sendo assinalado, em seu verso, a lápis, o número da figura e o lado superior da mesma, bem como o título do trabalho resumido para posterior identificação. Não devem estar coladas nas folhas de legendas. Poderão ser enviadas, preferencialmente, em formato de imagem JPEG ou TIFF com 300 dpi de resolução.

1.4 Os desenhos e gráficos devem ser entregues em CD ou DVD, em arquivo separado no programa Excell, com cópia impressa. Os gráficos também poderão ser entregues em Excell em arquivo separado. As figuras e suas legendas deverão constar em folhas separadas e não numeradas (não fazendo parte da contagem total de 11 laudas).

1.5 Todas as pesquisas que envolverem estudos com seres humanos e animais deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, devendo ter o consentimento por escrito do paciente e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). Deve ser enviada a cópia do parecer do CEP. A ausência deste documento implicará na devolução do trabalho.

1.6 Os originais e as figuras não serão devolvidos aos autores.

1.7 Os originais com avaliação “desfavorável” serão devolvidos aos autores, revogando-se a transferência de direitos autorais. Os originais com avaliação “sujeito a modificações” serão remetidos aos autores para que as modificações sugeridas sejam realizadas, no prazo máximo de até 60 dias, e, posteriormente, reavaliados. Os artigos aprovados pela RBO terão um prazo de até 12 meses para publicação.

1.8 So serão aceitos trabalhos coma até 6 seis autores.

## 2. ESTRUTURA DO TRABALHO

### 2.1 PÁGINA DE ROSTO

- Título do trabalho: em português e em inglês - corpo 14 pontos - até 80 caracteres.
- Nome do(s) autor(es), titulação máxima e referência à instituição a que pertence(m):.

Exemplos: Ana Emilia Figueiredo de Oliveira (professora doutora de Radiologia da FO/UFMA); Paulo Sérgio Vanzillotta (Professor de Prótese do CAP/Associação Brasileira de Odontologia – RJ); Daniel Lopes Valle (cirurgião-dentista, clínica particular).

- Endereço, telefone e e-mail dos autores para futuros contatos. Indicar o autor principal para que seja divulgado o seu contato (rua, bairro, cidade, CEP, estado, país, e-mail, telefones).
- Resumo - Não deve exceder a 120 palavras. Deve conter resumidamente o objetivo, material e método, resultados e conclusões.
- Palavras-chave - Palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do trabalho, fornecidas pelo próprio autor.
- Abstract - Resumo em inglês.
- Keywords - Palavras-chave em inglês.
- Observação - A página de rosto (identificação) não fará parte da contagem total de 11 laudas.

### 2.2 TEXTO

- Introdução (com o objetivo do estudo);
- Material e Método;
- Resultados;
- Discussão;
- Conclusão
- Referências Bibliográficas - Conter, no máximo, 20 referências bibliográficas. Nos casos de Revisão da Literatura, serão permitidas até 40 referências. Os autores devem ser citados em ordem alfabética e numerados.

### 2.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências devem ser apresentadas no estilo Vancouver.

Exemplos de como organizar as referências bibliográficas.

### 1. Modelos de referências no todo e em parte:

Autor:

Ex.: Autor 1, Autor 2, Autor 3, Autor 4, Autor 5, Autor 6. Título da obra. Edição. Local de Publicação: editora; ano de publicação.

Com Autor(es) Filados a uma Entidade/Organização:

Ex.: Autor(es) (nome da entidade/organização). Título do livro. Edição. Local de Publicação: editora; ano de publicação. Paginação.

Com Editor, Organizador, Coordenador:

Ex.: Autor(es) do livro, indicação correspondente. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editora; ano de publicação.

Autor Corporativo (Entidade/Instituição):

Ex.: Nome da Instituição. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editora; ano de publicação.

Obras Sem Autoria:

Ex.: Nome do livro. Edição. Local de publicação: Editora; ano de publicação.

Capítulo de Livro:

Ex.: Autor(es) do capítulo. Título do capítulo: subtítulo. In: Autor(es) do livro. Título do livro. Edição. Local de publicação: Editora; ano de publicação. página inicia-final do capítulo.

OBS.: Quando o autor do capítulo for o mesmo do livro a referência pode ser feita da seguinte maneira, veja abaixo.

Ex.: Autor(es) do capítulo. Título do livro: subtítulo. Edição. Local de publicação: Editora; ano de publicação. Capítulo número, Título do capítulo; página inicia-final do capítulo.

TCC, Dissertações e Teses:

Ex.: Autor. Título do trabalho: sub-título se houver. [identificação do trabalho]. Local de apresentação: Nome da Universidade; Ano. Total de páginas. Grau.

Anais de Congressos:

Ex.: Autor(es)/Editor(es). Título do evento precedido da designação anais; Ano mês dia da realização do evento; Local de realização do evento, País. Local de publicação:

Editora; Ano. Número de páginas.

Trabalhos Apresentados em Eventos:

Ex.: Autor do trabalho. Título do trabalho. Localização do trabalho:

Autor(es)/Editor(es). Título do documento. Título do evento; Ano mês dia; Local de realização do evento

cidade e país. Local da publicação: Editora; ano. Páginas inicial-final.

Trabalhos Não Publicados:

Ex.: Autor. Título do trabalho. Cidade, Ano. Folhas. Informação do trabalho.

Bula de Remédio:

Ex.: Nome do remédio. Responsável. Cidade: Laboratório; Ano. Informação.

## 2. Modelos de referências de periódicos, artigos de periódicos e jornais:

Periódico no Todo:

Ex.: Nome do periódico. Ano; volume (número).

Artigo de Periódico:

Ex.: Autor. Título do artigo. Nome do periódico. Ano, volume (número): página inicialfinal.

Artigo de Periódico Sem Autor:

Ex.: Título do artigo. Nome do periódico. Ano; volume (número): página inicial-final.

Artigo de Periódico Contendo Retratação:

Ex.: Autor. Título do artigo. Nome do periódico. Ano; volume (número): página inicial-final da retratação. Retratação de: Autor(es) do artigo. Nome do periódico. Ano; volume (número): página inicial-final do artigo retratado.

Artigo de Periódico Retratado:

Ex.: Autor. Título do artigo. Nome do periódico. Ano; volume (número): página inicial-final do artigo. Retratação em: Autor(es) do artigo. Nome do periódico. Ano; volume (número): página inicial-final retratadas.

Artigo de Periódico Publicado com Errata:

Ex.: Autor(es). Título do artigo. Nome do periódico. Ano; volume (número): página inicial-final do artigo. Errata em: Autor(es) do artigo. Nome do periódico. Ano; volume (número): página inicial-final da errata.

### 3. Modelos de referências em meios eletrônicos:

Monografia no Todo (Livros, Folhetos Etc...):

Ex.: Autor pessoa ou entidade. Título do documento. [acesso ou captura]. Cidade; Ano. Disponível em: endereço eletrônico. Autor pessoa ou entidade. Título do documento. [tipo do suporte]. Local: editora; Ano. Descrição física do suporte.

TCCs, Dissertações e Teses:

Ex.: Autor. Título do trabalho: sub-título se houver. [identificação do trabalho]. Local de apresentação: Nome da Universidade; Ano. Total de páginas. Grau. [citado em: dia mês abreviado ano]. Endereço eletrônico.

Artigo de Periódico (Internet)

Ex.: Autor pessoa ou entidade (na ausência faz a entrada pelo título). Título do documento. Nome do periódico. [formato da publicação]. Ano mês [quando acessou dia, mês e ano]; volume: página inicial-final. Disponível em: endereço eletrônico.

DVD ou Cd-Rom

Ex.: Autor pessoa ou entidade. Título do documento [meio eletrônico]. Cidade:

Editora; Ano.

4. Exemplo de grafia dos nomes:

Arnold McDonald – McDonald, A

José Santos Júnior – Santos J, Jr

Eduardo Roquete-Pinto - Roquete-Pinto, E

Heitor Espírito Santo - Espírito Santo, H

### **3. RELATOS DE CASOS CLÍNICOS OU DE TÉCNICAS**

• Serão aceitos com as seguintes recomendações: 1) Não poderão ultrapassar seis laudas; 2) Serão permitidos até três autores; 3) O assunto deverá ser relevante e o relato de caso deverá contribuir para o enriquecimento da literatura científica e não ser apenas a reprodução de casos amplamente conhecidos na literatura.

### **4. DO ENCAMINHAMENTO DOS ORIGINAIS**

Todos os artigos encaminhados pelos correios devem postados por SEDEX para: Associação Brasileira de Odontologia – Seção RJ, a/c Revista Brasileira de Odontologia (RBO) - Rua Barão de Sertório, 75 - Rio Comprido, CEP: 20261-050 – Rio de Janeiro – RJ. Telefone: 2504-0002 (ramal: 233), e-mail: revista@aborj.org.br. Não serão aceitos artigos enviados por e-mail.

### **5. ESCLARECIMENTOS**

Os artigos só serão aceitos quando encaminhados através dos correios ou pela submissão online, efetuada através do portal da revista. Não serão aceitos artigos enviados para o e-mail da RBO.

Todos os artigos deverão estar de acordo com as normas atuais da revista.

Os artigos recebidos até o final do ano de 2010, que foram aprovados, serão adequados às normas atuais.

## Itens de Verificação para Submissão

Como parte do processo de submissão, autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão com todas os itens listados a seguir. Serão devolvidas aos autores as submissões que não estiverem de acordo com as normas.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação em outra revista.
2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word ou formato compatível.
3. Todos os endereços de páginas na Internet (URLs), incluídas no texto (Ex.: <http://www.ibict.br>) devem estar ativos e prontos para clicar.
4. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.
5. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, conforme instruções disponíveis em assegurando a Avaliação por Pares Cega.

## Declaração de Direito Autoral

### **DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS**

Eu (Nós), abaixo assinado(s), CPF (s), transfiro(rimos) todos os direitos autorais do artigo intitulado: (título) à Revista Brasileira de Odontologia - RBO. Declaro(amos) que o trabalho é original e que não está sendo considerado para publicação em outra revista, quer seja no formato impresso ou no eletrônico. Local, data, mês e ano.

## Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

### 10.3 Artigo

#### HPV ORAL E SUA RELAÇÃO COM HPV GENITAL

##### ORAL HPV AND ITS RELATIONSHIP WITH GENITAL HPV

Lisandra Rocha Vidotti\* (Mestranda do Curso de Especialização em Saúde Materno Infantil/UFMA); Fernanda Ferreira Lopes (Professora Doutora em Patologia Oral da FO/UFMA); Luciane Maria Oliveira Brito (Professora Doutora do Departamento de Medicina III /UFMA); Sally Cristina Moutinho Monteiro (Professora Doutora do Curso de Farmácia/UFMA); Flávia Castello Branco Vidal (Professora Doutora do Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA)/UFMA).

\*Autor Principal

Endereço: Praça Gonçalves Dias, nº 21, Prédio de Medicina, 2º andar, Centro. São Luís - MA, Brasil. CEP: 65020-240. e-mail: [ppgsmin@yahoo.com.br](mailto:ppgsmin@yahoo.com.br). Telefax. (55)98-33019600

## RESUMO

A via de transmissão do papilomavírus humano (HPV) para a cavidade oral, ainda não está completamente compreendida. Várias pesquisas estão sendo realizadas e algumas hipóteses sugerem que a infecção genital pode atuar como um reservatório para a infecção por HPV oral, já outras pesquisas relatam que a infecção oral por HPV ocorre independentemente da infecção pelo HPV na região genital. Por meio da base de dados MEDLINE, foram pesquisados artigos que relataram uma relação entre o HPV oral e HPV genital. A análise destes trabalhos demonstrou que as pesquisas desenvolvidas até o momento não é permitido afirmar, com precisão, os possíveis mecanismos de transmissão do Papilomavírus Humano para cavidade oral.

**Descritores:** HPV. Papillomavirus humano. Cavidade oral.

## ABSTRACT

The oral route of human papillomavirus (HPV) transmission is not fully understood. Several investigations have been performed and some hypotheses are suggesting that genital infection can act as a reservoir for oral HPV infection, but other studies have reported that oral HPV infection occurs independently of HPV infection in the genital region. Through the MEDLINE database were searched articles that reported a relationship between oral HPV and genital HPV. The analysis of these studies demonstrated that the researches conducted to date do not allow us to state with precision the possible mechanisms of transmission of Human Papillomavirus to oral cavity.

**Keywords:** HPV. Human papillomavirus. Oral cavity.

## 1 INTRODUÇÃO

A infecção pelo HPV, sigla em inglês para Papiloma Vírus Humano, é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais prevalentes no mundo<sup>(1)</sup>.

Este vírus pode ser encontrado em vários sítios anatômicos, como trato anogenital, pele, laringe, conjuntiva, mucosa traqueobrônquica, esôfago e cavidade oral<sup>(2)</sup>.

O HPV está associado frequentemente com neoplasias benignas e malignas da cavidade oral, e dentre elas, o carcinoma espinocelular é 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, ou seja, se é agente etiológico principal, coadjuvante ou simples habitante do epitélio oral<sup>(3)</sup>.

A via de transmissão do HPV para a cavidade oral ainda não está compreendida completamente, e por isso, diversas pesquisas, estão sendo realizadas objetivando esclarecer se a infecção genital por este vírus pode ser um fator predisponente<sup>(4, 5)</sup>. Embora os fatores de risco tradicionais para o desenvolvimento de câncer orofaríngeo continuam sendo o uso de tabaco e consumo excessivo de álcool, o HPV pode desempenhar um papel significativo no desenvolvimeto e progressão desta patologia<sup>(6, 7)</sup>.

Shimas<sup>(8)</sup>, sugeriram que achados comuns dos mesmos tipos de HPV (6,11,16 e 18) em mucosa genital e oral são uma forte indicação para a transmissão orogenital, podendo ser adquirido por transmissão sexual<sup>(9)</sup>. Hipóteses sugerem que

a transmissão viral para a cavidade oral também pode ocorrer durante o parto vaginal, ou através da auto-inoculação e da prática de sexo oral<sup>(10)</sup>.

## **2 MATERIAL E MÉTODO**

### **2.1 Identificação e seleção de estudos**

Por meio da base de dados MEDLINE, foram pesquisados artigos da literatura médica, que relataram uma relação entre o HPV oral e HPV genital. No MEDLINE, as palavras-chave *oral human papillomavirus*, *cervical human papillomavirus*, foram usadas isoladamente e em combinação na pesquisa. A partir da análise de uma lista de referências de 329 publicações relevantes e artigos de revisão, foram selecionados 33 trabalhos publicados entre 2000 e 2012. Foram incluídos também 03 artigos sobre HPV publicados em anos anteriores ao período estabelecido na pesquisa. Dois livros didáticos foram utilizados e o site do Instituto Nacional do Câncer (INCA) também foi acessado<sup>(11)</sup>. Os estudos abordaram aspectos epidemiológicos, análises imunológicas, microscópicas e moleculares para detectar o HPV em tecido ou células derivadas da mucosa oral e na região cervical.

### **2.2 Características biológicas do HPV**

O papiloma vírus humano (HPV), é membro da família *Papillomaviridae*, gênero *Papilomavírus*<sup>(12)</sup>. Apresenta DNA de fita dupla circular, com

aproximadamente 8000 pares de base, com diâmetro de aproximadamente 55 nanômetro (nm), não envelopado, envolvido por um capsídeo icosaédrico de 9 kilo Dalton (kD)<sup>(13)</sup>.

O HPV tem caráter epiteliotrópico, ou seja, infecta células mucosas e cutâneas do tecido epitelial pavimentoso estratificado e produz vírions na medida que estas células se diferenciam. E por esta razão, o ciclo de vida do HPV é denominado ciclo viral dependente da diferenciação<sup>(14)</sup>.

O genoma do HPV pode ser dividido em uma região controladora longa, denominada LCR (*Long Control Region*), que totaliza cerca de 10% deste, e uma outra região onde se localizam os genes de transcrição precoce (E) e tardia (L). A organização genética das regiões que codificam proteínas virais é definida pelo alinhamento das sequências de DNA do HPV, que estão localizadas em uma só fita deste DNA. Os genes E são normalmente expressos logo após a infecção e codificam as proteínas envolvidas na indução e regulação da síntese do DNA. Já os genes L, são expressos em estágios posteriores da infecção e codificam as proteínas do capsídeo viral. Os genes E são subdivididos em E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E7, e os genes L, são subdivididos em L1 e L2. Sendo que, os genes E5, E6 e E7 são os mais importantes na transformação celular<sup>(13)</sup>.

Existem mais de 200 tipos diferentes de HPV<sup>(11)</sup>, e cerca de 40 tipos infectam a região anogenital e mucosa oral<sup>(15, 16)</sup>. Eles são classificados em tipo de baixo e alto risco, dependendo de seu potencial de causar lesões malignas como carcinomas do colo do útero<sup>(17)</sup>.

### 2.3 Mecanismo de infecção e replicação viral

O vírus HPV pode infectar células da camada basal do epitélio desde que exista solução de continuidade da superfície, ou seja, a infecção do papilomavírus ocorre através de micro-traumas no epitélio, fazendo com que as células basais sejam expostas e fiquem susceptíveis à entrada do vírus<sup>(18)</sup>.

A replicação do HPV ocorre no núcleo de células epiteliais da camada basal e parabasal, locais onde apenas genes precoces são transcritos<sup>(19)</sup>. A multiplicação extensiva do DNA viral e a transcrição de todos os genes virais, assim como a formação do capsídeo, ocorrem somente nas camadas mais superficiais do epitélio, formando inclusões eosinófilas e uma degeneração celular específica<sup>(20)</sup>.

O ciclo de vida produtivo do HPV está intimamente ligado a diferenciação celular epitelial. As lesões originadas por este vírus possuem características histológicas que refletem as propriedades biológicas do papilomavírus, sendo que as mudanças morfológicas são provocadas por produtos gênicos virais específicos<sup>(18)</sup>

Assim, à medida que a célula se diferencia, há maior produção de antígenos e replicação viral nas células superficiais, de modo que a quantidade de DNA aumenta em direção à superfície do epitélio. Porém, a maioria das infecções é eliminada pelo sistema imune competente, não evoluindo assim, para manifestação clínica<sup>(21)</sup>.

## 2.4 Teste de biologia molecular para identificação do HPV

Várias técnicas de biologia molecular têm sido utilizadas para a detecção do HPV, tais como: captura híbrida, hibridizações *Southern blot*, *Northern blot*, *dot blot* e *in situ*<sup>(22)</sup>, e a reação em cadeia da polimerase (PCR)<sup>(23)</sup>. Essas técnicas apresentam sensibilidade e especificidade distintas<sup>(24)</sup>

Quando não há manifestações clínicas, apenas os testes moleculares são capazes de identificar o DNA do HPV, e assim confirmar a existência da infecção<sup>(25)</sup>.

A técnica mais utilizada para o diagnóstico molecular é a reação em cadeia da polimerase (PCR). O sequenciamento do produto desta reação é um método que permite a tipagem viral que identifica precisamente quase todos os tipos de HPV<sup>(26)</sup>.

A técnica de PCR baseia-se no processo de replicação de DNA que ocorre *in vivo*, caracteriza-se pela amplificação de quantidades diminutas de sequência de DNA-alvo em milhões de vezes. É um processo térmico cíclico que inclui três etapas: desnaturaçãõ onde a fita dupla de DNA é separada em fitas simples; anelamento, onde os iniciadores anelam especificamente com as suas sequências complementares de DNA-alvo fita simples, e finalmente, a extensão do iniciador, onde uma DNA polimerase termoestável gera fitas cópias ("filhas") de DNA que se encontram entre a região dos dois iniciadores. A partir de então as duplas fitas recém-geradas servem como novos modelos para um ciclo de PCR subsequente<sup>(27)</sup>.

O processo envolvendo estes três passos, pode ser repetido várias vezes (25 a 30 ciclos) sendo possível aumentar, em cada ciclo, duas vezes a concentração de DNA pré-existente (Figura 1).

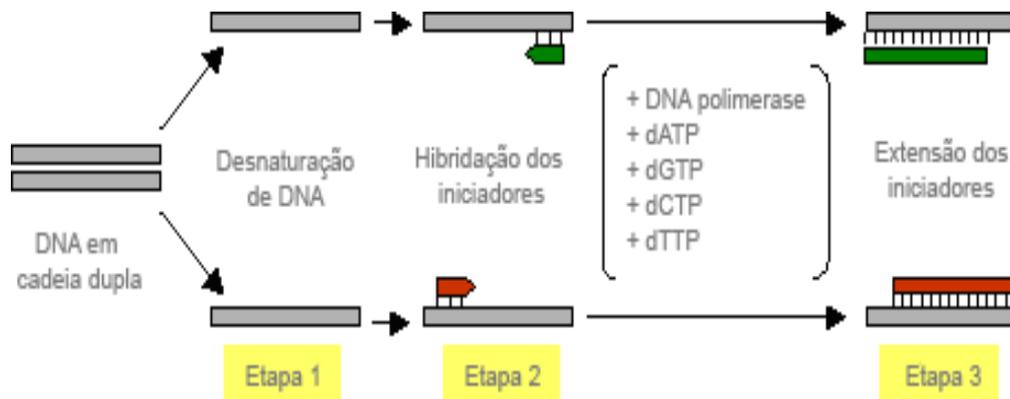


Figura 1<sup>(28)</sup>:

## 2.5 Mecanismo de transmissão para cavidade oral

A via de transmissão oral do papilomavírus humano não está completamente compreendida. No entanto, tem sido sugerido que a infecção genital pode actuar como um reservatório para a infecção por HPV oral<sup>(5)</sup>.

Desde 1983, vários estudos na literatura relatam a prevalência do HPV em tecidos orais, com resultados que variam de 0 a 100% em tumores e lesões potencialmente malignas, e esta discrepância deve-se as diferentes populações e métodos de detecção utilizados nestes trabalhos<sup>(29)</sup>. Assim, as pesquisas sobre a participação do HPV na iniciação e no desenvolvimento das neoplasias orais têm originado resultados conflitantes<sup>(30)</sup>.

Segundo Ragin<sup>(31)</sup> o Papilomavírus Humano é o principal fator de risco para o câncer cervical e está associado com cerca de 36% dos casos de câncer de orofaringe. Há evidências crescentes de que a transmissão oral por HPV está relacionada ao comportamento sexual. A grande questão na infecção oral por HPV está alicerçada no questionamento se ela pode ser associada a uma infecção genital por HPV, ou se pode ser considerado como um evento independente<sup>(32)</sup>.

Algumas teorias sugerem que a transmissão deste vírus para cavidade oral pode acontecer através da transmissão vertical, objetos contaminados, da auto-inoculação e do sexo oral com parceiros HPV positivo, sendo que este último tem sido considerado o principal modo de transmissão<sup>(33)</sup>.

Em relação à transmissão vertical<sup>(34)</sup>, investigaram a concordância dos genótipos do papiloma vírus humano entre a 329 mães e seus recém-nascidos, objetivando identificar os fatores de risco para a transmissão vertical do HPV. Esta pesquisa sugeriu que o HPV é prevalente em amostras orais de recém-nascidos, o que poderia indicar que uma mãe infectada transmite o HPV ao recém-nascido através da placenta ou sangue do cordão umbilical.

Um estudo caso-controle, realizado por<sup>(35)</sup>, concluiu que a transmissão do HPV 13, pode acontecer através da saliva e do uso compartilhado de objetos contaminados.

Peixoto<sup>(5)</sup>, realizou uma pesquisa que investigou a presença de DNA HPV e IgA anti-HPV na cavidade oral de pacientes com diagnóstico histopatológico de infecção por este vírus. Os resultados mostraram que 99% dos pacientes não apresentavam manifestações clínicas do HPV oral. No entanto, o DNA viral foi detectado em 81% das amostras da mucosa oral, e a IgA anti-HPV foi detectada na

saliva de 44% dos pacientes, desta maneira, concluíram que os pacientes com infecção genital por HPV tem maior risco de ter infecção subclínica pelo HPV na cavidade oral.

Em concordância com esta linha de pensamento, alguns pesquisadores sugerem que os achados dos mesmos tipos de HPV (6, 11, 16 e 18) na região genital e oral apontam para a transmissão orogenital e sendo assim, a maioria das infecções por este vírus é o resultado da auto-inoculação de um sítio genital ou oral próprio para o outro<sup>(36)</sup>.

Porém, outros estudiosos relatam que a infecção oral por HPV ocorre independentemente da infecção pelo HPV na região genital, ou seja, o sexo oral parece não ser o modo de transmissão do HPV oral<sup>(37, 38)</sup>.

### **3 CONCLUSÃO**

Através das inovações tecnológicas e o desenvolvimento de novas técnicas moleculares, a detecção de HPV apresenta-se cada vez mais precisa, tornando possível correlacionar este vírus ao desenvolvimento de algumas lesões na cavidade oral. Estudos realizados nos últimos anos permitem considerar o HPV como o agente causal principal do câncer de colo de útero. No entanto, muitos aspectos pertinentes à associação entre a infecção oral e genital ainda permanecem obscuros. Desta forma, são necessárias pesquisas que identifiquem a prevalência, os sub-tipos mais comuns, e que esclareçam os possíveis mecanismos de transmissão do Papilomavírus Humano para a cavidade oral.

## REFERÊNCIAS

- (1) Dunne EF, Unger ER, Sternberg M et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. JAMA. 2007 Feb. 28; 297(8):813-9.
- (2) Saini R, Tan PK, Rahman SA, Mazian I, Thean HT. High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. Virology J. 2010; 7:131.
- (3) Esquenazid, Bussoloti IF, Carvalho MGC, Barros, FS. A frequência do HPV na mucosa oral normal de indivíduos sadios por meio da PCR. Braz. J. Otorhinol, São Paulo. 2010 Feb.; 76(1).
- (4) Van Doornum GJ, Hooykaas C, Juffermans LH et al. Prevalence of human papillomavirus infections among heterosexual men and women with multiple sexual partners. J Med Virol. 1992 May; 37(1):13-21.
- (5) Peixoto AP, Campos GS, Queiroz LB, Sardi SI. Asymptomatic oral human papillomavirus (HPV) infection in women with a histopathologic diagnosis of genital HPV. J Oral Sci. 2011 Dec.; 53(4):451-9
- (6) Gillison MI, Koch Wm CRB, Spafford M et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. J Natl Cancer Inst. 2000; 92(9):709-20.

- (7) Goon PK, Stanley MA, Ebmeyer J et al. HPV e head and neck cancer: a descriptive update. *Head Neck Oncol.* 2009; 1:36.
- (8) Shima K, Kobayashi I, Saito I et al. Incidence of human papillomavirus 16 and 18 infection and p53 mutation in patients with oral squamous cell carcinoma in Japan. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2000; 38(5):445-50.
- (9) Terai M, Takagi M. Human papillomavirus in the oral cavity. *Oral Med Pathol.* 2001; 6:1-12.
- (10) Hausen Z. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta.* 1996 Oct 9; 1288 (2):55-78.
- (11) INCA. Instituto Nacional de Câncer [Internet]. HPV: perguntas e respostas mais freqüentes [acesso em 12 maio 2012]. Disponível em: [http://www1.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=327](http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=327).
- (12) Rosenblatt C, Wroclawski ER, Lucon A, Pereyra EAG. HPV na prática clínica. São Paulo: Atheneu; 2005.
- (13) Hennessey PT, Westra WH, Califano JA. Human papillomavirus and head and neck squamous cell carcinoma: recent evidence and clinical implications. *J Dent Res.* 2009 Apr.; 88(4):300-6.
- (14) Wattleworth R. Human papillomavirus infection and the links to penile and cervical cancer. *J Am Osteopath Assoc.* 2011 Mar.; 111(3 suppl 2):3-10.

- (15) Weinstock H, Berman S, Cates WJR. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspectives on Sexual and Reproductive Health*. 2004 Jan./Fev.; 36(1).
- (16) Psyrris A; Dimaio D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. *Nat Clin. Pract. Oncol*.5:24-31. 2007.
- (17) Passos MRL, Giraldo PC. *Deesetologia no bolso: o que deve saber um profissional que atende DST*. São Paulo: Rqv e Revinter; 2011.
- (18) Rapaport D. Biologia do HPV. In: Rosenblatt C, Wroclawski ER, Lucon A, Pereyra EAG. *HPV na prática clínica*. São Paulo: Atheneu; 2005. p. 7-23.
- (19) Santos Oliveira LH, Fernandez AP, Xavier BI, Machado Rodrigues EV, Cavalcanti SM. Analysis of the p53 gene and papillomavirus detection in smears from cervical lesions. *São Paulo Med J*. 2002 Jan. 3; 120(1):20-2.
- (20) Bustos DA, Grenón MS, Benitez M, De Boccardo G, Pavan JV, Gendelman H. Human papillomavirus infection in cyclosporin: induced gingival overgrowth in renal allograft recipients. *J Periodontol*. 2001 Jun; 72(6):741-4.
- (21) Hormia M, Willberg J, Ruukonen H, Syrjänen S. Marginal periodontium as a potential reservoir of human papillomavirus in oral mucosa. *J Periodontol*. 2005 Mar.; 76(3):358-63.

- (22) Uobe K, Masuno K, Fang YR et al. Detection of HPV in Japanese and Chinese oral carcinomas by in situ PCR. *Oral Oncol.* 2001; 37(2):146-52.
- (23) Rivero ERC, Nunes FD. HPV in oral squamous cell carcinomas of a Brazilian population: amplification by PCR. *Braz Oral Res.* 2006; 20(1):21-4.
- (24) Zhang ZY, Sdek P, Cao J, Chen WT. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 33(1):71-4.
- (25) Souza NST, Melo VH, Castro LPF. Diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões do colo do útero em mulheres HIV positivo: acuidade da histopatologia. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2001; 23(6):355-61.
- (26) Fontaine V, Mascaux C, Weyn C et al. Evaluation of combined general primers-mediated PCR sequencing and type-specific PCR strategies for determination of human papillomavirus genotypes in cervical cells specimens. *J Clin Microbiol* 2007; 45(3):928-34.
- (27) Ribeiro KMX. Estudo da ocorrência do papilomavírus humano em tonsilas palatinas na população pediátrica [dissertação da internet]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina; 2002 [acesso em 14 abr. 2012]. Disponível em: <http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=339>.
- (28) E-Escola [homepage na Internet]. 2012 [acesso em 14 abr. 2012]. Disponível em: <http://www.e-escola.pt/topico.asp?id=339>.

- (29) Bouda M, Gorgoulis VG, Kastrinakis NG et al. "High risk" HPV types are frequently detected in potentially malignant and malignant oral lesions, but not in normal oral mucosa. *Mod Pathol.* 2000; 13(6):644-53.
- (30) Soares CP, Malavazi I, Reis RI et al. Presença do papilomavírus humano em lesões malignas de mucosa oral. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002; 35(5):439-44.
- (31) Ragin C, Edwards R, Larkins-Pettigrew M et al. Infection and sexuality: a cross-sectional study in women. *Int J Mol Sci.* Epub. 2011 Jun 10; 12(6):3928-40.
- (32) Termine N, Giovannelli L, Matranga D et al. Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: new data from an Italian cohort and a metanalysis of the literature. *Oral Oncol.* 2011 Apr.; 47(4):244-50.
- (33) Campisi G, Giovannelli L. Controversies surrounding human papilloma virus infection, head e neck vs oral cancer, implications for prophylaxis and treatment. *Head Neck Oncol.* 2009 Mar. 30; 1:8
- (34) Koskima HM, Waterboer T, Pawlita M, Grénman S, Syrjanen K. Source Department of Oral Pathology, University of Turku, Turku, Finland [Internet]. 2012 [acesso em 10 maio 2012]. Disponível em: [hanna.kosfimaa@utu.fi](mailto:hanna.kosfimaa@utu.fi).
- (35) Lopez-Villanueva ME, Conde-Ferrález L, Ayora-Talavera G, Cerón-Espinosa JD, González-LosaMdel R. *Eur J Dermatol.* 2011 May./Jun.; 21(3): 396-400.

- (36) Castro TMPG, R. Neto CE, Scala KA, Scala WA. Manifestações orais associadas ao papilomavírus humano (HPV) conceitos atuais. Rev Bras Otorrinolaringol. Jul./Ago. 2004; 70(4):546-50.
- (37) Syrjänen K, Shabalova I, Petrovichev N et al. Oral contraceptives are not an independent risk factor for cervical intraepithelial neoplasia or high-risk human papillomavirus infections. Anticancer Res. 2006 Nov./Dec. 26. 6:4729-40.
- (38) Matsushita K, Sasagawa T, Miyashita M et al. Oral and cervical human papillomavirus infection among female sex workers in Japan: Department of Viral Infection and International Health, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa 920-8640, Japan. Jpn. J Infect Dis. 2011; 64(1):34-9.