

A INFECÇÃO PELO PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) E OS CARCINOMAS ESCAMOSOS DA OROFARINGE

Por: Dra. Camila Matsunaga de Angelis

Introdução

O importante papel patogênico da infecção pelo papilomavirus humano (HPV) em neoplasias diversas é amplamente reconhecido, dentre elas os cânceres de colo de útero, canal anal, vaginal, peniano e vulvar¹. Nas duas últimas décadas, a relação do HPV com os carcinomas escamosos da região da cabeça e pescoço tem sido cada vez mais estudada e documentada, sendo o carcinoma escamoso seu tipo mais prevalente². Carcinomas da região da cabeça e pescoço ocupam o sexto lugar dentre os cânceres mais comuns em todo o mundo. No Brasil estes ocupam o sétimo lugar.

A incidência do carcinoma escamoso da região da cabeça e pescoço se mantém estável desde a década de 80, com tendência à queda gradual, devido à redução de hábitos conhecidos como fatores de risco, dentre eles o tabagismo e o consumo de álcool⁸. Apesar disso, a ocorrência de carcinomas escamosos na orofaringe, especialmente de base de língua e amígdalas, demonstrou um crescimento, especialmente em homens jovens (na faixa etária de 30 a 40 anos) e sem exposição a fatores de risco típicos⁸.

Uma publicação de 2011³ revelou esse aumento significativo na incidência de carcinomas de orofaringe em homens jovens, chamando a atenção para uma nova epidemia nos Estados Unidos. A mesma publicação estimou que nesse país, entre 2020 e 2025, a prevalência do carcinoma de orofaringe em homens ultrapassaria a do câncer de colo uterino em mulheres^{3,8}.

Estas diferenças epidemiológicas chamaram a atenção, sugerindo a presença de um novo fator na oncogênese desse tipo de câncer. Pesquisas epidemiológicas e moleculares apontaram o HPV como sendo este fator⁸. O HPV apresenta uma grande variedade de sorotipos, sendo que os chamados **HPV de alto risco** são os mais relacionados ao surgimento de tumores malignos, principalmente os **HPVs tipos 16 e 18**. Em alguns países, mais da metade dos carcinomas escamosos da orofaringe tiveram resultado positivo para a pesquisa de HPV^{4,8}, enquanto essa relação pode chegar a 80% nos Estados Unidos e 93% na Suécia^{5,8}.

Diferenças biológicas

O carcinoma escamoso da orofaringe relacionado ao HPV tem sido considerado uma entidade clínica distinta, por ter melhor prognóstico quando comparado aos carcinomas escamosos de orofaringe HPV-negativos^{4,8}. Taxas de sobrevivência livre de doença em cinco anos exibem diferenças significativas, sendo 75-80% nos tumores HPV-positivos e 45-50% em tumores HPV-negativos⁸.

Os **carcinomas escamosos HPV-negativos da orofaringe** são conhecidos por ocorrerem tipicamente em pacientes na faixa etária entre 60 e 70 anos, estarem relacionados a higiene oral pobre⁶ e ao uso pesado de álcool e tabaco (comumente fumantes com mais de 20 anos-maço). Dessa forma, há o chamado “efeito de campo”, sendo comum a presença de focos de displasia (alterações pré-cancerosas) em outras áreas da mucosa. Tipicamente apresentam-se como úlceras firmes, dolorosas, podendo sangrar e são facilmente detectadas ao exame físico⁵.

Por outro lado, o carcinoma escamoso da orofaringe HPV-positivo ocorre quase que exclusivamente nas amígdalas e na base da língua. Isso porque o vírus tem como alvo o epitélio reticulado, presente nessas topografias. Esta neoplasia comumente se inicia na profundidade das criptas amigdalíneas, nem sempre sendo facilmente detectável ao exame físico. Além disso, não se relaciona a áreas de displasia adjacentes, tem padrão de crescimento lobular com bordas tipicamente bem demarcadas e permeadas por linfócitos, além de serem carcinomas pouco diferenciados com morfologia basaloide^{5,8}.

Seu processo de carcinogênese ainda não é bem conhecido, mas sabe-se que estas neoplasias exibem menos aberrações cromossômicas e aproximadamente metade do número de mutações presentes nos carcinomas escamosos HPV-negativos⁶. Assim como as outras neoplasias relacionadas ao HPV, está associado aos tipos de HPV de alto risco, especialmente aos tipos 16 e 18¹.

Recentemente, o *College of American Pathologists (CAP)* e o *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* publicaram recomendações para que seja feita a pesquisa de HPV de forma rotineira em espécimes de carcinomas escamosos da orofaringe.

Já em relação ao **carcinoma escamoso da laringe**, a relação com o vírus parece não ser significativa e, apesar de diversos estudos em andamento, atualmente a pesquisa de HPV nestes tumores não é recomendada⁴.

Técnicas de detecção

Uma boa revisão sobre as técnicas para detecção do HPV foi feita por Abreu e colaboradores⁹ e um resumo é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Sumário das técnicas para detecção de HPV (modificado de Abreu et al, 2012)

Métodos	Técnicas	Vantagens	Limitações
Imunoistoquímica	Detecção de antígenos do HPV ¹	Pode ser utilizado em tecidos fixados e incluídos em parafina; Detecta ampla gama de HPV, independente do subtipo	Sensibilidade muito baixa; Não avalia os tipos em alto e baixo riscos
	Detecção da proteína p16	Pode ser utilizado em tecidos fixados e incluídos em parafina; Sua expressão se correlaciona com a presença de HPV de alto risco	Não representa a detecção do vírus propriamente dito
Hibridização de ácidos nucleicos	Southern blot	Padrão ouro para a análise genômica do HPV	Baixa sensibilidade; Consome muito tempo; Necessita de grandes quantidades de DNA purificado; Não pode ser feito se DNA estiver degradado
	Hibridização in situ*	Pode-se detectar o vírus, preservando-se a morfologia; Pode-se subtipar os vírus	Sensibilidade muito baixa
Amplificação do sinal	Captura de híbridos	Quantitativo; Aprovado pelo FDA ² ; Alta sensibilidade; Baixa taxa de falsos positivos	Método patenteado; Separa apenas os tipos alto e baixo riscos e não os subtipos individuais
Amplificação de ácidos nucleicos	Vários, baseados em PCR ³	Altamente sensíveis; Pequenas quantidades de DNA são necessárias; Tecnologias flexíveis (genotipagem e carga viral); Quantitativo; Resultados rápidos; Testes multiplex	Contaminações podem levar a falsos positivos; Alguns genotipos de HPV têm baixa amplificação

Abreviaturas:

1: HPV: papilomavirus humano

2: FDA: Food and Drug Administration (órgão oficial que controla liberação de testes e medicamentos nos Estados Unidos da América)

3: PCR: reação em cadeia da polimerase

Os principais métodos utilizados para pesquisa de HPV em tecidos incluem a reação em cadeia da polimerase (PCR), a captura de híbridos, o método imunistoquímico para pesquisa da proteína P16 e a hibridização *in situ* (ISH)^{5,8}. Tanto a imunistoquímica para a pesquisa da proteína P16, quanto a hibridização *in situ* apresentam a vantagem de poder ser realizados em cortes de tecido parafinado, já processados pelo Patologista.

Pesquisa imunistoquímica da proteína P16

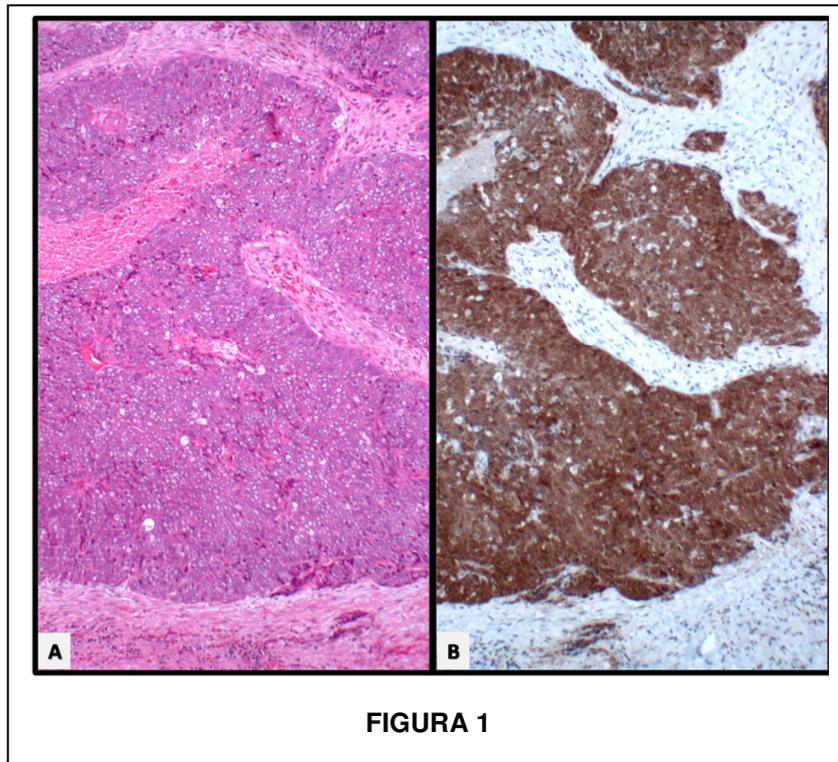
O estudo imunistoquímico que avalia a expressão da proteína P16 está baseado na interação dessa proteína do ciclo celular com as proteínas E6 e E7 do HPV.

A P16 é uma proteína existente em todas as células humanas, com função supressora tumoral, isto é, inibe a proliferação celular, inibindo a ação da via do gene do Retinoblastoma (Rb). Vários tipos de câncer apresentam disfunção da P16 por vários mecanismos moleculares, o que leva as células transformadas a proliferar de modo exacerbado.

No caso dos cânceres relacionados ao HPV, as proteínas virais E6 e E7 são produzidas a partir da transcrição do DNA viral e responsáveis pela transformação neoplásica de células infectadas pelo HPV⁸. As proteínas virais induzem a produção aumentada de P16, ao mesmo tempo em que inibem a ação do gene do Rb. Isto permite que, nesses tumores, a hiperexpressão de P16 seja um indicador da presença do HPV de alto risco.

Este método é muito sensível para a pesquisa do vírus, porém não muito específico⁵. Isso se deve à existência de outras vias de regulação para a expressão da P16, independentes da presença do HPV⁸. Apesar disto, alguns estudos analisaram a relação da expressão de proteína P16 diretamente com o prognóstico de pacientes com carcinomas escamosos da orofaringe. Uma revisão sistemática com meta-análise publicada em 2016⁷ mostrou que há evidências de que pacientes com carcinomas de orofaringe com expressão de P16 têm melhor prognóstico do que aqueles que não expressam esta proteína. ***Desta forma, a pesquisa da expressão da proteína P16 em carcinomas escamosos da orofaringe se justifica, independentemente do status do HPV⁸.***

Na Figura 1 podemos observar um caso de carcinoma escamoso de orofaringe (A) e positividade nuclear e citoplasmática para a proteína P16 (B).



Pesquisa da infecção pelo HPV

Uma das formas de pesquisar diretamente o HPV nos tecidos é a ***hibridização in situ***, em que são identificadas sequências específicas de nucleotídeos dos vários subtipos do vírus¹⁰. No entanto, esta técnica, embora com a vantagem de poder ser utilizada em tecidos parafinados disponíveis ao Patologista, tem sensibilidade muito baixa.

Já os ***métodos de captura de híbridos***, mais sensíveis, têm a vantagem adicional de serem quantitativos. Porém, necessitam de material colhido a fresco e não permitem a correlação morfológica da localização do vírus.

Os ***métodos de amplificação***, usando a técnica da PCR, determinam a presença de produtos de ácidos nucleicos do vírus, sendo os métodos mais sensíveis e específicos para analisar se uma célula foi infectada pelo HPV^{5,8}. Ademais, esses métodos são relativamente baratos e rápidos. Da mesma forma que a captura de híbridos, os métodos de amplificação não permitem a correlação morfológica da localização do vírus. Por serem altamente sensíveis, podem resultar em falsos-positivos.

Visando melhorar a acurácia diagnóstica e otimizar custos, foi proposta a aplicação de um algoritmo para o diagnóstico da presença do HPV em carcinomas escamosos da orofaringe (Figura 2).

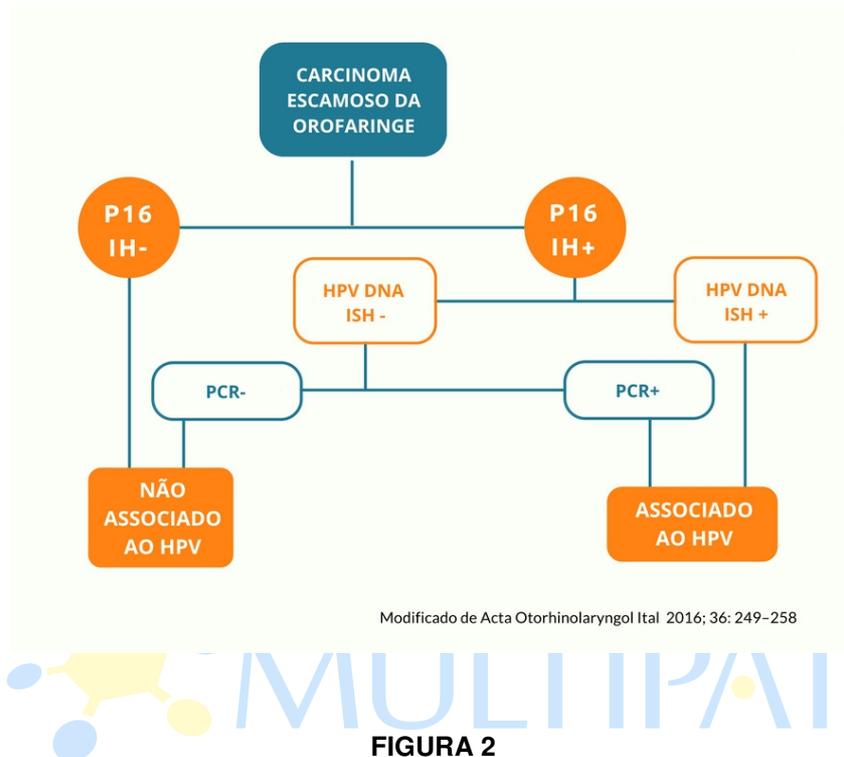


FIGURA 2

Conclusão

O carcinoma escamoso da orofaringe relacionado ao HPV é uma entidade clínica distinta, com prognóstico melhor, quando comparado a carcinomas escamosos do mesmo sítio anatômico não relacionados ao vírus. Suas diferenças biológicas justificam condutas menos agressivas, sendo essencial a pesquisa do *status* do HPV e/ou da proteína P16 nestas neoplasias.

Referências

1. de Martel, C., Ferlay, J., Franceschi, S., Vignat, J., Bray, F., Forman, D., & Plummer, M. (2012). Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*, 13(6), 607–615. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70137-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70137-7)
2. Chaturvedi, A. K. (2014). Global burden of human papillomavirus-positive head and neck cancers. *The Lancet Oncology*, 15(12), 1282–1283. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71029-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71029-0)
3. Chaturvedi, A. K., Engels, E. A., Pfeiffer, R. M., Hernandez, B. Y., Xiao, W., Kim, E., ... Gillison, M. L. (2011). Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *Journal of Clinical Oncology*, 29(32), 4294–4301. <http://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.4596>
4. Wittekindt, C., Wuerdemann, N., Gattenlöhner, S., Brobeil, A., Wierzbicka, M., Wagner, S., & Klußmann, J. P. (2017). The role of high-risk human papillomavirus infections in laryngeal squamous cell carcinoma. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 274(11), 3837–3842. <https://doi.org/10.1007/s00405-017-4718-1>
5. Genden, E.M. (2018). HPV-Associated Oral and Throat Cancer: What you need to know. Coursera, 2018. Icahn School of Medicine at Mount Sinai.
6. Boscolo-Rizzo, P., Pawlita, M., & Holzinger, D. (2015). From HPV-positive towards HPV-driven oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Cancer Treatment Reviews*, 42, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2015.10.009>
7. Sedghizadeh, P. P., Billington, W. D., Paxton, D., Ebeed, R., Mahabady, S., Clark, G. T., & Enciso, R. (2016). Is p16-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma associated with favorable prognosis? A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncology*, 54, 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2016.01.002>
8. Morbini, P., & Benazzo, M. (2016). Human papillomavirus and head and neck carcinomas: focus on evidence in the babel of published data. *Acta Otorhinolaryngologica Italica: Organo Ufficiale Della Societa Italiana Di Otorinolaringologia E Chirurgia Cervico-Facciale*, 36(4), 249–258. <https://doi.org/10.14639/0392-100X-853>
9. Abreu ALP, Souza RP, Gimenes F, Consolaro MEL. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Virology Journal*. 2012, 9: 262.
10. McNicol, A. M., & Farquharson, M. A. (1997). In Situ hybridization and its diagnostic applications in pathology. *The Journal of Pathology*, 182(3), 250–261. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199707\)182:3<250::AID-PATH837>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199707)182:3<250::AID-PATH837>3.0.CO;2-S)