

Marcadores clínicos e moleculares na evolução clínica e na resposta ao tratamento de carcinoma de células escamosas orais associadas ao HPV em pacientes jovens.

Clinical and molecular markers in clinical course and response to treatment in oral squamous cell carcinoma associated with HPV in young patients.

Ananda Arizio Stella¹

Mateus Silveira Martins Hartmann²

RESUMO

Entre os principais fatores de risco do carcinoma de células escamosas orais (CCEO) estão o tabaco e o álcool, porém recentemente a incidência de pacientes jovens com esta doença, e sem a presença destes fatores de risco tem incentivado as pesquisas para outros fatores de risco que possam estar envolvidos na carcinogênese, entre estes, destaca-se o papiloma vírus humano (HPV). Isto motivou esta revisão de literatura que discute se há diferença na evolução clínica e na resposta ao tratamento após a identificação de marcadores clínicos e moleculares em carcinoma de células escamosas orais associadas ao HPV em pacientes jovens. Esta permitiu esclarecer que a maior compreensão da carcinogênese e do comportamento clínico do câncer associado ao HPV vão melhorar a prevenção da doença, assistência ao paciente, vigilância e estratégias para os tumores de cabeça e pescoço. Mas, ainda têm-se poucas evidências do real papel do HPV em lesões pré-malignas e no câncer oral, pois há significativa divergência nos resultados apresentados. A ampliação dos estudos e a elucidação dos mecanismos ainda desconhecidos sobre a infecção do vírus podem ser de significativa utilidade no diagnóstico e no tratamento para a estomatologia. A análise do infiltrado inflamatório em biópsia pode contribuir para a avaliação do prognóstico dos doentes com CCEO, porém poucos estudos conclusivos com a associação do HPV nesta região anatômica. O uso de marcadores tumorais é um exame complementar, devendo-se sempre, quando

¹ Aluna do curso de pós-graduação em odontologia hospitalar do Hospital Israelita Albert Einstein e Especialista em Endodontia pelo CEOM/IMED <anandastella88@yahoo.com.br>.

² Professor da escola de Odontologia da IMED e Coordenador e Professor do Curso de Especialização de Endodontia do CEOM/IMED.

necessário a sua utilização, ser acompanhado de outros métodos para diagnóstico ou modificação terapêutica.

Palavras-chave: carcinoma oral, papilomavirus humano, marcadores tumorais

ABSTRACT

Among the main risk factors of carcinoma of oral squamous cell carcinoma (OSCC) are tobacco and alcohol, recently put the incidence of young patients with this disease, and without the presence of these risk factors has encouraged research to other risk factors that may be involved in carcinogenesis, among these, the human papilloma virus stands out (HPV). This motivated this literature review that discusses whether there are differences in the clinical course and response to treatment after identifying clinical and molecular markers in oral squamous cell carcinoma associated with HPV in young patients. This was made clear that greater understanding of carcinogenesis and the clinical cancer associated with HPV behavior will improve disease prevention, patient care, vigilance and strategies for tumors of the head and neck. But still it has been little evidence of the real role of HPV in premalignant lesions and in oral cancer, as there is significant divergence in our results. The extension of the research and the elucidation of the mechanisms still unknown on the virus infection can be of significant utility in the diagnosis and treatment of stomatology. The analysis of the inflammatory infiltrate in biopsy can help in assessing the prognosis of patients with OSCC, however few conclusive studies on the association of HPV in this anatomical region. The use of tumor markers is a complementary test, and one should always, when necessary use, be accompanied by other methods for diagnostic or therapeutic modification.

Keywords: oral carcinoma, human papillomavirus, tumor markers

1 INTRODUÇÃO

O Carcinoma de células escamosas orais (CCEO) é uma neoplasia maligna que se origina no epitélio de revestimento¹ e representa mais de 90% de todos os tumores malignos que afetam a cavidade bucal². No Brasil, correspondem a 8% das neoplasias malignas em homens e 2% em mulheres em diversos sítios anatômicos, tais como: mucosa bucal, gengivas, palato duro, língua, soalho de língua, faringe e glândulas^{3,4,5}. Importante dado proveniente de estudos epidemiológicos da doença mostra um aumento do desenvolvimento de CCEO em pacientes menores de 45 anos de idade, e sem a presença de carcinogênicos como o tabaco e o

álcool que eram comumente relatados neste tipo de doença³. Deste modo, outros fatores vem sendo investigados como fatores de risco, entre eles: a deficiências imunológica e nutricional, fatores genéticos e participação de agentes microbianos⁵. Neste sentido, o papiloma vírus humano (HPV), destaca-se como potencial agente carcinogênico em câncer de cabeça e pescoço, especialmente nas regiões de nasofaringe e orofaringe, porém de maneira ainda controversa em cavidade bucal⁶.

Existem mais de 170 tipos de HPV identificados ate o momento e são classificados de acordo com seu potencial oncogênico⁷ sendo o tipo 16 e 18 os possivelmente envolvidos com a etiologia de determinados carcinomas de cabeça e pescoço⁸. O vírus atua através da transformação de duas oncoproteínas, E6 e E7, que agem inibindo a proteína p53 e componentes da via supressora de tumor retinoplastoma (pRb), proteínas importantes de genes sucessores de tumor e na regulação do ciclo celular⁹.

Os tumores HPV positivo e HPV negativo representam diferentes entidades clinico-patológicas e moleculares, quando comparados aos casos HPV positivos tem forte expressão de p16, um componente da via supressora de tumor retinoblastoma, mas ausente em HPV negativos. Quando o caso é HPV positivo, mas negativo para expressão de p16, sugere-se que o HPV não está diretamente envolvido na carcinogênese¹⁰.

O avanço das pesquisas científicas e métodos mais sensíveis de detecção são fundamentais na busca de evidências da participação desse vírus na carcinogênese bucal¹¹. Nos últimos anos, têm sido investigados marcadores moleculares que auxiliem em diagnósticos precoces e prognósticos, assim como na identificação de populações de risco e de marcadores que possam ser utilizados como alvos terapêuticos³.

Nesta tentativa de melhorar o tratamento e também o prognóstico para pacientes com CCEO, alguns estudos têm relacionado o infiltrado linfocitário tumoral, principalmente CD4 e CD8 como um possível marcador de prognóstico a resposta clínica¹². Estes biomarcadores juntamente com dados sobre idade e estagio do tumor, tem sido associados à melhora da doença e sobrevida geral¹³.

De uma maneira geral os carcinomas de cabeça e pescoço são tumores mutilantes e com baixa taxa de sobrevida, portanto, o objetivo deste trabalho é discutir se existe diferença na evolução clínica e na resposta ao tratamento, após a identificação de marcadores clínicos e

moleculares em carcinoma de células escamosas orais associados ao HPV em pacientes jovens.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 CARACTERÍSTICAS DO HPV

O vírus do papiloma humano (HPV) pertence à família *Papillomaviridae*, são vírus pequenos e de DNA não envelopados², replicam seus genomas dentro das células do hospedeiro e com tropismo para ceratinócitos¹⁰. A infecção pode ocorrer durante a gravidez, no parto vaginal, por autoinoculação ou sexo oral⁵. O genoma viral codifica duas proteínas reguladoras (dos genes “early” E1 e E2), três oncoproteínas (E5, E6 e E7) e duas proteínas estruturais de capsídeo (dos genes “late” L1 e L2). Durante a infecção inicial, o DNA viral esta presente como um epissomo nuclear em um número pequeno de cópias na camada basal do epitélio estratificado⁹. Na forma epissomal, o DNA viral permanece circular no número de células do hospedeiro, e essa forma é identificada em lesões benignas. Para que ocorra a integração do DNA do HPV ao genoma humano, é necessário o rompimento da região E1-E2, com desregulação do controle transcricional dos genes virais¹⁰.

A presença de DNA viral em tumores, o elo etiológico entre HPV e o câncer de cabeça e pescoço, foi encontrado através da detecção do DNA de HPV em lavados orais e anticorpos HPV específicos em casos de câncer de cabeça e pescoço⁶. Porém, boa parte da infecção se torna latente ou são eliminadas pelo sistema imune, mas a integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro é um forte indicador de transição para uma fase neoplásica da doença¹⁴. Eventualmente, a transformação maligna ocorre com eventos de desorganização da arquitetura celular, atividade mitótica suprabasal, transformação maligna de células epiteliais, conseqüente ruptura de células basais e invasão celular em tecido conjuntivo, caracterizando carcinoma invasivo⁷.

A infecção dos ceratinócitos pelo HPV depende de três fatores: permissividade celular, tipo do HPV e estado imune do hospedeiro¹⁰. Estes diferentes comportamentos na infecção pelo HPV estão relacionados à transcrição de E1 e E2 causar repressão de E6 e E7, permitindo a função de supressão tumoral de proteínas p53 e pRB e a homeostase normal do tecido⁴. Assim sendo, as oncoproteínas virais são capazes de transformar ceratinócitos primários humanos dos tratos genital e respiratório superior, desequilibrando o mecanismo regulador do ciclo celular, levando a uma progressão genética para CCEO⁵.

O gene supressor tumoral (TP53) e sua proteína p53 desempenham um papel importante no controle do ciclo celular e prevenção de câncer. A função da proteína p53 é bloquear a divisão celular que sofre injúria no seu DNA, dando tempo para a reparação^{15,5}. Embora a participação da p53 na progressão do tumor ainda não esteja esclarecida, a sua detecção cumulativa, a identificação do número e natureza das mutações de TP53 pode ter importância no prognóstico e na patogênese do carcinoma associado ao HPV^{7,16}. Contudo, distúrbios nesta proteína estão presentes em 10 a 17% das associações a desordens com potencial de malignidade e 35 a 67% a carcinoma de células escamosas orais¹⁷.

Para Chakrobarty et. al. (2014), na relação entre hábitos de tabaco, infecção de papiloma vírus, p53 polimorfismo/ mutação e o risco de carcinoma de células escamosas orais, confirmam após as coletas de sangue, biópsia e exames específicos para detecção de DNA viral, que a infecção pelo HPV aumenta o risco de câncer oral, mas o p53 codon72 não está associado ao risco de câncer, e as mutações no gene p53 foram encontrados em 5 dos 83 cânceres e nenhum em 100 do grupo controle. Além disso, estudos bem projetados com referência à interação entre gene-gene e gene-ambiente na p53 polimorfismo no códon 72 a susceptibilidade carcinoma oral são necessários¹⁶.

Outro evento importante na carcinogênese de cabeça e pescoço e na displasia em carcinoma in situ é a perda de expressão do gene P16, onde há inibição da transcrição de G1/S do ciclo celular, esta alteração está presente em 52 a 82% das amostras de carcinoma de cabeça e pescoço como também tem sido associado à metástase à distância e diminuição da sobrevivência dos pacientes³. Ramshankar et. al. (2014), referente ao HPV e a imunexpressão de p16 na estratificação do risco inicial do câncer de base de língua, onde em sua pesquisa no sul da Índia entre 1997 e 2007, com amostras em blocos de parafina analisadas através de exames específicos para a detecção de HPV e imunexpressão de p16, foi permitido concluir que, diferentemente do câncer de orofaringe o câncer de base de língua não apresenta significativa expressão de p16, não podendo assim ser a única variável prognóstica para este tipo de tumor. Em outro estudo os marcadores p53, p16 e hTERT não estão associados ao o grau de displasia em desordens potencialmente malignas da mucosa oral e também ao o grau de diferenciação de CCEO¹⁷.

2.2 O HPV DE ALTO RISCO E O CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAIS.

Pelo menos 15 tipos de HPV de alto risco foram identificados como base de associação com câncer^{9,20}. O HPV 16 é responsável pela esmagadora maioria dos cânceres de cabeça e pescoço sendo cinco vezes mais provável de ser encontrado em homens do que em mulheres nos Estados Unidos, com prevalência maior em brancos do que negros²¹. A infecção pelo HPV pode ser eliminada do organismo, o que ocorre em cerca 66% dos casos em um ano, e 90% dos casos em dois anos, o subtipo 16 do HPV demora nos homens o dobro do tempo para ser eliminado, se comparado com outros subtipos virais, o que explicaria a maior prevalência encontrada neste gênero¹⁴. A saliva parece ter um papel protetor importante devido a presença de agentes antimicrobianos como lisozimas, lactoferrina, imunoglobulina A (IgA) e citocinas¹⁰.

Segundo Souza e Gonçalves (2009) o HPV pode agir sinergicamente diferente no processo de carcinogênese oral, o tabaco causando imunossupressão local, tornando o tecido mais suscetível à infecção pelo HPV ou carcinógenos químicos derivados do tabaco potencializando as ações de oncogenes do HPV. A infecção também varia conforme o gênero por estar associada a comportamentos sexuais, como o número de parceiros de sexo oral^{6,7,9,14}. A associação do vírus positivo ainda se encontra em pacientes com maior renda e com maior nível de escolaridade²¹.

Pacientes HPV positivos tem melhorado a resposta ao tratamento e a sobrevida global quando comparados com seus homólogos HPV negativos^{20,21}, por vários aspectos: serem pacientes jovens sem co-morbidades, teor molecular do tumor, ausência de fatores de risco clássicos ou pouca exposição ao tabaco e por geralmente serem tumores primários⁹. A progressão tumoral depende de fatores ambientais, como carcinógenos químicos e físicos, ou restritos ao hospedeiro, tais como hormônios, resposta imune e herança genética²². Chung e Gillison (2009) observaram que no carcinoma HPV positivo, independentemente da escolha do tratamento, se quimioterapia ou radioterapia, o resultado foi à melhora do paciente.

Para os pacientes com CCEO tem-se como primeira opção de tratamento a cirurgia, devendo a radioterapia ser indicada quando a lesão não é removida com margem de segurança ou quando o tumor apresenta fase avançada no momento do diagnóstico, mas mais de 40 a 45% dos pacientes com lesão fase III ou IV, consideráveis passíveis de remoção pela cirurgia, apresentam recidiva loco-regional ou à distância¹. Dessa forma, mesmo com abordagens de tratamento agressivas e multidisciplinares, o índice de sobrevivência de cinco anos permaneceu inalterada nos últimos 40 anos³. Para isto também tem sido explorado a resposta

imune a tumores sensibilizados, tratamentos com antígenos de HPV E6 e E7 utilizando a administração de vacina em conjunto com a radiação e quimioterapia²¹.

Há também algumas evidências de que a carga viral pode estar correlacionada com o prognóstico, sugerindo que a regulação imune na replicação viral se torna um fator de risco para mau resultado²¹. Sendo assim Huang et. al. (2014) investigaram se a carga viral E7 do HPV 16 ou 18 poderia prever metástase à distância entre pacientes com CCEO, no seu estudo com pacientes submetidos a cirurgia radical e sem terapia adjuvantes, eles puderam verificar que diferente do câncer de amígdala onde a carga viral do HPV 16 prevê melhores resultados, a alta carga viral não pode prever o mesmo para o CCEO, mas os autores ressaltam que a resposta do hospedeiro, os reguladores da resposta imune inata e a hipóxia, devem ser avaliados para compreender ainda mais o mecanismo do HPV 16 e 18 e metástase a distância em CCEO.

2.3 ASSOCIAÇÕES ENTRE O HPV A RESPOSTA IMUNE E O CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAIS.

O comportamento clínico incerto dos pacientes com tumores malignos levou muitos pesquisadores a procurarem fatores que pudessem ser usados como índices de prognóstico, o papel da vigilância do sistema imunológico do hospedeiro contra o tumor tem sido um dos objetos de investigação²³, muitas neoplasias de envolvimento epitelial apresentam altos índices de infiltrado linfocitário²⁴. A capacidade de resposta do HPV em CCEO e a vigilância imunológica podem embasar um resultado superior frente ao tratamento²¹. O infiltrado inflamatório linfocitário dos tecidos é um indicador da resposta imunológica do hospedeiro contra o tumor e sua presença pode refletir uma sobrevida mais longa²³.

Nesta tentativa de melhorar o prognóstico e tratamento para os pacientes, estudos recentes em câncer de orofaringe têm demonstrado que a associação com o HPV 16 exibe melhor sobrevida global e que a resposta imune mais elevada nestes casos pode favorecer o prognóstico neste sítio anatômico²⁴. Entretanto, em CCEO, o prognóstico através do infiltrado linfocitário tumoral, demonstrou que o nível do infiltrado tem contribuído para o comportamento e características do tumor, com associação de níveis elevados de macrófagos e células CD68 podendo contribuir para características metastáticas e resposta avançada no carcinoma oral¹². O desenvolvimento de terapias direcionadas é desafiada pelas diversas alterações genéticas e epigenéticas, alguns dados sugerem que as anomalias genéticas afetam

um numero limitado de vias mitogênicas, com isso, novos métodos tem se desenvolvido para analisar expressões genéticas²⁵.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revisão de literatura sobre a identificação de marcadores clínicos e moleculares na evolução clínica e na resposta ao tratamento em carcinoma de células escamosas orais associadas ao HPV em pacientes jovens permitiu esclarecer que uma maior compreensão da carcinogênese e do comportamento clínico do câncer associado ao HPV vão melhorar a prevenção da doença, assistência ao paciente, vigilância e estratégias para os tumores de cabeça e pescoço. Ainda têm-se poucas evidências do real papel do HPV em lesões pré-malignas e no câncer oral, pois há significativa divergência nos resultados apresentados. A ampliação dos estudos, a elucidação dos mecanismos ainda desconhecidos sobre a infecção do vírus pode ser de significativa utilidade no diagnóstico e tratamento para a estomatologia. A análise do infiltrado inflamatório em biópsia pode contribuir para a avaliação do prognóstico dos doentes com CCEO, porem poucos estudos conclusivos com a associação do HPV nesta região anatômica. O uso de marcadores tumorais é um exame complementar, devendo-se sempre, quando necessário a sua utilização, ser acompanhado de outros métodos para diagnóstico ou modificação terapêutica.

REFERÊNCIAS

1. BRENER, S. et. al. Carcinoma de células escamosas bucal: uma revisão de literature entre perfil do paciente, estadiamento clínico e tratamento proposto. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v.53, n.1, p.63-69, 2007.
2. SIMONATO, L. E. e MIYAHARA, G. I. O papel do papilomavírus humano na carcinogênese bucal. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 53, n. 4, p. 471-476, 2007
3. COLOMBO, J e RAHAL, P. Alterações genéticas em câncer de cabeça e pescoço. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v.55, n.2, p. 165-174, 2009.
4. SOUZA. T. R. B e GOLÇALVES, A. J. Papilomavírus humano e a detecção do DNA viral no carcinoma espinocelular da cavidade oral. *Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço*, v.38, n.1, p.62-66, jan/fev/mar. 2009.
5. VENTURI, B. R. M; CABRAL, M. G. e LOURENÇO, S. Q. C. Carcinoma de células escamosas oral-contribuição de vírus oncogênicos e alguns marcadores moleculares no

- desenvolvimento e prognóstico da lesão: uma revisão. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v.70, n.3, p. 385-92, mai/junh. 2004.
6. GALBIATTI, A. L.S. et. al. Câncer de cabeça e pescoço: causas, prevenção e tratamento. *Brasilian Journal of Otorhinolaryngology*, São Paulo, v. 79, n. 2, mar/abr. 2013.
 7. JORNADA, V. C. Associação entre infecção pelos vírus HPV e EBV e neoplasias malignas de boca- análise histomorfométrica. 2015. 105f. Dissertação (Mestrado em Estomatologia Clínica) - Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
 8. TINOCO, J. A. et. al. Correlação da infecção viral pelo papilomavírus humano com as lesões papilomatosas e o carcinoma epidermóide na boca e orofaringe. *Revista da Associação Médica Brasileira*, São Paulo, v. 50, n. 3, p. 252-256, 2004.
 9. SALDANHA, M.V. F. Expressão imuno-histoquímica do p16 e sua relação com o papilomavírus humano em carcinoma de cabeça e pescoço. 2012. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.
 10. FERRARO, C. T. L. et. al. Infecção oral pelo HPV e lesão epitelial proliferativas associadas. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.47, n. 4, p.451-459, agosto. 2011.
 11. TOMMASI, Maria Helena Martins. Diagnóstico em Patologia Bucal. 4º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
 12. WOLF, G. T. et. al. Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) and prognosis in oral cavity squamous carcinoma: a preliminary study. *Oral Oncology*, v. 51, p. 90-95, 2015.
 13. TERTIPIS, N. et. al. A model for predicting clinical outcome in patients with human papillomavirus-positive tonsillar and base of tongue cancer. *European Journal of Cancer*, v. 51, p. 1580-1587. 2015.
 14. GUIMARÃES, A. A. T. Radioterapia em portadores de carcinoma de orofaringe associado ao vírus do papilloma humano: uma revisão da literatura. 2014. 42f. Monografia (Conclusão de curso em medicina) – Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade da Bahia, Salvador, 2014.
 15. ALMEIDA, J. R. C. et. al. Marcadores tumorais: Revisão de literatura. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 53, n. 3, p. 305-316, 2007.
 16. HOU. J. et. al. P53 codon 72 polymorphism, human papillomavirus infection, and their interaction to oral carcinoma susceptibility. *Bio Med Central Genetics*, v. 16,

- n.72, p. 1-9, 2015. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2156/16/72>>
17. ABRAHAO, A. C. et. al. Immunohistochemical expression of p53, p16 and hTERT in oral squamous cell carcinoma and potentially malignant disorders. *Brazilian Oral Research*, São Paulo, v. 25, n.1, jan/fev, 2011.
 18. CHAKROBARTY, B. et. al. Relationship among tobacco habits, human papilloma virus (HPV) infection, p53 polymorphism/mutation and the risk of oral squamous cell carcinoma. *Journal Oral Maxillofacial Pathology*, v.18, n.2, p.211-216, mai/aug, 2014.
 19. RAMSHANKAR, V. et. al. Risk stratification of early stage oral tongue cancers based on HPV status and p16 immunoexpression. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v. 15, n. 19, p. 8351-8359, 2014.
 20. CHUNG, C. H. e GILLISON, M. L. Human Papillomavirus in Head and Neck Cancer: Its Role in Pathogenesis and Clinical Implications. *Clinical Cancer Research, Philadelphia*, v. 15, n. 22, p. 6758-6762, novembro, 2009.
 21. BESON, E. et. al. The clinical impact of HPV tumor status upon head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Oncology*, v. 50, p. 565-574, 2014.
 22. KOWALSKI, Luiz Paulo. et. al. (org.) Prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer bucal. 1º ed. São Paulo: Frôntis Editorial, 1999.
 23. HUANG, C. et. al. Human papillomavirus 16/18 viral loads predict distant metastasis in oral cavity squamous cell carcinoma. *Journal of Clinical Virology*, v. 61, p. 230-236, 2014.
 24. MANZANO, A. C. et. al. Caracterização imuno-histoquímica so infiltrado linfocitário em biópsia de carcinoma espinocelular da língua e soalho oral e sua implicação prognostica. *Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço*, Campinas, v. 39, n. 4, p. 270-276, out/Nov/dez, 2010.
 25. RITTÀ, M. et. al. Human papillomavirus tumor-infiltrating T-regulatory lymphocytes and P53 codon 72 polymorphisms correlate with clinical staging and prognosis of oropharyngeal cancer. *New Microbiologica*, Itaty, v. 36, p. 133-144, 2013.
 26. GAYKALOVA, D. A. et. al. NK-κB and stat 3 transcription factor signatures differentiate HPV-positive and HPV-negative head and neck squamous cell carcinoma. *Interntional Journal of Cancer*, Baltimore, v. 137, p. 1879-1889, 2015.