

Análise morfológica de lesões orais relacionadas ao HPV

Morphological analysis of oral HPV lesions

Luciana Andrade Gama Da Silva^I

Marta Rabello Piva^{II}

Thiago de Santana Santos^{III}

Paulo Ricardo Saquete Martins Filho^{IV}

Jackson Santos Lobo^V

Recebido em 13/04/2009

Aprovado em 17/06/2009

RESUMO

O objetivo deste estudo foi o de avaliar as lesões orais associadas ao HPV através da percepção de coilócitos nas camadas epiteliais, por intermédio da análise morfológica. Foram estudados 104 espécimes corados por Hematoxilina-Eosina, dissociados das demais lesões orais encontradas pela presença de revestimento epitelial. Dentre as lesões avaliadas, 96 (92,30%) apresentaram coilócitos, sem, no entanto, existir correlação com idade e sexo dos pacientes, localização na cavidade oral e diagnóstico histopatológico das lesões. Este estudo, portanto, demonstrou que essa infecção viral está cada vez mais abrangente em nossa população e enfatiza a importância do diagnóstico histopatológico para detecção da coilocitose, sugerindo exames mais precisos para um diagnóstico concreto da confirmação e tipagem viral, visando a um maior acompanhamento das de alto risco de transformação maligna e conseqüentemente a prevenção do Câncer Oral.

Descritores: Papiloma/diagnóstico. Infecções por Papillomavirus. Neoplasias Bucais.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate oral HPV lesions detected by the presence of koilocytosis in the epithelium layers using morphological analysis. On hundred and four species stained with Hematoxilin-Eosin were studied and dissociated from the other oral lesions found by the presence of epithelium. Of the 104 lesions, 96 (92.30%) presented koilocytosis. Age, gender, HPV location in the oral cavity and the histopathological diagnosis of the lesions were not related to the presence of koilocytosis. It may be concluded that viral infection is widely disseminated in the population of this region of Brazil and that histopathological diagnosis for the detection of koilocytosis is extremely important.. The study suggests more accurate ways of determining the viral group involved with the aim of providing a greater follow-up of cases with a high risk of undergoing a malignant transformation, resulting in better prevention of oral câncer.

Keywords: Papilloma/diagnosis. Papillomavirus Infections. Mouth Neoplasms.

INTRODUÇÃO

O câncer bucal está entre os 10 cânceres de maior incidência em todo o mundo. Dentre os fatores etiológicos relacionados ao seu desenvolvimento, o HPV mere-

ce grande enfoque por estar presente em mais de 90% dos tumores cervicais, devido à semelhança existente entre as mucosas oral e genital e pelo fato de ambas serem alvos frequentes de processos traumáticos¹⁻⁵.

^I Curso de Especialização em Saúde Coletiva, Sindicato de Cirurgiões-Dentistas de Sergipe (SINODONTO), Aracaju/Brasil.

^{II} PhD. Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe (DOD/UFS), Aracaju/Brasil.

^{III} Aluno da especialização em Implantodontia da Associação Brasileira de Odontologia de Pernambuco (ABO/PE), Recife/Brasil.

^{IV} Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Sergipe (UFS), Aracaju/Brasil.

^V Mestre em Clínica Odontológica Integrada pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife/Brasil.

Mais de 100 tipos de HPV foram identificados, sendo 24 destes relacionados à cavidade oral. Dentre as lesões que apresentam o HPV como fator etiológico, estão a verruga vulgar, o condiloma acuminado, o papiloma escamoso oral e a hiperplasia epitelial focal. Porém, outras patologias já foram associadas ao HPV, como fibromas, líquens planos, leucoplasias, eritroplasias e até carcinomas⁵⁻¹⁴.

Seu papel nas lesões pré-malignas e malignas na cavidade oral ainda é controverso, com prevalência variando de 0-100% em diversos estudos, de acordo, principalmente, com variações no tamanho da amostra, população estudada e sensibilidade das técnicas empregadas^{5,15}. Por isso faz-se necessário; portanto, o diagnóstico inicial que deve se basear isoladamente na presença de coilocitose como também o efeito citopático principal e mais comum da infecção viral, particularmente pelo HPV. Apesar da atipia coilocitótica não confirmar a presença ou a tipagem viral, traz fortes indícios de a prevalência do papilomavírus humano, necessitando de exames mais precisos para o diagnóstico definitivo dessa infecção e dos tipos virais, conseqüentemente, determinação do risco de cancerização dessas lesões^{5,16-18}.

Tendo em vista o grande número de lesões com alterações morfológicas (coilocitos) que sugerem infecção por HPV no Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe, o presente estudo utilizou-se da detecção da coilocitose para avaliar a incidência e localização dessas lesões orais que estão relacionadas ao HPV, observando-se a quantidade e distribuição dos coilocitos no epitélio, os tipos de lesões associadas assim como a idade e sexo dos pacientes que apresentavam tal achado citopático.

METODOLOGIA

A amostra inicial foi de 200 lâminas confeccionadas com espécimes obtidos através da biópsia de lesões da cavidade oral e coradas pela técnica da hemato-

xilina-eosina, pertencentes ao Serviço de Anatomia Patológica da Disciplina de Patologia Oral do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe, em Aracaju-SE, no período de janeiro de 2002 a julho de 2004. De acordo com o critério de inclusão do estudo, apresentarem revestimento epitelial, foram utilizadas 104 lâminas (analisadas à microscopia de luz) na amostra final. As lesões avaliadas foram classificadas de acordo com a idade, sexo, presença ou não de coilocitose, localização das lesões na cavidade oral e seu diagnóstico histopatológico.

Em relação à idade, os casos foram divididos em 5 grupos: grupo I (pacientes com idade de 0-20 anos), grupo II (pacientes com idade de 21-40 anos); grupo III (com idade entre 41-60 anos), grupo IV (pacientes com idade superior a 60 anos) e grupo V (pacientes sem idade referida).

As lesões com coilocitose foram separadas em lesões infectadas (todas as lesões que apresentavam coilocitos) e lesões induzidas (lesões orais que apresentam o HPV como fator etiológico). Foram avaliadas, também, de acordo com a quantidade e distribuição de coilocitos nas camadas epiteliais (1/3 superior, 1/3 inferior e por todo o epitélio).

As variáveis sexo e coilocitose foram utilizadas no teste exato de Fisher. Em relação às variáveis idade e coilocitose e localização da lesão e coilocitose, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Adotou-se nos testes um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$), o que foi considerado como sendo significativo.

RESULTADOS

Dentre as 104 lesões em que foi avaliada a presença de coilocitos, 96 (92,31%) delas apresentaram coilocitose, e, em apenas 8 (7,69%), não foram observados coilocitos [2 fenômenos de retenção de muco (FRM), 1 displasia, 1 inflamação crônica granulomatosa (ICG), 1 carcinoma, 1 fibroma e 2 granulomas piogênicos (GP)] (Tabela 1).

Tabela 1 - Relação entre localização da lesão e coilocitose.

LOCAL								
COILOCITOSE	GENGIVA	LÁBIO	LÍNGUA	MUCOSA JUGAL	PALATO	DIVERSOS	INDEFINIDO	TOTAL
SIM	15	15	15	13	8	9	21	96
Linha %	15,6	15,6	15,6	13,5	8,3	9,4	21,9	100,0
Col %	88,2	88,2	93,8	86,7	88,9	100,0	100,0	92,3
NÃO	2	2	1	2	1	0	0	
Linha %	25,0	25,0	12,5	25,0	12,5	0,0	0,0	100,0
Col %	11,8	11,8	6,3	13,3	11,1	0,0	0,0	7,7
TOTAL	17	17	16	15	9	9	21	104
Linha %	16,3	16,3	15,4	14,4	8,7	8,7	20,2	100,0
Col %	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica da Disciplina de Patologia Oral do Hospital Universitário da Faculdade de Odontologia da UFS, em Aracaju-SE.

Avaliando as variáveis sexo e presença ou não de coilocitos através do teste exato de Fisher, encontramos $p > 0,05$ (0,65), concluindo que não há significância estatística entre as variáveis utilizadas (Quadro 1).

Em relação à variante relacionada à idade, o grupo I apresentou 11 (91,66%) das 12 lesões com coilocitose. No grupo II, em 27 (90%) das 30 lesões, foi evidenciada a presença de coilocitos. No grupo III, 29 (90,62%) das 32 lesões apresentaram coilocitose. No grupo IV, participaram 18 lesões, das quais 17 (94,44%) continham coilocitose. No grupo V encontravam-se 12 pacientes, com todas as lesões apresentando coilocitose, sem a idade referida (Tabela 2, Quadros 2 e 3).

SEXO	COILOCITOSE	
	SIM	NÃO
FEMININO	36	3
MASCULINO	60	5
Teste exato de Fisher: $p = 0,65$ / $p > 0,05$		

Quadro 1 - Teste exato de Fisher (sexo x coilocitose).

H de Kruskal-Wallis (equivalente ao Qui-quadrado)=	4,1213
Graus de liberdade =	6
Valor p=	0,6603

Quadro 2 - Teste de duas amostras de Mann-Whitney/Wilcoxon (teste de Kruskal-Wallis para relação entre localização da lesão e coilocitose).

Tabela 2 - Relação entre faixa de idade e coilocitose.

COILOCITOSE			
FAIXA DE IDADE	SIM	NÃO	TOTAL
DE 0-20 ANOS	11	1	12
Linha %	91,7	8,3	100,0
Col %	11,5	12,5	11,5
DE 21-40 ANOS	27	3	30
Linha %	90,0	10,0	100,0
Col %	28,1	37,5	28,8
DE 41-60 ANOS	29	3	32
Linha %	90,6	9,4	100,0
Col %	30,2	37,5	30,8
ACIMA DE 60 ANOS	17	1	18
Linha %	94,4	5,6	100,0
Col %	17,7	12,5	17,3
SEM IDADE REFERIDA	12	0	12
Linha %	100,0	0,0	100,0
Col %	12,5	0,0	11,5
TOTAL	96	8	104
Linha %	92,3	7,7	100,0
Col %	100,0	100,0	100,0

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica da Disciplina de Patologia Oral do Hospital Universitário da Faculdade de Odontologia da UFS, em Aracaju-SE.

H de Kruskal-Wallis (equivalente ao Qui-quadrado)=	,8218
Graus de liberdade =	1
Valor p=	0,3647

Quadro 3 - Teste de duas amostras de Mann-Whitney/Wilcoxon (teste de Kruskal-Wallis para relação entre faixa de idade e coilocitose).

O teste de Kruskal-Wallis foi realizado tanto para avaliar a relação entre as variáveis coilocitose e localização das lesões na cavidade oral como a relação entre a faixa etária dos pacientes e a presença de coilócitos, encontrando para ambas $p > 0,05$, concluindo que não há significância estatística entre faixa etária e coilocitose e localização das lesões avaliadas (Tabela 1).

DISCUSSÃO

A presença de HPV deve ser diagnosticada precocemente devido à possibilidade de este vírus atuar em sinergismo com outros carcinógenos orais, como o álcool, fumo e os traumas, paralelamente aos fatores genéticos na promoção do câncer bucal. Ainda persiste a controvérsia sobre o verdadeiro papel dos tipos virais na carcinogênese oral e são necessários mais estudos para se permitir afirmar se a presença de HPVs de alto risco é apenas oportunista ou se realmente está associada a outros fatores, agindo isoladamente ou em sinergismo no desenvolvimento de lesões pré-malignas e malignas da cavidade oral^{5,19-22}.

É de fundamental importância conhecer as alterações morfológicas num epitélio infectado por um agente viral. O exame histopatológico representa um dos passos iniciais para o diagnóstico concreto das infecções por HPV. Neste exame, a característica morfológica principal e mais comum presente no revestimento epitelial é a coilocitose e, isoladamente, ela sugere a etiologia viral. Este estudo baseou-se no diagnóstico sugestivo de infecção por HPV apenas pela presença de coilócitos nas camadas epiteliais das lesões analisadas à microscopia de luz, concordando com vários autores que afirmam ser a atipia coilocitótica o efeito citopático principal da infecção por HPV^{5,17,23}.

Outros autores sugerem que os achados morfológicos, como a papilomatose e hiperqueratose, quando em conjunto, indicam uma possível presença de HPV^{5,19,21,24-26}. O presente estudo encontrou coilocitose em muitas lesões, como fibromas e granulomas piogênicos, que não apresentavam tais características.

Acredita-se existir uma diferença entre lesões causadas por HPV e lesões, ou mesmo, tecido normal, infectados pelo papilomavírus humano. No primeiro caso, o HPV seria o fator etiológico, e, nos demais, existe a infecção, porém o vírus estaria latente, não sendo responsável pela lesão em questão. No entanto, não se pode afastar a possibilidade de o mesmo vir a causar transformações malignas nesse epitélio, caso a infecção seja por um HPV de alto risco.

Em relação à localização dos coilócitos, alguns trabalhos afirmam que a coilocitose está geralmente presente nas camadas intermediárias e/ou mais superficiais do epitélio^{19,27,28}. Os achados deste estudo estão de acordo com os encontrados no trabalho de Piva et al.⁵ que observaram os coilócitos distribuídos por todo o epitélio na maioria dos casos.

Para explicar tal achado, devemos entender a fisiopatologia do HPV, pois este mesmo infecta as células da camada basal, onde inicia sua replicação. Porém é nas camadas superficiais que ele consegue formar partículas virais completas, abandonando a célula hospedeira. Durante esse processo, pode-se observar a coilocitose, ficando as partículas virais sob padrão epissomal. Quando o vírus se torna integrado ao DNA da célula hospedeira, pode vir a causar transformações celulares de malignização da lesão. Neste caso, a coilocitose fica menos evidente. Talvez isso explique a ausência de coilócitos em muitas lesões carcinomatosas de origem viral, sendo mais comum no epitélio adjacente à lesão.

Alguns autores^{8,29} enfatizam que características histológicas de indução do HPV (presença de coilócitos) são mais evidentes na verruga vulgar, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial focal que em papilomas escamosos orais. Outros estudos, como o de Young e Min³⁰ propõem não haver correlação entre presença de DNA HPV e o grau de coilocitose. Em contrapartida, evidenciamos coilócitos em 100% dos casos de papiloma oral avaliados, distribuídos por todas as camadas epiteliais e, na maioria das lesões, em grande quanti-

dade, sendo apenas observada quantidade moderada em dois dos 15 papilomas avaliados.

O presente estudo encontrou coilocitose tanto em lesões diagnosticadas como displasias (92,85%), que são consideradas lesões pré-malignas, como em carcinomas (87.5%), demonstrando a necessidade de exames mais rigorosos para avaliar os tipos de HPVs envolvidos. Esses achados têm suporte no trabalho de zur Hausen e Villiers¹ o qual afirma ser a transmissão do HPV efetivada pela presença de superfícies escarificadas ou maceradas, onde ao simples trauma, pode haver perda de continuidade epitelial com exposição do tecido conjuntivo subjacente, explicando o porquê da sua alta incidência na cavidade oral e na genitália.

Deve-se, então, ter cautela ao taxar a presença desse vírus como uma doença sexualmente transmissível. Apesar de essa infecção também ser transmitida por via sexual, é importante conhecer as várias formas de transmissão da doença para melhor informar a população em geral, pois o fato de ser classificada como uma doença sexualmente transmissível gera uma série de problemas sociais e dificuldade de diagnóstico.

Os achados desse estudo culminam na possibilidade de infecção por HPV em qualquer tipo de lesão como também na mucosa normal, pois 96 (92,31%) das 104 lesões estudadas apresentaram coilocitose, sendo necessário, portanto, a tipificação através da PCR ou hibridização *in situ*. Segundo Piva et al.⁵, 93,75% das lesões orais com coilocitose, avaliadas pela técnica da hibridização *in situ*, foram positivas para o HPV de amplo espectro, demonstrando uma possibilidade de mudança no atual quadro epidemiológico desta infecção. É importante lembrar que nem todas as patologias tiveram o HPV como fator etiológico, porém, sem a tipagem, não se pode afastar o risco de cancerização dessas lesões, embora existam controvérsias quanto à participação do HPV nesse processo, já que tudo indica que ele seja coadjuvante e que a associação com os outros fatores no câncer cervical apresente uma maior eficácia.

CONCLUSÃO

Não houve associação entre a presença de coilocitose e o tipo de lesão, sua localização na cavidade oral, idade e sexo do paciente, demonstrando-se que a infecção por HPV pode estar cada vez mais prevalente na população e se enfatizando a necessidade da biópsia das lesões de cabeça e pescoço, possibilitando-se direcionar medidas preventivas e curativas relacionadas à infecção pelo papilomavírus humano. Contudo, novos estudos poderão esclarecer a possibilidade de cancerização destas lesões, porém a preocupação de divulgar esses achados iniciais é a de alertar quanto à remoção das lesões associadas ao papilomavírus humano, pois tal procedimento não elimina a infecção do epitélio circunvizinho, causando, muitas vezes sua disseminação por inoculação local. Isso explica os cuidados necessários com o sangramento, determinação da tipagem viral e acompanhamento do paciente.

REFERÊNCIAS

- zur Hausen H, de Villiers EM. Human papillomaviruses. *Annu Rev Microbiol.* 1994;48:427-47.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Disponível em <http://monographs.iarc.fr/>. Acesso em 19 Fev 2010.
- Ministério da Saúde. Estimativas de Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil. Rio de Janeiro. 1996.
- Leville A. M. Epidemiology and Clinical Aspects of Human Papillomavirus Associated Disease. Program and Abstract of 5th international AIDS Malignancy Conference. Bethesda Maryland. April 23-25, 2001.
- Piva MR, Martins Filho PRS, Santos TS, Simões IV, Carvalho TO. Detecção de HPV em lesões orais através da Técnica de Hibridização *in Situ*. *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-fac.* 2008;8(4):61-8.

6. Maitland, NJ, Cox MF, Lynas C, Prime SS, Meanwell CA, Scully C. Detection of human papillomavirus DNA in biopsies of human oral tissue. *Br J Cancer*. 1987; 56:245-50.
7. Kashima HK, Kutcher M, Kesis T, Levin LS, Villers EM, Shak K. Human papillomavirus in squamous cell carcinoma, leukoplakia, lichen planus, and clinically normal epithelium of the oral cavity. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1990; 99:55-61.
8. Garlick JA, Calderon S, Buchner A, Mitrani-Rosenbaum S. Detection of human papillomavirus in focal epithelial hyperplasia. *J Oral Pathol Med*. 1989; 18:419-21.
9. Zeuss MS, Miller CS, White DK. In situ hybridization analysis of human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991; 71:714-20.
10. Costa LJ, Silveira FRX, Batista JM, Birman EG. Human papillomavirus – its association with epithelial proliferative lesions. *Braz Dent J*. 1994; 5(1):5-10.
11. Eversole LR. Papillary lesions of the oral cavity: relationship to human papillomaviruses. *J Calif Dent Assoc*. 2000; 28:922-7.
12. Vidal AKL, Caldas Júnior AF, Mello RJV, Abreu-e-Lima MCC. Papiloma Vírus Humano (HPV) como fator de risco para o Carcinoma Escamoso Celular (CEC) Oral: revisão de literatura. *Odontologia Clínic Científ*. 2006; 5(1):07-25.
13. Terai M, Burk RD. Complete nucleotide sequence and analysis of a novel human papillomavirus (HPV 84) genome cloned by a overlapping PCR method. *Virology*. 2001; 279:109-15.
14. Kojima A, Maeda H, Sugita Y, Tanaka S, Kameyama Y. Human papillomavirus type 38 in oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncol*. 2002; 38:591-6.
15. Chatterjee R, Mukhopadhyay D, Chakraborty RN, Mitra RB. Evaluation of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in oral carcinomas in relation to human papillomavirus infection and cytogenetics. *J Oral Pathol Med*. 1997; 26(7):310-4.
16. Casas-Cordero M, Morin C, Roy M, Fortier M, Meisels A. Origin of the koilocyte in condylomata of the human cervix: ultrastructural study. *Acta Cytol*. 1981; 25(4):383-92.
17. Fornatora M, Jones AC, Kerpel S, Freedman P. Human papillomavirus-associated oral epithelial dysplasia (koilocytic dysplasia): an entity of unknown biologic potential. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996; 82(1):47-56.
18. Sugerman PB, Shillitoe EJ. The high risk human papillomaviruses and oral cancer: evidence for and against a causal relationship. *Oral Dis*. 1997; 3(3):130-47.
19. Batista, JM, Costa LJ, Birman EG. Papiloma vírus: sua identificação em lesões bucais. *Arq Centro Estud Curso Odontol*. 1996; 32(1):45-9.
20. Oliveira MC. Análise morfológica e expressão imunohistoquímica do HPV em papiloma, carcinoma verrucoso e carcinoma epidermóide [Dissertação]. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2001.
21. Oliveira MC, Soares RC, Costa ALL. Ação oncogênica do papilomavírus humano. *RBPO*. 2002; 1(1):29-38.
22. Soares CP. Papilomavírus humano (HPV): um estudo de revisão. *Rev Ciênc Farm*. 1999; 20:11-34.
23. Koss LG, Duerfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic

and pathologic study of koilocytotic atypia. *Ann NY Acad Sci.* 1956; 63:1245-61.

24. Syrjänen K, Syrjänen S, Lamberg M, Pyrhönen S, Nuutinen J. Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg.* 1983; 12(6):418-24.
25. Löning T, Reichart P, Staquet MJ, Becker J, Thiivolet J. Occurrence of papillomavirus structural antigens in oral papillomas and leukoplakias. *J Oral Pathol.* 1984; 13(2):155-65.
26. Dhariwal SK, Cubie HA, Southam JC. Detection of human papillomavirus in oral lesions using commercially developed typing kits. *Oral Microbiol Immunol.* 1995;10(1):60-3.
27. Green TL, Eversole LR, Leider AS. Oral and labial verruca vulgaris: clinical, histologic and immunohistochemical evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1986;62(4):410-6.
28. Chiominto A. Carcinoma epidermoidale del cavo orale: considerazioni sul ruolo del papillomavirus. *Minerva Stomatol.* 1995; 44(3):127-32.
29. Praetorius F. HPV- Associated diseases of oral mucosa. *Clin Dermatol.* 1997; 15:399-413.
30. Young SK, Min KW. In situ DNA hybridization analysis of oral papillomas, leukoplakias, and carcinomas for human papillomavirus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1991; 71(6):726-9.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Marta Rabello Piva

Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe (DOD/UFS)

Rua Cláudio Batista, s/n. - Bairro Sanatório-Aracaju/SE, CEP: 49060-100.

E-mail: thiago.ctbmf@yahoo.com.br; lu.gama@hotmail.com

