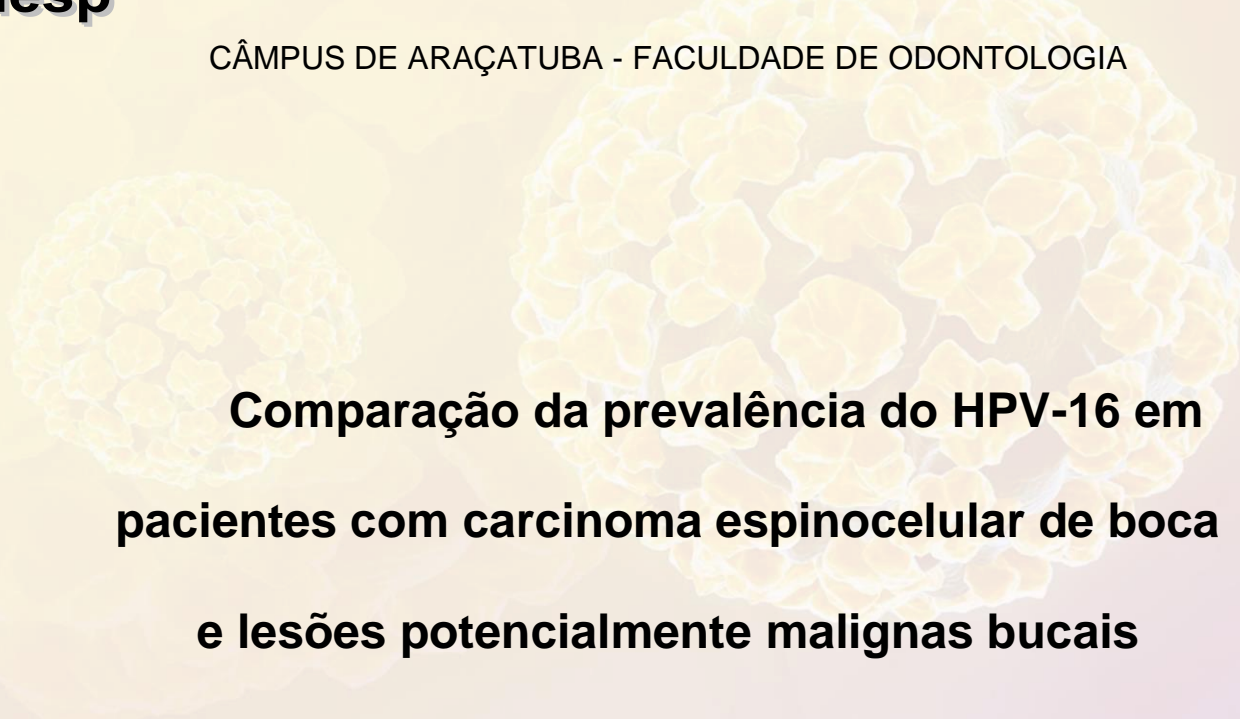



RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 28/08/2019.



**Comparação da prevalência do HPV-16 em
pacientes com carcinoma espinocelular de boca
e lesões potencialmente malignas bucais**



Aluna: Lígia Lavezo Ferreira

Orientador: Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara

Coorientadores: Prof. Ass. Dr. Daniel Galera Bernabé

Profa. Adj. Sandra Helena Penha de Oliveira

Araçatuba

2017

Lígia Lavezo Ferreira

**Comparação da prevalência do HPV-16 em
pacientes com carcinoma espinocelular de boca
e lesões potencialmente malignas bucais**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do
Câmpus de Araçatuba – UNESP para a obtenção do
Grau de “Doutor em Odontologia” – Área de
Concentração: Estomatologia.

Orientador: Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara

Coorientadores: Prof. Ass. Dr. Daniel Galera Bernabé

Profa. Adj. Sandra Helena Penha de
Oliveira

ARAÇATUBA - SP

2017

Catálogo-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

F383c Ferreira, Lígia Lavezo.
Comparação da prevalência do HPV-16 em pacientes com carcinoma espinocelular de boca e lesões potencialmente malignas bucais: ausência do HPV-16 em CEC de boca e lesões potencialmente malignas bucais / Lígia Lavezo Ferreira. - Araçatuba, 2017
68 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Glauco Issamu Miyahara
Coorientador: Prof. Daniel Galera Bernabé
Coorientadora: Profa. Sandra Helena Penha de Oliveira

1. Papillomavirus humano 16 2. Reação em cadeia da polimerase em tempo real 3. Leucoplasia 4. Líquen plano 5. Neoplasias bucais I. T.

Black D64
CDD 617.632



DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

A **Deus**, que me capacitou e me deu forças para continuar e concluir essa jornada! Toda a minha vida e minhas conquistas são dedicadas a ti, Senhor! Sem ti não seria capaz de nada. Obrigada por tão grande amor e por nunca me desamparar nos momentos de dificuldades. Obrigada por todo o aprendizado que adquiri nos momentos de tribulações e alegrias. O Senhor é meu tudo!

À minha família: meus pais **Osi** e **Selma** e minha irmã **Taís**. Obrigada por sempre me apoiar e incentivar, por não me deixar desistir nos momentos em que fraquejei; sem vocês eu não conseguiria estar aqui! Essa conquista também é de vocês! Eu os amo e sou infinitamente grata por todo o apoio e carinho por mim!



AGRADECIMENTOS

ESPECIAIS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, **Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara**, agradeço a confiança depositada em mim, pelos inúmeros ensinamentos, pelos puxões de orelha e cobranças; que me fizeram crescer e amadurecer como pessoa e profissional! Agradeço de coração toda oportunidade concedida e por apoiar meu crescimento e jornada profissional.

À minha coorientadora, **Profa. Adj. Sandra Helena Penha de Oliveira**, pelos ensinamentos, por estar sempre disposta a ajudar e ensinar e por manter as portas de seu laboratório abertas para a realização desta pesquisa. Admiro-a como profissional e pessoa.

Ao meu coorientador, **Prof. Dr. Daniel Galera Bernabé**, por ser tão presente, compartilhando o seu conhecimento e instigando o meu espírito investigativo. Obrigada pela amizade e apoio à minha jornada acadêmica e como pesquisadora.

Ao **Prof. Dr Éder Ricardo Biasoli**, pela contribuição na minha formação clínica e científica.

À amiga **Janáina Zavitoski da Silva**, por me receber de braços e portas abertas em sua casa, sempre me tratando da melhor forma possível! Obrigada pela amizade, pelos inúmeros conselhos profissionais, pessoais e por sempre ser um ombro amigo, quando necessário. Não tenho palavras para agradecer tudo o que fez e faz por mim. Você, com certeza, é um dos presentes maravilhosos que a FOA me deu e que vou carregar por toda a vida!



AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP**, na pessoa do atual Diretor, **Prof. Titular Wilson Roberto Poi** e do Vice-Diretor, **Prof. Titular João Eduardo Gomes Filho**, instituição que me recebeu de braços abertos e que foi fundamental para me tornar o ser humano e profissional que sou hoje! Agradeço por todos os momentos vividos aqui e levo cada um em meu coração.

Ao Programa de **Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, na pessoa do coordenador, **Prof. Adj. André Luiz Fraga Briso**.

Aos **docentes da Disciplina de Patologia do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Profa. Adj. Ana Maria Pires Soubhia, Profa. Ass. Dra. Cristiane Furuse, Profa. Ass. Dra. Renata Callestini Felipini e Prof. Adj. Marcelo Macedo Crivelini**, pela convivência durante o período em que passei como professora substituta das disciplinas de Patologia Bucal e Patologia Geral, juntamente com os colegas **Caril Constante Ferreira do Amaral e Marcela Rodrigues de Camargo**. Obrigada por me receberem e acolherem no departamento, paciência nos momentos de dificuldades, pelos ensinamentos e, principalmente, pela amizade. Vocês marcaram de forma fabulosa o início da minha carreira docente.

Aos servidores do **Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Giseli Mitsuy Kayahara, Marli Barbosa dos Santos, Adriana de Paula e Silva Rahal Leal**,

Robson Varlei Ranieri e José Marcelo Tramarin, pelo carinho com que me receberam no departamento e por sempre estarem prontos a ajudar de forma prestativa e gentil.

Aos demais **docentes do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Profa. Ass. Dra. Ana Claudia Okamoto, Prof. Ass. Dr. Antonio Augusto Ferreira de Carvalho, Prof. Titular Elerson Gaetti Jardim Júnior, Profa. Dra. Leda Maria Pescinini Salzedas**, pelos ensinamentos transmitidos e convivência no departamento.

A toda equipe e quadro de **funcionários do Centro de Oncologia Bucal**, Unidade Auxiliar de Estrutura Simples, da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – UNESP, **Jane Fátima Mendes Fernandes da Silva, Jefferson Gardenal Teixeira, Janaína Zavitoski da Silva, Suzy Elaine Nobre de Freitas, Anne Cristina de Faria Cocato, Daniene Tesoni Cassavara Ribeiro, Regiane Mazzariolli Pereira Nogueira, Gabrielle Dias Duarte e Sabrina Macedo**, pelas conversas distraídas, amizade, palavras de incentivo e auxílio oferecido e prestados em vários momentos, o meu muito obrigada. Vocês são parte da minha família em Araçatuba. Sou extremamente grata pela amizade e pela convivência com cada um de vocês.

Aos amigos e parceiros de pesquisa **Saygo Tomo e Ingrid da Silva Santos**, muito obrigada pela amizade construída, pelo convívio e as inúmeras vezes que, prontamente, me ajudaram. Vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho e tornaram os momentos mais descontraídos e divertidos. São verdadeiros amigos, irmãos que recebi de presente de Deus e que vou levar sempre em meu coração!

Aos amigos da pós-graduação, **Bruna Amélia Serafim, Flávia Alves Verza, Vítor Bonetti Valente, Daniela Brito Bastos e Jéssica Araújo Figueira**, muito obrigada pela amizade verdadeira, por tornarem os momentos mais alegres, pelo aprendizado compartilhado e pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho. Com vocês tudo se tornou mais fácil. Levo-os como verdadeiros amigos, minha família Araçatubense.

À minha grande amiga, **Gláucia Resende Soares**, que mesmo distante permaneceu presente; pela amizade, conselhos e incentivo nessa jornada.

À amiga **Profa. Dra. Kellen Cristine Tjioe**, obrigada pelos momentos compartilhados e conhecimentos transmitidos.

À **Profa. Adj. Maria Lúcia Marçal Mazza Sundefeld** por realizar a análise estatística deste estudo e sempre me atender prontamente, de forma amigável e carinhosa, quando precisei.

À amiga **Dra. Cristiane Fumiko Furuse**, pela amizade, incentivo, conselhos e inúmeros ensinamentos transmitidos, que foram essenciais à minha formação científica e acadêmica.

À equipe de alunos **do Laboratório de Imuno-farmacologia**, em especial, **Victor Balera, Carluci Beltran e Aline Takamiya**, pela paciência, pela generosidade em repassar conhecimentos sobre as técnicas laboratoriais e ajuda quando me encontrava perdida nos procedimentos.

Aos **funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, **Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto, Lilian Mada e Cristiane Lui**, pela presteza com que me atenderam e por ajudar a esclarecer minhas numerosas dúvidas prontamente.

Aos alunos **graduandos em Odontologia**, obrigada pela oportunidade de ensinar e aprender com vocês.

Aos **pacientes**, por aceitarem participar da pesquisa e colaborarem com a realização deste projeto.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES** pela bolsa de estudos concedida.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP**, pelo apoio financeiro concedido, que viabilizou a realização desta pesquisa.

Epígrafe

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância”.

John F. Kennedy

Ferreira LL. Comparação da prevalência do HPV-16 em pacientes com carcinoma espinocelular de boca e lesões potencialmente malignas bucais [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2017.

RESUMO

O papilomavírus humano (HPV) subtipo 16 é um fator de risco para o desenvolvimento do carcinoma espinocelular (CEC) de orofaringe. No entanto, o papel do mesmo na carcinogênese oral, bem como a associação com as lesões potencialmente malignas, permanece controverso. O objetivo deste estudo foi comparar a prevalência do HPV-16, em amostras de tecido fresco, obtidas de 27 pacientes com CEC oral, 37 pacientes com leucoplasia bucal, 24 pacientes com líquen plano bucal (LPB) e 32 pacientes controle, correlacionando a presença do HPV com as variáveis clínico-patológicas em uma população da região noroeste do estado de São Paulo - Brasil. Realizou-se a extração do DNA das amostras e a verificação da presença do HPV-16 por meio da *Real-Time Polymerase Chain Reaction*. Todas as amostras foram negativas para o HPV-16 nos quatro grupos estudados. Conclui-se que a ausência do HPV-16 nas amostras de CEC bucal, leucoplasia e LPB indica que a infecção pelo mesmo não é comum e não representa um fator de risco importante na carcinogênese oral na população da região noroeste do estado de São Paulo - Brasil.

Palavras-chave: Papillomavirus Humano 16; Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real; Leucoplasia; Líquen Plano; Neoplasias Bucais.

Ferreira LL. Comparison of the HPV-16 prevalence in patients with oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders. [thesis]. Araçatuba: UNESP – São Paulo State University; 2017.

ABSTRACT

Human Papillomavirus (HPV), specially subtype 16, is a known risk factor for the oropharyngeal squamous cell carcinoma (SCC) development. However, HPV role in oral carcinogenesis, as well as in potentially malignant oral lesions remains controversial. The goal of the present study was to compare the HPV-16 prevalence, in fresh tissue samples obtained from 27 oral SCC patients, 34 oral leukoplakia (OL) patients, 24 oral lichen planus (OLP) patients and 32 control patients, correlating HPV presence with the clinicopathological variables in a population from northwest region of the Sao Paulo state - Brazil. DNA extraction was carried out and all samples were submitted to Real-Time PCR for HPV-16 DNA detection. We found that all fresh tissue samples of oral SCC, OL, OLP and oral normal mucosa were negative for HPV-16. We conclude that HPV-16 absence in oral SCC, OL and OLP samples indicates that its infection is uncommon and does not represent an important risk factor in oral carcinogenesis in the population from northwest region of the Sao Paulo state - Brazil.

Keywords: Human papillomavirus 16; Real-Time Polymerase Chain Reaction; Leukoplakia; Lichen Planus; Mouth Neoplasms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Número de pacientes de acordo com a faixa etária e a idade média dos quatro grupos estudados.	63
Figura 2	Frequência de pacientes do sexo feminino e masculino nos quatro grupos estudados.	63
Figura 3	Regiões mais acometidas pelas lesões de CEC de boca (Grupo 1).	64
Figura 4	Regiões mais acometidas pelas lesões de leucoplasia bucal (Grupo 2).	64
Figura 5	Regiões mais acometidas pelas lesões Líquen plano bucal (Grupo 3).	65
Figura 6	Locais da remoção dos fragmentos de tecido do Grupo Controle (Grupo 4).	65
Figura 7	Proporção do número de tabagistas em cada um dos grupos estudados.	66
Figura 8	Número de etilistas em cada um dos grupos estudados.	66
Figura 9	Resultado da <i>Real-Time</i> PCR para detecção do HPV-16 nas amostras de tecido dos pacientes com CEC (Grupo 1).	37
Figura 10	Resultado da <i>Real-Time</i> PCR para detecção do HPV-16 nas amostras de tecido dos pacientes dos Grupos	67

2 e Controle (Grupo 4).

Figura 11

Resultado da *Real-Time* PCR para detecção do HPV-16 nas amostras de tecido dos pacientes do Grupo 3

68

Lista de Tabelas

Tabela 1	Variáveis clínico-patológicas dos quatro grupos de pacientes incluídos no estudo.	36
-----------------	---	-----------

Lista de Abreviaturas

AJCC- do ingles, *American Joint Committee on Cancer*

CEC- Carcinoma Espinocelular

COB- Centro de Oncologia Bucal

DNA- do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*

FOA-UNESP- Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

HPV- do inglês, *Human Papillomavirus*

INCA- Instituto Nacional do Câncer

IPC- do inglês, *Internal Positive Control*

IPC Blocked- do inglês, *Internal Positive Control Blocked*

ISH- do inglês, *In Situ Hybridization*

LPB- Líquen Plano Bucal

LPMB- Lesões Potencialmente Malignas Bucais

nPCR- do inglês, *Nested Polymerase Chain Reaction*

OMS- Organização Mundial da Saúde

P16- Proteína p16

PCR- do inglês, *Polymerase Chain Reaction*

Real-Time PCR- do inglês, *Real-Time Polymerase Chain Reaction*

RNA- do inglês, *Ribonucleic acid*

SiHa- Células de câncer cervical humano imortalizadas com o vírus HPV-16

TE- do inglês, *Tris-EDTA buffer solution*

TNM- Sistema de Classificação de tumores malignos em que T exprime o tamanho do tumor primário, N representa os linfonodos regionais acometidos e M a presença de metástase à distância.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	21
2. PROPOSIÇÃO	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4. RESULTADOS	34
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS	49
ANEXOS.....	57



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA*

O câncer de boca envolve um grupo de lesões malignas que se desenvolvem nas mucosas da região dos lábios, assoalho de boca, língua, mucosa jugal, rebordo gengival, palato duro e trígono retromolar (Katsanos *et al.*, 2015), sendo o carcinoma espinocelular (CEC) o tipo de câncer de boca mais comum; correspondendo a 90% de todos os casos (Swangphon *et al.*, 2017). O CEC de boca representa o sexto tipo de câncer mais comum em todo o mundo (Gupta and Gupta, 2015) e o quinto mais frequente em homens no Brasil (INCA, 2015).

Muitos fatores de risco estão relacionados ao desenvolvimento do tumor, especialmente o consumo crônico do álcool e do tabaco, representando cerca de 75% de todos os casos de CEC bucal (Jiang and Dong, 2017). No entanto, a incidência do CEC de cabeça e pescoço, incluindo o CEC de boca, aumentou muito nos últimos anos, principalmente em pacientes não fumantes, o que sugere que outros fatores genéticos, ambientais e imunológicos contribuem para o seu desenvolvimento (Habbous *et al.*, 2013; Guan *et al.*, 2013; Jiang and Dong, 2017).

O papilomavírus humano (HPV), especialmente o tipo de alto risco HPV-16, é um fator de risco conhecido para o desenvolvimento do CEC de orofaringe, sendo atribuído a cerca de 40-90% dos casos (Sturgis *et al.*, 2004; Javadi *et al.*, 2017). Os tumores de orofaringe associados ao HPV têm sido considerados como um subgrupo distinto, apresentando um comportamento clínico e biológico distintos dos tumores HPV-negativos. (Guan *et al.*, 2013; Benson *et al.*, 2014; Ang *et al.*, 2010). Tumores HPV-positivos apresentam um

* Formatação de acordo com as normas do periódico Oral Diseases (**ANEXO B**)

melhor prognóstico em relação aos HPV-negativos, com taxas de sobrevida de 5 anos em 75 a 80%, contra 45 a 50% para os pacientes com tumores HPV-negativos (Ang *et al.*, 2010).

Existem mais de 130 genótipos de HPV sequenciados em humanos, entretanto a maioria dos cânceres de cabeça e pescoço está associado a um único genótipo de HPV, o HPV-16, subtipo viral também associado aos cânceres anogenitais (Marur *et al.*, 2010; Arirachakaran *et al.*, 2013). No entanto, o papel do HPV no desenvolvimento do câncer de boca continua incerto, com taxas de detecção variáveis entre 0% e 80% em todo o mundo (Gupta and Gupta, 2015; Katsanos *et al.*, 2015).

O HPV também tem sido relacionado a uma série de lesões benignas bucais, sendo que estudos recentes têm buscado uma relação entre a presença do HPV e as lesões potencialmente malignas bucais (LPMB), com taxas variáveis de detecção nessas amostras (Prakash *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2016).

LPMB são um grupo de lesões ou condições crônicas da mucosa bucal, caracterizadas pelo potencial de transformação maligna, podendo ser precursoras do CEC de boca. Entre as LPMBs estão a leucoplasia e o líquen plano bucal (LPB) (Khan *et al.*, 2016). A leucoplasia bucal é a LPMB mais frequente. Os principais fatores de risco para o seu desenvolvimento são o consumo crônico de tabaco e álcool, os mesmos relacionados ao CEC de cabeça e pescoço (Holmstrup and Dabelsteen, 2016; Bhargava *et al.*, 2016). Os resultados da detecção do HPV em leucoplasia bucais são controversos, Bhargava *et al.* (2016), utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (*Real-Time* PCR) para o HPV-16 e HPV-18 não

encontraram a presença do vírus em nenhuma das amostras de tecido de leucoplasia bucal incluídos em seu estudo. De forma semelhante, Bhosale *et al.* (2016) não encontraram nenhuma amostra de leucoplasia positiva para o HPV, usando a associação das técnicas de Nested PCR (nPCR), hibridização *in situ* (ISH) e imuno-histoquímica da p16. Avaliando uma população brasileira Ferreira *et al.* (2017) detectaram a presença do vírus em 68,75% das amostras de tecido fresco obtidos de leucoplasia bucal por meio da técnica de nPCR. Também analisando amostras de tecido Cao *et al.* (2016) observaram a presença do HPV em 2,59% dos casos de leucoplasia. Sikka and Sikka (2014) verificaram a presença do vírus em 45% dos casos de leucoplasia e Ramya *et al.* (2017), utilizando a PCR, encontraram o HPV em 20% das amostras de tecido de leucoplasia bucal.

O LPB é uma doença inflamatória crônica de origem autoimune, que pode afetar a pele e mucosas, com manifestações clínicas variáveis (Katsanos *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2016). O LPB é considerado uma desordem potencialmente maligna, no entanto, há controvérsias em relação à taxa de transformação maligna do LPB, tendo sido observada em menos de 2% dos pacientes em 10 a 15 anos de acompanhamento (Katsanos *et al.*, 2015; Mattila *et al.*, 2012). A etiologia e patogênese é ainda desconhecida e uma série de hipóteses moleculares têm sido descritas, incluindo a associação com o HPV (Mattila *et al.*, 2012). A prevalência do HPV em lesões de LPB é duas vezes maior do que a encontrada em pacientes sem a lesão e a taxa de detecção do vírus varia de acordo com a região geográfica (Ma *et al.*, 2016; Sahebjamiee *et al.*, 2015). Arirachakaran *et al.* (2013) encontraram uma baixa prevalência (2,7%) do HPV em biópsias de LPB de pacientes tailandeses, enquanto

Sahebjamiee *et al.* (2015) encontraram a presença do vírus em 27,5% das amostras de LPB em uma população iraniana. Em estudos realizados em países europeus a taxa de detecção do HPV em amostras de LPB variaram entre 11,8% e 100% (Sahebjamiee *et al.*, 2015). Um estudo italiano conduzido por Montebugnoli *et al.* (2014) evidenciou 10% de amostras de LPB positivas para o HPV por meio da *Real-Time* PCR, enquanto Mattila *et al.* (2012), utilizando a nPCR, encontraram 15,9% de pacientes com LPB HPV-positivos na Finlândia. Ambos os estudos utilizaram tecido parafinado.

Essa grande variação nas taxas de detecção do HPV em LPMBs e no CEC bucal pode ser atribuída a diversos fatores, como as diferenças geográficas na população estudada, variação nos perfis dos pacientes incluídos nos estudos, tipo de material utilizado para a detecção, métodos de seleção e preparação das amostras; além dos diferentes métodos de detecção do HPV (Gupta and Gupta, 2015; Sahebjamiee *et al.*, 2015). O papel do HPV na carcinogênese do CEC de boca, bem como sua associação com as LPMB ainda é controverso e são poucos os estudos realizados na população brasileira que detectaram o HPV-16 em pacientes com CEC de boca, leucoplasia bucal e líquen plano bucal.



CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados desse estudo, conclui-se que o HPV-16 não foi prevalente e não representou um fator de risco importante para o desenvolvimento das LPMB e do CEC bucal na população da Região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

Anantharaman D, Abedi-Ardekani B, Beachler DC, Gheit T, Olshan AF, Wisniewski K, D'Souza G. (2017). Geographic heterogeneity in the prevalence of human papillomavirus in head and neck cancer. *Int J Cancer* 140(9): 1968-1975. doi: 10.1002/ijc.30608.

Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, Gillison ML. (2010). Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 363(1), 24-35. doi: 10.1056/NEJMoa0912217.

Arirachakaran P, Chansaengroj J, Lurchachaiwong W, Kanjanabud P, Thongprasom K, Poovorawan Y. (2013). Oral lichen planus in thai patients has a low prevalence of human papillomavirus. *ISRN Dent* 2013: 362750. doi: 10.1155/2013/362750.

Benson E, Li R, Eisele D, Fakhry C. (2014). The clinical impact of HPV tumor status upon head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 50(6): 565-74. 2014.

Bhargava A, Shakeel M, Srivastava AN, Raza TS, Rizvi S, Varshney P. (2016). Role of human papilloma virus in oral leukoplakia. *Indian J Cancer* 53(1): 206-9. doi: 10.4103/0019-509X.180812.

Bhosale PG, Pandey M, Desai RS, Patil A, Kane S, Prabhash K, Mahimkar MB. (2016). Low prevalence of transcriptionally active human papilloma virus in Indian patients with HNSCC and leukoplakia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 122(5): 609-618.e7. doi: 10.1016/j.oooo.2016.06.006.

* Formatação de acordo com as normas do periódico Oral Diseases (**ANEXO B**)

Cao J, Jin JQ, Deng DJ, Liu HW. (2016). [Determination of human papillomavirus in oral leukoplakia, oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma]. *Beijing Da Xue Xue Bao* 48(1): 848.

Chaturvedi AK. (2012). Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head Neck Pathol* 6(1): S16-24. doi: 10.1007/s12105-012-0377-0.

Chen XJ, Sun K, Jiang WW. (2016). Absence of high-risk HPV 16 and 18 in Chinese patients with oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders. *Virol J* 13: 81. doi: 10.1186/s12985-016-0526-2.

Dalla Torre D, Burtscher D, Edlinger M, Sölder E, Widschwendter A, Rasse M, Puelacher W. (2015). Comparison of the prevalence of human papilloma virus infection in histopathologically confirmed premalignant oral lesions and healthy oral mucosa by brush smear detection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 119(3): 333-9. doi: 10.1016/j.oooo.2014.11.013.

Ferreira LL, Biasoli ÉR, Bernabé DG, Nunes CM, Miyahara GI. Plasma HPV DNA is detectable in oral leukoplakia patients. *Pathol Res Pract*. 2017;213(7):759-765. doi: 10.1016/j.prp.2017.04.005.

Guan X, Sturgis EM, Song X, Liu Z, El-Naggar AK, Wei Q, Li G. (2013). Pre-microRNA variants predict HPV16-positive tumors and survival in patients with squamous cell carcinoma of the oropharynx. *Cancer Lett* 330(2): 233-40. doi: 10.1016/j.canlet.2012.11.048.

Gupta S, Gupta S. (2015). Role of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders: A review of the literature. *Indian J Dent* 6(2): 91-8. doi: 10.4103/0975-962X.155877.

Habbous S, Chu KP, Qiu X, La Delfa A, Harland LT, Fadhel E, ... Liu G. (2013). The changing incidence of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer using multiple imputation from 2000 to 2010 at a Comprehensive Cancer Centre. *Cancer Epidemiol* 37(6): 820-9. doi: 10.1016/j.canep.2013.09.011.

Holmstrup P, Dabelsteen E. (2016). Oral leukoplakia-to treat or not to treat. *Oral Dis* 22(6):494-7. doi: 10.1111/odi.12443.

Instituto Nacional do Câncer (INCA). (2015). Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil 2014. Rio de Janeiro.

Javadi P, Sharma A, Zahnd WE, Jenkins WD. (2017). Evolving disparities in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Cancer Causes Control* 28(6): 635-645. doi: 10.1007/s10552-017-0889-8.

Jiang S, Dong Y. (2017). Human papillomavirus and oral squamous cell carcinoma: A review of HPV-positive oral squamous cell carcinoma and possible strategies for future. *Curr Probl Cancer* pii: S0147-0272(16)30203-3. doi: 10.1016/j.currproblcancer.2017.02.006.

Katsanos KH, Roda G, Brygo A, Delaporte E, Colombel JF. (2015). Oral Cancer and Oral Precancerous Lesions in Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review. *J Crohns Colitis* 9(11): 1043-52. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjv122.

Khan Z, Khan S, Christianson L, Rehman S, Ekwunife O, Samkange-Zeeb F. (2016). Smokeless Tobacco and Oral Potentially Malignant Disorders in South Asia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Nicotine Tob Res* pii: ntw310. doi: 10.1093/ntr/ntw310.

Lydiatt WM, Patel SG, O'Sullivan B, Brandwein MS, Ridge JA, Migliacci JC, Shah JP. (2017). Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin* 67(2): 122-137. doi: 10.3322/caac.21389.

Ma J, Zhang J, Zhang Y, Lv T, Liu J. (2016). The Magnitude of the Association between Human Papillomavirus and Oral Lichen Planus: A Meta-Analysis. *PLoS One* 11(8): e0161339. doi: 10.1371/journal.pone.0161339.

Marur S, D'souza G, Westra Wh, Forastiere AA. (2010). HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol* 11(8): 781-9. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70017-6.

Mattila R, Rautava J, Syrjänen S. (2012). Human papillomavirus in oral atrophic lichen planus lesions. *Oral Oncol* 48(10): 980-4. doi: 10.1016/j.oraloncology.2012.04.009.

Mehanna HM, Rattay T, Smith J, McConkey CC. (2009). Treatment and follow-up of oral dysplasia – a systematic review and meta-analysis. *Head Neck* 31: 1600–9. doi: 10.1002/hed.21131.

Montebugnoli L, Gissi DB, Scapoli L, Palmieri A, Morandi L, Manelli I, Foschini MP. (2014). p16(INK4) expression is not associated with human papillomavirus in oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 118(6): 694-702. doi: 10.1016/j.oooo.2014.09.004.

Munde AD, Karle RR, Wankhede PK, Shaikh SS, Kulkurni M. (2013). Demographic and clinical profile of oral lichen planus: A retrospective study. *Contemp Clin Dent* 4(2): 181-5. doi: 10.4103/0976-237X.114873

Pierangeli A, Cannella F, Scagnolari C, Gentile M, Sciandra I, Antonelli G, Polimeni A. (2016). Frequent detection of high human papillomavirus DNA

loads in oral potentially malignant disorders. *Clin Microbiol Infect* 22(1): 95.e9-95.e15. doi: 10.1016/j.cmi.2015.09.011.

Piña AR, Jimenez LS, Mariano FV, de Andrade BA, Carlos R, Altemani A, de Almeida OP. (2016). Human papillomavirus in tonsillar squamous cell carcinomas from Guatemala and Brazil. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 121(4): 412-8. doi: 10.1016/j.oooo.2015.12.002.

Prakash P, Khandare M, Kumar M, Khanna R, Singh GP, Nath G, Gulati AK. (2013). Immunohistochemical Detection of p16(INK4a) in Leukoplakia and Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Diagn Res* 7(12): 2793-5. doi: 10.7860/JCDR/2013/7720.3882.

Ramya AS, Majumdar S, Babu TM, Uppala D, Srinivas B, Rao AK. (2017). Expression of Human Papillomavirus DNA and p53 Polymorphisms through Polymerase Chain Reaction in Normal Mucosa and Oral Leukoplakia Individuals with Deleterious Oral Habits. *Int J Appl Basic Med Res* 7(2):134-138. doi: 10.4103/ijabmr.IJABMR_57_16.

Reed SG, Wahlquist AE. (2015). Adults With Oral High-risk Human Papillomavirus (HPV) and/or Smoking History Have a Higher Risk for Clinically Diagnosed Oral Premalignant Lesions. *J Evid Based Dent Pract* 15(3): 134-6. doi: 10.1016/j.jebdp.2015.07.012.

Saghravanian N, Ghazi N, Meshkat Z, Mohtasham N. (2015). Human Papillomavirus in Oral Leukoplakia, Verrucous Carcinoma, Squamous Cell Carcinoma, and Normal Mucous Membrane. *Oman Med J* 30(6): 455-60. doi: 10.5001/omj.2015.89.

Sahebjamiee M, Sand L, Karimi S, Biettolahi JM, Jabalameli F, Jalouli J. (2015). Prevalence of human papillomavirus in oral lichen planus in an Iranian cohort. *J Oral Maxillofac Pathol* 19(2): 170-4. doi: 10.4103/0973-029X.164528.

Shaw R, Beasley N. (2016). Aetiology and risk factors for head and neck cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *J Laryngol Otol* 130(S2): S9-S12.

Sikka S, Sikka P. (2014). Association of Human Papilloma Virus 16 Infection and p53 Polymorphism among Tobacco using Oral Leukoplakia Patients: A Clinicopathologic and Genotypic Study. *Int J Prev Med* 5(4): 430-8.

Simonato LE, Garcia JF, Sundefeld ML, Mattar NJ, Veronese LA, Miyahara GI. Detection of HPV in mouth floor squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathologic variables, risk factors and survival. *J Oral Pathol Med*. 2008;37(10):593-8. doi: 10.1111/j.1600-0714.2008.00704.x.

Smitha T, Mohan CV, Hemavathy S. (2017). Prevalence of human papillomavirus16 DNA and p16INK4a protein in oral squamous cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *J Oral Maxillofac Pathol* 21(1): 76-81. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_248_16.

Soares GR, Demathé A, Mattar NJ, Biasoli ER, Miyahara GI. Absence of HPV Infection Is Associated with Smoker Patients with Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx. *J Oncol*. 2014;2014:371570. doi: 10.1155/2014/371570.

Sturgis EM, Wei Q, Spitz MR. (2004). Descriptive epidemiology and risk factors for head and neck cancer. *Semin Oncol* 31(6):726-33. 2004.

Swangphon P, Pientong Ch, Burassakarn A, Vatanasapt P, Kleebkaow P, Patarapadungkit N, ... Ekalaksananan T. (2017). Methylation Status of

P16Ink4a in Human Papillomavirus-Associated Cancer of Oral Cavity and Oropharynx in Northeastern Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 18(3): 699-705.

Syrjänen S, Lodi G, von Bültzingslöwen I, Aliko A, Arduino P, Campisi G, Jontell M. (2011). Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. *Oral Dis* 17 Suppl 1:58-72. doi: 10.1111/j.1601-0825.2011.01792.x.

Venuti A, Paolini F. (2012). HPV detection methods in head and neck cancer. *Head Neck Pathol* 6 Suppl 1:S63-74. doi: 10.1007/s12105-012-0372-5.

Viguiet M, Bachelez H, Poirier B, Kagan J, Battistella M, Aubin F, ... Fazilleau N. (2015). Peripheral and local human papillomavirus 16-specific CD8+ T-cell expansions characterize erosive oral lichen planus. *J Invest Dermatol* 135(2): 418-24. doi: 10.1038/jid.2014.397.

Wang F, Zhang H, Xue Y, Wen J, Zhou J, Yang X, Wei J. (2017). A systematic investigation of the association between HPV and the clinicopathological parameters and prognosis of oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Cancer Med* 6(5): 910-917. doi: 10.1002/cam4.1045.