

## Papilomavírus humano e câncer oral: uma revisão dos conceitos atuais

*Karuza Maria Alves PEREIRA<sup>a</sup>, Pedro Paulo de Andrade SANTOS<sup>b</sup>,*

*Danielle Albuquerque Pires ROCHA<sup>c</sup>, Kenio Costa LIMA<sup>d</sup>*

<sup>a</sup>*Doutoranda em Patologia Oral, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, 59056-000 Natal - RN, Brasil*

<sup>b</sup>*Mestrando em Patologia Oral, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, 59056-000 Natal - RN, Brasil*

<sup>c</sup>*Mestre em Patologia Oral, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, 59056-000 Natal - RN, Brasil*

<sup>d</sup>*Professor Doutor em Ciências (Microbiologia) do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, 59056-000 Natal - RN, Brasil*

Pereira KMA, Santos PPA, Rocha DAP, Lima KC. Human Papillomavirus and oral cancer: a review of actual concepts. Rev Odontol UNESP. 2007; 36(2): 151-56.

**Resumo:** Diversos fatores etiológicos estão envolvidos na etiologia do carcinoma epidermóide oral, e dentre estes, o Papilomavírus Humano (HPV) tem sido extensivamente estudado nos últimos anos. O HPV é um vírus de DNA, epiteliotrópico, cujas propriedades oncogênicas estão relacionadas a interferências nos mecanismos que controlam a proliferação celular normal. Esses mecanismos são alterados principalmente pelas proteínas E6 e E7, que interferem nas funções normais das proteínas p53 e pRb, respectivamente. Os estudos envolvendo o HPV na carcinogênese oral são controversos. Assim, a associação entre esse vírus e o câncer oral ainda não está bem definida. O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão literária dos aspectos atuais relacionados ao HPV no câncer oral.

**Palavras-chave:** *Câncer oral; HPV; p53.*

**Abstract:** Some etiologic factors are related to oral squamous cell carcinoma, and, amongst these, the Human Papillomavirus (HPV) has been extensively studied in these last years. HPV is an epitheliotropic virus of DNA, and the role of HPV in carcinogenesis is supported by its capacity of interference in important mechanisms that control the cell cycle and cellular proliferation. These mechanisms are modified mainly by the proteins E6 and E7, that intervene with the normal functions of proteins p53 and pRb, respectively. The studies involving the HPV in oral carcinogenesis are controversial. Thus, the association between this virus and the oral cancer is not still very defined. The objective of this work was to carry through a literary revision of the related current aspects to the HPV in the oral cancer.

**Keywords:** *Oral cancer; HPV; p53.*

### Introdução

Atualmente no Brasil o câncer é considerado um problema de saúde pública. A preocupação da população e, especialmente, dos profissionais de saúde, com esta doença é cada vez mais justificada, pois as estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) para o ano de 2006 apontam cerca de 472.050 casos novos de câncer no Brasil<sup>1</sup>. Ao contrário da maior parte dos países da América do Sul, que exibem baixas taxas de incidência do câncer de boca, no Brasil observam-se

altos índices desta doença, tanto para homens quanto para mulheres<sup>2</sup>. A incidência para o câncer de boca é estimada em aproximadamente 13.470 novos casos, sendo 10.060 no sexo masculino e 3.410 no sexo feminino<sup>1</sup>.

O Carcinoma Epidermóide Oral (CEO) é a entidade maligna mais freqüente em boca, correspondendo a mais de 90% dos casos de neoplasias malignas nesta localização<sup>2-4</sup>. O CEO é um dos poucos tipos de câncer que podem ser

diagnosticados precocemente, devido a sua localização ser de fácil acesso e inspeção. Apesar disso, constata-se que, a maioria dos casos é diagnosticada quando a lesão já apresenta mais de 2 cm de diâmetro no tamanho<sup>5</sup> e cerca de 50% dos portadores de CEO morrem devido ao elevado grau de severidade da lesão, devido diagnóstico tardio<sup>6,7</sup>.

Alguns fatores etiológicos, tanto químicos quanto físicos estão relacionados ao desenvolvimento do CEO, tais como o uso freqüente de tabaco, álcool e exposição prolongada ao sol. O perfil clássico relatado na literatura para portador de CEO, é aquele de um paciente do sexo masculino, acima de 40 anos, consumidor de tabaco e álcool e/ou trabalhador exposto ao sol (considerando-se o câncer de lábio inferior). Porém, alguns pacientes fogem a esse perfil; principalmente os pacientes jovens, não-eticistas e não-tabagistas. Nesses pacientes o curso clínico da doença é bem mais agressivo. Fatores intrínsecos, tais como imunossupressão, deficiências nutricionais e influência genética também são sugeridos<sup>3,8-10</sup>, e embora o tabaco seja um fator etiológico bem estabelecido na carcinogênese oral, apenas um reduzido número de usuários desenvolve o câncer, como também é notada sua ocorrência entre não-usuários do tabaco e álcool. Isso sugere que outros fatores exercem algum papel no desenvolvimento deste tipo de câncer<sup>11</sup>.

Nas últimas décadas, os agentes biológicos, especialmente o Papilomavírus Humano (HPV), vêm sendo implicado também na etiologia dessa neoplasia. Por isso numerosos estudos têm sido realizados na tentativa de se estabelecer uma fiel correlação entre este vírus e o CEO<sup>12-14</sup>. Outros vírus, tais como Vírus Herpes Simples (HSV), o retrovírus e o adenovírus, já foram sugeridos como possíveis agentes no desenvolvimento dos carcinomas orais. O HPV, porém, é o único ainda associado não apenas no câncer de boca, mas também nos carcinomas das tonsilas faríngeas, laringe, esôfago, colo uterino, vulva e pênis. Os subtipos de HPV-16, 18, 31 e 33 são os mais fortemente associados à displasia e ao carcinoma epidermóide<sup>9,15-17</sup>.

No carcinoma de cérvix uterina, a participação do HPV já está bem mais estabelecida, pois a literatura aponta para uma relação de mais de 90% desses tumores com o vírus; na carcinogênese oral, porém, os resultados dos estudos realizados para detecção do vírus são ainda discrepantes e inconclusivos, pois os índices de infecção descritos na literatura variam de 0 a 100% em lesões potencialmente malignas e no câncer oral, o que, segundo alguns autores, essa variação decorre provavelmente em função da população estudada, tamanho da amostra e sensibilidade das técnicas empregadas<sup>18-21</sup>.

O presente trabalho traz como objetivo promover uma revisão da literatura pertinente sobre o Papilomavírus Humano na carcinogênese, enfocando o papel desse vírus no câncer oral.

## Revisão de literatura

### HPV

Os HPVs são vírus ubíquos, de DNA circular de fita dupla, não envelopados, com cerca de 8000 pares de bases e medindo 55 nm de diâmetro. São vírus epiteliotrópicos, e naqueles epitélios estratificados, tais como o oral, a proliferação ocorre apenas na camada basal<sup>22</sup>.

Os HPVs dependem do meio de diferenciação terminal dos ceratinócitos para o seu completo ciclo produtivo, com replicação, síntese do capsídeo e montagem do vírus<sup>23</sup>. Portanto, a replicação do HPV está associada à diferenciação epitelial. Esse vírus tem um forte tropismo pelo epitélio de mucosa, podendo ser adquirido por transmissão sexual. A maioria das infecções por HPV é produto de uma inoculação de um sítio genital ou oral para outro<sup>24-26</sup>.

O genoma do HPV pode ser dividido em três regiões: uma região longa de controle (LCR) e as regiões precoce (E) e tardia (L). A região E compreende cerca de 45% do genoma viral e subdivide-se em E1, E2, E4, E5, E6 e E7, expressas logo após a infecção e codificam principalmente proteínas relacionadas à conservação do genoma, replicação do DNA e ativação do ciclo lítico. A região L subdivide-se em duas (L1 e L2), representando aproximadamente 40% do genoma, sendo expressa em estágios posteriores da infecção e codificam proteínas estruturais relacionadas ao capsídeo viral<sup>17,23,26</sup>. Do ponto de vista da transformação celular, as regiões E5, E6 e E7 são as de maior importância<sup>27,28</sup>. A LCR, também conhecida como região não codante (NCR), situa-se entre o fim de L1 e o começo de E6. Esta região contém muitas seqüências regulatórias *cis* que controlam a transcrição e a replicação viral. Acredita-se que as LCRs são alvo direto de um mecanismo regulatório intracelular. A perda desse mecanismo intracelular de inspeção contribui na progressão para a malignidade, correlacionando-se com a abundante expressão gênica viral<sup>17</sup>.

Nas células da camada basal, a replicação do DNA é baixa e somente genes precoces são transcritos, também em baixos níveis. Extensa multiplicação do DNA viral e transcrição de todos os genes, bem como formação do capsídeo ocorrem somente nas células mais superficiais do epitélio<sup>26</sup>. Portanto, partículas virais maduras (com capsídeo) estão ausentes nas células basais<sup>29</sup>.

Decorrente do estímulo proliferativo nestas células epiteliais, o HPV pode induzir lesões hiperplásicas, verrucosas e papilomatosas no epitélio pavimentoso estratificado da pele e mucosas, inclusive na mucosa oral<sup>9</sup>. O DNA do HPV replica-se na forma episomal (não-integrada) em lesões benignas e pré-invasivas, porém em muitos cânceres o genoma do vírus está integrado ao DNA celular<sup>26</sup>.

Mais de 100 tipos de HPV têm sido identificados em várias lesões<sup>30</sup>. De acordo com o potencial de risco de

desenvolvimento de neoplasias malignas, a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer, em 1997, classificou os HPV 16 e 18 como carcinogênicos em humanos (Grupo 1), HPV 31 e 33 como provavelmente carcinogênicos em humanos (Grupo 2A) e alguns dos tipos remanescente de HPV como possivelmente carcinogênicos (Grupo 2B)<sup>24</sup>. Outra classificação, amplamente usada, é quanto ao potencial de malignidade, que classifica esses vírus em tipos de baixo risco, intermediário e alto risco de malignidade<sup>30</sup>. Dos tipos identificados, vinte e quatro estão relacionados a lesões orais (HPV-1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 30, 31, 32, 33, 35, 45, 52, 55, 57, 59, 69, 72 e 73), sendo que os principais subtipos fortemente associados à carcinogênese são o HPV-16 e o 18 e por isso são chamados de alto risco ou oncogênicos<sup>4,23</sup>.

#### *HPV e carcinogênese*

Inicialmente, o HPV infecta ceratinócitos basais, penetrando via mucosa lesada após ganhar acesso via corte ou abrasão da mucosa ou devido a algum trauma, o que pode ocorrer, por exemplo, durante o intercuro sexual. Os vírus lesam as células do hospedeiro ao entrarem nestas, e se replicam às suas custas. O tropismo viral é, em parte, causado pela ligação de proteínas específicas da superfície viral a determinadas proteínas receptoras da superfície celular do hospedeiro. É ainda controversa a natureza desses receptores de superfície que permitem a ligação inicial do vírus à célula, embora alguns estudos proponham a presença do sulfato de heparina. Tem sido sugerido também que a internalização dos vírions é um processo lento que ocorre através de endocitose com a formação de vesículas revestidas com clatrina<sup>31,32</sup>.

Os estudos para detecção da presença do HPV em mucosa oral normal revelam que este vírus parece infectar persistente ou freqüentemente a boca, inclusive em crianças e adolescentes. Os índices de detecção também variam principalmente de acordo com a população estudada e com a sensibilidade dos métodos empregados, sendo os principais tipos de HPV encontrados, os HPV-16 e 18<sup>13,33-35</sup>.

Tem-se, portanto que a detecção do DNA do HPV é evidência insuficiente para o estabelecimento de uma relação causal no CEO; a infecção pode ser focal e transitória. Deve haver a evidência de semelhança clonal entre o HPV e as células tumorais, como acontece quando da integração dentro do genoma da célula hospedeira, contradizendo a possibilidade do HPV ser um mero invasor secundário, e sugerindo assim a sua forte relação como agente causal na carcinogênese<sup>23</sup>. Nas verrugas benignas e lesões pré-neoplásicas, o genoma do HPV é mantido numa forma epissômica, ao passo que nos cânceres, o DNA viral é geralmente integrado ao genoma da célula hospedeira. Isso sugere que a integração do DNA é importante na transformação maligna<sup>36,37</sup>.

Há uma maior prevalência do HPV, principalmente o HPV-16, em hiperkeratoses ou lesões potencialmente malignas do que em epitélio oral normal ou mesmo nos epitélios malignos. Isso sugere que os HPV provavelmente atuem como iniciadores da proliferação epitelial ou desempenhem um papel nos estágios iniciais da carcinogênese, mas não sejam essenciais para progressão e manutenção do estado de malignidade. Corroborando com isso, têm sido observados alguns casos onde o HPV foi encontrado no sítio primário da doença, porém ele não fora encontrado nos depósitos metastáticos<sup>13</sup>.

Estudos com DNA de HPV oncogênicos têm identificado uma atividade transformante para certos genes precoces, principalmente os oncogenes E6 e E7. Estes genes codificam proteínas que interferem na regulação do ciclo celular<sup>28,38</sup>.

A proteína E6 é um polipeptídeo de 150 aminoácidos aproximadamente, que se liga à proteína supressora de tumor p53. Uma vez estabelecida a ligação, a proteína E6 estimula a degradação da p53 pelo caminho ubiquitina-dependente, o que leva esta última a níveis muito baixos em vários tumores humanos, fazendo com que as células destes tumores falhem na parada do ciclo celular em G1, seguindo-se então o dano no DNA celular. Logo, se outra proteína supressora de tumor (como a pRb, por exemplo), não compensar a reduzida atividade da p53, a transformação celular pode de fato ocorrer<sup>24,27,28</sup>.

Outros mecanismos nesse processo também são atribuídos à proteína E6. Em adição à interação com a p53, a E6 inibe a apoptose através de uma interação e até degradação da proteína Bak, uma proteína pró-apoptótica expressa em altos níveis nas camadas superiores do epitélio diferenciado<sup>39</sup>. Sugere-se ainda que a E6 também contribua para imortalização dos ceratinócitos, por regular positivamente a atividade da telomerase<sup>24,29</sup>.

A proteína E7 é um pequeno polipeptídeo, com cerca de 100 aminoácidos. Tem meia-vida curta e é rapidamente degradada por um mecanismo envolvendo a conjugação de ubiquitina no domínio amino terminal<sup>27,38</sup>. Ela encontra-se no citoplasma, apesar de exercer sua atividade biológica no núcleo. A participação desta proteína na oncogênese induzida por HPV deriva-se da sua capacidade de ligar-se a pRb. Ela liga-se preferencialmente à pRb hipofosforilada, como resultado, ativa os fatores de transcrição E2F, que são liberados da pRb. Esses fatores induzem a transcrição de genes importantes no controle da divisão celular por promover a progressão do ciclo celular, atuando nas fases G1 e S<sup>24,26,40</sup>.

Proteínas E7 dos HPV de alto e baixo riscos são completamente similares na composição de aminoácidos e organização estrutural, diferindo no seu potencial de transformação e em outras propriedades bioquímicas. As proteínas E7 dos HPV de alto risco formam complexos de alta afinidade com várias proteínas celulares do hospedeiro, incluindo a pRb, enquanto aquelas dos HPV de baixo risco ligam-se com baixa

afinidade. O complexo E7-pRb é detectado em ceratinócitos humanos transformados, apesar do mesmo não ser considerado essencial para imortalização dessas células<sup>26,29</sup>.

O gene E5 do HPV também tem sido implicado na indução da transformação em células epiteliais, possivelmente aumentando a transdução de sinal intracelular mediado por fatores de crescimento. A proteína E5 é uma pequena proteína hidrofóbica que se liga à membrana plasmática e age sinergicamente principalmente com o fator de crescimento epidérmico (EGF) na estimulação da proliferação celular. Em células expressando E5, o *turnover* e a fosforilação dos receptores de EGF estão aumentados, possivelmente levando ao aumento da resposta<sup>23,24,27</sup>.

A importância dos genes E1 e E2 no processo de transformação maligna tem sido investigada, estando principalmente relacionada ao estado físico viral, se integrado ou episomal. O gene E2 codifica 3 proteínas (E2TA, E2TR e E8/E2TR), que, juntamente com a proteína E1, codificada pelo gene E1, são responsáveis pela transcrição dos outros genes virais, inclusive E6 e E7. A ruptura de E2, resultante do processo de integração viral, aumenta os níveis de transcritos de E6 e E7<sup>23,37,41</sup>.

#### Métodos de detecção do HPV

Os estudos para detecção da presença do HPV em mucosa oral normal são controversos; alguns observaram ausência ou baixa prevalência do vírus, enquanto outros revelam que este vírus parece infectar persistente ou freqüentemente a boca, inclusive em crianças e adolescentes, funcionando como um reservatório para novas infecções virais e/ou fonte de lesões recorrentes<sup>13,18,19,35</sup>.

Os principais métodos de detecção do HPV e seus transcritos incluem a imuno-histoquímica, hibridizações *Southern blot*, *Northern blot*, *dot blot* e *in situ*, reação em cadeia da polimerase (PCR), captura híbrida, dentre outros<sup>26</sup>.

A imuno-histoquímica pode ser realizada em material congelado, em material parafinado fixado por formol e ainda em esfregaços citológicos. Ela identifica antígenos estruturais do HPV, mas não exprime informação útil sobre os vários tipos deste. Anticorpos para a proteína do capsídeo codificada pelo gene L1 são os mais usados. Utilizando esse método, Tinoco et al.<sup>42</sup> detectaram a presença do HPV em 42,5% dos casos de carcinoma oral por eles estudados. A desvantagem deste método é que eventuais resultados falso-negativos podem ocorrer, nos quais a proteína estrutural não é detectada (o que acontece muitas vezes em células menos diferenciadas), persistindo, entretanto o DNA viral<sup>15,42</sup>.

As hibridizações *Southern blot*, *Northern blot*, *dot blot* são consideradas de moderada sensibilidade, e a hibridização *Southern blot* é o padrão de análise do genoma do HPV, muito valiosa por oferecer informações como a subtipagem viral<sup>16</sup>.

A PCR tem sido considerada a técnica mais apropriada para detecção do DNA viral, pois é o método mais sensível e capaz de amplificar exponencialmente genomas de HPV.

Pode também ser usado em tecido parafinado, embora a fixação do tecido, dependendo do tempo e do fixador utilizado, possa degradar o DNA prejudicando sua amplificação<sup>43</sup>.

Embora a PCR seja o método mais sensível para detecção da infecção por HPV, ele ainda produz resultados variados nas pesquisas, com índices de prevalência variando de 0 a 100%. A diferença pode ser devida principalmente a dois fatores: primeiramente, pode haver diferenças inerentes às populações-alvo estudadas e segundo, a escolha dos *primers* utilizados para amplificação pode afetar a detecção do HPV<sup>18,34</sup>.

Outro método de alta sensibilidade é a captura híbrida. Vidal et al.<sup>44</sup> estudaram a presença do DNA de HPV em CEO através do referido método, em amostras colhidas pela citologia esfoliativa bucal de 40 pacientes: verificaram que 9 (22,5%) foram positivas para HPV de alto e baixo risco, uma (2,5%) foi positiva apenas para HPV de alto risco e também uma (2,5%) foi positiva apenas para HPV de baixo risco. Vinte e nove amostras (72,5%) foram negativas para o HPV.

Ademais, a utilização da hibridização *in situ* (HIS) na detecção de HPV é controversa, pois esta reação sempre foi considerada uma metodologia de baixa sensibilidade quando comparada a métodos mais específicos como a PCR. Tem, entretanto, a vantagem de permitir a demonstração da informação genética dentro de seu contexto morfológico e com grande aplicabilidade em materiais fixados e parafinados. O aperfeiçoamento da técnica (sondas biotinizadas, amplificação *genpoint*) tem tornado este método mais sensível à detecção de HPV<sup>12</sup>.

#### Conclusão

A real participação do HPV na etiologia do Carcinoma Epidermóide Oral é, até agora, especulativa. Tanto sua presença, verificada por métodos bastante sensíveis, quanto suas propriedades transformantes relacionadas à indução da proliferação celular nas lesões sediadas neste sítio anatômico são observadas consistentemente na literatura, mas os resultados ainda são controversos, o que reforça a necessidade de que mais estudos nesta área do conhecimento sejam realizados na busca de um melhor entendimento do papel biológico do HPV nesta lesão.

#### Referências

1. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Câncer de boca [citado 2006 Abril 18]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>.
2. Moore SR, Johnson NW, Pierce AM, Wilson DF. The epidemiology of mouth cancer: a review of global incidence. *Oral Dis.* 2000;6:65-74.
3. Nagpal JK, Bibhu RD. Oral cancer: reviewing the present understanding of its molecular mechanism and exploring the future directions for its effective management. *Oral Oncol.* 2003;39:213-21.

4. Scully C. Oral cancer; evidence for sexual transmission. *Br Dent J.* 2005;199:203-7.
5. Souza A, Stevax OM, Santos GG, Marcucci G. Epidemiologia do carcinoma epidermóide da mucosa bucal – contribuição ao estudo sobre três variáveis: sexo, faixa etária e raça. *Rev Odonto Univid.* 1996;8:127-34.
6. Landis HS, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics 1999. *CA Cancer J Clin.* 1999;49(1):8-31.
7. Silverman Jr S, Sugeran PB. Oral premalignancies and squamous cell carcinoma. *Clin Dermatol.* 2000;18:536-8.
8. Bungaard T, Bentzen SM, Seggaard H. Histological differentiation of oral squamous cell cancer in relation to tobacco smoking. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1995;31B:118-21.
9. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Patologia epitelial. In: Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia oral & maxilofacial.* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 303-72.
10. Wight AJ, Ogden GR. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer – a review. *Oral Oncol.* 1998;34:441-7.
11. Miller CS, Johnstone BM. Human papillomavirus as a risk for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982-1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:622-35.
12. Soares CP, Malavazi I, Reis RI, Neves KA, Zuanon JAS, Benatii Neto C, et al. Presença do papilomavírus humano em lesões malignas de mucosa oral. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002;35:439-44.
13. Sugiyama M, Bhawal UK, Dohmen T, Dohmen T, Ono S, Miyauchen M, et al. Detection of human papillomavirus-16 and HPV-18 in normal, dysplastic, and malignant oral epithelium. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95:594-600.
14. Wight AJ, Ogden GR. Possible mechanisms by which alcohol may influence the development of oral cancer – a review. *Oral Oncol.* 1998;34:441-7.
15. Azzimonti B, Hertel L, Aluffi P, Pia F, Monga G, Zocchi M, et al. Demonstration of multiple HPV types in laryngeal premalignant lesions using polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *J Med Virol.* 1999;59:110-6.
16. Oliveira MC, Andrade MC, Soares RC, Costa ALL. Aspectos morfológicos que sugerem a presença do papilomavírus humano (HPV) em lesões do epitélio de revestimento da mucosa oral. *Rev Bras Patol Oral.* 2003;2(2):34-43.
17. Zur Hausen H. Papillomavirus infection- a major cause of human cancers. *Bioch Biophys Acta.* 1996;1288:F55-F78.
18. Bouda M, Gorgoulis VG, Kastrinakis NG, Giannoudi SA, Tsoi E, Danassi-Afentaki D, et al. “High risk” HPV type are frequently detected in potentially malignant and a malignant oral lesions, but not in normal oral mucosa. *Mod Pathol.* 2000;13:644-53.
19. Giovannelli L, Campisi G, Lama A, Giambalvo O, Osborn J, Margiotta V, Ammatuna P. Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions. *J Infect Dis.* 2002;185:833-6.
20. Syrjänen S. Human papilomavírus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol.* 2005;32S:S59-S66.
21. Tang X, Jia L, Ouyang J, Takagi M. Comparative study of HPV prevalence in Japanese and North-east Chinese Oral Carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2003;32:393-8.
22. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biologia molecular da célula.* 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2004.
23. Scully C. Oral squamous cell carcinoma: from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. *Oral Oncol.* 2002;38:227-34.
24. Sugeran PB, Shillitoe EJ. The high risk human papillomaviruses and oral câncer; evidence for and against a causal relationship. *Oral Dis.* 1997;3:130-47.
25. Summersgill KF, Smith EM, Levy BT, Kirchner L, Hausen TH, Turek LP. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:62-9.
26. Terai M, Takagi M. Human papillomavirus in the oral cavity. *J Oral Med Pathol.* 2001;6:1-12.
27. Villa LL. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Adv Canc Res.* 1997;71:321-41.
28. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Canc Inst.* 2000;92:690-8.
29. McMurray HR, Nguyen D, Westbrook TF, McAnce DJ. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Pathol.* 2001;82:15-33.
30. De Villiers EM. Heterogeneity of the human papillomavirus group. *J Virol.* 1989;63: 4898-903.
31. Culp TD, Christensen ND. Kinetics of in vitro adsorption and entry of papillomavirus virions. *Virology.* 2004;319:125-61.
32. Giroglou T, Florin L, Schafer F, Streck RE, Sapp M. Human papillomavirus infection requires cell surfaces heparin sulfate. *J Virol.* 2001;75:1565-70.
33. Kojima A, Maeda H, Kurahashi N, Tanaka S, Kameyama Y. Human papillomaviruses in the normal oral cavity of children in Japan. *Oral Oncol.* 2003;39:821-8.
34. Terai M, Takagi M, Matsukura T, Sata T. Oral wart associated with human papillomavirus type 2. *J Oral Pathol Med.* 1999;28:137-40.
35. Zhang ZY, Sdek P, Cao J, Chen WT. Human papillomavirus type 16 and 18 in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;33:71-4.

36. Kumar V, Abbas AK, Fausto, N. Robbins e Cotran. Patologia – bases patológicas das doenças. 7<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 281-356.
37. Soares CP. Papilomavírus humano (HPV) – um estudo de revisão. *Rev Ciênc Farm.* 1999;20:11-34.
38. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol.* 2005;32S: S7-S15.
39. Thomson CB. Apoptosis in the patogenesis and treatment of diseases. *Science.* 1995;267:1456-62.
40. Weinberg RA. E2F and cell proliferation: a world turned upside down. *Cell.* 1996;85:457-9.
41. Major T, Szarka K, Sziklai I, Gergely L, Czegledy J. The characteristics of human papilomavírus DNA in head and neck cancers and papillomas. *J Clin Pathol.* 2005;58:51-5
42. Tinoco JA, Silva AF, Oliveira CAB, Rapoport A, Fava AS, Souza RP. Correlação da infecção viral pelo papilomavirus humano com as lesões papilomatosas e o carcinoma epidermóide na boca e orofaringe. *Rev Assoc Med Bras.* 2004;50:252-6.
43. Fernandes JV, Meissner RV, Fernandes TAAM, Rocha LRM, Cabral MC, Villa LL. Comparação de três protocolos de extração de DNA a partir de tecido fixado em formol e incluído em parafina. *J Bras Patol Med Lab.* 2004;40:141-6.
44. Vidal AKL, Caldas Júnior AF, Mello RJV, Brandao VRA, Rocha GI, Taromaru E. HPV detections in oral carcinomas. *J Bras Patol Med Lab.* 2004;40:21-6.