

A Importância da Infecção por HPV nos Tumores da Orofaringe

Ricardo Miguel Carvalho Rodrigues

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutora Rafaela Veloso Teles

maio de 2020

Agradecimentos

À Prof. Doutora Rafaela Veloso Teles pela orientação e por toda a disponibilidade, paciência, apoio e rigor na realização desta dissertação. Aos meus pais e irmãos pela motivação, que mesmo à distância, me deram para superar todos os obstáculos. A todos aqueles que marcaram a minha passagem pela Covilhã e me deram forças, todos os dias, para terminar o curso de Medicina da melhor forma. Aos meus amigos. À Carolina.

Resumo

Introdução: O Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe (CCEO) é o tumor da cabeça e pescoço mais comum atualmente e aquele com maior aumento de incidência nos últimos 30 anos, apesar da redução na prevalência dos hábitos tabágicos. A infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV), em particular pelos tipos de alto risco (HPV 16 e 18), é hoje reconhecida como fator etiológico dos CCEO HPV positivos (+). O aumento deste tipo de tumor parece relacionar-se com mudanças nos comportamentos sexuais ao longo dos anos, destacando-se a prática de sexo oral. Os CCEO HPV (+) apresentam características que divergem dos CCEO HPV negativos (-) e que podem ter impacto a nível de tratamento, prevenção e terapêutica dirigida.

Objetivo: Analisar a evidência científica atual acerca dos CCEO HPV (+), diferenciando-os dos CCEO HPV (-) em termos epidemiológicos, clínicos, biológicos, de tratamento e prognóstico. Pretende-se também, avaliar os fatores de risco que levam à infecção e à carcinogênese pelo HPV, os principais métodos de detecção do HPV nos CCEO e possíveis métodos de rastreio e prevenção da doença.

Métodos: Para a realização desta dissertação foi realizada pesquisa bibliográfica e efetuada revisão de literatura científica através da utilização das plataformas PubMed, UpToDate, bem como a utilização de outras plataformas de interesse como o CDC, NCCN e DGS.

Resultados: Dos fatores de risco que contribuem para a carcinogênese causada pelo HPV na orofaringe, destacam-se: o sexo masculino, o maior número de parceiros sexuais e o tabagismo. Os CCEO HPV (+), geralmente, respondem melhor ao tratamento do que os CCEO HPV (-), tendo assim melhor prognóstico. O teste para detecção do HPV deve ser feito em todos os CCEO. Este permitirá tratamentos menos agressivos em CCEO HPV (+). As principais técnicas de rastreio analisadas têm como premissa ser pouco invasivas e algumas mostram-se promissoras.

Discussão/Conclusão: Tendo em conta os dados obtidos, é extremamente importante conhecer o status HPV dos doentes com CCEO de forma a realizar o estadiamento adequado, perceber o seu prognóstico e adequar o tratamento. Entende-se a necessidade de encontrar uma técnica adequada de rastreio, não só devido ao grande aumento dos CCEO atualmente, mas também para prevenir o diagnóstico em estadios avançados do tumor. Apesar de ser importante a introdução da vacina HPV no sexo masculino, esta não terá efeitos imediatos.

Palavras-chave

“tumor da orofaringe”; “infecção oral por HPV”; “epidemiologia”; “fatores de risco”; “rastreamento HPV na orofaringe”.

Abstract

Introduction: Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma (CCEO) is the most common head and neck cancer nowadays and the one with the highest incidence rates in the last 30 years, despite the reduction in the prevalence of smoking habits. Human Papilloma Virus (HPV) infection, in particular by high-risk HPV types 16 and 18, is now recognized as an etiological factor of HPV positive (+) CCEO. The increase in this type of tumour seems to be related to the change in sexual behaviours over the years, with emphasis on the practice of oral sex. HPV positive (+) CCEO have characteristics that differ from HPV negative (-) CCEO and which can have an impact in terms of treatment, prevention and targeted therapy.

Goals: Analyse the current scientific evidence about CCEO HPV (+), differentiating them from CCEO HPV (-) in epidemiological, clinical, biological, treatment and prognostic terms. It is also intended to assess the risk factors that lead to HPV infection and carcinogenesis, the main methods of detecting HPV in the CCEO and possible methods of screening and preventing the disease.

Methods: A bibliographic search and a review of the scientific literature were carried out using the PubMed, UpToDate platforms, as well as the use of other platforms of interest such as the CDC, NCCN and DGS.

Results: Among the risk factors that contribute to the HPV carcinogenesis in the oropharynx, the following stand out: the male sex, the largest number of sexual partners, and smoking. CCEO HPV (+) generally respond better to treatment than CCEO HPV (-), thus having a better prognosis. The HPV detection test should be done at all CCEO. This HPV detection will allow de-escalation in treatments of CCEO HPV (+). The main screening techniques analysed are premised on being less invasive and some show promise.

Discussion/Conclusion: Considering the collected data, it is extremely important to know the HPV status of patients with CCEO in order to perform the proper staging, understand their prognosis and adapt the treatment according to the result. It is understood the need to find an appropriate screening technique, not only due to the large increase in CCEO currently, but also to prevent the diagnosis in advanced stages of the tumour. Although it is important to introduce the HPV vaccine in men, it will not have immediate effects.

Keywords

“oropharynx cancer”;“oral HPV infection”;“epidemiology”;“risk factors”;“HPV oropharynx screening”

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Palavras-chave	vii
Abstract.....	ix
Keywords	xi
Índice	xiii
Lista de Figuras.....	xv
Lista de Tabelas	xvii
Lista de Siglas e Acrónimos	xix
1. Introdução	1
1.1 Fisiopatologia da infecção por HPV e carcinogénese.....	2
1.2 Epidemiologia	2
1.2.1 Infecção oral por HPV e Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe	2
1.2.2 Distribuição de tumores atribuíveis ao HPV.....	4
1.2.3 Custos associados à doença.....	5
2. Objetivos	7
3. Material e Métodos	9
4. Resultados.....	11
4.1 Fatores de Risco	11
4.1.1 Fatores de risco para infecção	11
4.1.2 Fatores de risco para carcinogénese.....	11
4.2 Fatores protetores.....	12
4.3 Diagnóstico, estadiamento e tratamento	12
4.3.1 Diagnóstico.....	12
4.3.2 Estadiamento.....	14
4.3.3 Tratamento	17
4.3.4 Efeitos secundários ao tratamento	18
4.4 Prognóstico	19
4.5 Prevenção.....	20
4.5.1 Alterações do estilo de vida	21
4.5.2 Vacinação	21
4.6 Rastreio	23
4.6.1 Ferramenta de avaliação de risco.....	24
4.6.2 Serologia de HPV	25
4.6.3 Ecografia cervical.....	25

4.6.4	Visualização da mucosa por métodos endoscópicos	25
4.6.5	Imagiologia induzida por laser	26
4.6.6	Rastreio de cell-free DNA (cfDNA)	26
4.6.7	Rastreio de DNA HPV na saliva	27
5.	Discussão e Conclusão	29
6.	Referências Bibliográficas	33

Lista de Figuras

Figura 1- Distribuição do número de novos casos anuais de tumores associados ao HPV em mulheres e homens.	4
Figura 2 - Gráfico referente ao número anual estimado de tumores HPV positivos, distribuído por sexo, tipo de tumor e genótipo de HPV	5
Figura 3 - Algoritmo de detecção de HPV em CCEO	30

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Demografia e Características Clínicas dos CCEO	13
Tabela 2 - Classificação clínica e patológica dos CCEO p16 (+).	15
Tabela 3 - Classificação N clínica e patológica dos CCEO p16 (+).....	16
Tabela 4 - Classificação M dos CCEO p16 (+).....	16

Lista de Siglas e Acrónimos

- AJCC - American Joint Committee on Cancer
- CCE – Carcinoma de Células Escamosas
- CCEO – Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe
- CDC- Centers for Disease Control and Prevention
- DGS - Direção Geral de Saúde
- DNA- Deoxyribonucleic Acid
- DNA HIS - hibridização in situ de DNA
- EUA – Estados Unidos da América
- HLA - Antígeno leucocitário humano
- HPV - Vírus do Papiloma Humano
- IHQ - Imunohistoquímica
- NBI – Narrow Band Imaging
- NCCN - National Comprehensive Cancer Network
- PCR – Polymerase Chain Reaction
- pRb – Proteína do Retinoblastoma
- QT - Quimioterapia
- RT - Radioterapia
- UICC - Union for International Cancer Control

1. Introdução

O carcinoma de células escamosas da orofaringe (CCEO) é o tumor da cabeça e pescoço mais frequentemente diagnosticado no mundo ocidental (1). Historicamente, o tabaco e o álcool foram as principais causas do carcinoma da orofaringe, no entanto na última década e meia, o HPV oncogénico emergiu como um agente causador de doença bastante reconhecido (2). Além disso, com a diminuição na incidência do tabagismo e do carcinoma da orofaringe relacionado com o tabaco, houve um aumento simultâneo na incidência deste tumor causado por HPV, quase para proporções epidémicas (3).

O CCEO relacionado com o HPV e aquele que é relacionado com o tabaco diferem nos perfis moleculares e genéticos subjacentes, na demografia socioeconómica e na resposta ao tratamento. O CCEO HPV positivo (+) tende a ocorrer em doentes mais jovens e tem uma resposta significativamente melhor ao tratamento (4).

O HPV é um vírus DNA com predileção por células escamosas da mucosa (5) e é o responsável pela infeção mais frequentemente transmitida por via sexual, e por esta razão uma grande parte dos indivíduos sexualmente ativos estão ou serão infetados por este vírus acidentalmente. Os tipos de HPV de alto risco, onde se incluem os subtipos 16 e 18, são os principais causadores de tumores na orofaringe (6). A orofaringe é constituída pelo palato mole, base da língua, amígdalas palatinas, valécula e a parede posterior da faringe, sendo que, o tumor da orofaringe se desenvolve mais comumente nas amígdalas e na base da língua (7). Como a incidência de CCEO HPV positivo (+) está a aumentar rapidamente, é importante implementar os métodos de deteção de HPV clinicamente válidos para classificar corretamente o CCEO HPV (+) e descartar tumores em que a infeção por HPV é transitória e não-participante na carcinogénese, ou CCEO não relacionados com o HPV. Isto é importante, já que atualmente estão disponíveis tratamentos menos agressivos para CCEO HPV (+) e que podem evitar a toxicidade a longo prazo em doentes jovens com um prognóstico potencialmente melhor (8).

É necessário enfatizar que a melhor estratégia para combater o cancro é a prevenção, principalmente quando o agente carcinogénico é conhecido e identificável e a principal ferramenta de prevenção, a vacina contra o HPV, está disponível (8). Assim, em resposta à epidemia emergente de CCEO relacionados com o HPV, à morbidade e aos custos associados ao tratamento destes tumores, tem-se promovido a sensibilização para a prevenção e deteção precoce da doença (9). Como a infeção por HPV oncogénico é o que predispõe ao aparecimento de lesões malignas, o facto de identificarmos a infeção por HPV oncogénico em pessoas com comportamentos de risco pode permitir encontrar lesões pré-malignas e desta forma, fazer um rastreio eficaz nos indivíduos com maior risco de estar infetados e desenvolver um CCEO (10).

1.1 Fisiopatologia da infecção por HPV e carcinogénese

O HPV é um vírus DNA de cadeia dupla que tem predileção pelo epitélio de células escamosas (9). Os carcinomas de células escamosas da orofaringe ocorrem principalmente nas amígdalas palatinas e nas amígdalas linguais situadas na base da língua. Isto acontece, pois, a superfície destas estruturas tem uma conformação única para esta localização anatómica da cabeça e pescoço e pode ser a razão pela qual se estima que a infecção por HPV seja cinco vezes maior nesta região, quando comparada com a laringe, cavidade oral e hipofaringe (6,9). Nesta região o epitélio é reticulado com criptas, aumentando não só a sua área em 700%, mas também permitindo a possibilidade de penetração do vírus HPV nas amígdalas, sem que seja necessária a existência de trauma na superfície. O vírus penetra até às células da membrana basal, onde se aloja e exerce o seu efeito. Ali são produzidas as proteínas virais, as oncoproteínas E6 e E7 do HPV que se ligam e inibem as proteínas supressoras de tumor, p53 e pRb, inibindo-se desta forma a apoptose. Assim, estas células mutadas da membrana basal irão diferenciar-se em células carcinogénicas que ascendem até ao epitélio. Esta infecção passa despercebida e sem sintomas no hospedeiro, formando-se assim um tumor primário dentro das amígdalas, não detetável à observação clínica em fase inicial (6). A mucosa escamosa do anel linfático de Waldeyer é única na sua estrutura, já que está intimamente associada ao tecido linfático subjacente (11). A membrana basal intermediária é porosa para permitir a migração de linfócitos em circunstâncias normais, como parte do mecanismo de defesa do corpo. Assim, os carcinomas em desenvolvimento neste local podem desenvolver metástases sem que haja uma rutura histologicamente detetável da membrana basal (12,13). Consequentemente, o conceito de carcinoma *in situ* não é aplicável ao CCEO HPV (+) (14).

1.2 Epidemiologia

1.2.1 Infecção oral por HPV e Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe

Num artigo publicado no *Journal of the American Medical Association*, por Gillison et al.(15), os autores concluíram que a prevalência de infecção oral por HPV na população geral é de 6,9% nos Estados Unidos da América (EUA), sendo maior em homens do que em mulheres. Destes, a prevalência de HPV de alto risco oncogénico é de cerca de 3,7% e de baixo risco é de 3,1%. O tipo de HPV mais prevalente é o 16 representando 1% dos casos de infecção. A prevalência de infecção por HPV descreve-se numa distribuição bimodal de idades, nos homens, com o primeiro pico de indivíduos infetados entre os 30 e os 34 anos e o segundo pico entre os 60 e os 64 anos de idade. O segundo pico não se

explica pelo comportamento sexual dos indivíduos, podendo ser explicado por uma combinação de aumento da incidência, reativação de uma infecção latente derivada da imunodepressão relacionada com a idade (16), diferenças no comportamento sexual em diferentes coortes (17) ou persistência aumentada em indivíduos mais velhos (18). A prevalência é maior entre fumadores e indivíduos com elevado consumo de álcool, aumentando de acordo com a intensidade do consumo destes dois fatores, tal como de fumadores atuais e prévios de marijuana. Um em cada cinco indivíduos com mais de 20 parceiros sexuais estão infetados, sendo que a prevalência é maior naqueles que realizaram o seu primeiro ato de sexo oral antes dos 18 anos. A associação entre tabagismo e a presença de infecção oral por HPV foi também reportada como sendo maior em mulheres do que em homens. Gillison et al., verificaram uma maior prevalência de HPV de baixo risco oncogénico em caucasianos, relativamente a pessoas de raça negra. Além disso, foi descrita uma associação mais significativa entre o número de parceiros sexuais e a infecção por HPV de alto risco oncogénico, do que para HPV de baixo risco. Independentemente do sexo, a prevalência de CCEO é maior entre os 50 e os 64 anos de idade. A infecção por HPV é predominantemente transmitida por via sexual, sendo pouco comum em indivíduos que nunca tiveram atividade sexual e bastante mais comum naqueles já experienciados. Os autores referem também que a transmissão casual, não sexual, é pouco frequente (15).

De todos os tumores da cabeça e pescoço existentes, o único cuja incidência tem vindo a aumentar nos últimos 30 anos é o CCEO associado ao HPV, tendo havido um incremento drástico deste tipo de tumor que se tornou, segundo uma base de dados do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), o mais comum relacionado com o HPV. Passou-se de 16% de tumores HPV positivos na orofaringe em 1980 para 73% no ano 2000. A incidência destes tumores nos homens duplicou nos últimos 20 anos (6,10).

Apesar de existir alguma controvérsia, os últimos dados publicados sugerem que, comparativamente com os doentes com tumores da orofaringe HPV negativos, os doentes com tumores da orofaringe HPV positivos tendem a ter um nível de escolaridade superior e maior rendimento salarial (19).

O HPV-16 é o principal causador de malignidade na orofaringe, tal como nos outros locais onde este vírus tem a sua ação (6).

Atualmente, dada a falta de um método de rastreio eficaz e de tratamento para infeções por HPV de alto risco, é esperado que a prevalência de infeções crónicas e persistentes aumentem com a idade (15).

A mudança nos comportamentos sexuais que predispõem à exposição ao HPV (sexo oral) estão presentes em cerca de 80% da população e cerca de 90% das infeções são adquiridas sexualmente (9,10). No entanto, apenas 1% das infeções por HPV causa

CCEO, já que a maioria das infecções têm resolução espontânea. Está descrito que nos homens a infecção por este vírus demora o dobro do tempo a ser eliminada naturalmente pelo sistema imunitário comparativamente às mulheres (6).

1.2.2 Distribuição de tumores atribuíveis ao HPV

Nos EUA, entre 2008 e 2012, uma média de 38793 tumores associados ao HPV foram diagnosticados anualmente, incluindo 23000 (59%) entre as mulheres e 15793 (41%) entre os homens. Ao multiplicar essas contagens pelas percentagens atribuíveis ao HPV, o CDC estimou que aproximadamente 30700 novos tumores eram atribuíveis ao HPV, incluindo 19200 entre as mulheres e 11600 entre os homens. Os mais comuns foram 11.771 (7,4 por 100.000 mulheres) carcinomas do colo do útero e 15738 (4,5 por 100.000 pessoas) carcinomas de células escamosas da orofaringe (12638 entre homens e 3100 entre mulheres). Dos casos de CCEO entre 2008 e 2012, 9500 casos foram atribuídos aos tipos de HPV 16 e 18 e outros 900 foram atribuídos aos restantes genótipos (20).

Com base em dados de 2012 a 2016, cerca de 44000 novos casos de tumores associados ao HPV ocorreram nos EUA a cada ano, incluindo 24900 em mulheres e 19100 em homens. O tumor associado ao HPV mais frequente nas mulheres é o cancro do colo do útero, enquanto que nos homens é o cancro da orofaringe. Os carcinomas da orofaringe representam 81% dos tumores relacionados com o HPV no sexo masculino e 14% no sexo feminino, registando-se 15540 e 3460 novos casos anuais, respetivamente (21).

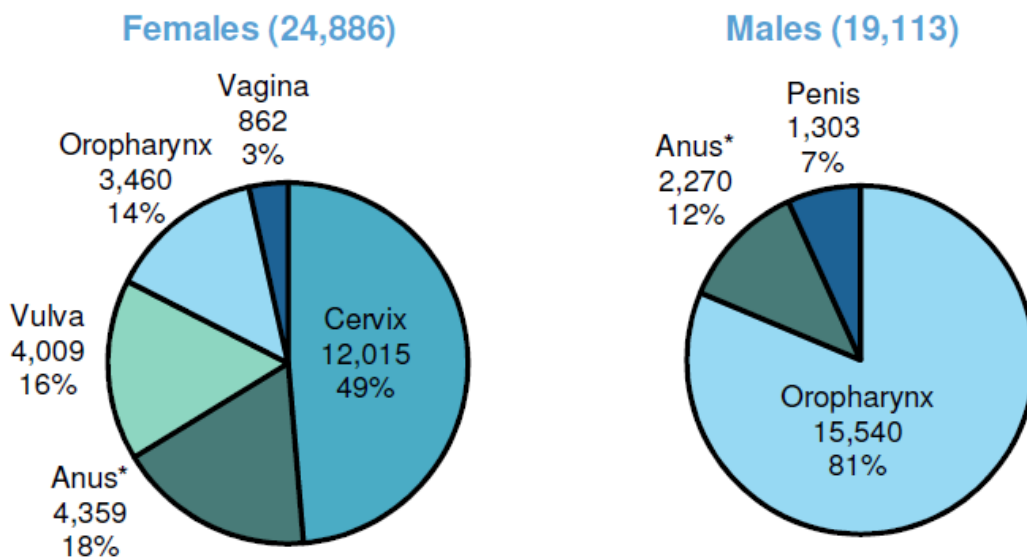


Figura 1- Distribuição do número de novos casos anuais de tumores associados ao HPV em mulheres e homens (21).

Foi estimado que, entre 2012 e 2016, 9900 novos casos de carcinoma da orofaringe no sexo masculino e 1800 no sexo feminino são atribuídos aos tipos 16 e 18 de HPV, sendo uma minoria atribuível a outros tipos de HPV (21).

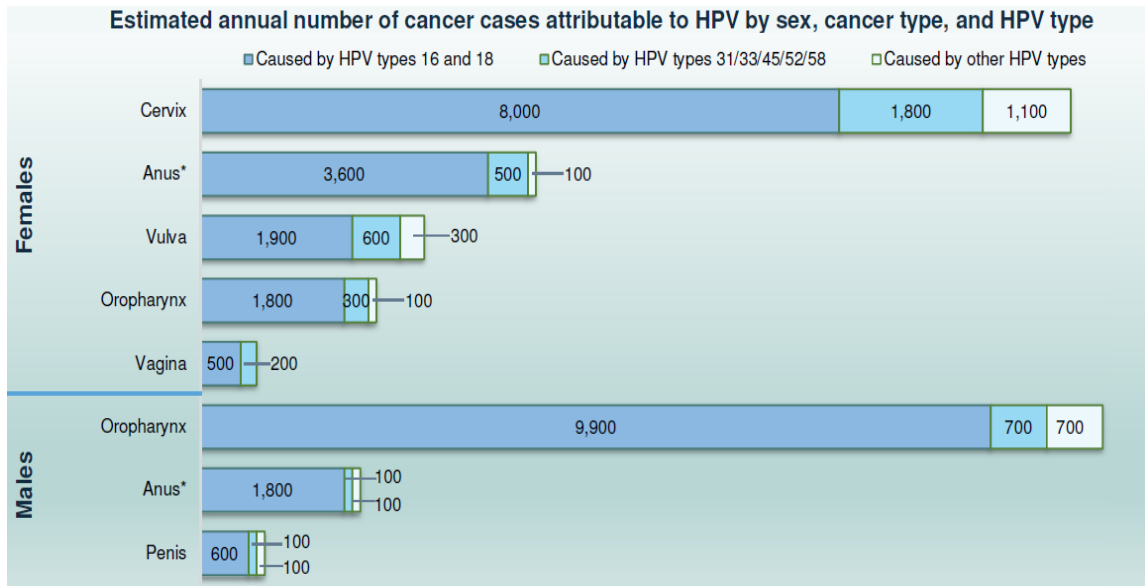


Figura 2 - Gráfico referente ao número anual estimado de tumores HPV positivos, distribuído por sexo, tipo de tumor e genótipo de HPV (21).

1.2.3 Custos associados à doença

No Reino Unido, foi estimado que o Serviço Nacional de Saúde inglês gastou cerca de 115 milhões de libras em 5 anos (entre 2006 e 2011) no tratamento de CCEO, sendo que a maioria foi em homens. Com base na previsão de crescimento da incidência dos CCEO, prevê-se que entre 2019 e 2038 serão gastos 2 mil milhões de libras no Reino Unido no tratamento desta doença apenas em homens. No entanto, não negligenciando também os custos sociais da doença por perda de produtividade no trabalho, com base nos dados da Irlanda, estes números poderão mesmo chegar aos 18 mil milhões de libras gastas no Reino Unido. (22)

2. Objetivos

Os objetivos fundamentais desta monografia são os seguintes:

1. Esclarecer os dados epidemiológicos relativos à infecção oral por HPV;
2. Identificar os fatores de risco associados à infecção por HPV de alto risco;
3. Caracterizar o tropismo epitelial do HPV ao nível das mucosas, salientando os eventos genéticos e moleculares associados a um possível efeito carcinogénico;
4. Caracterizar clínica e patologicamente os doentes CCEO HPV (+) e distingui-los dos doentes CCEO HPV (-), esclarecendo a sua importância em termos de diagnóstico, estadiamento, prognóstico e resposta às modalidades de tratamento disponíveis;
5. Caracterizar o panorama atual da prevenção primária relativa à infecção oral por HPV, identificando as vacinas disponíveis atualmente para este efeito.
6. Identificar as técnicas de deteção de HPV oral de alto risco carcinogénico mais atuais e a sua possível aplicabilidade como método de rastreio para CCEO.

3. Material e Métodos

Foi efetuada uma pesquisa bibliográfica na base de dados PubMed com os termos: “tumor da orofaringe”, “papiloma vírus humano”, “epidemiologia e fatores de risco” “rastreamento HPV na orofaringe”, sendo a pesquisa restrita a artigos publicados em português e inglês, nos últimos 20 anos. Foram também consultadas as ferramentas online UpToDate e as recomendações emitidas pelas sociedades médico-científicas nacionais especializadas e organizações de saúde nacionais e internacionais (Direção-Geral de Saúde (DGS), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), *Union for International Cancer Control* (UICC)). Foram selecionados os artigos relevantes para o tema com base na leitura do título/abstract e procedeu-se posteriormente à leitura do texto integral dos artigos incluídos. Nestes, procedeu-se à seleção, compilação e síntese da informação pertinente e relevante.

4. Resultados

4.1 Fatores de Risco

4.1.1 Fatores de risco para infecção

A prática de sexo oral está fortemente relacionada com a detecção de HPV oncogénico, incluindo o HPV 16 (10) e a esmagadora maioria (90%) das infecções orais por HPV oral são adquiridas sexualmente (15). A prevalência de HPV oncogénico em homens ou mulheres que nunca realizaram sexo oral é baixa (<2,5%), no entanto verifica-se um aumento da prevalência deste vírus com o aumento do número de parceiros sexuais com os quais se realizou sexo oral. Está descrito que o risco de infecção é médio (7,3%) em homens com apenas um dos fatores de risco referidos (tabaco ou sexo oral), mas é elevado (14,9%) naqueles com estes dois fatores de risco concomitantes, (se >5 parceiros sexuais). O risco mantém-se baixo (<1,5%) nas mulheres independentemente do número de parceiros sexuais (10). Esta diferença entre sexos pode refletir as taxas reduzidas de seroconversão dos homens em relação às mulheres após a infecção genital por HPV (23), resultando numa maior proteção das mulheres contra infecções orais subsequentes (3,24). Não se conhece a razão pela qual a prevalência do HPV oral é mais baixa nas mulheres do que nos homens, embora existam várias hipóteses:

- a) Os homens têm mais parceiros sexuais, portanto, mais oportunidade de exposição ao HPV (23);
- b) Uma vez que há contacto direto com a mucosa, a transmissão da infecção por HPV é mais eficiente ao realizar-se sexo oral nos órgãos genitais femininos infetados, em comparação com a transmissão ocorrida ao realizar-se sexo oral no epitélio queratinizado do pénis (23);
- c) Mulheres que possuem algum nível de imunidade sistémica devido à infecção por HPV no colo uterino, podem estar protegidas contra a infecção oral por HPV, enquanto que este tipo de proteção não foi observado em homens (23).

4.1.2 Fatores de risco para carcinogénese

Estudos recentes referem que o facto de se ser homem dos 55 aos 65 anos, com história de tabagismo é um fator de risco importante para ter um CCEO relacionado com o HPV (6). Estudos de caso-controlo estabeleceram a infecção oral por HPV como o principal fator de risco para CCEO HPV (+) (25). Ainda não é claro se o tabagismo e/ou o álcool podem atuar como co-fatores ou agentes modificadores no risco de desenvolver CCEO HPV (+) (8). Recentemente, Anantharaman et al.(26) relataram após a associação de dois estudos relativos ao CCEO, que o tabagismo estava constantemente associado ao

aumento do risco de CCEO, independentemente do status de HPV (26). Isso sugere que o HPV-16 e o tabagismo são fatores de risco independentes (8). Foram relatados novos dados que concluíram que a prevalência de CCEO HPV (+) na população dos Estados Unidos da América (EUA) é significativamente maior nos fumadores ou ex-fumadores do que nos não-fumadores, apesar do CCEO HPV (+) ser caracterizado como uma doença de não-fumadores devido à alta prevalência de HPV no CCEO em não-fumadores (27). Os doentes com CCEO HPV (+) tendem a ser mais jovens (com idade <60 anos) e a fumar e beber menos, quando comparados com doentes com CCEO HPV (-) (28).

4.2 Fatores protetores

Uma história pessoal de amigdalectomia pode reduzir o risco de tumor HPV positivo na região amigdalina e melhorar a sobrevida um ano após o diagnóstico de carcinoma da amígdala. No entanto, o risco global de desenvolver um carcinoma da orofaringe, nas restantes localizações anatómicas, não é afetado por este procedimento (29,30). Recentemente, um novo locus genético na região do HLA foi associado a um risco reduzido de carcinoma da orofaringe HPV positivo (HLA-DRB1*1301- HLA-DQA1*0103-HLA-DQB1*0603). Esse efeito protetor pode envolver um aumento da resposta imune contra as células infetadas por HPV através da ligação do haplótipo do complexo de histocompatibilidade major aos peptídeos do HPV, formando assim uma resposta mais forte por parte das células T CD4+ (31).

4.3 Diagnóstico, estadiamento e tratamento

4.3.1 Diagnóstico

O comportamento clínico dos CCEO HPV (+) é diferente do comportamento daqueles que não estão relacionados com este vírus. A principal apresentação dos tumores relacionados com o HPV é de uma massa cervical não dolorosa (32). Em geral, não há disfagia, disfonia, dispneia ou perda de peso. Alguns doentes podem apresentar queixas de feridas ou úlceras na boca, hemorragia oral, odinofagia ou o dentista/otorrinolaringologista pode aperceber-se da lesão durante o exame físico por outra queixa (33). Enquanto que, os sintomas de apresentação dos doentes com tumores da orofaringe HPV (-) mais frequentes são odinofagia, disfagia e otalgia referida (32,34). A região amigdalina apresenta-se como a localização mais comum de CCEO nestes dois grupos, embora tenha sido significativamente mais comum entre os doentes com CCEO HPV (+), quando comparados aos doentes com CCEO HPV (-). Nos doentes com CCEO HPV(-), o palato mole apresenta-se como a localização mais comum destes tumores e significativamente mais comum em comparação com os doentes com CCEO HPV(+)(34).

À apresentação inicial é mais provável que os HPV-positivos tenham um estadiamento T precoce (T1/T2), mas com um envolvimento ganglionar elevado (N2/N3), quando comparados com os HPV-negativos. No entanto, os tumores HPV têm melhor resposta ao tratamento (9). A marcante diferença de prognóstico entre os tumores da orofaringe positivos e negativos para o HPV torna importante a distinção entre esses dois tipos de cancro.

Tabela 1 - Demografia e Características Clínicas dos CCEO (10,19,28,34)

Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe		
	HPV (-)	HPV (+)
Demografia	<ul style="list-style-type: none"> • Fumadores • Consumidores de álcool • Menos habilitações literárias • Menor estrato socioeconómico • Idade avançada 	<ul style="list-style-type: none"> • Não fumadores • Mais habilitações literárias • Maior estrato socioeconómico • Idade precoce ou avançada • Múltiplos parceiros sexuais • Consumidores de marijuana
Locais mais comuns	<ul style="list-style-type: none"> • Palato mole • Amígdala 	<ul style="list-style-type: none"> • Amígdala • Base da língua
Sintomas de apresentação	<ul style="list-style-type: none"> • Odinofagia • Disfagia • Otolgia 	<ul style="list-style-type: none"> • Massa cervical não dolorosa

Existem várias formas de estabelecer o prognóstico, tanto clínicas como patológicas (35). Os diferentes padrões demográficos como idade, raça, sexo e tabagismo demonstraram ser moderadamente preditivos do status do HPV do doente (36). No entanto, nenhum teste clínico demonstrou a mesma especificidade e sensibilidade dos testes laboratoriais para diagnosticar a infeção por HPV em tumores da cabeça e pescoço. Como tal, é amplamente recomendado que todos os tumores da orofaringe sejam testados quanto à presença de HPV (37). Os exames laboratoriais para a deteção de infeção pelo HPV variam de acordo com a preferência da instituição e, atualmente, não existe um padrão universalmente aceite. Estão disponíveis algumas opções de deteção de HPV com aplicabilidade em ambiente clínico. O teste do HPV é, atualmente, obrigatório para um diagnóstico e prognóstico preciso de doentes com CCEO (38). Existem várias técnicas

disponíveis, como a imunohistoquímica de p16 (p16 IHQ), a hibridização in situ de DNA HPV (DNA HIS), a detecção de DNA HPV por reação em cadeia da polimerase (PCR), detecção do mRNA das oncoproteínas E6/E7 (E6/E7 HPV-mRNA) por HIS. Cada técnica produz diferentes perfis de sensibilidade e especificidade, mas a detecção do mRNA das oncoproteínas E6/E7 é considerada o *gold-standard* para confirmar a presença do HPV em atividade carcinogénica. A coloração IHQ de p16 é um biomarcador amplamente disponível e que possui uma concordância muito boa com o status do HPV (39). A DNA HIS é capaz de detetar diretamente o DNA HPV numa amostra de tumor, mas apresenta pouca sensibilidade. Os métodos por PCR são altamente vantajosos porque exigem pouca quantidade de DNA, mas geralmente não têm a capacidade de detetar vários tipos de HPV de alto risco ou identificar o genótipo de alto risco presente, enquanto que o teste p16 é um biomarcador que infere para a presença de infecção por HPV, com maior sensibilidade. Este biomarcador é indicativo da expressão do oncogene HPV E7, que regula positivamente a p16 e promove a sua entrada no ciclo celular. No entanto, a p16 pode ser aumentada por outros mecanismos que não o HPV, podendo surgir falsos positivos (40). Ainda assim, o teste de p16 tem aumentado em popularidade já que tem menor custo, é mais simples, e alguns estudos demonstraram que este é comparável ao DNA HIS em sensibilidade e especificidade (37,41,42). Apesar disso, de forma a aumentar a especificidade após a utilização da técnica por p16, pode realizar-se a DNA ISH, pois é uma técnica mais específica para o DNA HPV. A detecção de HPV por PCR poderá promover sensibilidade adicional, complementando-se à técnica previamente realizada (p16 IHQ) (41,43). Pode ser recolhido material patológico suficiente para a detecção de HPV através de aspiração por agulha fina (44).

4.3.2 Estadiamento

O estadiamento TNM utiliza referências anatómicas para classificação dos vários tipos de tumores, sendo que o “T” se refere ao tumor, o “N” aos nódulos linfáticos e o “M” às metástases. No “T” é referida a extensão do tumor primário, no “N” refere-se a afetação ou não de nódulos linfáticos regionais e a extensão da mesma. Desta forma, desempenha um papel muito importante não só no estadiamento, mas também tratamento e prognóstico de todos os tumores. Assim, foi surgindo uma necessidade crescente de um novo tipo estadiamento para os tumores da orofaringe, que diferenciasse aqueles que são derivados do HPV, daqueles que não são, para se compreender melhor o comportamento da doença. Foi então, por este motivo, que na oitava edição do TNM foi criada uma nova classificação que diferencia estes tumores, e foi também a primeira vez que em tumores da cabeça e pescoço se estabeleceu uma definição diferente para o “N”(N0, N1, N2, N3)

e agrupamento de T-N (I, II, III, IV), tendo como base por um lado o estadiamento clínico e por outro o estadiamento patológico para os tumores HPV positivos (45).

Muitos estudos tinham já demonstrado a inadequação do estadiamento de TNM-7 nos CCEO HPV (+), e por isso um estadiamento específico para estes tumores seria necessário (46), uma vez que teria relevância na discussão da doença com o doente e seus familiares e no plano terapêutico. Os ensaios clínicos atuais para tratamento destes tumores diferenciam aqueles que são HPV positivos e HPV negativos. Haverá necessidade então da aplicação do TNM-8 em países onde a prevalência de HPV oral seja relevante (45).

Além da taxa de sobrevivência ser bastante diferente nos tumores HPV (+) relativamente aos HPV (-), os tumores da orofaringe derivados do HPV representam uma entidade biológica diferente, sustentada por um processo molecular etiológico diferente dos tumores HPV negativos, por isso neste sentido, pode ser visto como indicador de diagnóstico para esta doença, o que implicará uma gestão clínica da doença específica com a sua própria terapêutica, e não só um indicador de prognóstico (45). A 8ª edição da TNM classifica agora T1-2 com nódulos unilaterais do pescoço como doença de estadio I. Esta diferença baseia-se no paradigma atual do tratamento, onde muitos dos doentes com CCEO HPV (+) têm tradicionalmente recebido tratamento intensificado em estadio I da doença. Desta forma, está em avaliação em ensaios clínicos se de facto deve ser realizado um retrocesso na escalada terapêutica nestes doentes. Em traços gerais, o estadiamento clínico dos tumores HPV (+) da orofaringe classificam-se da seguinte forma: Estadio I: T1-2, N0-N1; Estadio II: T1-2 N2 ou T3, N0-N2; Estadio III: T4 ou N3; e Estadio IV: qualquer T ou N com M1 (metástases presentes).

Tabela 2 - Classificação clínica e patológica dos CCEO p16 (+) (47).

Categorias T clínicas e patológicas para Carcinomas da Orofaringe p16 (+)	
T1	Tumor 2 cm ou menos na sua maior dimensão
T2	Tumor com mais de 2 cm, mas não mais de 4 cm
T3	Tumor com mais de 4 cm na sua maior dimensão ou extensão para a superfície lingual da epiglote.
T4	Tumor invade qualquer uma das seguintes regiões anatómicas: laringe, músculos extrínsecos da língua, músculo pterigoide medial, palato duro ou mandíbula.

Tabela 3 - Classificação N clínica e patológica dos CCEO p16 (+)(47)

Gânglios linfáticos regionais (N)			
Classificação clínica		Classificação patológica	
N_x	Sem acesso aos Gânglios linfáticos regionais.	N_x	Sem acesso aos Gânglios linfáticos regionais.
N₀	Sem metastização para gânglios linfáticos regionais.	N₀	Sem metastização para gânglios linfáticos regionais.
N₁	Um ou mais gânglios linfáticos regionais ipsilaterais afetados. Todos <6cm.	N₁	Metástases em 4 ou menos Gânglios linfáticos regionais.
N₂	Gânglios linfáticos regionais contralaterais ou bilaterais afetados. Todos <6cm.	N₂	Metástases em mais de 4 Gânglios linfáticos regionais.
N₃	Gânglios linfáticos regionais > 6cm.		

Tabela 4 - Classificação M dos CCEO p16 (+)(47)

Metástases à distância (M)	
cM₀	Sem metástases à distância.
cM₁	Com metástases à distância.
pM₁	Com metástases à distância confirmadas microscopicamente.

A 8ª edição da TNM determina a utilização da coloração imunohistoquímica p16 como técnica de eleição para a pesquisa de HPV, enquanto que a presença de HPV de alto risco pela técnica DNA HIS pode ser uma alternativa. No entanto, existe alguma preocupação acerca das consequências derivadas aos potenciais falsos positivos desta técnica preferencial (p16). Esta forma de deteção por p16 foi geralmente aceite como um marcador fiável para CCEO HPV (+) em substituição do método por PCR, para deteção de DNA HPV (48). Deve ser realizada no contexto correto, nos locais anatómicos corretos, que incluem as amígdalas, base da língua, ou valécua e deve-se dar prioridade ao uso de coloração intensa numa amostra com uma boa quantidade de células. O teste por p16 é também inespecífico para o subtipo HPV em questão, o que é uma vantagem em comparação com os métodos específicos para subtipos de HPV que, por oposição a este, podem ser menos sensíveis. A deteção de HPV de alto risco carcinogénico por método de PCR pode nem sempre indicar que o tumor é derivado do HPV, ou seja, o HPV pode ser uma mera presença não participante na carcinogénese. No entanto, quando a

coloração p16 falha deve ser feita a pesquisa do DNA HPV por HIS ou PCR para confirmar a presença ou ausência deste vírus carcinogénico no tumor. Não havendo confirmação da presença de HPV, deve-se seguir a classificação TNM de tumores da orofaringe HPV-negativo/p16-negativo. O resultado baseia-se no paradigma atual do tratamento, onde muitos destes doentes têm tradicionalmente recebido tratamento intensificado nesta situação. Desta forma, está em avaliação em ensaios clínicos se de facto estes doentes devem descer na escala de tratamento (45).

4.3.3 Tratamento

O tratamento padrão para CCEO tem sido radioterapia (RT) simultânea com quimioterapia (QT), tendo a abordagem cirúrgica um papel cada vez mais importante devido aos avanços na cirurgia transoral (49). A cirurgia robótica transoral oferece múltiplas vantagens técnicas: visualização aprimorada com imagem tridimensional, filtro de tremores e amplitude de movimento aprimorada com braços robóticos, quando comparada às técnicas endoscópicas e abertas. Esses atributos resultaram em excelentes resultados funcionais e oncológicos em doentes com tumores da cabeça e pescoço. Os resultados devem-se, em parte, ao facto de a utilização deste tipo de cirurgia como tratamento de primeira linha poder levar a uma redução segura da terapia adjuvante (50), já que os doentes com CCEO HPV positivos tendem a ser mais jovens, saudáveis e com maior probabilidade de sobreviver à doença (51). Desta forma, os efeitos a longo prazo do tratamento com RT e/ou QT, que incluem problemas estéticos, funcionais e psicossociais, tornam-se um problema importante (14). Isso levou a que fossem feitos esforços no sentido de alterar os regimes de tratamento mantendo-se a alta taxa de cura, mas reduzindo-se as toxicidades a longo prazo associadas a essas terapêuticas (4,52).

Novos ensaios clínicos sobre o retrocesso na escalada terapêutica, estão a avaliar a possibilidade de os doentes com CCEO HPV positivos terem resultados igualmente bons em doses mais baixas de QT ou RT (51,52). O status do HPV continua a ser o fator de prognóstico mais importante, sobrepondo-se ao tabagismo ou às metástases para nódulos linfáticos regionais, nos CCEO HPV positivos (53).

A gestão ideal de doentes com CCEO ocorre num ambiente multidisciplinar (54). Para tumores primários HPV positivos, em estadio inicial com poucos gânglios envolvidos (T1 – T2, No – N1), geralmente é utilizada monoterapia, com cirurgia minimamente invasiva ou RT. Neste ponto encontra-se a mais marcante diferença nas *guidelines* atuais de tratamento. Nos tumores p16 positivos preconiza-se, exatamente, a modalidade terapêutica em monoterapia supracitada para os estadios T1/T2, No/N1 (nódulos ≤ 3cm), ao passo que, nos tumores p16 negativos, a partir do momento em que são envolvidos nódulos linfáticos regionais, é recomendada a utilização da modalidade terapêutica

combinada, com RT e QT concomitante com ou sem cirurgia associada. Esta modalidade terapêutica insere-se nos tumores p16 positivos, quando existem gânglios linfáticos >3cm ou 2 ou mais nódulos ipsilaterais ≤6cm (55). A doença em estadios avançados (T3-T4 ou N2-N3) requer tratamento de modalidade combinada, geralmente com QT e RT concomitante (quimiorradioterapia) com ou sem cirurgia, tanto para CCEO p16 positivos, como p16 negativos. No cenário não cirúrgico (definitivo ou conservador de órgãos), a terapia citotóxica é geralmente adicionada como um radiosensibilizador, com a cisplatina como agente ideal. Vários estudos randomizados demonstraram que a adição de terapêutica sistêmica à RT melhora o controle tumoral e a sobrevida global, embora tenha efeitos tóxicos aumentados (54–56).

Apesar de os doentes com carcinomas positivos para HPV serem menos propensos a serem fumadores, estatisticamente, aqueles que têm um histórico atual ou passado de tabagismo têm um controlo da doença significativamente pior com o tratamento efetuado. Também se descreveu que os doentes fumadores com tumores HPV-positivos têm uma taxa de recorrência maior do que a dos não-fumadores, após a terapêutica ter sido realizada (57).

Outro achado importante descrito prende-se com a diferença de custos relativos à quimiorradioterapia e à cirurgia. O custo para doentes tratados com quimiorradioterapia é significativamente maior do que para aqueles tratados apenas com cirurgia (58).

4.3.4 Efeitos secundários ao tratamento

Embora as taxas de sobrevivência sejam altas e a toxicidade a longo prazo seja baixa, os resultados funcionais ainda são uma preocupação para os doentes que sobreviveram ao CCEO (59). Como a orofaringe é importantíssima para funções quotidianas importantes, como a fala, a deglutição e a patência das vias aéreas, o tratamento cirúrgico e médico de tumores nesta área anatómica pode ter como consequência uma morbilidade significativa. Estes doentes poderão ficar com disfagia duradoura e problemas na fala, insuficiência velofaríngea por alterações pós-cirúrgicas e efeitos pós-RT e QT que incluem náuseas e vômitos, xerostomia, progressão de doença dentária, disgeusia, trismos e até osteorradionecrose da mandíbula (60).

Enquanto a maioria destas questões melhoram ao longo do tempo com o tratamento dirigido ou terapia da fala, alguns doentes têm disfunção de longa data que exigem tubos de gastrostomia para nutrição adequada, ou traqueostomias para manutenção das vias aéreas ou higiene pulmonar (59).

De facto, sugere-se que a mucosite com perda de peso concomitante devido à RT é pior nos carcinomas relacionados com o HPV em comparação com os HPV-negativos. Desta forma, estão a ser feitos esforços para investigar a viabilidade da diminuição da

intensidade da terapêutica e aumentar o número de cirurgias com intenção curativa na esperança de diminuir morbidade aguda e melhorar os resultados funcionais a longo prazo (61,62).

4.4 Prognóstico

Os CCEO causados pelo HPV representam uma entidade bastante diferente daqueles que são causados pelo excesso de tabaco e álcool, no que ao prognóstico diz respeito. Os tumores derivados do HPV têm bastante melhor prognóstico e estão associados a uma taxa de mortalidade que chega a ser menos 58% do que a descrita nos tumores não-HPV e uma taxa de recorrência da doença 49% inferior aos mesmos, o que pode ter bastantes implicações no estadiamento destas neoplasias (6,63,64). De forma a classificarmos estes tumores, em tumores HPV com transcrição ativa (HPV (+)) ou tumores HPV negativos (HPV (-)), segundo “The American Joint Committee on Cancer and the Union for International Cancer Control eighth edition TNM staging guidelines (TNM8)”, deve ser utilizada a IHQ de p16. Este teste por p16 é bastante sensível para determinar se um CCEO tem HPV em transcrição ativa. Ora, se o tumor for p16 positivo (p16 (+)) significará que tem HPV em transcrição ativa, se for p16 negativo (p16 (-)) significará precisamente o contrário. Esta diferenciação significa um grande avanço em termos de estadiamento e prognóstico já que, está provada a maior sobrevida a cinco anos de tumores HPV positivos relativamente aos HPV negativos (65,66).

Os tumores p16 positivos tendem a manifestar-se com múltiplos gânglios linfáticos afetados, com tendência para serem quísticos, particularmente no estadio II (67). Apesar da presença de múltiplos gânglios metastáticos, o prognóstico não é tão desfavorável para os tumores HPV (+), já que respondem melhor ao tratamento do que os HPV (-) (68,69), resultando na reformulação já referida das tabelas relativas aos gânglios linfáticos (46).

No entanto, o “United Kingdom (UK) Royal College of Pathologists” recomenda a utilização de um segundo teste para confirmar a presença de HPV em transcrição pela técnica de hibridização in situ (HIS), uma vez que em 20% dos tumores p16 positivos podem não ser HPV (+). Então, esta técnica servirá para confirmar a presença de HPV (+) nos tumores p16 (+). A razão pela qual esta confirmação tem interesse, é a diferença importante em termos de prognóstico entre tumores p16 (+)/HPV (+) e p16 (+)/HPV (-) já que, além de o prognóstico de sobrevida a cinco anos dos tumores p16 (+)/HPV (+) ser bastante melhor do que o de tumores p16 (+)/HPV (-), estes últimos apresentam uma sobrevida a 5 anos idêntica aos tumores p16 (-), mas ainda assim superior a estes. Este fator pode ter implicações importantes, pois as recomendações previstas no TNM-8 não têm em conta esta situação e o estadiamento é apenas feito com base na técnica de IHQ

de p16, o que pode implicar um tratamento menos intensivo em tumores p16 (+)/HPV (-) que requereriam um tratamento correspondente a um estadios superior (65).

Além da positividade para p16, existem outros fatores que podem explicar a melhor sobrevida dos tumores HPV relativamente aos não-HPV:

- a) Nos tumores causados pelo HPV, o vírus silencia a p53, mas deixa o gene que a produz "intacto"; por outro lado, nos tumores HPV (-), o gene sofre mutação, provavelmente por exposição a agentes cancerígenos como tabaco ou álcool, e produz uma versão "ineficaz" da proteína. A QT ou a RT podem, de alguma forma, reativar a p53 em tumores HPV (+), ativando novamente esta proteína para fazer frente ao tumor (70).
- b) Doentes com tumor HPV (+) são geralmente mais jovens e mais saudáveis do que seus pares HPV (-), com melhor status de desempenho, sem histórico de tabagismo e menos comorbidades (63).
- c) Existe mais heterogeneidade genética em tumores HPV (-) do que em tumores HPV (+), incluindo uma ampla gama de mutações somáticas (70). O tumor HPV (-) pode ter uma probabilidade aumentada de uma mutação que provoca resistência à terapêutica (71).
- d) A persistência do HPV nas amígdalas pode promover uma resposta imune antitumoral a antígenos tumorais específicos de vírus após QT ou RT (70).
- e) Os tumores HPV (+) têm maior radiosensibilidade, talvez por causa de uma resposta apoptótica intacta após a RT (70).
- f) O CCEO HPV (+) pode ser detetado numa fase mais precoce, já que 51% dos doentes apresentam inicialmente uma massa na região do pescoço ao invés dos 18% dos doentes com CCEO HPV (-), que têm menor probabilidade de metastizar para os nódulos linfáticos cervicais (72).
- g) O CCEO HPV (-) demonstra maior progressão locorregional do que o CCEO HPV (+), tornando o CCEO HPV (-) mais refratário ao tratamento (71).

4.5 Prevenção

A prevalência de HPV oral em mulheres vacinadas foi reduzida em 96%. Não há ainda evidência de que previne os vários tumores associados ao HPV mas previne a infecção pelo vírus, por isso prevê-se que a incidência de tumores da orofaringe HPV (+) possam diminuir de forma semelhante ao cancro do colo do útero (3,6). Devem-se também promover alterações do estilo de vida que previnam os fatores de risco que levam à infecção por HPV e à doença em si, o carcinoma de células escamosas da orofaringe. Fatores de risco como o tabaco e o sexo oral desprotegido devem assim ser abordados.

4.5.1 Alterações do estilo de vida

O fator de risco comportamental mais associado aos CCEO relacionados com o HPV é o sexo oral. Como resultado, a prevenção primária através de práticas sexuais seguras, como o uso de preservativos e barreiras contraceptivas é uma estratégia de prevenção essencial. Realizou-se uma análise transversal da *National Health and Nutrition Assessment Survey* de 2009 a 2014 para verificar se existe uma correlação entre uma barreira contraceptiva e a prevalência de infecção oral por HPV 16/18. Descobriu-se então que, depois de ajustadas todas as variáveis associadas à positividade para HPV, os indivíduos que relataram o uso de um método contraceptivo barreira tiveram uma probabilidade significativamente menor de ser HPV 16/18 positivos, quando comparados aos que não usam barreira durante o sexo oral. É importante notar que essa população não havia recebido a vacina contra o HPV. Portanto, a barreira contraceptiva é uma importante estratégia de prevenção para aqueles que estão além da idade elegível para a vacinação. O CDC recomenda o uso de contraceptivos de barreira, como preservativos e diques dentários de latex durante o sexo oral para reduzir a transmissão de infecções sexualmente transmissíveis, é também necessária uma ênfase mais forte na correlação entre essas boas práticas e o risco decrescente de desenvolvimento de CCEO HPV (+) (9,73).

Como já mencionado, demonstrou-se que o tabagismo também se correlaciona significativamente com o HPV oral, e esse hábito pode afetar negativamente a sobrevivência se houver desenvolvimento de tumor (15). Como resultado, os esforços para cessação tabágica são essenciais de forma a reduzir a infecção oral pelo HPV, bem como o desenvolvimento de CCEO (9).

4.5.2 Vacinação

Em 2006, introduziu-se uma vacina tetravalente contra o HPV chamada Gardasil 4®. A vacina confere imunização contra o HPV 6, 11, 16, 18 com o objetivo inicial de prevenir o cancro do colo do útero relacionado com o HPV, em mulheres (74).

Desde a introdução da Gardasil 4®, foram introduzidas uma vacina bivalente (Cervarix®) e uma vacina de nonavalente (Gardasil 9®). A Gardasil 9® é a vacina mais recentemente aprovada e sua segurança foi verificada em ensaios clínicos com mais de 15.000 participantes antes da sua aprovação (75). Além disso, aos quatro serotipos originais de HPV cobertos pela vacina tetravalente, a Gardasil 9® acrescentou a imunização contra os tipos de HPV 31, 33, 45, 52, 58 e, portanto, abrange estirpes que causam mais de 90% dos tumores relacionados com o HPV, incluindo o CCEO HPV (+). Idealmente, a vacina seria administrada aos 11 ou 12 anos de idade com o objetivo de preceder o primeiro ato sexual e tomar partido da robusta resposta imune demonstrada

nessa idade (74). Em teoria, a vacinação mais tardia seria menos eficaz já que muitos indivíduos teriam contraído uma infecção persistente por um HPV de alto risco oncogénico antes desse período e, portanto, poderia não ser eficaz (9).

Em 2014, a Organização Mundial da Saúde constatou que a eficácia contra a incidência e a infecção persistente por HPV poderá contribuir para diminuir o risco de doença. Vários estudos forneceram evidência de que a vacinação contra o HPV diminui a taxa de infecções relacionadas com o HPV e, provavelmente, reduz a incidência do CCEO. Um estudo randomizado, realizado na Costa Rica avaliou a eficácia da vacina bivalente na redução da infecção oral pelo HPV, quatro anos após a vacinação. Observaram uma redução de 93,3% no número de infecções orais causadas pelo HPV 16 e 18 na população vacinada, em comparação com a população de controlo (76). Outro estudo recente concluiu que a prevalência de HPV oral era menor em indivíduos que receberam a vacina contra o HPV, em comparação não vacinados (77). Resultados semelhantes foram mostrados num estudo, que demonstrou que a vacinação contra o HPV foi associada a uma redução estimada de 88% na prevalência de infecções por HPV dos génotipos 6, 11, 16, 18, por via oral, em jovens adultos vacinados nos EUA (78).

Os programas de vacinação contra o HPV, implementados com o objetivo de reduzir a incidência do cancro do colo do útero nas mulheres, têm mostrado bastante eficácia na redução da prevalência deste vírus em mulheres, no entanto os problemas causados pelo HPV não se resumem às mulheres nem ao cancro do colo do útero, já que outros tipos de tumores, incluindo os CCEO podem ser causados por este vírus. Este tumor destaca-se pelo aumento na incidência que tem tido nos últimos anos, com a balança a pender bastante para o lado dos homens no que diz respeito à quantidade de indivíduos afetados. Tendo em conta esta situação, verifica-se uma necessidade crescente de introduzir a vacina contra o HPV em adolescentes do sexo masculino, na idade recomendada, para que os níveis de prevalência deste vírus possam diminuir e, conseqüentemente, a longo prazo, o número de novos casos de tumores derivados do HPV, onde se inserem os CCEO, possa também diminuir proporcionalmente. Terá, assim, que haver uma sensibilização dos pais dos adolescentes abrangidos no plano de vacinação, para a importância da mesma na saúde individual e populacional. Requer-se então que o plano de vacinação abranja tanto os adolescentes do sexo feminino, como também os do sexo masculino. Alguns dos entraves à introdução da vacinação em rapazes prendiam-se com a possibilidade de se atingir imunidade de grupo e se seria ou não custo-efetivo introduzir a vacina nos rapazes à luz desta situação. No entanto, está provado que seria necessária uma taxa vacinação superior a 80% para que isso aconteça, o que pode ser algo difícil. Ainda assim, a imunidade de grupo não iria proteger homens que têm relações sexuais fora do seu país de origem ou que têm relações sexuais com mulheres mais velhas não

vacinadas. Há evidência das vantagens em termos económicos da vacinação universal (79,80).

No Reino Unido, o custo adicional para a vacinação dos rapazes foi estimado, sendo no máximo, de 20 a 22 milhões de libras anualmente. Os 59 milhões de libras gastos anualmente em verrugas genitais, os 22 milhões de libras em tumores da orofaringe e 7 milhões em tumores da região anal são um exemplo das despesas em algumas das patologias mais frequentes derivadas do HPV. O valor investido na vacinação, comparado ao que é gasto anualmente, apenas no tratamento de todas as patologias causadas pelo HPV, mesmo desprezando os custos sociais que são um fator bastante relevante, torna-se muito pequeno, e num investimento, não só em menor mortalidade e morbidade, como também na economia do país, já que estão a ser poupados milhões em dinheiro do estado. Neste sentido, em Inglaterra, País de Gales e Escócia já existem avanços no sentido de uma vacinação universal (81). Em Portugal, a partir de 1 de outubro de 2020, está prevista a vacinação universal contra o HPV para todas as crianças, sendo estendida aos rapazes nascidos em 2009. Recomenda-se que seja dada aos 10 anos, em duas doses intervaladas por seis meses, como já acontece com as raparigas. A Direção-Geral de Saúde estima que serão vacinados anualmente cerca de 40 mil rapazes (82).

4.6 Rastreio

O rastreio de HPV oncogénico na orofaringe poderá ser promissor, pois recolher-se-iam amostras de epitélio através de um método não invasivo, de baixo custo e serviria como biomarcador para os tumores HPV da orofaringe. Um teste ideal teria que ser de baixo custo, minimamente invasivo e sensível para identificar uma grande porção das lesões subclínicas. Por outro lado, para termos um rastreio custo-eficaz, teríamos de abranger apenas a população com alto risco de desenvolver a infeção por HPV oncogénico, de forma a evitar falsos negativos e minimizar os danos psicológicos e físicos inerentes ao rastreio. Homens de 50 a 65 anos, com múltiplos parceiros sexuais, seriam um alvo demográfico atraente para programas de triagem, dada a maior incidência destes tumores nesse grupo. No entanto, uma definição adicional do verdadeiro nível de risco deste grupo está atualmente sob investigação. Não há evidência de existir uma lesão pré-maligna que possa ser identificada precocemente por um médico ou pelo portador da doença, nem é conhecida a capacidade de a detetar mesmo nos grupos de risco elevado e muitos estudos sugerem que o tempo decorrido entre a infeção e o desenvolvimento de um tumor pode ser de 30 anos, aumentando assim a dificuldade de diagnóstico deste tumor (6,9).

A técnica de rastreio Papanicolau, utilizada no rastreio do cancro do colo do útero, não é eficaz na orofaringe devido à grande área formada pelas criptas das amígdalas que é aumentada em 700%. A serologia para anticorpos de oncoproteínas HPV é específica, mas este tipo de teste ainda é raro nos dias de hoje e está sob investigação. Por isso, atualmente não existe nenhuma ferramenta de rastreio aprovada (6,10).

Assumindo que a vacinação é eficaz, estima-se que, nos EUA, vacinando crianças do sexo masculino e homens, 5416 e 51.168 casos adicionais de carcinomas da orofaringe HPV (+) seriam evitados em 50 e 100 anos, respetivamente (83). Os seus efeitos só terão resultados práticos dentro de algumas décadas, tendo tendência a aumentar a prevalência de HPV carcinogénico, por isso até diminuir a prevalência de infeção, deverá apoiar-se o desenvolvimento de estratégias de deteção precoce e eficaz para a infeção persistente por HPV oncogénico associado ao CCEO. É importante e pode permitir tratamento curativo de lesões em estágios pré-malignos, como tem vindo a acontecer no cancro do colo do útero. Esta estratégia pode ser a única forma de diminuir substancialmente a prevalência da doença até a vacinação universal, tanto para rapazes como para raparigas, se tornar totalmente eficaz (22).

Perceber o balanço entre os diferentes marcadores inflamatórios envolvidos na carcinogénese poderá ser um avanço importante no desenvolvimento de um método de rastreio, no entanto o teste serológico necessário para tal parece ser, para já, difícil de conceber. Lesões pré-malignas na orofaringe seriam difíceis de aceder, por isso um teste de rastreio efetuado por biomarcadores seria mais vantajoso e eficaz (84).

4.6.1 Ferramenta de avaliação de risco

Foi criada recentemente, uma ferramenta de avaliação de risco individual para HPV oncogénico sem necessidade de recurso a técnicas laboratoriais, com pouco tempo requerido e praticamente sem gastos monetários, em que o risco pode ser avaliado pela própria pessoa, tendo apenas por base vários fatores de risco. Aqueles com maior fiabilidade são o tabaco, o número de parceiros sexuais com os quais se realizou sexo oral, o estrato socioeconómico e o sexo. De acordo com o número de fatores de risco a que estariam expostos, os indivíduos ficariam a perceber o seu risco atual de estar infetados por HPV oncogénico oral e assim ficar alerta para o possível aparecimento de lesões orais, que seriam idealmente avaliadas nos cuidados de saúde primários, podendo-se assim, rastrear de forma mais eficaz e oportunista, um possível tumor da orofaringe nos indivíduos de maior risco. Apesar de todas as vantagens, esta ferramenta não prevê um risco futuro, mas sim o risco atual de infeção por HPV oncogénico. Ainda que seja de fácil aplicabilidade, pelo facto de o risco poder ser avaliado pela própria pessoa, pode ser enviesado pelo mesmo fator que o faz ser de fácil aplicabilidade, e um

tema como o sexo oral pode ser algo sensível. Além disso, seria necessário que os indivíduos tivessem informação sobre o estrato socioeconómico em que se encontram, no entanto, é um fator que poderia ser facilitado se essa informação fosse fornecida nos próprios cuidados de saúde primários (85).

4.6.2 Serologia de HPV

Foi identificado em vários estudos que os anticorpos séricos para a oncoproteína E6 do HPV 16 seriam um bom marcador para a previsão de carcinoma da orofaringe. Num destes estudos as amostras de soro de anticorpos contra múltiplas proteínas do HPV-16, bem como outros subtipos de HPV, foram colhidas e analisadas. No total, a seropositividade ao HPV-16 E6 conferiu um risco 274 vezes maior de desenvolver carcinoma da orofaringe, estando presente em 34,8% dos doentes com este tumor, em comparação com 0,6% em outras áreas da cabeça e pescoço. Essa positividade foi encontrada, em média, 6 anos antes do diagnóstico e foi observada, em alguns casos, mais de 10 anos antes do tumor ser encontrado. Foi demonstrado que essa seropositividade resulta num risco cumulativo de 10 anos de desenvolvimento de CCEO HPV (+) de 6,2% em homens e 1,3% em mulheres, em comparação com 0,04% no grupo controlo seronegativos. Neste estudo não foi comparada a seropositividade de HPV-16 E6 e a presença de DNA HPV-16 (86).

Existe outro estudo para esta técnica de rastreio, que utiliza a análise de soro para pesquisa de anticorpos (E6) para o HPV-16 (vírus mais prevalente nos CCEO), no entanto este tipo de rastreio apresentou baixa sensibilidade para deteção de HPV, uma vez que grande parte dos pacientes que apresentavam DNA HPV oral positivo eram seronegativos para o anticorpo HPV E6 (87).

4.6.3 Ecografia cervical

A ecografia cervical já foi utilizada para avaliar a orofaringe de forma a identificar tumores ocultos, especialmente aqueles que se desenvolvem em criptas do palato e amígdalas linguais, não visíveis no exame de superfície. Ainda que este tipo de abordagem para rastreio não seja amplamente utilizada atualmente, é particularmente atraente por ser relativamente barata, minimamente invasiva e não resulta em exposição a radiação ionizante ou contraste intravenoso (88).

4.6.4 Visualização da mucosa por métodos endoscópicos

A abordagem convencional para identificar lesões pré-malignas é, após um exame físico de cabeça e pescoço, a nasofaringoscopia de luz branca. Embora a ótica dos endoscópios

modernos permita definição e ampliação aprimoradas, lesões pequenas e superficiais podem ser perdidas devido à diferença sutil na aparência da mucosa normal e anormal. Uma técnica estudada que permite distinguir essas diferenças é a “Narrow Band Imaging” (NBI). Esta técnica tem a capacidade de destacar a vascularização próxima à superfície do tecido, permitindo diferenciar células benignas de células malignas. Assim, estas imagens obtidas através do nasofaringoscópio podem permitir a identificação de lesões subclínicas. Esta abordagem foi usada num estudo que descobriu que o NBI é capaz de detetar lesões mucosas superficiais da cabeça e pescoço com mais frequência do que o nasofaringoscópio convencional (100% vs. 8%) com uma sensibilidade e precisão para encontrar lesões de 100% e 86,7%, respetivamente (89).

4.6.5 Imagiologia induzida por laser

Imagens induzidas por laser são outra abordagem que se demonstrou prometedora recentemente na imagiologia da mucosa. Nesta técnica, a energia do laser é aplicada numa superfície e é captado o reflexo que representa a autofluorescência induzida do tecido. Os dados mostraram que as características da autofluorescência da mucosa da cabeça e pescoço, normais, displásicas e malignas são diferentes, sugerindo que esta técnica pode ter um papel no rastreio dos tumores da orofaringe (90). Apesar de serem prometedoras, todas as técnicas de imagem da mucosa têm limitações no rastreio de carcinomas da orofaringe, pois muitos tumores originam-se nas profundezas das criptas amigdalinas e, portanto, não são bem vistos na avaliação da superfície (9).

4.6.6 Rastreio de cell-free DNA (cfDNA)

Com o aumento da disponibilidade de novas tecnologias de sequenciamento, o conceito de avaliar o DNA sérico é particularmente interessante e representaria uma forma minimamente invasiva de avaliar lesões subclínicas, e monitorizar a resposta e recorrência da doença. O DNA livre de células em circulação (cfDNA) foi proposto como um desses métodos. Esta abordagem concentra-se no facto de que, quando o tecido morre, o seu DNA é libertado no soro e circula extracelularmente antes de ser metabolizado nos 15 a 20 minutos que se seguem. Consequentemente, qualquer análise fornecerá um reflexo de um tecido com rápido turnover celular, como acontece na malignidade ativa. No entanto, esta abordagem poderá centrar-se mais na monitorização da doença já existente do que no rastreio, já que este estudo demonstra a sua capacidade para se correlacionar uma maior presença de cfDNA com um estado de doença mais avançado tanto localmente, como à distância, permitindo uma avaliação dinâmica do tumor (91).

4.6.7 Rastreamento de DNA HPV na saliva

Como lesões pré-malignas ou malignas podem, eventualmente, deixar vestígios seus na própria saliva, um possível teste de rastreio através de um lavado oral teria bastante interesse. O lavado oral é também uma das formas de colher líquidos corporais, com biomarcadores, menos invasivas e tem-se tornado num método cada vez mais popular na atualidade (92). Alguns dos estudos que abordam um possível método de rastreio para o CCEO baseiam-se num método por PCR realizado em DNA do lavado oral (93). O teste de pesquisa de DNA HPV no lavado oral trata-se de um método pouco dispendioso, disponível para toda a gente, não invasivo e rápido. Este teste foi realizado em doentes com CCEO e cancro oral recentemente diagnosticados, e também em indivíduos sem doença. De forma a confirmar a presença de HPV, compararam-se os resultados deste método com a positividade para p16 e com a positividade para PCR de DNA HPV, nos tumores da orofaringe, testando-se assim a capacidade deste método para pesquisa de HPV. Este teste mostrou uma especificidade de 97,5% na deteção de HPV numa coorte de indivíduos sem nenhum diagnóstico de tumor da orofaringe. Nos indivíduos com CCEO diagnosticado, descreveu-se uma sensibilidade deste teste de 79,1% e uma especificidade de 90,5%. Isto sugere que este teste tem algum valor na caracterização das lesões da orofaringe, onde é particularmente sensível, com valor de sensibilidade nas amígdalas de 86,4% e valor preditivo positivo de 100%. No entanto, para tumores localizados na base da língua a sensibilidade é de 68,4% com especificidade de 50%. O facto de que estes marcadores HPV são detetados com mais facilidade nos tumores localizados nas amígdalas pode ter uma simples explicação anatómica. Ao ser realizado um lavado oral as amígdalas têm mais probabilidade de estabelecer contacto com esse mesmo líquido, quando é pedido ao paciente para gargarejar uma solução salina (84). Além disso, está demonstrado que o número de cópias virais de HPV é maior nas amígdalas do que nos restantes locais, quando infetados (94). A menor sensibilidade do teste de lavado oral para os tumores da base da língua é de facto, uma limitação neste possível método de rastreio, mas como a prevalência de tumores da orofaringe é superior nas amígdalas, uma grande proporção dos tumores HPV continuará a ser identificado corretamente desta forma. A deteção, por este teste, de HPV de alto risco carcinogénico em 2,5% das pessoas sem tumor da orofaringe, significaria que alguns doentes que não têm tumor na orofaringe teriam de ser investigados. Assim, nestes moldes, este pode não ser um método de rastreio custo-eficaz. Porém, se limitarmos o rastreio a grupos de risco, como por exemplo a homens com mais de 50 anos, que fossem a uma consulta em cuidados de saúde primários ou a uma consulta num otorrinolaringologista teria uma razão custo-benefício bastante melhor. Além do mais, este método de pesquisa de HPV poderá significar um diagnóstico mais precoce em estadios menos avançados da doença,

o que resultaria em tratamentos menos agressivos para o doente e em menores custos para o estado na abordagem a estes doentes, já que os estadios mais avançados desta doença necessitam de quimiorradioterapia ao invés de RT isolada, cirurgia ou a junção destes dois, que se tratam de opções menos dispendiosas. Tendo em conta estes dados, serão necessários mais estudos deste tipo de metodologias de rastreio, com um maior número de indivíduos, de forma a que estes dados possam ser validados e aplicáveis na população em geral (84).

5. Discussão e Conclusão

A partir desta análise que inclui as várias vertentes de abordagem, tanto à infecção oral por genótipos de HPV de alto risco carcinogénico, como aos CCEO decorrentes da infecção por este mesmo vírus, percebe-se que existem vários pontos onde a importância deste tumor está explícita. Os homens destacam-se no aspeto epidemiológico como os principais afetados, havendo uma percentagem bastante elevada dos tumores causados pelo HPV na orofaringe, relatando-se uma incidência bastante menor no sexo feminino. Evidencia-se como principal fator de risco para infecção oral por HPV de alto risco e carcinogénese derivada deste vírus, a prática de sexo oral desprotegido, com especial destaque para os homens com múltiplas parceiras, já que têm uma prevalência elevada de HPV oral de alto risco. Além disso, o tabagismo também se destaca como um fator de risco para carcinogénese, mas também como um indicador negativo de prognóstico já que diminui a sobrevida dos doentes.

Muitos estudos ressaltam o facto de haver bastante melhor prognóstico nos CCEO HPV (+) relativamente aos HPV (-), no entanto estes últimos estão a decrescer na sua prevalência e incidência, ao contrário dos CCEO HPV (+) que se destacam como um dos tumores com maior ascensão em termos epidemiológicos a nível mundial. Além disso, ao momento do diagnóstico, estes apresentam, em regra, um estadio mais avançado, requerendo normalmente um tratamento mais agressivo, levando a uma maior morbilidade pós-tratamento. No que diz respeito ao tratamento, há uma tentativa de testar modelos terapêuticos menos agressivos nos CCEO HPV (+), mas os ensaios clínicos relativos a esta questão ainda estão a decorrer. Preconiza-se, no entanto, segundo as *guidelines* atuais, que todos os CCEO devem ser testados quanto à presença ou não de infecção ativa por HPV (55). Após avaliação dos resultados obtidos neste estudo, propõe-se o algoritmo definido na Figura 3. Este algoritmo proposto, tem em conta a menor especificidade da técnica de p16 IHQ, sugerindo-se assim a confirmação dos resultados positivos com técnicas de deteção mais específicas na deteção de HPV. Deste modo, evitar-se-iam falsos positivos que, por sua vez, implicariam, erradamente, um subtratamento de doentes com CCEO que estariam estadiados como CCEO HPV (+), em vez de CCEO HPV (-).

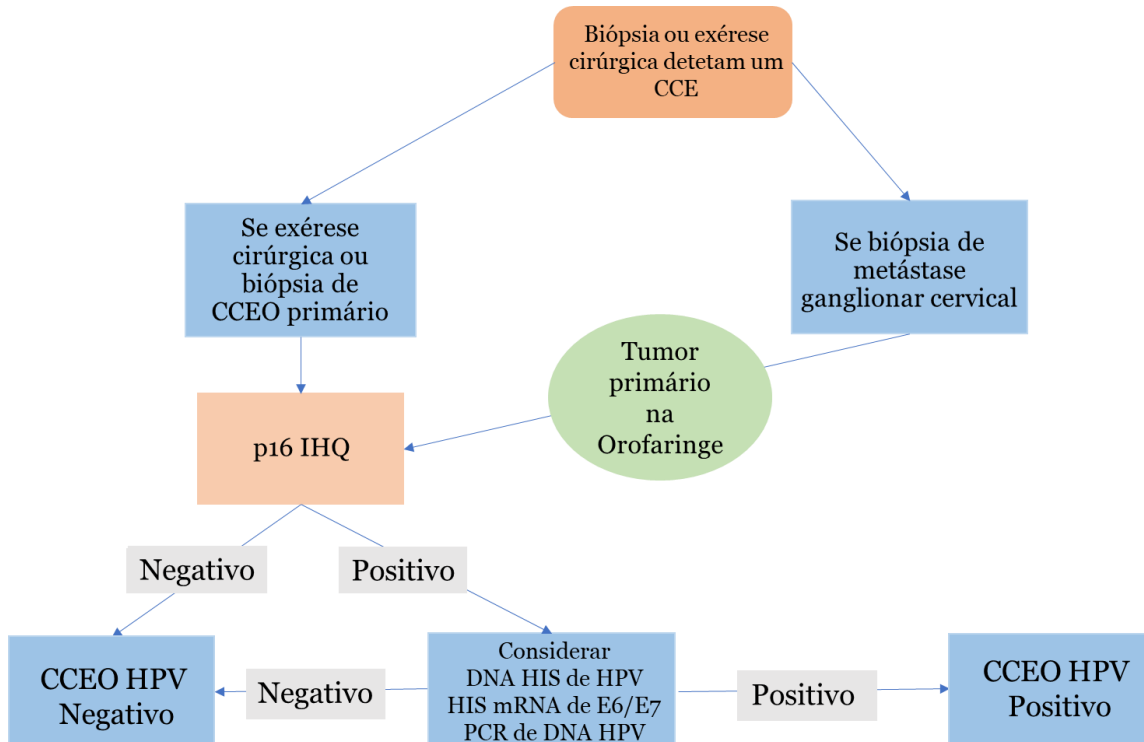


Figura 3 - Algoritmo de detecção de HPV em CCEO

Segundo as *guidelines* mais recentes, os modelos terapêuticos são distintos para CCEO p16 positivos e CCEO p16 negativos, favorecendo-se a monoterapia em CCEO p16 positivos até estádios T1/T2, No/N1, algo que não acontece nos CCEO p16 negativos, pois na existência de metástases em gânglios regionais privilegia-se a terapêutica combinada com RT e QT (55). Isto representa um avanço bastante importante nas modalidades terapêuticas, já que evita uma maior morbidade pós-tratamento em doentes com CCEO p16 positivos, nos quais se prevê, à partida, uma maior radiosensibilidade e por isso, um melhor prognóstico.

Desta forma, entende-se a importância rastrear a existência de infecção oral por HPV nos CCEO. Para um rastreio organizado, deverá ser feito um agrupamento de pessoas de risco mais elevado, já que permitirá um rastreio mais direcionado àqueles que realmente terão maior probabilidade de desenvolver um CCEO, evitando-se o desperdício de tempo e recursos numa percentagem da população de baixo risco.

A vacinação contra o HPV terá um papel importante para travar o avanço desta doença a nível mundial e deverá ser alargada ao sexo masculino. No entanto, os efeitos desta vacinação só se deverão sentir anos após a implementação desta medida, já que existe uma grande parte da população sexualmente ativa que não está vacinada. Por isso, para aqueles que já estão em risco devido à exposição prévia, o desenvolvimento de técnicas eficazes de rastreio será crucial para permitir a deteção precoce de lesões subclínicas.

Embora alguns métodos pareçam úteis na triagem de pessoas em coortes de alto risco, tal como a ecografia cervical e a detecção de DNA HPV em lavado oral, outras técnicas têm aplicação na avaliação individual de doentes e na vigilância de doenças. É impreterível que se realizem mais pesquisas para determinar os meios ideais para combinar esses e outros métodos, de forma a permitir a prevenção ideal de doenças e a detecção precoce em larga escala, já que alguns dos possíveis métodos de rastreio abordados dão boas indicações. No entanto, necessita de haver mais estudos, que abordem mais pessoas para que a qualidade e eficácia destas técnicas de detecção de HPV de alto risco sejam atestadas da melhor forma.

Os dados obtidos neste trabalho permitem concluir que é extremamente importante conhecer o status HPV dos doentes com CCEO. Apenas dessa forma é possível realizar o estadiamento adequado, estabelecer um prognóstico correto e adequar o tratamento. Entende-se com este estudo a necessidade de encontrar uma técnica adequada de rastreio, não só devido ao grande aumento dos CCEO atualmente, mas também para prevenir o diagnóstico em estadios avançados do tumor. Apesar de ser importante a introdução da vacina HPV no sexo masculino, esta não terá efeitos imediatos. Sendo assim, deve-se investir na vacinação universal, mas enquanto esta não for capaz de conferir imunidade a grande parte da população, deve-se investigar técnicas de rastreio, que permitam uma detecção de CCEO HPV (+) numa fase mais precoce.

6. Referências Bibliográficas

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(1):7–30.
2. Gillison ML. Evidence for a Causal Association Between Human Papillomavirus and a Subset of Head and Neck Cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(9):709–20.
3. Gillison ML, Chaturvedi AK, Anderson WF, Fakhry C. Epidemiology of human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2015;33(29):3235–42.
4. Bhatia A, Burtneess B. Human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer: Defining risk groups and clinical trials. *J Clin Oncol.* 2015;33(29):3243–50.
5. Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine.* 2006;24(SUPPL. 3):1–10.
6. Sheedy T, Heaton C. HPV-associated oropharyngeal cancer. *JAAPA.* 2019;32(9):26–31.
7. Sood AJ, McIlwain W, O’Connell B, Nguyen S, Houlton JJ, Day T. The association between T-stage and clinical nodal metastasis in HPV-positive oropharyngeal cancer. *Am J Otolaryngol - Head Neck Med Surg [Internet].* 2014;35(4):463–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjoto.2013.12.008>
8. Taberna M, Mena M, Pavón MA, Alemany L, Gillison ML, Mesía R. Human papillomavirus-related oropharyngeal cancer. *Ann Oncol [Internet].* 2017 Oct;28(10):2386–98. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419349300>
9. Timbang MR, Sim MW, Bewley AF, Farwell DG, Mantravadi A, Moore MG. HPV-related oropharyngeal cancer: a review on burden of the disease and opportunities for prevention and early detection. *Hum Vaccines Immunother [Internet].* 2019;15(7–8):1920–8. Available from: <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1600985>
10. D’Souza G, McNeel TS, Fakhry C. Understanding personal risk of oropharyngeal cancer: Risk-groups for oncogenic oral HPV infection and oropharyngeal cancer. *Ann Oncol.* 2017;28(12):3065–9.
11. Perry ME. The specialised structure of crypt epithelium in the human palatine tonsil and its functional significance. *J Anat [Internet].* 1994;185 (Pt 1):111–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7559106>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1166820>
12. Buckley L, Jackett L, Clark J, Gupta R. HPV-related Oropharyngeal Carcinoma: A

- Review of Clinical and Pathologic Features with Emphasis on Updates in Clinical and Pathologic Staging. *Adv Anat Pathol*. 2018;25(3):180–8.
13. Howard JD, Chung CH. Biology of Human Papillomavirus-Related Oropharyngeal Cancer. *Semin Radiat Oncol* [Internet]. 2012;22(3):187–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semradonc.2012.03.002>
 14. Paver EC, Currie AM, Gupta R, Dahlstrom JE. Human papilloma virus related squamous cell carcinomas of the head and neck: diagnosis, clinical implications and detection of HPV. Vol. 52, *Pathology*. 2020. p. 179–91.
 15. Gillison ML, Broutian T, Pickard RKL, Tong ZY, Xiao W, Kahle L, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009–2010. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2012;307(7):693–703.
 16. Garcı AJ, Hildesheim A, Herrero R, Trivett M, Williams M, Atmetlla I, et al. Persistent Human Papillomavirus Infection Is Associated with a Generalized Decrease in Immune Responsiveness in Older Women. 2006;(22):11070–7.
 17. Finer LB. Trends in Premarital Sex in the United States , 1954 - - 2003. 2003;122(February 2007):73–8.
 18. Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, et al. MAJOR ARTICLE A Prospective Study of Age Trends in Cervical Human Papillomavirus Acquisition and Persistence in Guanacaste , Costa Rica. 2005;7234.
 19. Dahlstrom KR, Bell D, Hanby D, Li G, Wang L, Williams MD, et al. Socioeconomic characteristics of patients with oropharyngeal carcinoma according to tumor HPV status, patient smoking status, and sexual behavior. *j.oraloncology*. 2016;51(9):832–8.
 20. Viens LJ, Jane Henley S, Watson M, Markowitz LE, Thomas CC, Thompson TD, et al. Human papillomavirus-associated cancers — United States, 2008–2012. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(26):661–6.
 21. Centers for Disease Control and Prevention. Cancers associated with human papillomavirus , United States – 2012–2016 Division of Cancer Prevention and Control. *US Cancer Stat data Br* [Internet]. 2019;(10). Available from: <https://www.cdc.gov/cancer/uscs/pdf/USCS-DataBrief-No10-August2019-h.pdf>
 22. Graham D, Prue G, Baker P, Nutting C, Greenhouse P, Lawler M. Early detection of HPV-associated oropharyngeal cancer—Authors’ reply. *Lancet* [Internet]. 2019;393(10186):2123–4. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30291-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30291-0)
 23. Giuliano AR, Nyitray AG, Kreimer AR, Campbell CMP, Goodman MT, Sudenga SL, et al. Differences in HPV infection natural history, transmission, and HPV-

- related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. 2016;136(12):2752–60.
24. Wilson L, Pawlita M, Castle PE, Waterboer T, Sahasrabudde V, Gravitt PE, et al. Seroprevalence of 8 Oncogenic Human Papillomavirus Genotypes and Acquired Immunity Against Reinfection. 2014;210.
 25. Gillison ML, Alemany L, Snijders PJF, Chaturvedi A, Steinberg BM, Schwartz S, et al. Human Papillomavirus and Diseases of the Upper Airway : Head and Neck Cancer and Respiratory Papillomatosis. Vaccine [Internet]. 2012;30:F34–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.070>
 26. Anantharaman D, Muller DC, Lagiou P, Merletti F, Ahrens W, Holc I, et al. Combined effects of smoking and HPV16 in oropharyngeal cancer. Int J Epidemiol. 2016;(May):752–61.
 27. Chaturvedi AK, Souza GD, Gillison ML, Katki HA. Burden of HPV-positive oropharynx cancers among ever and never smokers in the U . S . population. Oral Oncol [Internet]. 2016;60:61–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2016.06.006>
 28. Gillison ML, Souza GD, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, et al. Distinct Risk Factor Profiles for Human Papillomavirus Type 16 – Positive and Human Papillomavirus Type 16 – Negative Head and Neck Cancers. 2008;407–20.
 29. Vokes EE, Agrawal N, Seiwert TY. HPV-Associated Head and Neck Cancer. J Natl Cancer Inst. 2015;107(12):djv344.
 30. Fakhry C, Andersen KK, Christensen J, Agrawal N, Eisele DW. The impact of tonsillectomy upon the risk of oropharyngeal carcinoma diagnosis and prognosis in the Danish Cancer Registry. Cancer Prev Res. 2015;8(7):583–9.
 31. Manuscript A. Europe PMC Funders Group Genome-wide association analyses identify new susceptibility loci for oral cavity and pharyngeal cancer. 2017;48(12):1544–50.
 32. McIlwain WR, Sood AJ, Nguyen SA, Day TA. Initial symptoms in patients with HPV-positive and HPV-negative oropharyngeal cancer. JAMA Otolaryngol - Head Neck Surg. 2014;140(5):441–7.
 33. Young D, Xiao CC, Murphy B, Moore M, Fakhry C, Day TA. Increase in head and neck cancer in younger patients due to human papillomavirus (HPV). Oral Oncol [Internet]. 2015;51(8):727–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.03.015>
 34. Carpén T, Sjöblom A, Lundberg M, Haglund C, Markkola A, Syrjänen S, et al. Presenting symptoms and clinical findings in HPV- positive and HPV-negative oropharyngeal cancer patients. Acta Otolaryngol [Internet]. 2017;0(0):1–6.

- Available from: <https://doi.org/10.1080/00016489.2017.1405279>
35. Upile NS, Shaw RJ, Jones TM, Goodyear P, Liloglou T, Risk JM, et al. Squamous cell carcinoma of the head and neck outside the oropharynx is rarely human papillomavirus related. *Laryngoscope*. 2014;124(12):2739–44.
 36. D'Souza G, Zhang HH, D'Souza WD, Meyer RR, Gillison ML. Moderate predictive value of demographic and behavioral characteristics for a diagnosis of HPV16-positive and HPV16-negative head and neck cancer. *Oral Oncol* [Internet]. 2010 Feb;46(2):100–4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1368837509009737>
 37. Westra WH. Detection of human papillomavirus (HPV) in clinical samples: Evolving methods and strategies for the accurate determination of HPV status of head and neck carcinomas. *Oral Oncol* [Internet]. 2014;50(9):771–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.05.004>
 38. Esmo E, Clinical E, Guidelines P. clinical practice guidelines clinical practice guidelines. 2010;21(Supplement 5):184–6.
 39. Thavaraj S, Stokes A, Guerra E, Bible J, Halligan E, Long A, et al. Evaluation of human papillomavirus testing for squamous cell carcinoma of the tonsil in clinical practice. 2011;
 40. Walline HM, Komarck C, Mchugh JB, Byrd SA, Spector ME, Hauff SJ, et al. High-risk human papillomavirus detection in oropharyngeal, nasopharyngeal, and, oral cavity cancers: Comparison of multiple methods. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;139(12):1320–7.
 41. Cantley RL, Gabrielli E, Montebelli F, Cimbaluk D, Gattuso P, Petruzzelli G. Ancillary Studies in Determining Human Papillomavirus Status of Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx : A Review. 2011;2011.
 42. Jordan RC, Lingen MW, Perez-ordonez B, He X, Pickard R, Koluder M, et al. Validation of methods for oropharyngeal cancer HPV status determination in United States cooperative group trials. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(7):945–54.
 43. Singhi AD, Westra WH. Comparison of Human Papillomavirus In Situ Hybridization and p16 Immunohistochemistry in the Detection of Human Papillomavirus- Associated Head and Neck Cancer Based on a Prospective Clinical Experience. 2010;2166–73.
 44. Begum S, Gillison ML, Nicol TL, Westra WH. Detection of Human Papillomavirus-16 in Fine-Needle Aspirates to DetermineT umor Origin in Patients with Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. 2007;13(4):1186–92.
 45. Huang SH, Mrt T, Sullivan BO, O'Sullivan B, Mrt T, Sullivan BO, et al. Overview

- of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Curr Treat Options Oncol.* 2017;18(7).
46. Huang SH, Xu W, Waldron J, Siu L, Shen X, Tong L, et al. Refining American joint committee on cancer/union for international cancer control TNM stage and prognostic groups for human papillomavirus-related oropharyngeal carcinomas. *J Clin Oncol.* 2015;33(8):836–45.
 47. M. A, S. E, F. G. *AJCC Cancer Staging Manual.* 8th ed. New York: Springer US; 2017.
 48. Thomas J, Primeaux T. Is p16 immunohistochemistry a more cost-effective method for identification of human papilloma virus-associated head and neck squamous cell carcinoma? *Ann Diagn Pathol [Internet].* 2012;16(2):91–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2011.09.002>
 49. Forastiere AA. Chemotherapy in the treatment of locally advanced head and neck cancer. *J Surg Oncol.* 2008;97(8):701–7.
 50. Baskin RM, Boyce BJ, Amdur R, Mendenhall WM, Hitchcock K, Silver N, et al. Transoral robotic surgery for oropharyngeal cancer : patient selection and special considerations. 2018;839–46.
 51. Mirghani H, Amen F, Blanchard P, Moreau F, Guigay J, Hartl DM, et al. Treatment de-escalation in HPV-positive oropharyngeal carcinoma: Ongoing trials, critical issues and perspectives. 2015;1503(Table 1):1494–503.
 52. States U, Opscc H, Opscc H, Human I, Opscc H, Opscc H, et al. Evolving Treatment Paradigms for Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. 2016;1–9.
 53. Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-tân PF, Westra WH, Chung CH, Jordan RC, et al. Human Papillomavirus and Survival of Patients with Oropharyngeal Cancer. 2010;
 54. Parvathaneni U, Lavertu P, Gibson MK, Glastonbury CM. Advances in diagnosis and multidisciplinary management of oropharyngeal squamous cell carcinoma: State of the art. *Radiographics.* 2019;39(7):2055–68.
 55. G. Pfister D, Spencer S. Head and neck cancers. In: *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.* 2020.
 56. Blanchard P, Baujat B, Holostenco V, Bourredjem A, Baey C, Bourhis J, et al. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): A comprehensive analysis by tumour site. *Radiother Oncol [Internet].* 2011;100(1):33–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.radonc.2011.05.036>
 57. Gillison ML, Zhang Q, Jordan R, Xiao W, Westra WH, Trotti A, et al. Tobacco smoking and increased risk of death and progression for patients with p16-

- positive and p16-negative oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(17):2102–11.
58. Moore EJ, Hinni ML, Olsen KD, Price DL, Laborde RR, Inman JC. Cost considerations in the treatment of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Otolaryngol - Head Neck Surg (United States)*. 2012;146(6):946–51.
59. Ward G, Mehta V, Moore M. Morbidity, mortality and cost from HPV-related oropharyngeal cancer: Impact of 2-, 4- and 9-valent vaccines. *Hum Vaccines Immunother*. 2016;12(6):1343–7.
60. Irune E, Dwivedi RC, Nutting CM, Harrington KJ. Treatment-related dysgeusia in head and neck cancer patients. *Cancer Treat Rev [Internet]*. 2014;40(9):1106–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2014.06.011>
61. Vatca M, Lucas JT, Laudadio J, D'Agostino RB, Waltonen JD, Sullivan CA, et al. Retrospective analysis of the impact of HPV status and smoking on mucositis in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma treated with concurrent chemotherapy and radiotherapy. *Oral Oncol [Internet]*. 2014;50(9):869–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.06.010>
62. Chera BS, Amdur RJ, Tepper J, Qaqish B, Green R, Aumer SL, et al. Phase 2 trial of de-intensified chemoradiation therapy for favorable-risk human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys [Internet]*. 2015;93(5):976–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijrobp.2015.08.033>
63. Elrefaey S, Massaro MA, Chiocca S, Chiesa F, Ansarin M. HPV in oropharyngeal cancer: the basics to know in clinical practice. *Acta Otorhinolaryngol Ital [Internet]*. 2014;34(5):299–309. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25709145> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4299160>
64. Mirghani H, Blanchard P. Treatment de-escalation for HPV-driven oropharyngeal cancer: Where do we stand? *Clin Transl Radiat Oncol [Internet]*. 2018;8:4–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ctro.2017.10.005>
65. Craig SG, Anderson LA, Schache AG, Moran M, Graham L, Currie K, et al. Recommendations for determining HPV status in patients with oropharyngeal cancers under TNM8 guidelines: a two-tier approach. *Br J Cancer [Internet]*. 2019;120(8):827–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41416-019-0414-9>
66. Coordes A, Lenz K, Qian X, Lenarz M, Kaufmann AM, Albers AE. Meta-analysis of survival in patients with HNSCC discriminates risk depending on combined HPV and p16 status. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2016;273(8):2157–69.

67. Cantrell SC, Peck BW, Li G, Wei Q, Sturgis EM, Ginsberg LE. Differences in Imaging Characteristics of HPV-Positive and HPV-Negative Oropharyngeal Cancers: A Blinded Matched-Pair Analysis. *Am J Neuroradiol* [Internet]. 2013 Oct 17;34(10):2005–9. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.956839>
68. Fakhry C, Zhang Q, Nguyen-Tan PF, Rosenthal D, El-Naggar A, Garden AS, et al. Human papillomavirus and overall survival after progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2014;32(30):3365–73.
69. Fakhry C, Zhang Q, Nguyen-Tân PF, Rosenthal DI, Weber RS, Lambert L, et al. Development and validation of nomograms predictive of overall and progression-free survival in patients with oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol*. 2017;35(36):4057–65.
70. Scudellari M. HPV: Sex, cancer and a virus. *Nature*. 2013;503(7476):330–2.
71. Berman TA, Schiller JT. Human papillomavirus in cervical cancer and oropharyngeal cancer: One cause, two diseases. *Cancer*. 2017;123(12):2219–29.
72. Moore KA, Mehta V. The growing epidemic of HPV-positive oropharyngeal carcinoma: A clinical review for primary care providers. *J Am Board Fam Med*. 2015;28(4):498–503.
73. Gupta A, Perkins RB, Ortega G, Feldman S, Villa A. Barrier use during oro-genital sex and oral Human Papillomavirus prevalence: Analysis of NHANES 2009–2014. *Oral Dis*. 2019;25(2):609–16.
74. Markowitz LE, Dunne EF, Saraiya M, Chesson HW, Curtis CR, Gee J, et al. Human Papillomavirus Vaccination Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Reports*. 2014;63(1):1–30.
75. Vesikari T, Brodzski N, Van Damme P, Diez-Domingo J, Icardi G, Petersen LK, et al. A Randomized, Double-Blind, Phase III Study of the Immunogenicity and Safety of a 9-Valent Human Papillomavirus L1 Virus-Like Particle Vaccine (V503) Versus Gardasil® in 9-15-Year-Old Girls. *Pediatr Infect Dis J*. 2015;34(9):992–8.
76. Herrero R, Quint W, Hildesheim A, Gonzalez P, Struijk L, Katki HA, et al. Reduced Prevalence of Oral Human Papillomavirus (HPV) 4 Years after Bivalent HPV Vaccination in a Randomized Clinical Trial in Costa Rica. *PLoS One*. 2013;8(7).
77. Hirth JM, Chang M, Resto VA, Guo F, Berenson AB. Prevalence of oral human papillomavirus by vaccination status among young adults (18–30 years old). *Vaccine* [Internet]. 2017;35(27):3446–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.05.025>
78. Chaturvedi AK, Graubard BI, Broutian T, Pickard RKL, Tong ZY, Xiao W, et al. Effect of prophylactic human papillomavirus (HPV) vaccination on oral HPV

- infections among young adults in the United States. *J Clin Oncol*. 2018;36(3):262–7.
79. Graham DM, Isaranuwachai W, Habbous S, De Oliveira C, Liu G, Siu LL, et al. A cost-effectiveness analysis of human papillomavirus vaccination of boys for the prevention of oropharyngeal cancer. *Cancer*. 2015;121(11):1785–92.
80. Favato G, Easton T, Vecchiato R, Noikokyris E. Ecological validity of cost-effectiveness models of universal HPV vaccination: A systematic literature review. *Vaccine* [Internet]. 2017;35(20):2622–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.03.093>
81. Prue G, Baker P, Graham D, Nutting C, Greenhouse P, Lawler M. It is time for universal HPV vaccination. *Lancet* [Internet]. 2018;392(10151):913–4. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31821-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31821-X)
82. Saúde DG de. Programa Nacional de Vacinação atualizado em 2020 [Internet]. 2019. p. 1. Available from: <https://www.dgs.pt/em-destaque/programa-nacional-de-vacinacao-atualizado-em-20201.aspx>
83. Elbasha EH, Dasbach EJ. Impact of vaccinating boys and men against HPV in the United States. *Vaccine* [Internet]. 2010;28(42):6858–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.08.030>
84. Rosenthal M, Huang B, Katabi N, Migliacci J, Bryant R, Kaplan S, et al. Detection of HPV related oropharyngeal cancer in oral rinse specimens. *Oncotarget*. 2017;8(65):109393–401.
85. Mainous AG, Hong Y, Yadav S, Xie Z, Tanner RJ, Iii AGM, et al. A Practical Risk Measure for Identification of Adults With Oncogenic Oral Human Papillomavirus: Potential Use in Primary Care. *Fam Med* [Internet]. 2020;52(1):31–7. Available from: <https://journals.stfm.org/familymedicine/2020/january/mainous-2019-0184/>
86. Kreimer AR, Johansson M, Waterboer T, Kaaks R, Chang-Claude J, Drogen D, et al. Evaluation of Human Papillomavirus Antibodies and Risk of Subsequent Head and Neck Cancer. *J Clin Oncol*. 2013;31(21):2708–15.
87. Zhang Y, Waterboer T, Pawlita M, Sugar E, Minkoff H, Cranston RD, et al. Human Papillomavirus (HPV) 16 E6 seropositivity is elevated in subjects with oral HPV16 infection. *Cancer Epidemiol* [Internet]. 2016;43:30–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canep.2016.06.002>
88. Coquia SF, Hamper UM, Holman ME, DeJong MR, Subramaniam RM, Aygun N, et al. Visualization of the oropharynx with transcervical ultrasound. *Am J Roentgenol*. 2015;205(6):1288–94.
89. Muto M, Minashi K, Yano T, Saito Y, Oda I, Nonaka S, et al. Early detection of

- superficial squamous cell carcinoma in the head and neck region and esophagus by narrow band imaging: A multicenter randomized controlled trial. *J Clin Oncol.* 2010;28(9):1566–72.
90. Meier JD, Xie H, Sun Y, Sun Y, Hatami N, Poirier B, et al. Time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy as a diagnostic instrument in head and neck carcinoma. *Otolaryngol - Head Neck Surg.* 2010;142(6):838–44.
91. Hanna GJ, Supplee JG, Kuang Y, Mahmood U, Lau CJ, Haddad RI, et al. Plasma HPV cell-free DNA monitoring in advanced HPV-associated oropharyngeal cancer. *Ann Oncol.* 2018;29(9):1980–6.
92. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SAS, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *Int J Infect Dis.* 2010;14(3):184–8.
93. Chai RC, Lambie D, Verma M, Punyadeera C. Current trends in the etiology and diagnosis of HPV-related head and neck cancers. *Cancer Med.* 2015;4(4):596–607.
94. Rautava J, Syrjänen S. Biology of Human Papillomavirus Infections in Head and Neck Carcinogenesis. *Head Neck Pathol.* 2012;6(SUPPL. 1):3–15.