

Caracterização do Cancro da Cavidade Oral e Orofaringe da População das Ilhas de São Miguel e Santa Maria

Dissertação de Mestrado

Maria Carolina Cabral Pacheco

Mestrado em

Ciências Biomédicas



Caracterização do Cancro da Cavidade Oral e Orofaringe da população das Ilhas de São Miguel e Santa Maria

Dissertação de Mestrado

Maria Carolina Cabral Pacheco

Orientadores

Professora Doutora Maria Manuela Medeiros Lima

Professor Doutor Armindo dos Santos Rodrigues

Dr. Victor Manuel Dias Carneiro

Tese de Mestrado submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas



Agradecimentos

Durante 2 anos, senti-me como uma jovem de 20 anos outra vez. Em tudo devido à energia e vivacidade dos meus colegas. A eles o meu primeiro agradecimento, por terem se ajustado aos meus horários (trabalho e família) aquando a realização de trabalhos e por serem um grupo coeso sempre dispostos a ajudar;

À Doutora Manuela Lima e ao Doutor Armindo Rodrigues por aceitarem embarcar na aventura de orientar este projeto, procurando ensinar mas também conhecer novos domínios científicos para poderem me transmitir todo este conhecimento.

Ao Doutor Victor Carneiro pela transmissão da sua experiência pessoal e científica que permitiu a realização desta dissertação.

Às minhas colegas do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital do Divino Espírito Santo pelo espírito de equipa que foi preciso para a realização de todo o trabalho laboratorial. Às colegas do secretariado por todo o apoio na parte de colheita de dados e à memória da Hermínia, que não podendo agora contemplar o trabalho final, foi também uma parte integrante deste.

À Doutora Patrícia Garcia, por ter enriquecido todo o trabalho com o seu conhecimento na área de estatística e simpatia dedicadas;

Ao Dr. Manuel Pontes por ter mostrado disponibilidade para a avaliação do p16 valorizando mais este trabalho;

Às colegas do arquivo clínico do Hospital do Divino Espírito Santo pelo apoio no levantamento dos arquivos dos pacientes da amostra;

Ao Ricardo Camarinho pelo apoio prestado ao fotografar os casos de imunohistoquímica;

Por fim agradeço à minha família pelo apoio e paciência de ficar ao meu lado, aos meus pais por serem os melhores avós do mundo; às tias que são como avós, ao meu filho super compreensivo e um carinho especial ao João que me apoiou e encorajou para fazer este mestrado.

Índice

1. Índice de figuras	vii
2. Índice das tabelas	viii
3. Índice de siglas.....	ix
4. Introdução	3
5. Contextualização teórica	4
5.1. O Vírus do Papiloma Humano	5
5.1.1. Estrutura e replicação do HPV.....	6
5.1.2. Patogénese e imunidade	7
5.1.3. Mecanismo molecular de carcinogénese do HPV nos tumores da orofaringe	8
5.1.4. Diagnóstico do HPV.....	10
5.2. Expressão do P16 nos tumores da Cavidade oral e orofaringe.....	14
6. Objectivos.....	15
7. Sujeitos e Métodos.....	16
7.1. Análise da distribuição e incidência do CCOO das ilhas de São Miguel e Santa Maria	17
7.2. Estudo da deteção e estudo da expressão da proteína P16	18
7.2.1. Deteção e genotipagem do HPV por <i>HPV Direct Flow CHIP</i>	18
7.3. Deteção do P16 por imunohistoquímica.....	20
7.4. Análises Estatísticas.....	21
8. Resultados	22
8.1. Parte I: Caracterização da amostra	22
8.1.1. Incidência do Cancro da cavidade oral e orofaringe.....	22
8.1.2. Relação entre o tipo histológico e a Idade.....	26
8.2. Parte II: O carcinoma espinocelular	28
8.2.1. Distribuição do carcinoma espinocelular de acordo com o género dos pacientes	28
8.2.2. Carcinoma espinocelular e tipo de tumor (quanto à localização anatómica).....	29
8.2.3. Análise da distribuição dos hábitos tabágicos e etílicos em função no tipo de cancro.....	32
8.2.4. Análise da distribuição do tipo de cancro em função do género	33
8.2.5. Análise das correlações entre variáveis	34
8.3. Parte III: O HPV como fator etiológico do carcinoma da orofaringe.....	35
9. Discussão	37
9.1. Parte I.....	37
9.2. Parte II.....	39

9.3. Parte III.....	40
10. Conclusões.....	42
11. Bibliografia.....	43
12. 58	

1. Índice de figuras

FIGURA 1 - RESUMO DAS VIAS EPIGENÉTICAS ENVOLVIDAS NO CARCINOMA ESPINOCELULAR DA OROFARINGE. APÓS A INTEGRAÇÃO DO HPV NO GENOMA HUMANO AS PROTEÍNAS E6 E E7 IRÃO PROVOCAR ALTERAÇÕES NO P53, RB E COMPLEXO REPRESSIVO POLICOMB [6].....	10
FIGURA 2 - (A) E (B) REPRESENTAM AS ZONAS ONDE O DNA VIRAL É INTERROMPIDO ANTES DA INTEGRAÇÃO DO DNA VIRAL NO HOSPEDEIRO [10].....	12
FIGURA 3 – O GRÁFICO REPRESENTA A EVOLUÇÃO DA TAXA DE INCIDÊNCIA ANUAL (TIA) PADRONIZADA POR 100.000 HABITANTES, DO CANCRO DA CAVIDADE ORAL E DA OROFARINGE NAS ILHAS DE SÃO MIGUEL E SANTA MARIA, NO PERÍODO ENTRE 2007 A 2016	23
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO DA INCIDÊNCIA MÉDIA DOS DIFERENTES CCOO NA ILHA DE SANTA MARIA	24
FIGURA 6 – GRÁFICO DE CAIXA DE BIGODES (COM A INDICAÇÃO DA MEDIANA) REPRESENTATIVO DA DISTRIBUIÇÃO DA IDADE DOS PACIENTES EM CADA TIPO HISTOLÓGICO DE CANCRO	26
FIGURA 7 - DISTRIBUIÇÃO DO CARCINOMA ESPINOCELULAR NAS ILHAS DE SÃO MIGUEL E SANTA MARIA, TENDO EM CONSIDERAÇÃO O GÉNERO DOS PACIENTES.....	28
FIGURA 8 - REPRESENTAÇÃO DA INCIDÊNCIA MÉDIA DO CARCINOMA ESPINOCELULAR NA CAVIDADE ORAL E NA OROFARINGE, NA ZONA OESTE DA ILHA DE SÃO MIGUEL.....	29
FIGURA 9 - REPRESENTAÇÃO DA INCIDÊNCIA MÉDIA DO CARCINOMA ESPINOCELULAR NA CAVIDADE ORAL E NA OROFARINGE, NA ZONA ESTE DA ILHA DE SÃO MIGUEL	30
FIGURA 10 - REPRESENTAÇÃO DA INCIDÊNCIA MÉDIA DO CARCINOMA ESPINOCELULAR, NA CAVIDADE ORAL E NA OROFARINGE, NA ILHA DE SANTA MARIA.....	31
FIGURA 11 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA DISTRIBUIÇÃO DO CARCINOMA ESPINOCELULAR NOS HOMENS E NAS MULHERES, CONSIDERANDO A LOCALIZAÇÃO PRIMÁRIA DO TUMOR	33
FIGURA 12 - (A1,B1 E C1)COLORAÇÃO DE HEMATOXILINA-EOSINA EM AMOSTRAS DE BIOPSIAS DA OROFARINGE COM CARCINOMA ESPINOCELULAR, EM A1 E B1 NÃO QUERATINIZANTE E EM C1 QUERATINIZANTE. (A2, B2 E C2) IMUNO-EXPRESSÃO DO P16 NAS AMOSTRAS CORRESPONDENTES. EM A2 SEM IMUNO-EXPRESSÃO. B2 COM PONTUAÇÃO 2 EM TERMOS DE POSITIVIDADE CELULAR E INTENSIDADE FORTE. C2 COM 3 DE POSITIVIDADE CELULAR E INTENSIDADE FORTE. A2 FOTOGRAFADA COM OBJECTIVA DE 20X, RESTANTES FOTOS OBJECTIVA DE 10X.....	35

2. Índice das tabelas

TABELA 1: PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DO HPV.....	13
TABELA 2 - ZONAS ANATÓMICAS DA CAVIDADE ORAL E DA OROFARINGE.	17
TABELA 3: NÚMERO DE CANCROS DA CAVIDADE ORAL E OROFARINGE NAS ILHAS DE SÃO MIGUEL E SANTA MARIA NO PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE 2007 E 2016.	22
TABELA 4 – RESULTADOS DA ANÁLISE DA VARÂNCIA A UM FATOR (1-WAY ANOVA) PARA COMPARAR AS MÉDIAS DE IDADES ENTRE OS DIFERENTES TIPOS HISTOLÓGICOS E NAS VÁRIAS DISTRIBUIÇÕES GEOGRÁFICAS.....	27
TABELA 5 – FREQUÊNCIAS RELATIVAS E ABSOLUTAS DAS DIFERENTES LOCALIZAÇÕES DO CARCINOMA ESPINOCELULAR EM FUNÇÃO DOS HÁBITOS TABÁGICOS E ETÍLICOS.	32
TABELA 6 – ANÁLISE ENTRE OS VALORES ENCONTRADOS E ESPERADOS PARA AS VARÁVEIS DE LOCALIZAÇÃO DO TUMOR (TUMORID) E GÉNERO.	33
TABELA 7 - RESULTADOS OBTIDOS DA ANÁLISE DO P16 E DETEÇÃO DO HPV.....	36

3. Índice de siglas

CCOO – Cancro da cavidade Oral e Orofaringe;

HPV – Vírus do Papiloma Humano;

DNA – Ácido desoxirribonucleico;

HPV-AR – Vírus do Papiloma Humano de alto Risco;

APC – Células Apresentadoras de Antígeno;

RNA – Ácido Ribonucleico;

PRC2 – Complexo Repressivo do Polcomb 2;

BMI1 – B-cell Specific Moloney Murine Leucemia Vírus Integration Site 1;

HOTAIR – Hox Transcript Antisense RNA;

PCR – Polimerase Chain Reaction;

HDES – Hospital do Divino Espírito Santo;

SAP-HDES – Serviço de Anatomia Patológica do Hospital do Divino Espírito Santo;

ANOVA – Analyse of Variance;

TIA – Taxa de Incidência Anual;

TIM – Taxa de Incidência Média,

LORAN – Long Range Navigation;

NATO – North Atlantic Treaty Organization.

Resumo

A incidência do cancro da cavidade oral e orofaringe (CCOO) tem aumentado mundialmente. A presença do vírus do Papiloma humano (HPV) na cavidade oral e orofaringe, está associada ao desenvolvimento de carcinomas e está relacionada com melhor prognóstico quando comparados com os carcinomas HPV negativos, tornando-se pois importante individualizar estes casos de forma a poder delinear no futuro estratégias terapêuticas diferentes para estes pacientes. Este estudo tem por objectivo conhecer a epidemiologia do CCOO, das populações das ilhas de São Miguel e Santa Maria, no período entre 2007 a 2016 e caracterizar, quanto à presença do HPV ativo, um subgrupo de carcinomas espinocelulares da orofaringe. Para determinar a presença de integração do DNA viral nas células do hospedeiro, foram realizados dois métodos, o método molecular o *HPV Direct Flow CHIP KIT*, e o método imunohistoquímico de avaliação da sobreexpressão da proteína P16^{INK4a}. Para avaliar os fatores epidemiológicos utilizou-se a informação disponível nas requisições que os médicos enviam para o Serviço de Anatomia patológica do Hospital do Divino Espírito Santo e nos ficheiros clínicos dos pacientes. Este estudo concluiu que o carcinoma espinocelular representa cerca de 90% de todos CCOO na região, e afeta 10 vezes mais homens do que mulheres. O presente estudo revelou que a incidência do CCOO em Santa Maria é 3 vezes maior que a média nacional e, pela primeira vez, foi demonstrado que o consumo de tabaco está associado ao cancro da cavidade oral e o consumo de álcool está associado ao cancro da orofaringe. Os hábitos de estilo de vida estão, na região, na origem do CCOO e o HPV não tem um envolvimento significativo no desenvolvimento deste.

Palavras Chave:

Carcinoma, cavidade oral, orofaringe, vírus do Papiloma Humano, p16, álcool, tabaco .

Abstract

The incidence of oral cavity and oropharyngeal cancer (CCOO) is rising worldwide. The presence of human Papillomavirus (HPV) in the oral cavity and oropharynx is related to the developing of carcinomas with better outcomes, when compared to HPV negative carcinomas, making it important to individualize these cases to outline different health strategies to these patients. The aim of this study is to understand the epidemiology of CCOO in São Miguel and Santa Maria populations, in the period between 2007 and 2016, and to characterise a subgroup of squamous cell carcinomas for the presence of active HPV. For determining the presence of viral integration two methods were applied, a molecular one, the HPV Direct Flow CHIP KIT, and a immunohistochemistry for evaluating the p16^{INK4a} protein overexpression. To evaluate the epidemiologic factors we used the information that was available on the patients files that are sent to the Pathology from Hospital do Divino Espírito Santo. This study concluded that, in the region, squamous cell carcinoma represents 90% of all CCOO and affects men 10 times more than women. It also revealed that the incidence of CCOO for Santa Maria is 3 times larger than the average incidence for Portugal and, for the first time, it was demonstrated that smoking is directly related to oral cavity cancer and alcohol consumption to oropharyngeal. Life style habits are, in this region, the main factors for CCOO and HPV doesn't have a significant involvement on it.

Key Words

Carcinoma, oral cavity, oropharynx, Human Papillomavirus, p16, alcohol, smoking.

4. Introdução

A heterogeneidade do carcinoma espinocelular da cavidade oral e orofaringe tem levado milhares de investigadores a estudar o desenvolvimento deste tipo de cancro. Atualmente conhecem-se os fatores de risco para o desenvolvimento destes cancros e conhecem-se os fatores moleculares que lhe dão origem. O presente trabalho propõe-se a evidenciar os fatores que poderão estar na origem do carcinoma espinocelular da cavidade oral e orofaringe no grupo oriental de um pequeno arquipélago – os Açores. Estas ilhas, desprendidas do seu continente, são caracterizadas por uma cultura própria e um povo com hábitos próprios.

Este estudo foi realizado em contexto profissional uma vez que as informações obtidas podem complementar as informações clínicas dos pacientes incluídos na amostra, para além disso, estas informações são pertinentes à luz do rastreio oral que arrancou na região em Janeiro de 2017. Este estudo permitiu melhorar, na região, o diagnóstico laboratorial do carcinoma espinocelular na cavidade oral e orofaringe.

O presente estudo está organizado em três partes. Na primeira caracteriza-se o cancro da cavidade oral e orofaringe nas ilhas de São Miguel e Santa Maria quanto à incidência, distribuição, género e tipo histológico, no período compreendido entre 2007 e 2016. Na segunda parte abordam-se as mesmas questões apenas para o carcinoma espinocelular por ser este o tipo histológico dominante na população em geral. Na terceira parte, entendeu-se estudar apenas o carcinoma espinocelular na orofaringe (sub-amostra), por este possuir um prognóstico diferente quando associado ao vírus do Papiloma Humano (HPV).