



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS**

JOÃO GUILHERME PEREIRA BARROS

**A IMPLICAÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO CÂNCER DE LARINGE:
Revisão Sistemática**

**BELÉM
2013**

JOÃO GUILHERME PEREIRA BARROS

**A IMPLICAÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO CÂNCER DE LARINGE:
Revisão Sistemática**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Doenças Tropicais, da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maísa Silva de Sousa
Co-orientador: Prof. Dr. Regis Bruni Andriolo

**BELÉM
2013**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B277p Barros, João Guilherme Pereira

A implicação do papillomavírus humano no câncer de laringe: revisão sistemática / João Guilherme Pereira Barros; orientadora, Maísa Silva de Sousa. – Belém, 2013.

80f.

Referências: 56-65 f.

Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais) – Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Núcleo de Doenças Tropicais, Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

1. Neoplasias Laríngeas. 2. Infecções por Papillomavirus. I. Sousa, Maísa Silva de. II. Título.

CDU: 616-006.5

Catalogação na Publicação: Bibl. Luciene Dias Cavalcante – CRB2/1076

JOÃO GUILHERME PEREIRA BARROS

**A IMPLICAÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO CÂNCER DE LARINGE:
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Dissertação de mestrado apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais.

BANCA EXAMINADORA:

_____ - Orientadora
Profa. Dra. Máisa Silva de Sousa
Universidade do Federal do Pará

Profa. Dra. Luiza Caricio Martins
Universidade do Federal do Pará

Profa. Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro
Universidade do Federal do Pará

Prof. Dr. Juarez Antônio Simões Quaresma
Universidade do Federal do Pará

Apresentado em: 08 / 03 / 2013

Avaliação: Aprovada

Aos Amores da minha vida

A minha mãe, Maria da Batalha, por seu exemplo de mulher e mãe, meu porto seguro, por sua força e dedicação, por sempre estar ao meu lado mesmo que distante, apoiando e aconselhando, e pelo seu amor incondicional sem o qual eu não seria nada.

Ao meu pai João Alberto por estar sempre por perto em pensamento, por seus conselhos, atenção, carinho e amor.

Aos meus queridos e amados irmãos: João Alberto, João Paulo, Ana Cláudia, Francisco, Adriana e Lucyana, que apesar da distância sempre estão presente no amor, no cuidado e no coração.

Aos meus filhos Ingrid e João Pedro, por serem minha inspiração e estímulo de vida.

A minha esposa Wanda, por sempre estar pertinho, cuidando, aconselhando e apoiando.

Obrigado por tudo que compartilhamos e vivemos juntos.

As minhas enteadas Wanda Maria e Eva Louise, pela paciência e carinho.

AGRADECIMENTOS

À Deus e Jesus Cristo, por me amarem e me concederem a vitória.

À Profa. Dra. Maísa Silva de Sousa - orientadora desta dissertação, por acreditar na nossa capacidade de trabalho.

Ao Prof. Dr. Regis Bruni Andriolo - Co-orientador, que além de ter o poder de se multiplicar para resolver problemas nem sempre seus, arranhou tempo para ajudar-nos com seus valiosos ensinamentos, encorajando e incentivando a realização desta dissertação, além de auxiliar o aprendizado de temas de metodologia científica.

À Profa. Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro, que também encorajou e incentivou a realização deste trabalho.

Aos autores dos ensaios clínicos aleatorizados incluídos nesta revisão sistemática.

Aos Docentes da Universidade do Estado do Pará e do Programa de Pós-Graduação do Núcleo de Medicina Tropical que, com seus exemplos, desenvolveram nosso senso crítico.

Aos colegas da pós-graduação de ambas as instituições, por seu companheirismo e amizade.

Aos profissionais das bibliotecas do Hospital Ophir Loyola e do Núcleo de Medicina Tropical, em especial a Bibliotecária Luciene Cavalcante e Jorge Vasconcelos, pela ajuda e incentivo.

"Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis, as pedras do caminho se tornam montanhas, os fracassos se tornam golpes fatais. Mas, se você tiver grandes sonhos ... seus erros produzirão crescimento, seus desejos produzirão oportunidades, e seus medos produzirão coragem..."

(Augusto Cury)

RESUMO

Contexto: O câncer de laringe é um dos mais comuns em homens após os 50 anos, atinge mais a região da cabeça e pescoço, representando 25% dos tumores malignos que acometem esta área e 2% de todas as doenças malignas. Aproximadamente 2/3 desses tumores surgem na corda vocal verdadeira e 1/3 localiza-se acima das cordas vocais. A relação entre o HPV e as doenças das vias aéreas superiores tem sido conhecida por quase um século, mas apenas nas últimas três décadas têm a sua atividade como potencial oncogénico reconhecido na literatura. Tipos de HPV similares aos encontrados no colo uterino foram também observados no câncer de laringe, língua e orofaringe. **Objetivos:** Avaliar a frequência de HPV em amostras de câncer de laringe; identificar os genótipos de HPV presentes em amostra de câncer de laringe; estabelecer a relação entre o câncer de laringe e o HPV, como fator de risco. **Métodos:** Revisão sistemática de ensaios clínicos na qual descritores e sinônimos para Neoplasias Laríngeas e Infecções por Papillomavirus foram usados nas seguintes bases de dados eletrônicas, até Março de 2012: CENTRAL; MEDLINE (PUBMED); LILACS e SciELO. Três revisores selecionaram, avaliaram a qualidade metodológica e extraíram os dados de estudos considerados relevantes. **Resultados:** Estimativas individuais combinadas em uma metanálise, resultaram em diferença estatisticamente significativa de HPV entre casos, quando comparados aos controles, com maior probabilidade entre os casos (OR 4.26, IC a 95% de 2.05 a 8.87, P=0.004). A análise estatística sugere substancial heterogeneidade (I^2) entre os estudos ($I^2 > 50\%$, $P < 0,1$), que pode ser explicada pelo tipo de controle utilizado. O tipo viral mais frequente entre os casos foi o HPV 16 e entre os controles foram os tipos virais HPV-6 e o HPV-16 e -18. **Conclusões:** Os resultados desta meta-análise apoiam a hipótese do envolvimento do HPV no cancer de laringe, o que sugere que o HPV como fator de risco depende da diferenciação com os demais fatores e o método de identificação do DNA viral.

Palavras-chave: Neoplasias Laríngeas. Infecções por Papillomavirus.

ABSTRACT

Background: Cancer of the larynx is one of the most common in men after age 50, reaches over the head and neck region, representing 25% of malignant tumors that affect this area and 2% of all malignancies. Approximately two thirds of these tumors arise in the true vocal cord and 1/3 is located above the vocal cords. The relationship between HPV and the diseases of the upper airways has been known for almost a century, but only in the last three decades has its potential oncogenic activity as recognized in the literature. HPV types similar to those found in the cervix were also observed in cancer of the larynx, tongue and oropharynx. Objectives: To assess the frequency of HPV in laryngeal cancer samples, identify the genotypes of HPV in laryngeal cancer sample; establish the relationship between laryngeal cancer and HPV as a risk factor. Methods: Systematic review of clinical trials in which descriptors and synonyms for Laryngeal Neoplasms and Papillomavirus Infections were used in the following electronic databases by March 2012: CENTRAL, MEDLINE (PUBMED), LILACS and SciELO. Three reviewers selected, assessed methodological quality and extracted data from relevant studies. Results: Individual Estimates combined in a meta-analysis resulted in a statistically significant difference of HPV among cases compared to controls, most likely among cases (OR 4.26, 95% CI of 2.05 to 8:87, P = 0.004). Statistical analysis suggests substantial heterogeneity (I^2) between studies ($I^2 > 50\%$, P <0.1), which can be explained by the type of control used. The viral type more frequent among cases was between 16 and HPV controls viral types were HPV-6 and HPV-16 and -18. Conclusions: The results of this meta-analysis support the hypothesis of the involvement of HPV in laryngeal cancer, suggesting that HPV is a risk factor of differentiation depends on the other factors and the method of identification of viral DNA.

Keywords: Laryngeal Neoplasms. Papillomavirus Infections.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - A ilustração da capa foi concebida pelo Dr. Louis E. Henderson.Ph.D.	25
Figura 2 - Representação esquemática do genoma do HPV -16. Observam-se na figura a região precoce, responsável pela síntese das proteínas não estruturais E1, E2, E4, E5, E6 e E7, a região tardia, que codifica as proteínas estruturais L1 eL2, e a região reguladora ou LCR.....	27
Figura 3 – Ação da Proteína pRb sobre o ciclo celular.....	30
Figura 4 – Ação da proteína p53 sobre o ciclo celular.....	31
Figura 5 - Fluxograma do Processo de Seleção dos Estudos	39
Gráfico 1 - Comparação das estimativas de casos e controles.....	44
Gráfico 2 - Comparação das estimativas do tipo de controle	45
Gráfico 3 – Comparação das Estimativas dos Genótipos de HPV entre Casos e Controle.....	46
Gráfico 4 - Percentuais de Risco de Viés	49
Gráfico 5 - Resumo de Risco de Viés.....	50
Quadro 1 - Funções dos genes das regiões E e L do HPV.	25
Quadro 2 - Hierarquia da qualidade das evidências, segundo o Centro de Medicina Baseada em Evidências de Oxford	34
Tabela 1 - Descrição dos Métodos de detecção de DNA do HPV.....	41
Tabela 2 - Características dos Estudos selecionados	42
Tabela 3 – Presença de HPV e Seus genótipos nos Casos	43
Tabela 4 – Presença de HPV e Seus genótipos nos Controles.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMS	American Cancer Society
CCE	Carcinoma de Células Escamosas
CCECP	Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço
CCEOF	Carcinoma de Células Escamosas de Orofaringe
CCP	Câncer de Cabeça e Pescoço
CDK	Quinases Dependentes de Ciclinas
COF	Câncer de Orofaringe
EGF	Fator de Crescimento Epidermóide
EUA	Estados Unidos da América
HPV	Papillomavirus Humano
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
LCR	<i>Long Control Region</i>
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 JUSTIFICATIVA.....	15
3 OBJETIVOS.....	17
3.1 OBJETIVO GERAL.....	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
4.1 CÂNCER DE LARINGE.....	18
4.1.1 Epidemiologia.....	18
4.1.2 Fatores de Risco.....	18
4.1.3 Quadro Clínico.....	20
4.1.3.1 Tumores Supraglóticos.....	20
4.1.3.2 Tumores Glóticos	21
4.1.3.3 Tumores Subglóticos.....	21
4.1.4 Diagnóstico.....	22
4.1.5 Tratamento	22
4.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV).....	22
4.2.1 Biologia do HPV.....	22
4.2.1.1 Estrutura viral	23
4.2.1.2 Genoma viral	23
4.2.1.3 Carcinogênese	27

4.3 REVISÕES SISTEMÁTICAS.....	32
5 MATERIAIS E MÉTODOS	35
6 RESULTADOS.....	39
6.1 PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS.....	39
6.2 DESCRIÇÃO DOS ESTUDOS	40
6.3 ESTIMATIVAS DE CHANCE DE HPV ENTRE PACIENTES COM CÂNCER DE LARINGE	44
6.4 RISCOS DE ERROS SISTEMÁTICOS DOS ESTUDOS	47
6.4.1 Definição dos Casos	47
6.4.2 Pareamento.....	47
6.4.3 Descrição Detalhada dos Casos e Controles	47
6.4.4 Medidas de Exposição	48
6.4.5 Cegamento.....	48
6.4.6 Perdas de Dados	48
6.4.7 Descontaminação do Material de Análise	49
7 DISCUSSÃO	51
8 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS.....	56
APÊNDICES	66
ANEXOS	78

1 INTRODUÇÃO

A infecção com papillomavirus humano (HPV) é a causa de várias doenças diferentes em homens e mulheres (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007). Nos Estados Unidos da América (EUA), cerca de 32.000 casos de câncer em homens e mulheres, em 2009, foram atribuídos ao HPV (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2009). Entre eles estão os cânceres do colo do útero, vagina, vulva, pênis, canal anal, anogenital, cavidade oral e os demais sítios da região de cabeça e pescoço. As verrugas são o resultado mais comum de HPV, com 205 casos por 100.000 diagnosticados a cada ano no EUA (KOSHIOL; LAURENT; PIMENTA, 2004). Além das doenças que o HPV provoca diretamente nos homens, o vírus é facilmente transmitido para mulheres e afeta grandemente o risco de doença (CASTELLSAGUE, BOSCH, MUNOZ et al., 2002).

O Câncer de cabeça e pescoço (CCP) é o quinto câncer mais diagnosticado no mundo e a oitava causa mais comum de morte por câncer (PARKIN; WHELAN; FERLAY; STORM, 2005). O CCP define um grupo heterogêneo de neoplasias malignas, incluindo os de lábio, cavidade oral, nariz e seios paranasais, nasofaringe, orofaringe, hipofaringe e laringe (SYRJANEN, 2005); a maioria dos quais (85%) são histologicamente de carcinoma de células escamosas (CCE). (MEHANNA; PALERI; WEST; NUTTING, 2010).

Desde a década de 1970, as taxas de incidência de alguns tipos de câncer de orofaringe (COF), particularmente aqueles da base da língua e amígdalas, subiram firmemente nos EUA e no Norte Europeu (HAMMARSTEDT et al., 2006), especialmente em pacientes mais jovens e sem fatores de risco reconhecidos para CCP, sugerindo um fator etiológico alternativo (LLEWELLYN; JOHNSON; WARNAKULASURIYA, 2001; TONER; O'REGAN, 2009). Isto é pensado por ser uma consequência de infecção persistente com HPV de alto risco oncogênico possivelmente em combinação com outros fatores etiológicos. (MARUR; D'SOUZA; WESTRA; FORASTIERE, 2010; RAMQVIST; DALIANIS, 2010).

Em contraste, as taxas de incidência de HPV não relacionados ao Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço (CCECP), tais como o cancro da laringe, mantiveram-se estáveis ou diminuíram entre os homens na Europa e nos EUA, enquanto as taxas entre as mulheres aumentou; tendências que,

em grande parte, refletem as mudanças de comportamento dessas populações (KARIM-KOS et al., 2008; PATEL et al., 2011).

Demograficamente, os pacientes com HPV relacionados ao CCECP têm maior probabilidade de ser do gênero masculino, branco, não-fumantes, não-etilista, mais jovens e ter um maior poder socio-econômico (ANG et al., 2010; CHATURVEDI; ENGELS; ANDERSON et al., 2008)

Mudanças no comportamento sexual, incluindo maior número de parceiros ao longo da vida, um aumento da prática de sexo oral e início precoce na vida sexual, têm sido implicados na prevalência de HPV relacionada ao Carcinoma de Células Escamosas de Orofaringe (CCEOF) (D'SOUZA et al., 2007; HECK et al., 2010).

O CCEOF relacionado ao HPV pode representar um tumor distinto com características clínicas, patológicas e biológicas próprias (PSYRRI; GOUVERIS; VERMORKEN, 2009). É importante notar que os pacientes com HPV relacionados ao CCEOF são tipicamente jovens (NGUYEN; HONGLY; BETZ; VINH-HUNG, 2010) e têm uma maior sobrevivência e resposta ao tratamento com quimioterapia e radioterapia do que os pacientes com HPV-negativo. Em cinco anos, as taxas de sobrevivência tem sido entre 70-80% contra 25-40%, comparando HPV-positivo e HPV-negativos, respectivamente, com essas diferenças, independente de gênero, idade e estágio do tumor (MARUR; FORASTIERE, 2008; SMEETS et al., 2007).

A mais recente estimativa mundial apontou a ocorrência de 129 mil novos casos por ano, sendo responsável pelo óbito de aproximadamente 70 mil pessoas por ano. Observa-se uma tendência de declínio da mortalidade pelo câncer da laringe em vários países, sendo maior em países europeus. Para o ano de 2012, no Brasil, esperam-se 6.110 casos, com um risco estimado de seis a cada 100 mil homens, sem considerar os tumores da pele não melanoma. Em homens, o câncer da laringe é o sexto mais incidente na região Nordeste (4/100 mil), nas regiões Sul (9/100 mil) e Norte (2/100 mil) ocupa a sétima posição, na região Sudeste (8/100 mil) a oitava e na região Centro-Oeste (5/100 mil), a nona (BRASIL, 2010).

2 JUSTIFICATIVA

A relação entre o HPV e as doenças das vias aéreas superiores tem sido avaliada ao longo do século, mas apenas nas últimas três décadas esse potencial oncogênico tem sido reconhecido na literatura (ADELSTEIN et al., 2009).

Entre os cânceres de cabeça e pescoço, a infecção pelo HPV tem papel conhecido na carcinogênese de orofaringe, especialmente para o câncer tonsilar, com diferença significativa no prognóstico. Tanto a resposta terapêutica como a sobrevida é melhor em pacientes HPV-positivos (FAKHRY et al., 2008; RAGIN; TAIOLI, 2007). Em outros locais do trato aerodigestivo superior, a Infecção pelo HPV tem sido observada em vários estudos, mas a controvérsia existe sobre o seu papel na carcinogênese (ADELSTEIN et al., 2009).

A associação do HPV com o câncer de laringe foi pela primeira vez sugerida quando foram detectados efeitos citopáticos típicos de HPV nessas lesões (SYRJANEN, K.; SYRJANEN, S., 1981). A evidência mais convincente da associação entre o HPV e o câncer de laringe foi verificada nos estudos que observaram o DNA do HPV no carcinoma de laringe (El-SERAg et al., 2001; GARAVELLO et al., 2008; HERRERO et al., 2003; RAGIN; TAIOLI, 2007; SYRJANEN; PURANEN, 2000; SYRJANEN, K.; SYRJANEN, S., 1987; XAVIER et al., 2005).

Tipos de HPV similares aos encontrados no colo uterino foram também observados no câncer de laringe, língua e orofaringe (DE VILLIERS, 1997; GORGOULIS et al., 1999).

Ramqvist e Dalianis (2010) evidenciaram em seu estudo que a infecção pelo HPV aumenta significativamente o risco para cânceres de orofaringe.

A frequência de infecção pelo HPV pode variar entre 3% a 15% em função do método de detecção empregado e em estudos que utilizam método de menor sensibilidade, como a hibridização in situ; a associação entre HPV e câncer de laringe foi encontrada em apenas 5 a 11% (ATULA et al., 1999; JACOB et al., 2002; SCHEURLEN; STREMLAU et al., 1986; SYRJANEN, K.; SYRJANEN, S., 1987; VENUTI et al., 2000).

Ramqvist e Dalianis (2010) evidenciaram que a infecção pelo HPV aumenta significativamente o risco para cânceres de orofaringe. No entanto, ainda não existe um consenso sobre o papel do HPV no desenvolvimento do câncer de laringe.

Assim sendo, investigar a implicação do papilomavírus humano no câncer de laringe, através da frequência de HPV e de seus genótipos, usando uma revisão sistemática de estudos de COHORTE e CASO-CONTROLE, é considerada modelo ideal para responder a essa questão, pois, sintetiza e mapeia de maneira reprodutível as informações para a melhor tomada de decisão clínica e o auxílio em futuras pesquisas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a implicação do HPV no câncer de laringe, através da detecção, frequência e genotipagem, associando ou não aos outros fatores de risco e relacionando-o como fator de risco.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a frequência de HPV em amostras de câncer de laringe e seus controles;
- Determinar os subtipos de HPV mais prevalentes em câncer de laringe e seus controles;
- Estabelecer a relação entre o câncer de laringe e o HPV e apontar este como fator de risco.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 CÂNCER DE LARINGE

4.1.1 Epidemiologia

O câncer de laringe ocorre predominantemente em homens e é um dos mais comuns entre os que atingem a região da cabeça e pescoço. Representa 25% dos tumores malignos que acometem essa área e 2% de todas as doenças malignas. A ocorrência em uma das três porções em que se divide o órgão: laringe supraglótica, glote e subglote. Aproximadamente 2/3 dos tumores surgem na corda vocal verdadeira, localizada na glote, e 1/3 acomete a laringe supraglótica (acima das cordas vocais). O tipo histológico mais prevalente, em mais de 90% dos pacientes, é o carcinoma epidermóide (BRASIL, 2012).

Wunsch (2004) estudando a epidemiologia do câncer de laringe no Brasil observou que o carcinoma era predominantemente encontrado na faixa etária que vai dos 50 aos 70 anos (63%) e a proporção entre os gêneros masculino e feminino chegava a ser de 6:1.

Há uma marcante heterogeneidade do desenvolvimento e agravamento do câncer de laringe entre as regiões geográficas, não só nas brasileiras como no mundo todo. Essas diferenças estão relacionadas principalmente ao desenvolvimento econômico, à dieta, ao tabagismo, ao álcool, às viroses e a exposições ambientais e ocupacionais que, de alguma forma, estão ligadas, também, às desigualdades sociais (OTERO; ANTONIAZZI et al., 2007).

4.1.2 Fatores de Risco

O tabagismo e o consumo de álcool são os fatores de risco mais bem estabelecidos para o câncer de laringe. Com relação aos fatores ocupacionais, o único carcinógeno estabelecido é a exposição a névoas de ácidos inorgânicos fortes. Entretanto, asbesto, pesticidas, tintas, gases de combustão de gasolina e diesel e poeiras, entre outros, aparecem na literatura como agentes ocupacionais que aumentam o risco de câncer de laringe. Um estudo de caso-controle de base hospitalar, foi conduzido para investigar fatores de risco ocupacionais para câncer

de laringe. Foram coletadas informações detalhadas sobre tabagismo, consumo de álcool e história ocupacional de 122 casos de câncer de laringe e 187 controles pareados por frequência (segundo gênero e idade). Encontrou-se risco aumentado de câncer de laringe nos indivíduos com exposição à sílica cristalina livre respirável (OR = 1,83; IC95%: 1,00-3,36), à fuligem (de carvão mineral, coque, madeira, óleo combustível) (OR = 1,78; IC95%: 1,03-3,03), a fumos em geral (OR = 2,55; IC95%: 1,14-5,67) e a animais vivos (OR = 1,80; IC95%: 1,02-3,19) (SARTOR et al., 2007).

A drenagem linfática da região supraglótica é rica e apresenta intercomunicações que atravessam a linha média. Por essa razão, tumores nessa localização apresentam altos índices de metástases linfáticas regionais, variando de 50% a 60% e, frequentemente, apresentando incidência bilateral. As cadeias linfáticas dos níveis II e III (jugulares altas, júbulo-digástricas e júbulo-omohioideas) são as mais comumente acometidas. Ao contrário, os tumores glóticos apresentam baixa incidência de metástases linfáticas cervicais e, quando ocorrem, geralmente são ipsilaterais. As metástases linfáticas de tumores subglóticos são mais frequentes, e envolvem preferencialmente as cadeias paratraqueais, cervicais baixas e mediastinais altas (BYERS; WOLF; BALLANTYNE, 1998).

A radiação e agentes poluentes ocupacionais, como níquel, cromo, gás mostarda, produtos de madeira e pesticidas também têm sido apontados como fator etiológico. Outros fatores implicados no desenvolvimento do câncer da laringe incluem o refluxo gastroesofágico (MANJARREZ et al., 2006) e infecção viral pelo HPV.

Os carcinomas das vias aéreas superiores podem ser adquiridos após inúmeras exposições a agentes agressivos externos (OLIVEIRA et al., 2006).

Na história do paciente, o primeiro sintoma é o indicativo da localização da lesão. Assim, odinofagia (dor de garganta) sugere tumor supraglótico e rouquidão indica tumor glótico ou subglótico. O câncer supraglótico geralmente é acompanhado de outros sinais e sintomas como a alteração na qualidade da voz, disfagia leve (dificuldade de engolir) e sensação de um “caroço” na garganta. Nas lesões avançadas das cordas vocais, além da rouquidão, podem ocorrer dor na garganta, dispnéia (dificuldade para respirar ou falta de ar) e disfagia (BRASIL, 2012).

Por alterar precocemente a função fonatória e respiratória, espera-se que o câncer laríngeo seja frequentemente diagnosticado em estágios iniciais. Além da

disfonia e da dispnéia, a odinofagia e, por vezes, a disfagia, também poderão ocorrer. A otalgia reflexa é queixa frequente nos tumores do andar supraglótico, assim como a presença de metástases cervicais (CARVALHO, 2001; LIMA, SOARES; BARBOSA, 2001).

A transmissão de mãe para filho é, provavelmente, responsável pela recorrente papilomatose laríngea em crianças, sendo este o tumor benigno mais comum da laringe em crianças (SAJAN et al., 2010). A papilomatose laríngea é induzida por HPV de baixo risco, especialmente os tipos 6 e 11, e é caracterizada por recorrência (DONNER et al., 2010). O curso clínico é imprevisível, mas a regressão pode ocorrer após alguns tratamentos. No entanto, em outros casos, a doença tem um curso mais agressivo, recorre com mais frequência e pode se estender também para a vida adulta, exigindo repetidos procedimentos cirúrgicos. Em um pequeno número de pacientes, a papilomatose laríngea pode evoluir para carcinoma espinocelular (STEPHEN et al., 2010).

A laringe é dividida em três regiões anatômicas:

- **Supraglote:** inclui epiglote, pregas vestibulares, ventrículos, pregas ariepiglóticas e aritenóides;
- **Glote:** inclui as pregas vocais e a comissura anterior e a região interaritenóidea;
- **Subglote:** começa um cm abaixo das pregas vocais e se estende até a borda inferior da cartilagem cricóide ou primeiro anel traqueal.

A laringe também apresenta uma compartimentalização determinada pelas suas estruturas anatômicas, como membranas fibroelásticas, ligamentos, pericôndrio e cartilagens, que são barreiras ao crescimento tumoral. Estes fatos geram diferenças significativas em relação à sintomatologia, comportamento evolutivo e eficácia terapêutica, de acordo com os sítios acometidos pela lesão tumoral.

Com relação à incidência, os tumores glóticos são os mais frequentes, seguidos dos supraglóticos, enquanto os tumores originados na subglote são bastante raros.

4.1.3 Quadro Clínico

4.1.3.1 Tumores Supraglóticos

Os tumores supraglóticos são aqueles originados na região que inclui a epiglote, pregas ariepiglóticas, aritenóides, prega interaritenóidea, bandas ventriculares (falsas cordas vocais) e ventrículos laríngeos. São tumores que se desenvolvem silenciosamente. Raramente apresentam disфонia que, quando presente, denota um estágio avançado da doença, com extensão da lesão para as pregas vocais. Os sintomas mais freqüentes incluem sensação de corpo estranho, dor, otalgia, disfagia, odinofagia, hemoptise e dispnéia. Estes sintomas, entretanto, também costumam ser raros no início da doença. A sintomatologia tardia e a drenagem linfática abundante da região supraglótica podem ser apontadas como aspectos desfavoráveis do ponto de vista prognóstico de tumores desta região, que, geralmente, são diagnosticados em estágios avançados (CARVALHO, 2001).

4.1.3.2 Tumores Glóticos

São aqueles localizados na região que inclui as pregas vocais e as comissuras anterior e posterior. Costuma dar sintomatologia precoce, pois, em geral, atinge a porção membranosa da prega vocal, onde qualquer enrijecimento ou alteração prejudica a qualidade vocal (disфонia). As barreiras anatômicas da glote (comissura anterior, ligamento vocal e côneus elástico) oferecem resistência ao crescimento do tumor primário, restringindo sua expansão temporariamente. A drenagem linfática da glote é muito pobre, sendo as metástases linfonodais dos tumores desta região pouco freqüentes. Nos tumores avançados existe comprometimento da mobilidade da prega vocal e redução da luz laríngea pela massa tumoral, podendo causar dispnéia (CARVALHO, 2001).

4.1.3.3 Tumores Subglóticos

Originam-se na região que se inicia um centímetro abaixo da prega vocal e estende-se até a borda inferior da cartilagem cricóide. Lesões subglóticas são relativamente assintomáticas, no seu estágio inicial, e costumam, quase sempre, ser diagnosticadas em estágio avançado, pois rapidamente alcançam o pericôndrio, a cartilagem ou mesmo escapam dos limites laríngeos. Os sintomas associados ao tumor subglótico são dispnéia e disфонia. A dispnéia ocorre pela presença da massa tumoral na reduzida luz subglótica. E a disфонia geralmente resulta da extensão do

tumor à região glótica. O sistema linfático da subglote facilita o comprometimento de linfonodos pré-traqueais , paratraqueais, jugulares inferiores, supraclaviculares e mediastinais. Do ponto de vista evolutivo, apresenta prognóstico ruim (CARVALHO, 2001).

4.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico precoce do carcinoma laríngeo é fundamental para um bom prognóstico terapêutico e funcional, pois permite tratamento radioterápico ou cirúrgico conservador, com grande preservação das funções laríngeas. O estadiamento e a caracterização precisa do tumor determinarão a seleção do melhor tratamento, do ponto de vista oncológico e funcional, e baseia-se, essencialmente, nos exames laringoscópicos e de imagem.

4.1.5 Tratamento

O tratamento do câncer de laringe (carcinoma espinocelular) está baseado principalmente em duas modalidades terapêuticas: a radioterapia e a ressecção cirúrgica. Atualmente, a quimioterapia, associada ao tratamento radioterápico, tem mostrado resultados promissores e vem sendo utilizada em diversos centros. O objetivo principal no tratamento precoce do câncer da laringe é o controle local e regional da doença. Uma vez respeitada essa premissa, o tratamento deve procurar a máxima preservação das funções laríngeas, a menor morbidade e a melhor qualidade de vida possível. Com base nestes aspectos, tanto a radioterapia quanto os tratamentos cirúrgicos apresentam vantagens e desvantagens.

4.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

4.2.1 Biologia do HPV

A carcinogênese é um processo de múltiplas etapas que envolve tanto mudanças genéticas quanto epigenéticas, culminando na ativação de proto-oncogenes e/ou inativação dos genes supressores de tumor (HENDERSON, 2001). A passagem da célula pelas diversas fases do ciclo celular é realizada de forma

rígida por genes controladores do ciclo. Uma célula maligna difere de uma célula normal, principalmente pela sua independência desse controle, sendo necessário um acúmulo de mutações nos cromossomos para tal transformação (HOWLEY; LOWY, 2001).

Alguns tipos de HPV, nos últimos anos, têm sido responsabilizados pelo desenvolvimento de malignidade nas regiões que comumente infectam, compreendendo, na mulher, o períneo, vulva, vagina, colo do útero e região anal; no homem, infectam pênis, uretra, saco escrotal e região anal (SOUTO; FALHARI; DA CRUZ, 2005).

Além das áreas comumente descritas na literatura, o desenvolvimento de pesquisas vem demonstrando a presença de HPV de alto risco oncogênico e sua possível associação com o desenvolvimento de malignidade na região de orofaringe e cordas vocais. (SOUTO; FALHARI; DA CRUZ, 2005).

4.2.1.1 Estrutura viral

HPV, melhor dizendo HPVs, pois são vários vírus que constituem a família *Papillomaviridae*, é a abreviatura de *Human papillomavirus* (papillomavírus humano), e mais de 150 tipos já foram identificados até o momento. Papillomavirus são vírus pequenos, não-envelopados, com forma icosaédrica; são vírus de DNA que se replicam no núcleo de células epiteliais escamosas. As partículas do papillomavirus apresentam diâmetro de 52 a 55nm. As partículas virais consistem numa única molécula de DNA circular de dupla hélice, de aproximadamente 8kb, contida numa proteína esférica, o capsídeo, que é composto por 72 capsômeros. O capsídeo é composto por duas proteínas estruturais: a proteína de capsídeo maior (L1), de 55kD de tamanho, da qual representa 80% da proteína total viral, e a proteína menor (L2) de peso molecular de 70kD. Ambas as proteínas, L1 e L2, são viralmente codificadas. A L2 é importante para a encapsidação do DNA do vírus em capsídeos virais, e, portanto, provoca o aumento da infectividade dos viriões do papillomavirus (WEINBERG, 2008).

4.2.1.2 Genoma viral

O HPV está relacionado com o surgimento de tumores benignos como verrugas, papilomas e condilomas, e com tumores malignos (neoplasias), podendo gerar CCP, carcinomas anogenitais, estando principalmente relacionado ao câncer cervical ou mais conhecido como câncer de colo do útero. Quando relacionados a neoplasias esses vírus se dividem em dois grupos: HPVs de baixo risco e de alto risco oncogênico. Podem também ser classificados, de acordo com o tropismo, em dois grupos: mucosotrópicos, que infectam as mucosas, e cutaneotrópicos, que infectam a epiderme. O alvo de infecção do HPV são células epiteliais, tanto mucosas quanto cutâneas, do tecido epitelial pavimentoso estratificado. O ciclo de vida desse vírus depende da diferenciação celular. Inicialmente eles infectam as células basais, que estão em divisão e que, posteriormente, sofrerão diferenciação, sendo importantes para promover a infecção viral. O genoma viral apresenta cerca de 9 a 10 genes e é dividido em duas regiões: região precoce ou E (do inglês, *early*), constituída por 7 ou 8 genes, e região tardia ou L (do inglês, *late*) com o restante dos genes (WEINBERG, 2008).

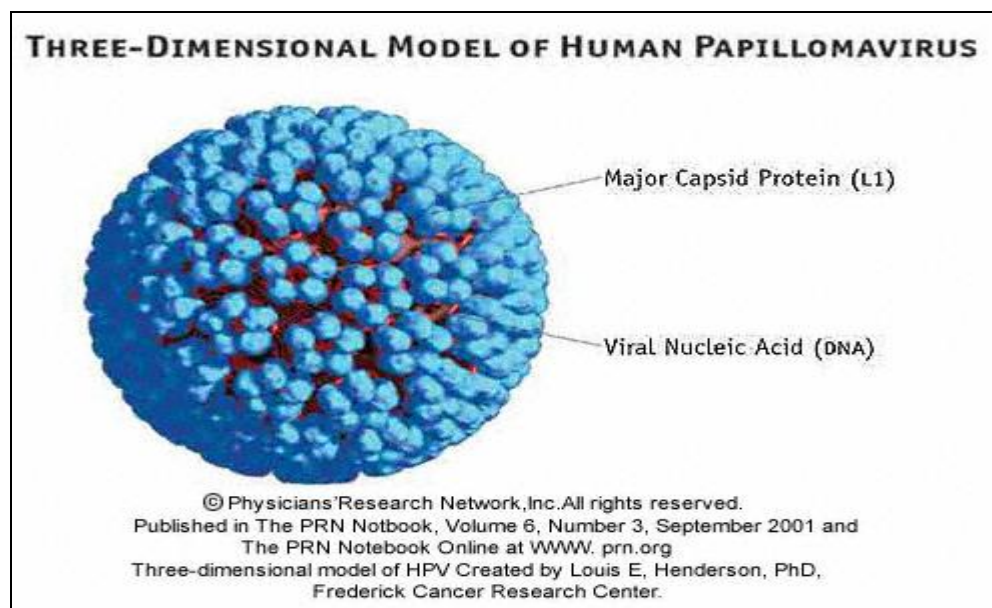


Figura 1 - A ilustração foi concebida pelo Dr. Louis E. Henderson. Ph.D. Baseado em um modelo tridimensional do vírus do papiloma humano.

Fonte: The PRN Notebook, v. 6, n. 3, 2001.

Quadro 1 - Funções dos genes das regiões E e L do HPV.

GENES		FUNÇÃO
Precoce		
E1		Replicação do DNA viral
E2		Controle da transcrição
E4		Maturação do vírus e alteração da matriz intracelular
E5, E6 e E7		Estímulos da proliferação e transformação celulares
Tardio		
L1		Codifica proteína principal do capsídeo
L2		Codifica proteína secundária do capsídeo

Fonte: Weinberg, 2008.

O HPV, ao infectar uma célula, incorpora seu DNA ao genoma do hospedeiro. Primeiramente ocorre uma linearização do DNA circular viral e, posteriormente, sua inserção ao DNA do hospedeiro. Nesse processo de inserção o genoma viral perde o gene E2, responsável pelo controle da transcrição. Como consequência disso, há uma superexpressão dos demais genes virais, gerando grande aumento na quantidade de proteínas responsáveis pelo estímulo da proliferação e transformação celular, proteínas E6 e E7. É desta forma que o HPV é capaz de iniciar um processo maligno na célula, pois os genes E6 e E7 são capazes de se ligar a proteínas importantes na regulação do ciclo celular, como as proteínas supressoras de tumor pRb e p53, resultando na degradação ou inativação delas e, conseqüentemente, desregulando o ciclo celular (WEINBERG, 2008).

O gene E7 produz a proteína E7, sendo esta encontrada no citoplasma e, provavelmente, possa estar presente, também, no núcleo. A proteína E7 se liga a proteína pRb, cuja função é atuar na inibição do ciclo celular. Esta proteína é produzida por um gene supressor de tumor, o Rb1, logo, age na supressão de tumores. A maneira como a proteína pRb é capaz de inibir o ciclo se deve a sua capacidade de capturar o fator de transcrição E2F, e, assim, impedindo-o de promover a transcrição de genes necessários para a replicação do DNA na fase S. Esta proteína é fosforilada pelo complexo CDK-ciclina e, quando se encontra nesse estado, ela não é capaz de capturar o fator de transcrição E2F, e este fica livre para estimular a transcrição dos genes e, assim, promover a continuidade do ciclo. Quando a pRb se encontra desfosforilada, ela impede a progressão do ciclo celular, pois se liga ao E2F. A proteína viral E7 é capaz de se ligar à pRb e torná-la inativa, com isso o fator de transcrição E2F fica livre, gerando um estímulo excessivo para a proliferação da célula (WEINBERG, 2008).

O HPV é um vírus de DNA de dupla cadeia, não capsulado, que pode causar lesões benignas e malignas no colo uterino. O vírus é classificado de acordo com a espécie e subclassificado em tipos, de acordo com a seqüência nucleotídica. Dessa forma, são conhecidos HPV de baixo risco e alto risco, conforme seu poder oncogênico. Sendo importante constatar que os tipos mais freqüentemente associados às verrugas, na sua grande maioria, não são os mesmos encontrados nos tumores malignos (WEINBERG, 2008).

Dos mais de 40 tipos que infectam o trato genital inferior, 14 tipos de HPVs foram considerados como oncogênicos, ou seja, de alto risco para câncer, que seriam 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68. Aproximadamente, 90% dos cânceres de colo uterino são causados por 5 tipos de HPV, 16, 18, 31, 45 e 33, em ordem de prevalência, sendo o HPV-16 relacionado com a metade dos casos em todo mundo e o HPV-18 encontrado em 10 e 15% de todos os casos (MUNOZ, et al., 2003). A infecção pelo papilomavírus pode ser encontrada na pele, aparelho respiratório, bexiga e aparelho genital feminino e masculino (BRASIL, 2006).

4.2.1.3 Carcinogênese

O HPV é um vírus DNA de fita dupla, da família Papovaviridae, com 55 nanômetros de diâmetro, não envelopado, com aproximadamente 8 Kb (DORES, 1994). O genoma de todos os HPVs contém, aproximadamente, 8 fases de leituras abertas (ORFs, do inglês *open reading frames*), que estão distribuídas em três segmentos: região precoce, por ser a primeira a se expressar, denominada *Early* (E), compreendendo seis genes, E1 a E7, necessárias para replicação viral e com propriedades de transformação oncogênica; região tardia, denominada *Late* (L), que codifica as duas proteínas estruturais, L1 e L2 do capsídio viral; e a região não codificadora, regulatória, conhecida como *Long Control Region* (LCR), a qual contém as sequências de controle para a replicação e expressão gênica do HPV (Figura 2) (CARVALHO; OYAKAWA, 2000; DÔRES, 1994; TUREK et al., 1994).

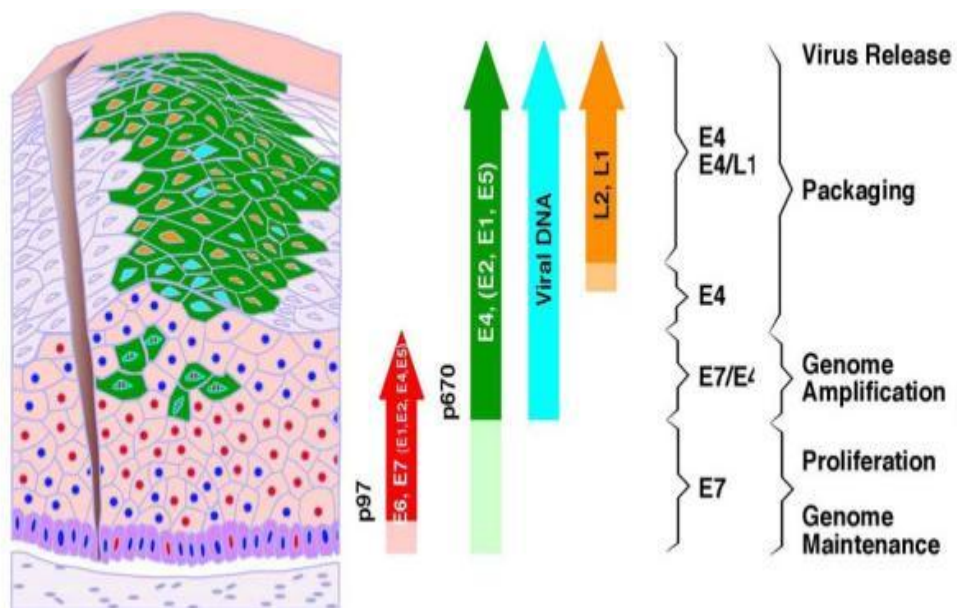


Figura 2 - Representação esquemática do genoma do HPV -16. Observam-se na figura a região precoce, responsável pela síntese das proteínas não estruturais E1, E2, E4, E5, E6 e E7, a região tardia, que codifica as proteínas estruturais L1 e L2, e a região reguladora ou LCR.

Fonte: Zheng, Baker, 2006.

A infecção do HPV ocorre através de microtraumas ocorridos no epitélio, expondo à infecção pelo HPV, as células basais. O receptor para entrada do vírus na célula ainda é desconhecido, contudo, pesquisas sugerem que o sulfato de

heparina proporciona esta fixação inicial (LONGWORTH; LAIMINS, 2004). Após a entrada do vírus na célula basal, seu o genoma é mantido na forma episomal, com aproximadamente de 20 a 50 cópias por célula (CHOW; BROKER, 1997).

O ciclo de vida produtivo dos HPVs está diretamente relacionado à diferenciação celular epitelial. O estabelecimento e a manutenção dos genomas do HPV estão associados à expressão dos genes precoces E6, E7 e E5, que codificam suas respectivas oncoproteínas, assim como as proteínas de replicação E1 e E2. Durante a divisão celular, as células basais deixam a camada basal, migram para a região suprabasal e começam a se diferenciar. Os queratinócitos, por sua vez, terminam seu ciclo celular logo que são destacados do pavimento membranal (SOUSA, 2008).

As células infectadas por HPV entram na fase S do ciclo celular uma vez atingida a camada suprabasal. A entrada na fase S resulta na amplificação de genomas virais em mil cópias por célula. Paralelamente à amplificação do DNA, existe a síntese das proteínas E1 e E4 juntamente com proteínas do capsídeo (L1 e L2). Nas camadas superiores do epitélio ocorre o empacotamento do vírus em capsídeos e a liberação da progênie do vírus, para que possa ser reiniciado o ciclo (MUNOZ et al., 2003).

A região codificadora do gene E1 produz uma fosfoproteína de 68kDA com atividade helicásica e ATPásica intrínseca, além de possuir alta afinidade pelo DNA. A proteína E1, em conjunto com a proteína E2, forma o complexo E1-E2, sendo esse fundamental nos mecanismos de replicação viral. A proteína codificada pelo gene E2, além de controlar a transcrição de outros genes como E6 e E7, importantes para estimular a replicação celular (BEUTNER; TYRING, 1997; PINTO et al., 2002).

A função da proteína codificada pelo gene E4 não está bem esclarecida, mas acredita-se que a sua produção esteja ligada à diferenciação terminal dos queratinócitos. A interação entre a proteína E4 e as citoqueratinas resulta, para alguns, no desenvolvimento da coilocitose (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2009).

Já o E5 não aparece em todos os tipos de HPV, além de poder estar mutilado em alguns outros. A proteína codificada pelo gene E5 tem papel relacionado à transformação induzida por HPVs tipo 1, 6 e 16 e parece ainda operar

em conjunto com o Fator de Crescimento Epidermóide (EGF), no sentido de favorecer a proliferação celular (CRUSIUS et al., 1997).

O E6 é um dos primeiros genes virais a serem expressos na infecção do HPV. Trata-se de uma proteína de aproximadamente 160 aminoácidos, e nos HPVs de alto risco, desativa p53, acelerando sua degradação proteolítica mediada por ubiquitina ligase (KELLEY; KEIGER; LEE; HUIBREGTSE, 2005).

A proteína E7 induz à síntese de DNA em células em repouso por se ligar à proteína Rb. Em condições fisiológicas, a proteína Rb é um regulador negativo do ciclo celular na transição da fase G1 para S. No estado hipofosforilado, Rb se liga ao fator transcricional E2F, impedindo sua ação (DYLSON; HOWLEY; MUNGER; HARLOW, 1989; WEINBERG, 1995). Com a fosforilação de Rb por quinases dependentes de ciclinas (CDK), em resposta a sinais de proliferação celular, o complexo Rb/E2F se dissocia e E2F é liberado para agir como ativador transcricional de genes envolvidos na proliferação celular (WEINBERG, 1995; DYLSON; HOWLEY; MUNGER; HARLOW, 1989). A ligação da E7 com a pRb promove a liberação de E2F e, conseqüentemente, a entrada de células na fase S, permitindo a replicação de genes do HPV (ROSENBLATT; WROCLAWSKI; LUCON; PEREYRA, 2005) (Figuras 3 e 4). A proteína E7 também forma complexos com ciclinas A e E, bem como provoca inativação de p21 e p27 (ZUR HAUSEN, 2002). A expressão concomitante de E6 e E7 propicia o ambiente celular para a replicação viral. A proteína E6 sozinha não é capaz de imortalizar os queratinócitos humanos primários, mas sua interação com a proteína E7 induz mudanças no comportamento celular, que resulta na imortalização das células infectadas (SOUSA, 2008).

Acredita-se que a expressão das proteínas E6 e E7 sejam responsáveis pelo início e a manutenção do processo que culmina no câncer cervical (BECHTOLD; BEARD; RAJ, 2003).

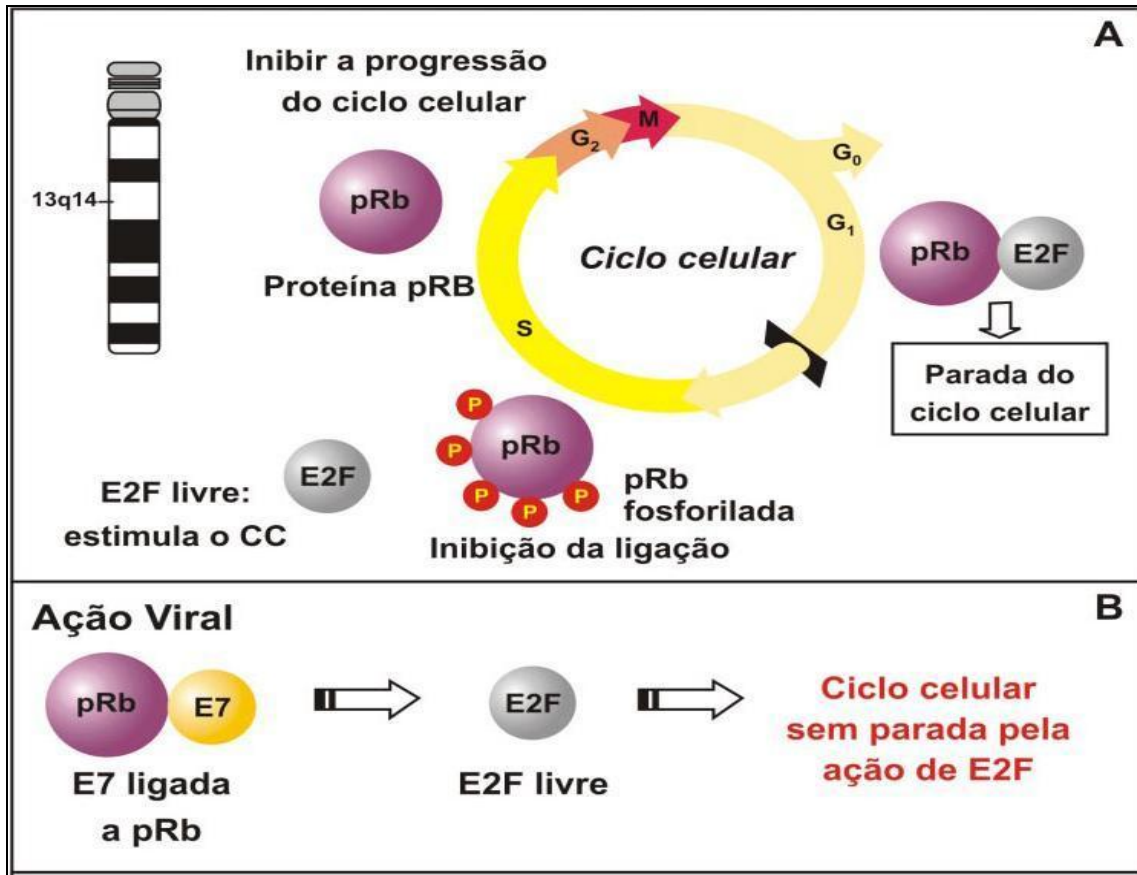


Figura 3 – Ação da Proteína pRb sobre o ciclo celular:

- (A) A proteína pRb é codificada pelo gene RB1, localizado no cromossomo 13q14. A ligação da Proteína pRb ao fator de transcrição E2F resulta na parada do ciclo celular. A Fosforilação de pRb libera E2F que ativa a transcrição de genes alvo para a Replicação de genoma.
- (B) A proteína viral E7 se liga a proteína pRb, isso libera E2F, causando um estímulo constante para a divisão celular.

Fonte: Silva; Amaral; Cruz, 2003.

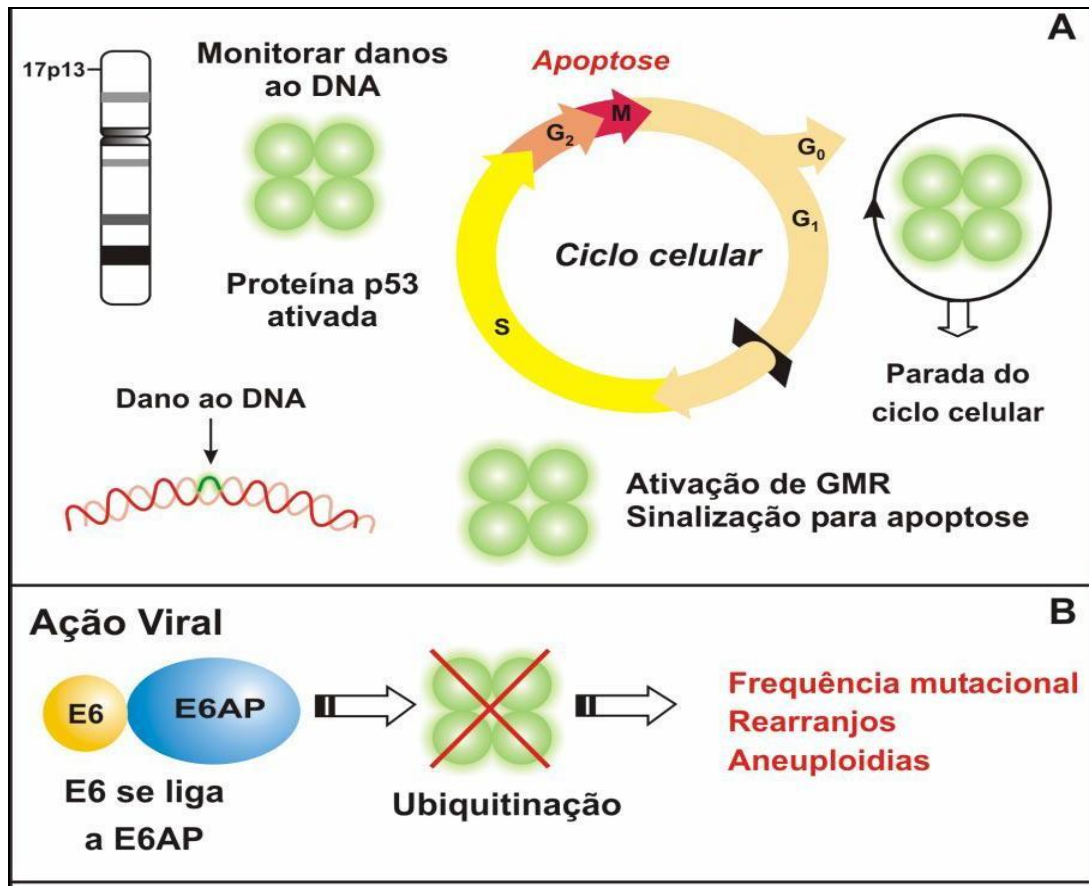


Figura 4 – Ação da proteína p53 sobre o ciclo celular.

(A) A proteína p53 é codificada pelo gene P53, localizado no cromossomo 17p13. A proteína p53 tem a função de parar o ciclo celular no caso de identificação de danos ao DNA, dessa forma o ciclo para até que o dano seja resolvido. No caso de danos extensos a p53 pode induzir a apoptose.

(B) A proteína viral E6 se liga a E6AP que funciona como uma ubiquitina, degradando p53. GMR: Genes de mecanismo de reparo

Fonte: Silva; Amaral; Cruz, 2003.

A infecção viral causa modificações bioquímicas e moleculares em seus hospedeiros, necessárias para o desenvolvimento e reprodução do vírus, alterando significativamente as características dos hospedeiros ou das células por eles parasitadas, através da interação do genoma viral com o genoma da célula hospedeira ou de proteínas virais com proteínas celulares necessárias ao controle do ciclo celular, desencadeando a morte celular ou agindo como um fator de iniciação e progressão de processos malignos.

Em relação aos carcinomas do trato respiratório superior, o HPV foi considerado como um fator de alto risco. A associação do HPV com o câncer de laringe foi pela primeira vez sugerida quando foram detectados efeitos citopáticos típicos de HPV nessas lesões (SYRJANEN, K.; SYRJANEN, S., 1981). A evidência mais convincente da associação entre o HPV e o câncer de laringe foi verificada nos

estudos que observaram o DNA do HPV no carcinoma de laringe. (EI-SERAG; HEPWORTH; LEE; SONNENBERG, 2001; GARAVELLO et al., 2008; HERRERO et al., 2003; RAGIN; MODUGNO et al., 2007; SYRJANEN; PURANEN, 2000; SYRJANEN, K.; SYRJANEN, S., 1987; XAVIER et al., 2005).

Tipos de HPV similares aos encontrados no colo uterino foram também observados no câncer de laringe, língua e orofaringe. (DE VILLIERS, 1997; GORGOULIS et al., 1999).

Ramqvist e Dalianis (2010) evidenciaram em seu estudo que a infecção pelo HPV aumenta significativamente o risco para cânceres de orofaringe.

A frequência de infecção pelo HPV pode variar entre 3% a 15% em função do método de detecção empregado e em estudos que utilizam método de menor sensibilidade, como a hibridização *in situ*. A associação entre HPV e câncer de laringe foi encontrada em apenas 5 a 11% (ATULA et al., 1999; JACOB et al., 2002; SCHEURLEN; STREMLAU et al., 1986; SYRJANEN, K.; SYRJANEN, S., 1987; VENUTI et al., 2000).

4.3 REVISÕES SISTEMÁTICAS

Pessoas envolvidas com os cuidados à saúde humana - de pacientes a pessoas envolvidas com a tomada de decisão em políticas de saúde - têm dificuldades em lidar com a infindável quantidade de informações disponíveis na literatura médica. Portanto, é iminente a necessidade de resumir as evidências existentes de forma sistemática, visando aperfeiçoar a tomada de decisão racional em saúde humana (MULROW, 1994). Dessa forma, as revisões sistemáticas sintetizam os efeitos de determinadas intervenções ou condutas preventivas e terapêuticas que sejam consistentes ou que variem significativamente, de acordo com particularidades clínicas ou metodológicas; as últimas referindo-se à forma de abordar o paciente, à frequência, à aderência, à dose e meios diversos de oferecer determinada intervenção.

O uso de métodos rigorosos, explícitos e de natureza essencialmente crítica, própria das revisões sistemáticas, tem por objetivo limitar erros sistemáticos e reduzir efeitos obtidos por chance e, com isso, identificar achados válidos (validade interna) que aperfeiçoem conclusões com aplicabilidade (validade externa) e

conseqüente tomada de decisão racional (ANTMAN et al., 1992; OXMAN; GUYATT, 1993).

As revisões sistemáticas diferem das revisões narrativas ou tradicionais, pois mapeiam o conhecimento existente, através de questões clínicas bem-definidas, utilizando fontes confiáveis da literatura médica, e estratégias de busca explícitas e reprodutíveis, selecionando somente estudos que satisfaçam a critérios metodológicos que minimizem possíveis erros sistemáticos. Por outro lado, as revisões narrativas são essencialmente sujeitas a tais erros, pois não possuem qualquer planejamento prévio e explícito para preveni-los (COOK; MULROW; HAYNES, 1997).

Um recurso habitualmente utilizado para sintetizar resultados de estudos diversos é a meta-análise. Quando a realização de uma meta-análise é possível, ou seja, quando dados essenciais para tal são disponíveis e os estudos distintos mensuram variáveis em comum, com os mesmos instrumentos validados ou similares, a precisão dos efeitos estimados tende a ser maior, quando comparada à precisão dos estudos individuais isolados. A meta-análise contribui, assim, para a redução da incerteza ao redor de questões sobre efetividade e segurança de tratamentos e medidas preventivas testadas (L'ABBE et al., 1987; OXMAN; GUYATT, 1993; SACKS et al., 1987; THACKER, 1988).

Atualmente, há um amplo reconhecimento sobre a validade e a importância da realização de revisões sistemáticas, pelo papel que tem na síntese e disseminação de informações disponíveis, mas previamente conflitantes. Na década de 1970 e início da década de 1980, psicólogos e cientistas sociais dirigiram suas atenções para os procedimentos sistemáticos necessários em revisões para reduzir a influência de erros sistemáticos e erros aleatórios (COOPER, 1982; GLASS, 1976; JACKSON, 1980; LIGHT; SMITH, 1971; ROSENTHAL, 1978). Somente ao final da década de 1980 houve o reconhecimento mais generalizado sobre a baixa qualidade de artigos de revisão sobre cuidados à saúde humana (MULROW, 1987; OXMAN; GUYATT, 1988; YUSUF; SIMON; ELLENBERG, 1987).

As revisões sistemáticas têm sido consideradas Nível I de evidência para tomadas de decisões em saúde (Quadro 2).

Quadro 2 - Hierarquia da qualidade das evidências, segundo o Centro de Medicina Baseada em Evidências de Oxford

NÍVEL	TIPO DE ESTUDO/EVIDÊNCIA
1a	Revisões sistemáticas com homogeneidade de ensaios clínicos randomizados
1b	Ensaios clínicos randomizados individuais com intervalo de confiança estreito
2a	Revisões sistemáticas com homogeneidade de estudos coorte
2b	Estudos de coorte individuais ou ensaios clínicos randomizados de baixa qualidade (por exemplo, com perdas ao redor de 80%)
2c	Pesquisa de desfechos; estudos ecológicos
3a	Revisões sistemáticas com homogeneidade de estudos de caso-controle
3b	Estudos de caso-controle individuais
4	Estudos de séries de caso (bem como estudos de coorte e caso-controle de baixa qualidade)
5	Opiniões de especialistas sem apreciação crítica ou baseadas em pesquisa básica (pesquisas em fisiologia, estudos com animais, <i>in situ</i> ou <i>in vitro</i>)

Fonte: Adaptado a partir de Níveis de evidência e graus de recomendação. Disponível em: <http://www.cebm.net/levels_of_evidence.asp#notes>. Acesso em: 11 dez. 2011.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

A) Aspectos Éticos - O projeto obedeceu à Resolução nº 196/1996, do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade do Estado do Pará (UEPA). (Anexo A).

B) Tipo Do Estudo - Revisão sistemática de estudos de coorte e caso-controle.

C) Critérios de Inclusão dos Estudos Primários (Amostra do Estudo):

– **Desenho dos estudos** - Estudos de coorte (prospectivos e retrospectivos) e de caso-controle, publicados entre Maio de 1989 até março de 2012 e a análise não fez qualquer restrição quanto ao idioma da publicação;

– **Tipo de Participantes** - Pacientes com diagnóstico de HPV em ao menos um dos grupos de comparação, quando tratou-se de estudo de coorte, e pacientes com diagnóstico de câncer de laringe em ao menos um dos grupos de comparação, quando tratou-se de estudo caso-controle.

– **Variáveis de Desfecho e de Fatores de Risco Presumidos:**

✓ **Para estudos de coorte** - Para estudos de coorte, consideramos como desfecho a presença e a gravidade do câncer de laringe,

✓ **Para estudos de caso-controle** - Para estudos de caso-controle consideramos estudos que avaliaram a presença e o genótipo de câncer de laringe.

D) Estratégia de Busca para Identificação dos Estudos:

– **Buscas Eletrônicas** - Foram pesquisados artigos a partir das bases de dados: Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL); MEDLINE (via the PUBMED interface); Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS); e Scientific Electronic Library Online (SciELO). Além disso, foram selecionadas referências citadas nos artigos obtidos a partir da busca primária nestas bases. A estratégia de busca para o banco de dados MEDLINE incluiu os termos como fator de risco, manifestação de interesse (câncer de laringe), tipo de estudo (coorte e caso-controle), bem como seus sinônimos (Apêndice A). Esta estratégia foi modificada, conforme necessário para outras bases de dados.

– **Outras Formas de Busca** - Na busca manual das referências de artigos relevantes, foram incluídos revisões e estudos na área de CCP.

E) Seleção dos Estudos - Dois pesquisadores (pesquisador principal – PP e um pesquisador convidado-PC1) fizeram a seleção em pesquisa independente, dos títulos e resumos (abstracts) obtidos nos artigos através das estratégias de busca. Um terceiro pesquisador (PC2) fez a revisão de todas as entradas. Foram adquiridos, na íntegra, os estudos que preencheram os critérios de inclusão. Foi feito um fluxograma demonstrando os artigos, desde aqueles recuperados em todas as bases de dados, por meio da busca sistemática. Os autores desta revisão sistemática não fizeram qualquer restrição quanto ao idioma da publicação.

F) Coleta e Análise de Dados:

– **Extração de dados** - Para cada artigo foi preenchida uma ficha padronizada de coleta de dados dos estudos primários, por dois pesquisadores (PP, PC1) a fim de sistematizar as informações metodológicas e os principais resultados dos estudos e as divergências foram resolvidas em consenso. A ficha contemplou: (1) o delineamento da pesquisa – foram considerados dois grupos de estudo: caso-controle e coorte; (2) país e período em que a pesquisa foi conduzida; (3) população com câncer de laringe envolvida no estudo; (3) localização topográfica do tumor analisado; (4) estadiamento; (5) Frequência do HPV, (6) variáveis utilizadas para ajustes e as estimativas de efeito. Um terceiro pesquisador (PC2) fez a revisão de todas as entradas (Figura 5).

Foi realizado contato com os autores dos estudos primários, quando necessário, para obter mais informações sobre a metodologia e os participantes.

– **Avaliação do Risco de Viés nos Estudos Incluídos:**

- ✓ **Para estudos de coorte** - Os pesquisadores avaliaram todos os estudos incluídos pela qualidade metodológica, com base nos seguintes critérios:
 - Houve controle de fatores de confusão?
 - As medidas de exposição foram adequadas?
 - Houve cegamento (independência) dos avaliadores dos desfechos?

- Houve perdas significativas na amostra como um todo ou diferenças substanciais de perdas entre os grupos de comparação?
- O tempo de seguimento foi adequado?
- ✓ **Para estudos de caso-controle**
 - O pareamento foi adequado?
 - As medidas de exposição foram adequadas?
 - Houve perdas significativas na amostra como um todo ou diferenças substanciais de perdas entre os grupos de comparação?
 - A definição dos “casos” foi adequada?

Independente do tipo de estudo (coorte ou caso-controle), cada um dos itens acima foi avaliado quanto a três possibilidades:

- 1- Baixo risco de viés: quando os autores cuidaram para prevenir o erro;
- 2- Moderado risco: quando não há qualquer relato explícito no texto, ou por correspondência (eletrônica, telefônica ou por correio), que demonstra que os autores cuidaram para prevenir viés;
- 3- Alto risco de viés: quando os autores claramente não cuidaram para prevenir o viés.

– **Análise Estatística** - Os dados foram armazenados em um banco de dados do programa SPSS, versão 12.0, que também foi utilizado como ferramenta para as análises estatísticas, o nível de significância foi de 95%. Os dados foram apresentados através de gráficos e tabelas de freqüência.

- ✓ **Análise de dados dicotômicos** - Para estudos de caso controle, as medidas de associação foram calculadas, por meio de razões de chance (*odds ratio*) (VANDENBROUCKE et a., 2007). Para as estimativas, foram calculados seus respectivos intervalos de confiança a 95%. As estimativas foram assumidas como estatisticamente significativas, quando $p < 0,05$,
- ✓ **Análise de dados contínuos** - Dados contínuos com distribuição normal foram avaliados por meio de diferenças de médias e respectivos intervalos de confiança a 95%,
- ✓ **Síntese das estimativas de efeito** - As estimativas de efeito dos estudos individuais foram combinadas por meio de metanálises:

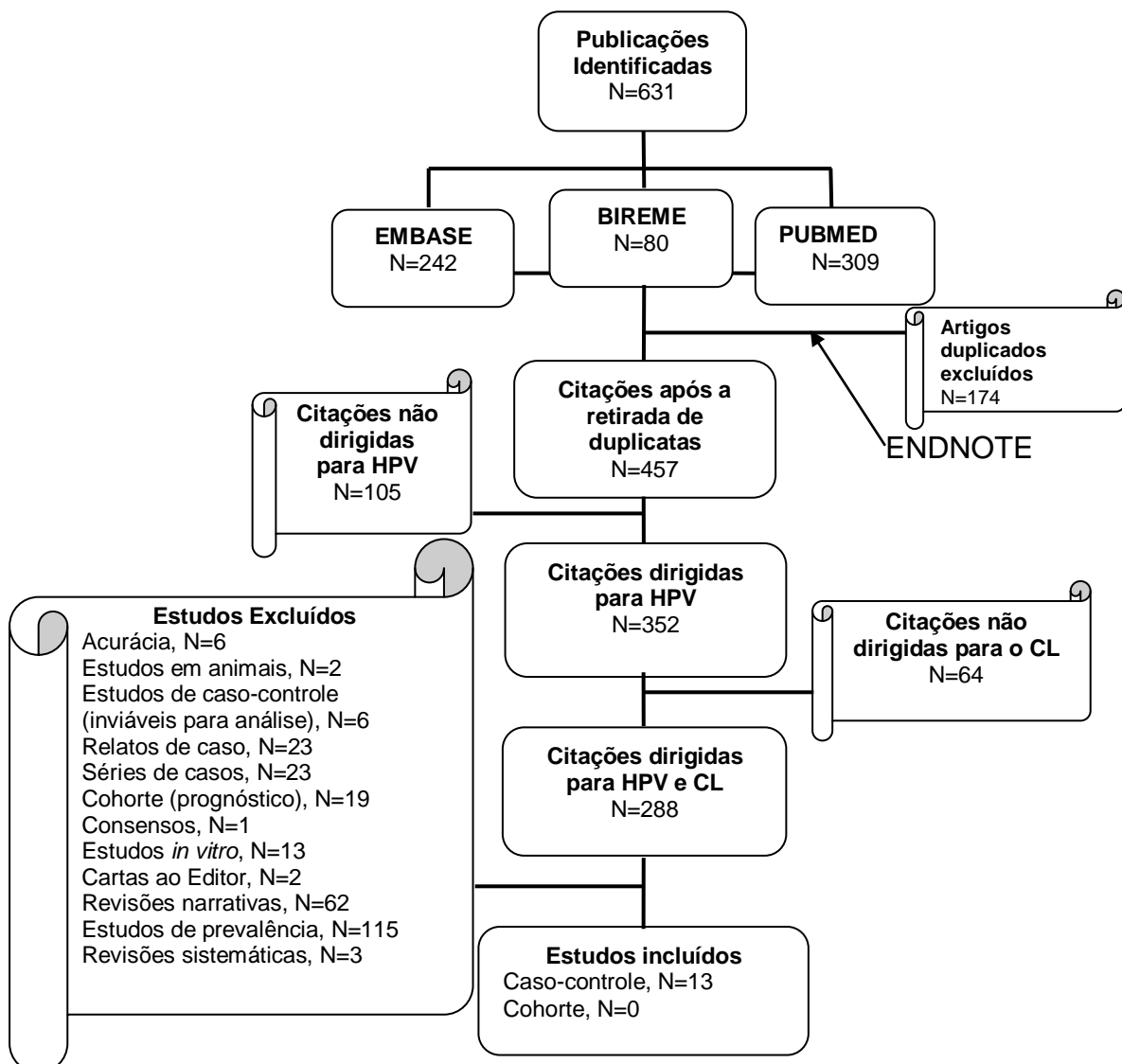
Mantel-Haenszel para riscos relativos e Peto Odds Ratio para o cálculo de odds ratio, com respectivos intervalos de confiança a 95% (GREENLAND, 2004; MANTEL; HAENSZEL, 1959; YUSUF, 1987).

6 RESULTADOS

6.1 PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Um total de 631 artigos foi identificado nos bancos de dados Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL); MEDLINE (via the PUBMED interface); LILACS; EMBASE e SciELO. Destes, foram excluídas 174 duplicatas, 105 estudos não relacionados ao HPV e 64 não dirigidos ao câncer de laringe. Dos 288 estudos restantes, foram excluídos seis de acurácia, dois estudos em animais, 6 estudos de caso-controle (inviáveis para análise), 23 relatos de casos, 23 séries de casos, 19 estudos de coorte (prognóstico), 1 estudo de consensos, 13 estudos *In vitro*, duas cartas ao editor, 62 revisões narrativas, 115 estudos de prevalência e 3 revisões sistemáticas. Foram classificados 13 artigos, cujos estudos estavam de acordo com os critérios de inclusão (Fig.6).

Figura 5 - Fluxograma do Processo de Seleção dos Estudos



6.2 DESCRIÇÃO DOS ESTUDOS

Os 13 estudos incluídos foram publicados entre os anos de 1989 e 2012; dos quais cinco foram conduzidos nos Estados Unidos da América, dois na Itália e um em cada dos seguintes países: Inglaterra, Polônia, Bélgica, Cuba, Coreia e China (Tabela 2).

Foi enviado e-mail para três autores de artigos, para a obtenção de mais informações sobre a metodologia adotada e características dos participantes dos estudos. Houve retorno de um pesquisador, porém, sem as informações solicitadas (LEE et al., 2010; RIBEIRO et al., 2011; ZHENG et al., 2010).

Dos 13 estudos, sete adotaram pacientes sem câncer como grupo controle, cinco utilizaram amostras de tecido não neoplásico do próprio paciente e um estudo não especificou as características do grupo controle.

A Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) foi o método de detecção viral mais frequente, tendo sido utilizado em 12 estudos; no entanto, a maioria dos estudos utilizou a combinação de PCR com outros métodos, como por exemplo Southern blot, sorologia, Dot blot e Array. Apenas um estudo utilizou método Imuno-histoquímico de modo isolado (MORSHED et al., 2005) (Tabela 1).

O número de casos de Câncer de Laringe investigados variou de 4 a 95, com total de 623 nos 13 estudos. A infecção por HPV foi identificada nos grupos de casos dos 13 estudos, apresentando prevalência de 29,21% (182/623), variando de 2,56 a 74,57% entre os estudos (Tabela 3/Gráfico 1). O número de controles investigados variou de 12 a 549, com total de 956 nos 13 estudos. A infecção por HPV foi identificada em 8 estudos nos controles, apresentando prevalência de 11,4% (109/956), variando de 3,44 a 77,14% entre os estudos (Tabela 4/Gráfico 1).

O HPV16 foi o genótipo mais relatado entre os casos, identificado em 6 (46,15%) estudos, com frequências variando de 4,21% e 42,42% e entre os controles em apenas 2 (15,38%) estudos, com frequência variando entre 10,35% e 10,56%, isoladamente (Tabela 3 e 4). Em outros 3 (23,07%) estudos foi identificado associado a outro genótipo (HPV6, HPV18 e HPV11) com frequências variando de 3,03% a 5% entre os casos e em dois estudos entre os controles (HPV6 e HPV11) com frequências de 1,85% e 3,77% (Tabela 3 e 4). O HPV6 foi identificado em 3 estudos, tanto entre casos como controles, com as frequências variando de 3,03% a 33,33% entre os casos e de 3,44% a 21,42% entre os controles, isoladamente

(Tabelas 3 e 4). Em um estudo, tanto entre os casos como controles, esteve associado a outro genótipo(HPV11), com frequência de 33,33% e 14,28%, respectivamente (Tabelas 3 e 4). Os HPV's18,11,31 e 45, foram identificados em um estudo cada, entre os casos, com frequência de 10%, 16,66%, 2,56% e 4%, respectivamente(Tabela 3). Os HPV's18 e 11 foram identificados entre os controles, um em cada estudo, com frequência de 4,25% e 28,57%, respectivamente(Tabela 4). Seis estudos não especificaram os genótipos de HPV identificados, sendo quatro entre os casos, com freqüência de 3,15%, 40%, 45,6% e 50%(Tabelas 3) e dois estudos que estiveram presentes entre os casos e controles(Clayman e Duray), com freqüência entre os casos de 42,59% e 74,57%, respectivamente (Tabela 3) e controles de 6,66% e 77,14%, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 1 – Descrição dos Métodos de detecção de DNA do HPV

Artigo	Material	Controle	Extração	Controle	Deteção	Controle
Almadori et al., 1996	Tecido fresco	NR	Proteinase K + fenol	Sim	PCR + Southern blot	Sim
Applebaum, et al., 2007	Tecido fresco	NR	Proteinase K + fenol	Sim	Sorologia + PCR	Sim
Asvadi et al., 2012	Tecido parafinado	NR	Proteinase K + fenol	Sim	PCR + Sequenciamento	NR
Brandsma et al., 1989	Tecido fresco	NR	NR	NR	PCR + Southern blot	NR
Bryan et. al., 1989	Tecido parafinado	NR	Desnaturação térmica	NR	PCR + Southern blot	Sim
Clayman et al., 1994	Tecido parafinado	NR	Sonicação + fenol	Sim	PCR	Sim
Duray et al., 2011	Tecido parafinado	NR	Proteinase K + kit	Sim	PCR (GP5/6) + RT-PCR	NR
García-Milián et al., 1998	Tecido fresco	NR	Proteinase K + fenol	Sim	PCR + Southern blot	Sim
Lee et al., 2010	Tecido parafinado	Sim	Kit	NR	Array + RT-PCR	NR
Morshed et al., 2005	Tecido parafinado	NR	NR	NR	Imunohistoquímica	NR
Smith et al., 2000	Lavado, Escovado Tecido fresco e parafinado	NR	Proteinase K + fenol + Kit	Sim	PCR + Sequenciamento + dot blot	Sim
Venuti et al., 2000	Tecido fresco	NR	Kit	Sim	PCR + Southern blot	Sim
Zhao; Ye; Lu, 1999	Tecido fresco	só resumo	só resumo	só resumo	PCR + Southern blot	NR

Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013. NR: Não realizado

Tabela 2 - Características dos Estudos Seleccionados

Ref. do Estudo	Ano do estudo	País	Tumor/Sítio	Nº de Casos	HPV + ve N (%)	Genótipo (s)	Nº de Controles	HPV + ve N (%)	Genótipo N(s)	Método DNA	Pareamento						
											A	B	C	D	E	F	G
Almadori et al.	1996	Itália	Laringe	45	9 (20%)	HPV 16 = 7 HPV 16 E 6= 2	29	4(13,79%)	HPV 16 = 3 HPV 6= 1	PCR SOUTHERN BLOT				x			
Applebaum et al.	2007	Estados Unidos	Laringe	95	18 (18,94%)	HPV16= 18	549	58 (10,56%)	HPV16= 58	PCR	x	x	x				
Asvadi et al.	2012	Estados Unidos	Laringe	4	2(50%)	Não especificado	94	4(4,25%)	HPV18=4	PCR	x	x					x
Brandsma et al.	1989	Estados Unidos	Laringe	60	3(5%)	HPV 16 E 11	53	2(3,77%)	HPV 16 E 11	PCR							x
Bryan et al.	1998	Inglaterra	Laringe	6	5(83,33%)	HPV6= 2 HPV11= 1 HPV6/11= 2	14	9(64,28%)	HPV6= 3 HPV11= 4 HPV6/11= 2	PCR							
Clayman	1994	Estados Unidos	Laringe	54	23(42,59%)	Não especificado	15	1(6,66%)	Não especificado	PCR	x	x					x x
Duray	2011	Bélgica	Laringe	59	44(74,57%)	Alto HPV= 23 INT HPV= 21	35	27(77,14%)	Alto HPV= 12 Int HPV= 15	PCR							x
García-Milián	1998	Cuba	Laringe	33	16(48,48%)	HPV 16= 14 HPV 6 = 1 HPV 16/18= 1 HPV16= 4	54	4(7,40%)	HPV 6= 3 HPV 6/16= 1	PCR							
Lee et al.	2010	Coréia	Laringe	95	7(7,36%)	HPV baixo risco= 3	15	0	0	PCR							x
Morshed et al.	2005	Polónia	Laringe	40	6 (15%)	Não especificado	33	0	0	Imuno- histoquímica							x
Smith et al.	2000	Estados Unidos	Laringe	39	5 (12,82%)	HPV 16= 4 HPV 31= 1	12	0	0	PCR	x	x					
Venutti	2000	Italia	Laringe	25	13 (52%)	HPV 16= 7 HPV 45= 1 HPV6= 5	23	0	0	PCR							x
Zhao	1999	China	Laringe	68	31 (45,6%)	HPV16 e 18 Não especificado o número de cada subtipo.	30	0	0	PCR							x x

Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

Nota: A – idade; B – gênero; C – local de residência; D – área não tumoral; E – região anatômica do tumor; F – estadiamento; TNM; G – não mencionado;

Tabela 3 – Frequencia dos genótipos de HPV nos Casos

Ref. Do Estudo	HPV16	HPV18	HPV6	HPV11	HPV31	HPV45	HPV16/6	HPV16/18	HPV16/11	HPV6/11	Não Especificado
Almadori	7(15,55%)	—	—	—	—	—	2(4,44%)	—	—	—	—
Applebaum	18(18,94%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Asvadi	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2(50%)
Brandsma	—	—	—	—	—	—	—	—	3(5%)	—	—
Bryan	—	—	2(33,33%)	1(16,66%)	—	—	—	—	—	2(33,33%)	—
Clayman	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	23(42,59%)
Duray	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	44(74,57%)
García-Milián	14(42,42%)	—	1(3,03%)	—	—	—	—	1(3,03%)	—	—	—
Lee	4(4,21%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3(3,15%)
Morshed	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6(15%)
Smith	4(10,26%)	—	—	—	1(2,56%)	—	—	—	—	—	—
Venutti	7(28%)	—	5(20%)	—	—	1(4%)	—	—	—	—	—
Zhao	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	31(45,6%)

Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

Tabela 4 – Frequência dos genótipos de HPV nos Controles

Ref. Do Estudo	HPV16	HPV18	HPV6	HPV11	HPV31	HPV45	HPV16/6	HPV 16/18	HPV 16/11	HPV 6/11	Não Especificado
Almadori	3(10,35%)	—	1(3,44%)	—	—	—	—	—	—	—	—
Applebaum	58(10,56%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Asvadi	—	4(4,25%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Brandsma	—	—	—	—	—	—	—	—	2(3,77%)	—	—
Bryan	—	—	3(21,42%)	4(28,57%)	—	—	—	—	—	2(14,28%)	—
Clayman	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1(6,66%)
Duray	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	27(77,14%)
García-Milián	—	—	3(5,55%)	—	—	—	1(1,85%)	—	—	—	—
Lee	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Morshed	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Smith	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Venutti	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zhao	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

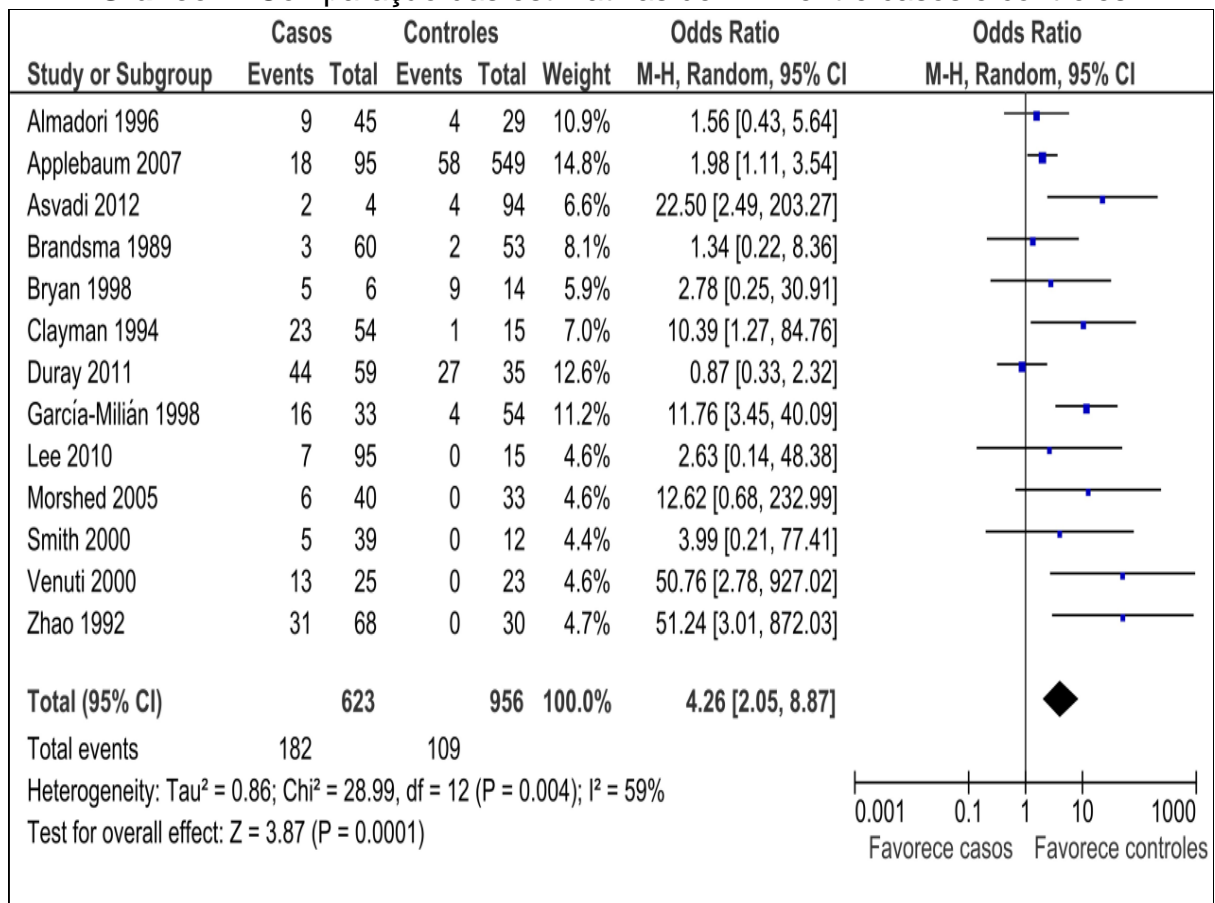
Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

6.3 ESTIMATIVAS DE CHANCE DE HPV ENTRE PACIENTES COM CÂNCER DE LARINGE

As estimativas individuais demonstram maiores proporções de pacientes ou amostras teciduais positivas para HPV entre aqueles com câncer de laringe (casos) quando comparadas aos pacientes ou amostras sem o câncer de laringe (controles).

Tais estimativas individuais, combinadas em uma metanálise, resultaram em diferença estatisticamente significativa de HPV entre os casos, quando comparados aos controles, com maior probabilidade entre os casos (OR 4.26, IC a 95% de 2.05 a 8.87, $P=0.004$). A análise estatística sugere substancial heterogeneidade (I^2) entre os estudos ($I^2>50\%$, $P<0,05$), que pode ser explicada pelo tipo de controle utilizado, conforme demonstrado pela análise de subgrupos do Gráfico 1.

Gráfico 1- Comparação das estimativas de HPV entre casos e controles

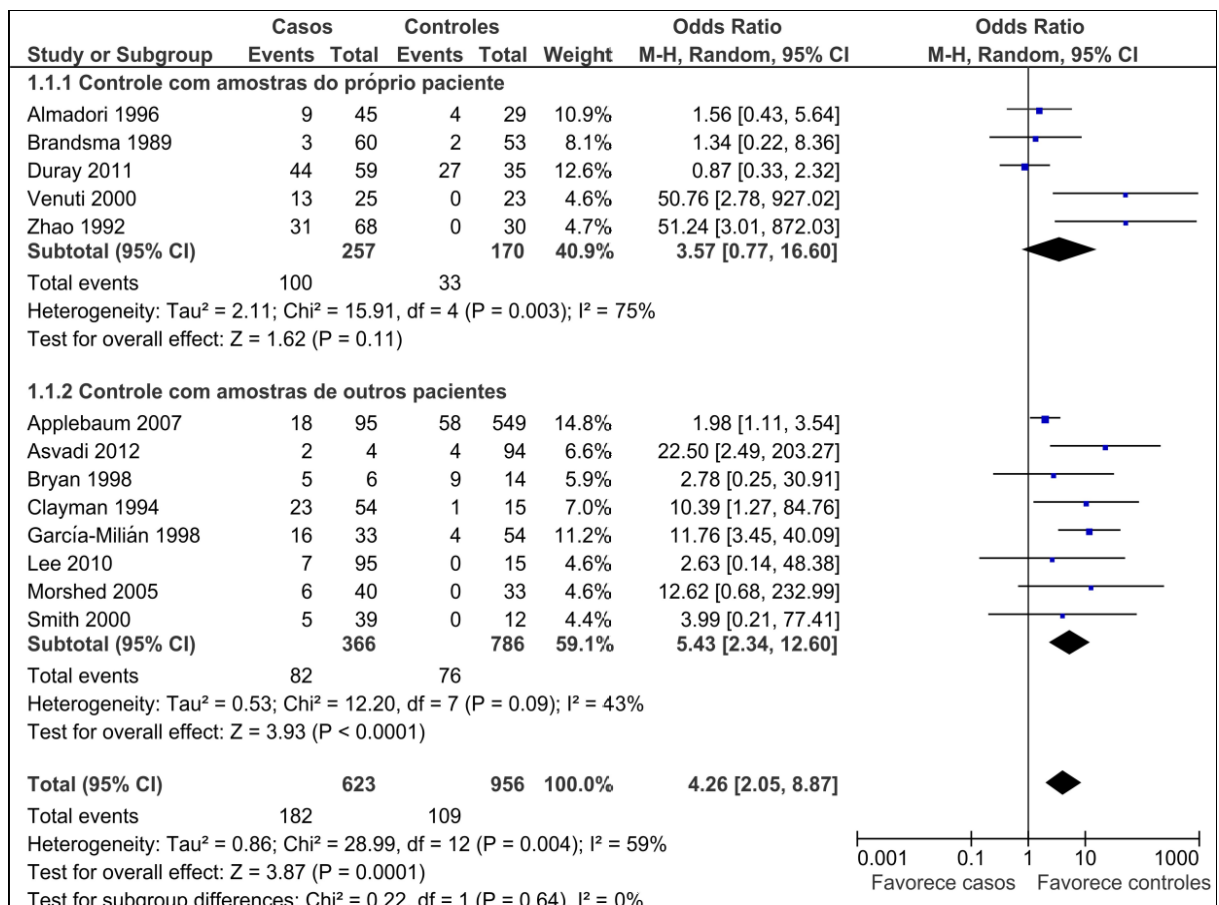


Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

Nota: O gráfico de floresta (*forest plot*) demonstra estudos com estimativas individuais de maiores proporções de pacientes ou amostras teciduais positivas para HPV entre aqueles com câncer de laringe (casos) quando comparadas aos pacientes ou amostras sem o câncer de laringe (controles). Tais estimativas individuais combinadas em uma metanálise resultaram em diferença estatisticamente significativa de HPV entre casos quando comparados aos controles, com maior probabilidade entre os casos (OR=4.26, IC a 95% de 2.05 a 8.87, $P=0.004$). A análise estatística sugere substancial heterogeneidade entre os estudos ($I^2>50\%$, $P<0,05$), que pode ser explicada pelo tipo de controle utilizado, conforme demonstrado pela análise de subgrupos do Gráfico 1.

Os estudos que utilizaram amostras da própria pessoa como controle, apresentaram maior índice de heterogeneidade ($I^2=75\%$), em comparação com aqueles que usaram amostras de diferentes pacientes ($I^2=43\%$). Para o primeiro caso, as proporções de eventos foram de 39% (100/257) nos casos e de 19% (33/170) nos controles, com *odds ratio* (OR) de 3,57, no entanto, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos de comparação (IC a 95% de 0,77 a 16,6; $P=0,003$). Já a análise dos estudos em que os controles foram compostos por outros pacientes sem o câncer de laringe, as proporções observadas foram de 25,54% (82/366) entre casos e de 9,67% (76/786) entre os controles, com *odds ratio* (OR) 5.43 (IC a 95% de 2,34 a 12,60, $P=0.09$) (Gráfico 2).

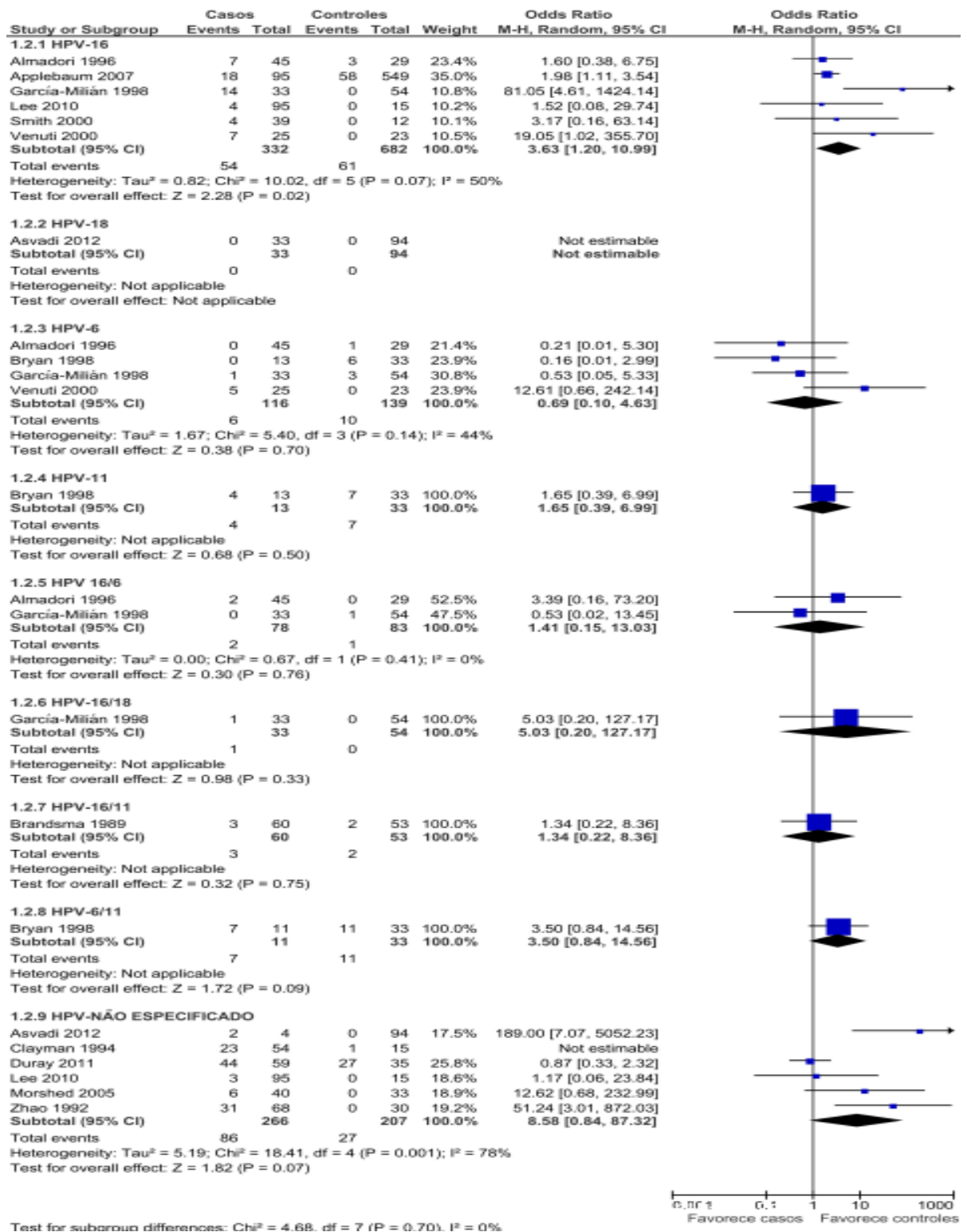
Gráfico 2 - Comparação das estimativas de HPV entre os tipos de controle



Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

Nota: Para o subgrupo de estudos que utilizaram outros pacientes como controle, o gráfico de floresta (*forest plot*) demonstra diferença estatística significativa de HPV entre casos quando comparados aos controles, com maior probabilidade entre os casos (OR 5.43; IC a 95% de 2,34 a 12,60, $P=0.09$), além da homogeneidade entre os estudos ($I^2=43\%$). De outro modo, nos estudos que utilizaram amostras teciduais não neoplásicas do próprio paciente, a análise estatística demonstra ausência de diferença estatística quanto à presença de HPV entre casos e controles (OR 3,57; IC a 95% de 0,77 a 16,60, $P=0,003$) e sugere substancial heterogeneidade entre eles ($I^2=75\%$).

Gráfico 3 - Comparação das estimativas dos genótipos de HPV entre casos e controle



Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

6.4 RISCOS DE ERROS SISTEMÁTICOS DOS ESTUDOS

6.4.1 Definição dos Casos

Em relação à definição dos casos de câncer, 61,53% (8/13) apresentaram baixo risco de erros sistemáticos (ALMADORI et al., 1996; APPLEBAUM et al., 2007; ASVADI et al., 2012; BRANDSMA; ABRAMSON, 1989; CLAYMAN et al., 1994; DURAY et al., 2011; MORSHED et al., 2005; SMITH et al., 2000), pois referiram ter utilizado análise histopatológica e/ou clínica; 15,38% (2/13) dos estudos foram considerados de alto risco, pois não relataram como foi feito o diagnóstico e 23,07% (3/13) dos estudos foram de risco incerto, pois somente relataram como obtiveram as amostras e não como fizeram o diagnóstico (Gráficos 4 e 5).

6.4.2 Pareamento

Para o item pareamento, 61,53% (8/13) dos estudos demonstraram baixo risco (ALMADORI et al., 1996; APPLEBAUM et al., 2007; ASVADI et al., 2012; BRANDSMA; ABRAMSON, 1989; CLAYMAN et al., 1994; SMITH et al., 2000; VENUTI et al., 2000; ZHAO; YE; LU, 1999), devido terem referido o uso de pelo menos uma característica de pareamento entre casos e controles e as características de pareamento mais utilizadas foram, amostras de tecido (n=4), idade e gênero (n=4), sendo que de dois destes estudos, um fez uso de local de residência e o outro de estadiamento pela classificação TNM. Um estudo utilizou o Sítio Anatômico do tumor para pareamento (Tabela 2); 38,46% (5/13) dos estudos não mencionaram pareamento.

6.4.3 Descrição Detalhada dos Casos e Controles

Quanto à descrição detalhada dos casos, 69,23% (9/13) dos estudos apresentaram alto risco (ASVADI et al., 2012; BRANDSMA; ABRAMSON, 1989; BRYAN et al., 1998; CLAYMAN et al., 1994; DURAY et al., 2011; GARCÍA-MILIÁN et al., 1998; LEE et al., 2010; SMITH et al., 2000, VENUTI et al., 2000), pois apresentaram descrição insuficiente, quanto à presença de outros fatores de risco, especialmente tabagismo e etilismo; 15,38% (2/13) tiveram baixo risco, devido terem

relatado adequadamente outros fatores de risco e as características de casos e controles; 15,38% (2/13) apresentaram risco incerto, devido não terem feito nenhum relato sobre outros fatores de risco e nem características de casos e controles (Gráficos 4 e 5).

6.4.4 Medidas de Exposição

Quanto à exposição ao HPV, 92,30% (12/13) dos estudos (ALMADORI et al., 1996; APPLEBAUM et al., 2007; ASVADI et al., 2012; BRANDSMA; ABRAMSON, 1989; BRYAN et al., 1998; CLAYMAN et al., 1994; DURAY et al., 2011; GARCÍA-MILIÁN et al., 1998; LEE et al., 2010; SMITH et al., 2000, VENUTI et al., 2000; ZHAO; YE; LU, 1999), apresentaram baixo risco devido terem feito uso de princípios técnicos com alta sensibilidade e alta especificidade para extração e detecção do DNA do HPV (PCR) e os demais 7,69% (1/13), fizeram uso de um método de imunohistoquímica, que é um método menos sensível quanto a identificação (Gráficos 4 e 5).

6.4.5 Cegamento

Em relação ao cegamento dos avaliadores, 92,3% (12/13) dos estudos apresentaram alto risco (ALMADORI et al., 1996; ASVADI et al., 2012; BRANDSMA; ABRAMSON, 1989; BRYAN et al., 1998; CLAYMAN et al., 1994; DURAY et al., 2011; GARCÍA-MILIÁN et al., 1998; LEE et al., 2010; MORSHED et al., 2005; SMITH et al., 2000, VENUTI et al., 2000; ZHAO; YE; LU 1999), pois não fizeram nenhum relato sobre cegamento e 7,6% (1/13) dos estudos apresentaram baixo risco, pois relataram ter realizado o cegamento (Gráficos 4 e 5).

6.4.6 Perdas de Dados

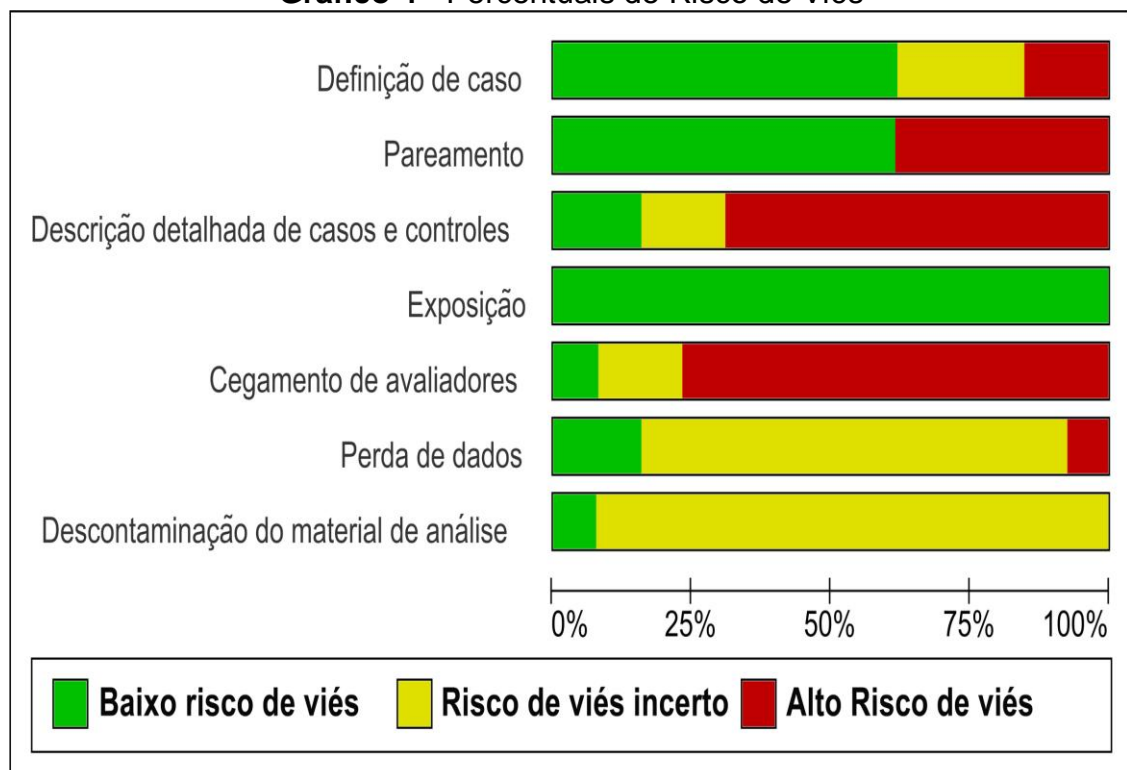
Quanto à perda de dados, 76,92% (10/13) dos estudos apresentaram risco incerto (ALMADORI et al., 1996; ASVADI et al., 2012; BRANDSMA; ABRAMSON, 1989; BRYAN et al., 1998; CLAYMAN et al., 1994; GARCÍA-MILIÁN et al., 1998; LEE et al., 2010; MORSHED et al., 2005; VENUTI et al., 2000; ZHAO; YE; LU, 1999), pois não relataram as perdas; 15,38% (2/13) dos estudos tiveram baixo risco,

pois mencionaram as perdas e elas foram inferiores a 20% e, 7,69% (1/13) dos estudos tiveram alto risco, pois mencionaram as perdas e as mesmas foram superiores a 20% (Gráficos 4 e 5).

6.4.7 Descontaminação do Material de Análise

Quanto à descontaminação do material de análise, 92,3% (12/13) dos estudos apresentaram risco de viés incerto (ALMADORI et al., 1996; APPLEBAUM et al., 2007; ASVADI et al., 2012; BRYAN et al., 1998; CLAYMAN et al., 1994; DURAY et al., 2011; GARCÍA-MILIÁN et al., 1998; MORSHED et al., 2005; SMITH et al., 2000, VENUTI et al., 2000; ZHAO; YE; LU,1999), pois não referiram nenhuma precaução e 7,69% (1/13) dos estudos apresentou baixo risco, fez referência quanto a descontaminação do micrótomo (Gráficos 4 e 5).

Gráfico 4 - Percentuais de Risco de Viés



Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

Gráfico 5 - Resumo de Risco de Viés

	Definição de caso	Pareamento	Descrição detalhada de casos e controles	Exposição	Cegamento de avaliadores	Perda de dados	Descontaminação do material de análise
Almadori 1996	+	+	+	+	-	?	?
Applebaum 2007	+	+	+	+	+	-	+
Asvadi 2012	+	+	-	+	-	?	?
Brandsma 1989	+	+	-	+	-	?	?
Bryan 1998	-	-	-	+	-	?	?
Clayman 1994	+	+	-	+	-	?	?
Duray 2011	+	-	-	+	-	+	?
García-Milián 1998	-	-	-	+	-	?	?
Lee 2010	?	-	-	+	-	?	?
Morshed 2005	+	-	?	+	-	?	?
Smith 2000	+	+	-	+	-	+	?
Venuti 2000	?	+	-	+	?	?	?
Zhao 1992	?	+	?	+	?	?	?

Fonte: Protocolo de pesquisa, 2013.

7 DISCUSSÃO

Esta é uma meta-análise de literatura publicada e, portanto, reflete pontos fortes e fracos dos estudos individuais incluídos. Existe um alto grau de heterogeneidade entre os estudos, a qual é susceptível de ser explicado pela variabilidade de concepção e de execução entre eles. Não apenas se os estudos diferem no tipo de método de detecção, eles também diferem em períodos de tempo que eles recrutaram os casos, o tipo de amostra e a definição de recrutamento.

Nesta meta-análise abordando a prevalência de HPV e sua associação com câncer de laringe, 13 estudos de caso-controle foram incluídos, sendo avaliados 623 casos e 956 controles. A prevalência de HPV em geral no câncer de laringe, verificada foi de 29,21% (182/623) e 11,4% (109/956) para casos e controles, respectivamente. A prevalência de HPV estimada entre cânceres pode variar em relação à população do estudo, os métodos de detecção do HPV, e as características de câncer (IARC, 2007).

O carcinoma de células escamosas de laringe quanto aos fatores de risco, está diretamente relacionado ao tabagismo e etilismo (LAJER; VON BUCHWALD, 2010; SARTOR et al., 2007), porém a descrição detalhada destes fatores, entre casos e seus respectivos controles, foi abordada em apenas dois artigos selecionados nesta metanálise (ALMADORI et al., 1996; APPLEBAUM et al., 2007), corroborando com estes dados, Dayyani et al. (2010) em estudos recentes, relacionam o HPV de alto risco como um fator de risco para CCECP, independente dos fatores de risco tradicionais, que incluem o uso abusivo do tabaco e consumo de álcool. Estando associado com certos comportamentos sexuais, como a prática de sexo oral e o número crescente de parceiros sexuais, ou seja, há uma falta de associação com uso do fumo e o consumo de álcool (Dayyani et al., 2010).

A Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) foi o método de detecção viral mais frequente, tendo sido utilizado em doze estudos e um estudo utilizou método Imuno-histoquímico. A detecção dos tipos de HPV pode ser diferente por causa de variações no desenho do estudo e na sensibilidade e especificidade dos métodos de detecção (Li et al., 2013).

Os nossos resultados indicam que a associação entre a infecção por HPV e o risco de câncer de laringe é forte, com um OR de 4,26 (IC 95%, 2,05-8,87), que é maior do que aquele para o câncer da mama OR 3,63 (IC 95%, 1,42-9,27) (Li et al.,

2011) e câncer oral OR 2,0 (CI 95%, 1,2-3,4) (HOBBS et al., 2006). Resultados da meta-análise de Li et al. (2013), indicam a associação entre a infecção por HPV e o risco de câncer de laringe com um OR de 5,39 (IC 95%, 3,32-8,73).

Nos estudos selecionados, à extração de DNA para detecção do genoma do HPV, apresentou resultados positivos entre os casos, variando entre 5 e 84,61% e entre os controles, variando entre 3,77 a 77,14%(OR=4.26, IC a 95% de 2.05 a 8.87, P=0.004), corroborando com o estudo de Kreimer et al. (2005), no qual a prevalência total de HPV positivo avaliada por PCR foi de 24,0%, variou de 3,3% a 58,8%. Segundo Ribeiro et al. (2011), a prevalência do DNA HPV16 E6 foi de 2,5% e 0,9% para os casos e controles, respectivamente (OR=3,82, 95% CI 2,21-6,59) e para o HPV16 E7 entre os casos foi de 3,1% (6/196), incluindo 4,4% na orofaringe (3/68), 3,8% na hipofaringe / laringe (3/78), e 0% entre os 50 casos de carcinomas da cavidade oral. No estudo de Liu et al. (2010), o DNA do HPV foi detectado nos 36,9% dos casos de carcinoma de laringe, em uma população de 84 pacientes. Na revisão sistemática realizada no México e na Colômbia, a prevalência de HPV no processo de lesões malignas do trato aerodigestivo superior (VADS) ocorreu com uma incidência na cavidade de orofaringe de 35,6%, oral de 23,5% e laringe de 24,0% (SERENA-GÓMEZ et al., 2011).

O genótipo viral mais frequente entre os casos foi o HPV 16, presente em 6 estudos com prevalência de 15,86% e entre os controles foram os tipos virais HPV-6 (detectado em 3 estudos) com prevalência de 7,19% e o HPV16 e 18 (dois outros estudos cada). Em duas recentes meta-análises de câncer de laringe, DAYYANI et al. (2010) e Li et al. (2013), a prevalência de HPV nos casos foi de 22%, com 86,7% de HPV16 (DAYYANI et al., 2010) e 19,8% (IC 95%, 15,7%-24,6%), respectivamente. No entanto, nem todos HPV em tumores de cabeça e pescoço são transcricionalmente ativos (WIEST et al., 2002), o risco de CCECP entre pacientes HPV16 positivos foi 4,44 vezes (IC 95%; 2,87-6,02, p <0,0001), quando comparados aos pacientes HPV16 negativos (DAYYANI et al., 2010).

Segundo Giuliano et al. (2008), em seu estudo de coorte, a Incidência de tipos de HPV 6, 11, 16 e 18 foram de 2,8, 0,5, 4,8 e 0,8 por 1.000 pessoas-mês, respectivamente. HPV6 e HPV11 podem também ser encontrados numa minoria destes cancros, o que implica que estes HPV de baixo risco ou não oncogênicos, podem infectar a região oral, orofaringe ou sítios das vias respiratórias superiores (KREIMER et al., 2005).

A positividade tanto para o HPV16 E6 e E7 foi associada com um alto risco de COF (OR = 179, 95% IC 35,8-899) e hipofaringe / laringe (OR= 14,9, IC 95% 2,92-76,1). Quando os resultados foram estratificados pelo sitio, resultados consistentes foram observadas para ambos, laringe (HPV16 E6 OR=2,91, 95% CI 1,43-5,95; tanto E6/E7 OR=13,7, IC 95% 2,29-82,3) e hipofaringe (HPV16 E6 OR=2,78, 95% CI 0,58-13,4; tanto E6/E7-OR=31,3, IC 95% 2,69-362).

Os estudos que utilizaram amostras da própria pessoa como controle, apresentaram maior índice de heterogeneidade ($I^2=75\%$), em comparação com aqueles que usaram amostras de diferentes pacientes ($I^2=44\%$). Para o primeiro caso, as proporções de eventos foram de 39% (100/257) nos casos e de 19% (33/170) nos controles, com *odds ratio* (OR) de 3,57, no entanto, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos de comparação (IC a 95% de 0,77 a 16,5; $P= 0,11$). Já a análise dos estudos em que os controles foram compostos por outros pacientes sem o câncer de laringe, as proporções observadas foram de 23% (88/373) entre casos e de 11% (91/805) entre os controles, com *odds ratio* (OR) 5.01(IC a 95% de 2,22 a 11,29, $P=0.0001$).

Os estudos analisados quanto ao risco de viés, dos 13, somente em um estudo houve a preocupação e cuidado para evitar a contaminação cruzada, onde o micrótomo foi limpo com uma lâmina nova para cada caso. (LEE et al, 2010). Evans et al. (2005), sugerem medidas para prevenir potencial contaminação cruzada de tecido durante a amostra de corte, incluindo limpar a lâmina de micrótomo com Histoclear e "DNA-Erase (um reagente de remoção de contaminação por DNA) entre os blocos. Além disso, os primeiros 10-20 secções cortadas de um espécime foram eliminados antes da colheita de material para a extração do DNA a partir da amostra. Kocjan et al. (2012) a fim de evitar possível contaminação da amostra-para-amostra, tanto a lâmina de micrótomo e superfície de trabalho foram limpos de tecidos e / ou partes de parafina e descontaminados, utilizando solução específica para eliminação de DNA (Molecular Bio-Products, San Diego, CA) após cada utilização.

Li et al. (2013) em recente meta-análise, utilizaram estudos observacionais, publicados no idioma Inglês, dos bancos de dados PUBMED, MEDLINE e EMBASE e a seleção dos artigos foi realizada por dois pesquisadores. Esta metanálise apresenta como características diferenciais o fato da busca ter sido feita nos principais bancos de dados, ou seja, Cochrane Central Register of Controlled Trials

(CENTRAL), MEDLINE (via the PUBMED interface), LILACS; EMBASE e SciELO; não ter havido restrição de idioma; os estudos terem sido selecionados e analisados por três avaliadores e as diferenças resolvidas em consenso; os tipos de estudo de coorte e caso-controle selecionados estarem de acordo com critérios de hierarquia da qualidade das evidências, com níveis de evidência e graus de recomendação segundo o Centro de Medicina Baseada em Evidências de Oxford (OCEBM 2011).

8 CONCLUSÃO

Os resultados desta meta-análise apoiam a hipótese do envolvimento do HPV no cancer de laringe, ratificando o HPV-16 como o mais prevalente e como um fator de risco para o desenvolvimento de câncer nessa região.

A associação entre a infecção pelo HPV e o risco de câncer de laringe não foi substancialmente influenciada pelos erros sistemáticos dos estudos analisados.

REFERÊNCIAS

- ADELSTEIN, D. J.; RIDGE, J. A.; GILLISON, M. L. et al. Head and neck squamous cell cancer and the human papillomavirus: summary of a National Cancer Institute State of the Science Meeting, November 9–10, 2008, Washington, D.C. **Head Neck**, v. 31, n. 11, p. 1393-1422, Nov. 2009.
- ALMADORI, G.; CADONI, G.; CATTANI, P. et al. Detection of Human Papillomavirus DNA in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma by Polymerase Chain Reaction. **Europea Journal of Cancer**. v. 32A, n. 5, p. 783-788, 1996.
- AMERICAN CANCER SOCIETY (AMS). **Cancer Facts and Figures 2009**. Atlanta: Ga. American Cancer Society, 2009.
- AMERICAN CANCER SOCIETY (AMS). **Cancer Facts and Figures 2011**. Atlanta: Ga: American Cancer Society, 2011.
- ANG, K. K; HARRIS, J.; WHEELER, R. et al. Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer Survival. **N Engl J Med.**, v. 363, p. 1576, 2010.
- ANTMAN, E. M.; LAU, J.; KUPELNICK, B.; MOSTELLER, F.; CHALMERS, T.C. A comparison of results of meta-analyses of randomized control trials and recommendations of clinical experts. Treatments for myocardial infarction. **JAMA**, v. 268, n. 2, p. 240-8, 1992.
- APPLEBAUM, K. M.; FURNISS, C. S.; ZEKA, A. et al. Lack of Association of Alcohol and Tobacco with HPV16 - Associated Head and Neck Cancer. **J Natl Cancer Inst.**; v. 99, p. 1801-10, 2007.
- ASVADI, K. I.; SEIFI, S. H.; DOLATKHAH, R. et al. Human Papilloma Virus In Head and Neck Squamous Cell Cancer. **Iran J Cancer Prev.**, v. 1, p. 21-26, 2012.
- ATULA, S. et al. Detection of human papillomavirus (HPV) in laryngeal carcinoma cell lines provides evidence for a heterogeneous cell population. **Eur J Cancer.**, v.35, n.5, p.825-32. May, 1999.
- BECHTOLD, V.; BEARD, P.; RAJ, K. Human papillomavirus type16 E2 protein has no effect on transcription from episomal viral DNA. **J Virol.**, v. 77, n. 3, p. 2021-8, 2003.
- BEUTNER, K. R.; TYRING, S. Human papillomavirus disease. **Am J Med.**, v. 102, p. 9-15, 1997.
- BRANDSMA, J. L.; ABRAMSON, A. L. Association of papillomavirus with cancers of the head and neck. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.**, v 115, n. 5, p. 621-5, 1989.
- BRASIL. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil: Câncer de Laringe**. 2006. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2006> > Acesso: 10 nov. 2011.

_____. _____. **Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil 2010**. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso: 10 jan. 2012.

_____. _____. **Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil 2012/2013**. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. Acesso: 5 fev. 2012.

_____. Ministério da Saúde (BR). Secretária de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Controle dos cânceres do colo útero e da mama**. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2010.

BRYAN, R. L.; BEVAN, I. S.; CROCKER, J.; YOUNG, L. S. Detection of HPV 6 and 11 in tumours of the upper respiratory tract using the polymerase chain reaction. **Journal Clin Otolaryngol Allied Sci.**, v. 15, n. 2, p. 177-80, 1998.

BYERS, R. M.; WOLF, P. F.; BALLANTYNE, A. J. Rationale for elective modified neck dissection. **Head Neck Surg.**, v. 10, p. 160-7, 1988.

CARVALHO, J. J. M.; OYAKAWA, N. I Congresso Brasileiro de HPV. São Paulo: BG Cultural, 2000.

CARVALHO, M. B. Epidemiologia, patologia, diagnóstico e estadiamento clínico dos tumores malignos da laringe. In: _____. **Tratado de cirurgia de cabeça e pescoço e otorrinolaringologia**. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 867-75.

CASTELLSAGUE, X.; BOSCH, F. X.; MUNOZ, N. et al. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. **N Engl J Med.**, v. 346, p. 1105-12, 2002.

CHATURVEDI, A.K; ENGELS, E.A; ANDERSON, W.F. et al: Incidence trends for human papillomavirus related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. **J Clin Oncol.**, v. 26, p. 612-619, 2008.

CHOW, L. T.; BROKER, T. R. In vitro experimental systems for HPV: epithelial raft cultures for investigations of viral reproduction and pathogenesis and for genetic analyses of viral proteins and regulatory sequences. **Clin Dermatol.**, v. 15, n. 2, p. 217-27, 1997.

CLAYMAN, G. L.; STEWART, M. G.; WEBER, R. S. et al. Human papillomavirus in laryngeal and hypopharyngeal carcinomas. Relationship to survival. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.**, v. 120, n. 7, p. 743-8, 1994.

COOK, D.J.; MULROW, C.D.; HAYNES, R.B. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. **Ann Intern Med.**, v. 126, n. 5, p. 376-80. 1997.

COOPER, H. M. Scientific guidelines for conducting integrative research reviews. **Rev Educ Res.**, v. 52, n. 2, p. 291-302, 1982.

CRUSIUS, K.; KASZKIN, M.; KINZEL, V. et al. The human papillomavirus type 16 E5 protein modulates phospholipase C- γ -1 activity and phosphatidylinositol turnover in mouse fibroblasts. **Oncogene**, v. 8, p. 6714-6718, 1999.

D'SOUZA, G.; KREIMER, A. R.; CLIFFORD, G. M.; BOYLE, P.; FRANCESCHI, S.; VISCIDI, R. et al. Casecontrol study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. **N Engl J Med.**, v. 356, p. 1944-56, 2007.

DAYYANI, F.; ETZEL, C. J.; LIU, M.; HO, C. H.; LIPPMAN, S. M.; TSAO, A. S. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). **Head Neck Oncol.**, v. 2, n. 15, 2010.

DE VILLIERS, E. M. Papillomavirus and HPV typing. **Clin Dermatol.**, v.15, n.2, p.199-206. Mar- Apr., 1997.

DONNER, A. J.; HAMPSON, L.; HOMER, J. J.; HAMPSON, I. N. The role of HPV type in Recurrent Respiratory Papillomatosis. **Int J of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 74, n. 1, p. 7-14, 2010.

DÔRES, G. B. **HPV na genitália feminina**: Manual e Guia Prático de Cirurgia de Alta Frequência. São Paulo: Multigraf Editora, 1994.

DURAY, A.; DESCAMPS, G.; ARAFA, M. et al. High incidence of high-risk HPV in benign and malignant lesions of the larynx. **International Journal of Oncology.**, v. 39, p. 51-59, 2011.

DYISON, N.; HOWLEY, P. M.; MUNGER, K.; HARLOW, E. The human papillomaviruse 16- E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. **Science**, v. 243, p. 934-7, 1989.

EL-SERAG, H. B.; HEPWORTH, E. J.; LEE, P.; SONNENBERG, A. Gastroesophageal reflux disease is a risk factor for laryngeal and pharyngeal cancer. **Am J Gastroenterol.**, v. 96, n. 7, p. 2013-8, Jul. 2001.

EVANS, M. F.; ADAMSON, C. S. C.; SIMMONS-ARNOLD, L.; COOPER, K. Touchdown general primer (gp5+/gp6+) pcr and optimized sample dna concentration support the sensitive detection of human papillomavirus. **BMC Clinical Pathology**. v. 5, n. 10, 2005.

FAKHRY, C.; WESTRA, W. H.; LI, S. et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. **J Natl Cancer Inst** v. 100, p. 261-269, Feb. 2008.

GARAVELLO, W.; GIORDANO, L.; BOSETTI, C.; TALAMINI, R.; NEGRI, E.; TAVANI, A.; MAISONNEUVE, P.; FRANCESCHI, S.; LA VECCHIA, C. Diet diversity and the risk of oral and pharyngeal cancer. **Eur J Nutr.**, v.47, n.5, p. 280-4. Aug. 2008.

GARCÍA-MILIÁN, R.; HERNÁNDEZ, H.; PANADE, L. et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in benign and malignant tumours of laryngeal epithelium. **Acta Otolaryngol (Stockh)**, v. 118, n. 5, p. 754-758, 1998.

GIULIANO, A.R.; LU, B.; NIELSON, C.M.; FLORES, R.; PAPENFUSS, M.R.; JI-HYUN LEE, J.H.; ABRAHAMSEN, M.; HARRIS, R.B. Age-Specific Prevalence, Incidence, and

Duration of Human Papillomavirus Infections in a Cohort of 290 US Men. **J Infect Dis.**, v. 198, n. 6, p. 827-35, Sep. 2008.

GLASS, G. V. Primary, secondary, and meta-analysis of research. **Educ Res.**, v. 5, n. 10, p. 3-8, 1976.

GORGOULIS, V. G.; ZACHARATOS, P.; KOTSINAS, A.; KYROUDI, A.; RASSIDAKIS, A. N.; IKONOMOPOULOS, J. A. et al. Human papilloma virus (HPV) is possibly involved in laryngeal but not in lung carcinogenesis. **Hum. Pathol.**, v.30, n.3, p.274-83, Mar. 1999.

GREENLAND, S. Interval estimation by simulation as an alternative to and extension of confidence intervals. **Int J of Epidemiology**, v. 33, p. 1389-1397, 2004.

HAMMARSTEDT, L.; LINDQUIST, D.; DAHLSTRAND, H.; ROMANITAN, M.; DAHLGREN, L. O. Human papillomavirus as a risk factor for the increase of tonsillar cancer. **Int J Cancer**, v. 119, p. 2620-3, 2006.

HECK, J. E.; BERTHILLER, J.; VACCARELLA, S.; WINN, D. M.; SMITH, E. M. Sexual behaviours and the risk of head and neck cancers: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. **Int J Epidemiol.**, v. 39, p. 166-81, 2010.

HENDERSON, L. E. The cover illustration is designed, based on a three-dimensional model of the human papillomavirus. **The PRN Notebook**, v. 6, n. 3; Sep. 2001. Disponível em: <http://www.prn.org/index.php/provider_resources/prn_artwork.htm>. Acesso em: 29 abr. 2012.

HERRERO, R.; CASTELLSAGUÉ, X.; PAWLITA, M.; LISSOWSKA, J.; KEE, F.; BALAR, A. M. P. et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. **J Natl Cancer Inst.**, v.95, n.23, p.1772-83. Dec. 2003.

HOBBS, C. G.; STERNE, J. A.; BAILEY, M.; HEYDERMAN, R. S.; BIRCHALL, M. A.; THOMAS, S. J. Human papillomavirus and head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. **Clin Otolaryngol.**, v. 31, p. 259-66, 2006.

HOWLEY, P. M.; LOWY, D. R. Pappilomaviruses and their replication. In: FIELDS B. N.; KNIPE, J. B.; HOWLEY, P. M. (Ed.). **Virology**. Philadelphia, PA: Lippincott: Williams & Wilkins. 2001. p. 2197-2229. v. 2.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **GLOBOCAN**, 2008. <<http://www-dep.iarc.fr/GLOBOCAN/references.htm>> Acesso: 10 mar. 2010.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Human papillomaviruses. **Monogr Eval Carcinog Risks Hum.**, v. 90, p. 16-36, 2007.

JACKSON, G.B. Methods for integrative reviews. **Rev Educ Res.**, v. 50, n. 3, p. 438-60, 1980.

JACOB, S. E. S.; SREEVIDYA, S.; PHIL, M.; CHACKO, E.; MRCPATH, M. R. P. Cellular manifestations of human papillomavirus infection in laryngeal tissues. **J Surg Oncol**, v.79, n.3, p.142-50. Mar. 2002.

KARIM-KOS, H. E.; DE VRIES, E.; SOERJOMATARAMA, I.; LEMMENZA, V.; SIESLING, S. ; COEBERGH, J. W. Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. **Eur J cancer**., v. 44, p. 1345–89, 2008.

KELLEY, M. L.; KEIGER, K. E.; LEE, C. J.; HUIBREGTSE, J. M. The global transcriptional effects of the human papillomavirus E6 protein in cervical carcinoma cell lines are mediated by the E6AP ubiquitin ligase. **J. Virol.**, v. 79, n. 6, p. 3737-47, 2005.

KOCJAN, B.J.; MAVER, P.J.; HOŠNJAK, L.; ZIDAR, N.; ODAR, K.; GALE, N.; POLJAK, M. Comparative evaluation of the Abbott RealTime High Risk HPV test and INNO-LiPA HPV Genotyping Extra test for detecting and identifying human papillomaviruses in archival tissue specimens of head and neck cancers. **Acta Dermatovenerologica**., v. 21, p. 73-75, 2012.

KOSHIOL, J. E; LAURENT, S. A; PIMENTA, J. M. Rate and predictors of new genital warts claims and genital warts-related healthcare utilization among privately insured patients in the United States. **Sex Transm Dis.**, v. 31, p. 748, p. 52. 2004;

KREIMER, A.; CLIFFORD, G.; BOYLE P et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention.**, v. 14, n. 2, p. 467-475, 2005.

L'ABBE, K. A.; DETSKY, A. S.; O'ROURKE, K. Meta-analysis in clinical research. **Ann Intern Med.**, v. 107, n. 2, p. 224-33, 1987

LAJER, C. B.; VON BUCHWALD, C. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. **APMIS**, v. 118, n. 6-7, p. 510–519, 2010;

LEE, S. Y.; CHO, N. H.; CHOI, E. C.; KIM, W. S.; KIM, S. H. Is human papillomavirus a causative factor of glottic cancer? **Journal of Voice**, v. 25, n. 6, p. 770-774, 2010.

LI, N.; BI, X.; ZHANG, Y.; ZHAO, P.; ZHENG, T.; DAI, M. Human papillomavirus infection and sporadic breast carcinoma risk: a meta-analysis. **Breast Cancer Res Treat.**, v. 126, n. 2, p. 515-20, 2011.

LI, X.; GAO, L.; LI, H.; GAO, J.; YANG, Y.; ZHOU, F.; GAO, C.; LI, M.; JIN, Q. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. **The J of Infec Dis.** v. 207: p. 479-488. 2013.

LIGHT, R. J.; SMITH, P. V. Accumulating evidence: procedures for resolving contradictions among different research studies. **Harv Educ Rev.**, v. 41, n. 4, p. 429-71, 1971.

LIMA, R. A.; SOARES, J. R. N.; BARBOSA, M. M. Tumores malignos da laringe. In: BARBOSA, M. M.; DE SÁ, G. M.; LIMA, R. A. (Ed.). **Diagnóstico e tratamento dos tumores de cabeça e pescoço**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2001. p.107-18.

- LIU, B.; LU, Z.; WANG, P. et al. Prevalence of high-risk human papillomavirus types (HPV-16, HPV-18) and their physical status in primary laryngeal squamous cell carcinoma. **Neoplasma**, v. 57, n. 6, 2010.
- LLEWELLYN, C. D.; JOHNSON, N. W.; WARNAKULASURIYA, K. A. Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people – a comprehensive literature review. **Oral Oncol.**, v. 37, p. 401-18, 2001.
- LONGWORTH, M. S.; LAIMINS, L. A. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. **Microbiol Mol Biol Rev.**, v. 68, n. 2, p. 362-72, 2004.
- MANJARREZ, M. E.; OCADIZ, R.; VALLE, L.; PACHECO, C.; MARROQUIN, A.; DE LA TORRE, C. et al. Detection of human papillomavirus and relevant tumor suppressors and oncoproteins in laryngeal tumors. **Clin Cancer Res.**, v. 12:, p. 6946-51, 2006.
- MANTEL, N.; HAENSZEL, W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. **J of the Nat Cancer Inst.**, v. 22, p. 719-748, 1959.
- MARUR, S.; D' SOUZA, G.; WESTRA, W. H.; FORASTIERE, A. A. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. **Lancet Oncology**, v. 11, p. 781-9, 2010.
- MARUR, S.; FORASTIERE, A. A. Head and neck cancer: changing epidemiology, diagnosis, and treatment. **Mayo Clin Proc.**, v. 83, n. 4, p. 489-50, Apr. 2008.
- MEHANNA, H.; PALERI, V.; WEST, C. M. L.; NUTTING, C. Head and neck cancer – Part 1: epidemiology, presentation, and prevention. **BMJ**, v. 341, p. 663-6, 2010.
- MORSHED, K.; KOROBIOWICZ, E.; SZYMANSKI, M. et al. Immunohistochemical demonstration of multiple HPV types in laryngeal squamous cell carcinoma. **Journal: European Archives of Oto-Rhino-Laryngology.**, v. 262, n. 11, p. 917-920, 2005.
- MULROW, C. D. Rationale for systematic reviews. **Br Med J.**, v. 309, n. 6954, p. 597-99, 1994.
- MULROW, C. D. The medical review article: state of the science. **Ann Intern Med.**, v. 106, n. 3, p. 485-8, 1987.
- MUNOZ, N.; BOSCH, F. X.; SANJOSÉ, S.; HENERO, R.; CATELLSAGUÉ, X.; SHAH, K. V. et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **N Engl J Med.**, v. 348, p. 518-27, 2003.
- NGUYEN, N.P.; HONGLY, B.; BETZ, M.; VINH-HUNG, V. Importance of age as a prognostic factor for tonsillar carcinoma. **Ann Surg Oncol.**, v. 17, p. 2570-7, 2010.
- OCEBM - Levels of Evidence Working Group*. "**The Oxford 2011 Níveis of Evidence**". Oxford Centre for Evidence-Based Medicine. Disponível em: <http://www.cebm.net/index.aspx?o=5653>. Acesso em: 4 de fev. 2013.
- OLIVEIRA, D. E.; BACCHI, M. M.; MACARENCO, R. S.; TAGLIARINI, J. V.; CORDEIRO, R.C.; BACCHI, C. E. Human papillomavirus and Epstein-Barr virus

infection, p53 expression, and cellular proliferation in laryngeal carcinoma. **Am J Clin Pathol.**, v. 126, p. 284-93, 2006.

OTERO, U. B.; ANTONIAZZI, B. N. et al. Screening methodology application to evaluate cancer mortality in selected cities in the State of Minas Gerais, Brazil. **Cad Saude Publica.**, v.23, Suppl 4, p.S537-48. 2007.

OXMAN A.D.; GUYATT G.H. Guidelines for reading literature reviews. **CMAJ.** 1988;138(8):697-703.

OXMAN, A. D.; GUYATT, G. H. The science of reviewing research. **Ann N Y Acad Sci.**, v. 703, p. 125-33, 1993.

PARKIN, D. M.; WHELAN, S. L.; FERLAY, J.; STORM, H. **Cancer incidence in five continents.** International Agency for Research on Cancer, 2005.

PATEL, S. C.; CARPENTER, W. R.; TYREE, S.; EVERETT COUCH, M.; WEISSLER, M. Increasing incidence of oral tongue squamous cell carcinoma in young white women, age 18–44 years. **J Clin Oncol.**, v. 29, p. 1488-94, 2011;.

PINTO, A. P.; TÚLIO, S.; CRUZ, O. R. Co-fatores do HPV na oncogênese cervical. **Rev Assoc Med Brás.**, v. 48, n. 1, p. 73-8, 2002.

PSYRRI, A.; GOVERIS, P.; VERMORKEN, J. B. Human papillomavirus-related head and neck tumors: clinical and research implication. **Curr Opin Oncol.**, v. 21:, p. 201-5, 2009.

RAGIN, C. C. R.; TAIOLI, E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis. **Int J Cancer**, v. 121, p. 1813-1820, 2007.

RAGIN, C. C.; MODUGNO, F. et al. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus. **J Dent Res**, v.86, n.2, Feb, p.104-14. 2007.

RAMQVIST, T.; DALIANIS, T. An epidemic of oropharyngeal squamous cell carcinoma (OSCC) due to human papillomavirus (HPV) Infection and aspects of treatment and prevention. **Anticancer Res.**, v. 31, p. 1515-9, May. 2011;

RAMQVIST, T.; DALIANIS, T. Oropharyngeal cancer epidemic and human papillomavirus. **Emerg Infect Dis.**, v. 16, n. 11, p. 1671-7. Nov. 2010.

RIBEIRO, K. B.; LEVI, J. E.; PAWLITA, M. et al. Low human papillomavirus prevalence in head and neck cancer: results from two large case–control studies in high-incidence regions. **Int J Epidemiol.**, v. 40, p. 489–502, 2011.

ROSENBLATT, C.; WROCLAWSKI, E. R.; LUCON, A. M.; PEREYRA, E. A. G. **HPV na Prática Clínica.** Ed Atheneu, 2005. p. 7-23

ROSENTHAL, R. Combining results of independent studies. **Psychol Bull.**, v. 85, n. 1, p. 185-93, 1978;.

SACKS, H.S.; BERRIER, J.; REITMAN, D. et al. Meta-analyses of randomized controlled trials. **N Engl J Med.**, v. 316, n. 8, p. 450-5, 1987.

SAJAN, J. A.; KERSCHNER, J. E.; MERATI, A. L.; OSIPOV, V.; SZABO, S.; BLUMIN, J. H. Prevalence of dysplasia in juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.**, v. 136, n. 1, p. 7-11, Jan. 2010.

SARTOR, S. G.; ELUF-Neto, J.; TRAVIER, N.; WÜNSCH Filho, V.; ARCURI, A. S. A.; KOWALSKI, L. P.; BOFFETTA, P. Riscos ocupacionais para o câncer de laringe: um estudo caso-controle. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 6, jun. 2007.

SCHEURLIN, W.; STREMLAU, A. et al. Rearranged HPV 16 molecules in an anal and in a laryngeal carcinoma. **Int J Cancer**, v.38, n.5, Nov 15, p.671-6. 1986.

SCHMITT, M.; BRAVO, I.; SNIJDERS, P. et al. Bead-based multiplex genotyping of human papillomaviruses. **J Clin Microbiol.**, v. 44, p. 504–512, 2006.

SERENA-GÓMEZ, E.; BOLOGNA-MOLINA, R. E.; NEVAREZ-RASCON, A.; ROCHA B. A. Prevalencia del VPH en El proceso de malignización de lesiones de vías aérodigestivas superiores. **Int. J. Odontostomat.**, v. 5, n. 1, p. 5-12, 2011.

SILVA, A. M. T. C.; AMARAL, M. V. T.; CRUZ, A. D. HPV e câncer: o papel do Papiloma Vírus Humano na Carcinogênese. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 29, p. 48-54, 2003.

SMEETS, S.J.; HESSELINK, A.T.; SPEEL, E.J. et al. A novel algorithm for reliable detection of human papillomavirus in paraffin embedded head and neck cancer specimen. **Int J Cancer**. 2007;121:2465-2472.

SOUSA, A. F. M. **Detecção e genotipagem de papilomavírus Humano em tumores de pênis**. Dissertação (Mestrado em Genética) - Departamento de Biologia, Universidade Católica de Goiânia, Góias, 2008.

SOUTO, R.; FALHARI, J. P. B.; DA CRUZ, A. D. O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. **Rev Br de Cancerologia**, v. 51, n. 2, p. 155-160, 2005.

STEPHEN, J. K.; CHEN, K. M.; SHAH, V.; SCHWEITZER, V. G.; GARDNER, G.; BENNINGER, M. S.; WORSHAM, M. J. Consistent DNA hypermethylation patterns in laryngeal papillomas **Int J Head Neck Surg**. **Int J Head Neck Surg.**, v. 1, n. 2, p. 69-77, May. 2010.

SYRJANEN, K. J.; SYRJANEN, S. M. Histological evidence for the presence of condylomatous epithelial lesions in association with laryngeal squamous cell carcinoma. **ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.**, v.43, n.4, p.181-94. 1981.

SYRJANEN, K. J.; SYRJANEN, S. M. Human papillomavirus DNA in bronchial squamous cell carcinomas. **Lancet**, v. 1, n.8525, p.168-9. Jan. 1987.

SYRJANEN, S. M. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. **J Clin Virol.**, 32 Suppl 1:S59-66, Mar. 2005.

SYRJANEN, S.; PURANEN, M. Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission. **Crit. Rev. Oral. Biol. Med.**, v.11, n.2, p. 259-74, 2000.

THACKER, S. B. Meta-analysis. A quantitative approach to research integration. **JAMA**, v. 259, n. 11, p. 1685-9, 1988.

TONER, M.; O'REGAN, O. M. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in the Young: A Spectrum or a Distinct Group? Part 2. **Head Neck Pathol.**, v. 3, n. 3, p. 249-251, 2009.

TUREK, L. P. The structure, function, and regulation of papillomaviral genes in infection and cervical cancer. **Adv. Virus Res.**, v. 44, p. 305-56, 1994.

UNIVERSIDA DE SÃO PAULO. Escola Paulista de medicina. **Diagnóstico Molecular do HPV**. 2009. Disponível em: <<http://www.centrodegenomas.com.br/materia.asp?IdMateria=175>>. Acesso em: 11 dez. 2011.

VANDENBROUCKE, J.P.; VON ELM, E.; ALTMAN, D.G.; GOTZSCHE, P.C.; MULROW C.D.; POCOCK, S.J.; POOLE, C.; SCHLESSELMAN, J.J.; EGGER, M.; STROBE Initiative. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. **PLoS Med.**, v. 4, n. 10, p. 297, 2007.

VENUTI, A.; MANNI, V. MORELLO, R.; DE MARCO, F.; MARZETTI, F.; MARCANTE, M. L. Physical state and expression of human papillomavirus in laryngeal carcinoma and surrounding normal mucosa. **J Med Virol.**, v.60, n.4, p. 396-402, Apr. 2000.

WEINBERG, R. A. **A biologia do câncer**. Porto Alegre: Artmed, 2008.

WEINBERG, R. A. The retinoblastoma protein and cell cycle control. **Cell**, v. 81, n. 3, p. 323-330, 1995.

WIEST, T.; SCHWARZ, E.; ENDERS, C. et al. Involvement of intact HPV16 E6/7 gene expression in head and neck cancers with unaltered p53 status and perturbed pRb cell cycle control. **Oncogene**, v. 21, p. 1510-1517, 2002.

WUNSCH, V. The epidemiology of laryngeal cancer in Brazil. **Sao Paulo Med J.**, v. 122, n. 5, p. 188-94, 2004,.

XAVIER, S. D.; BUSSOLOTI FILHO, I. et al. Prevalence of histological findings of human papillomavirus (HPV) in oral and oropharyngeal squamous cell carcinomabiopsies: preliminary study. **Braz J Otorhinolaryngol.**, v.71, n.4, p.510-4, Jul-Aug. 2005.

YUSUF, S.; SIMON, R.; ELLENBERG, S. Proceedings of 'Methodologic issues in overviews of randomized clinical trials'. The National Heart, Lung and Blood Institute and the National Cancer Institute; 1986 May 15-16; Bethesda, Maryland. **Stat Med.**, v. 6, n. 3, p. 217-409, 1987.

ZHAO, S.; YE, Q.; LU, S. Detection of human papillomavirus in laryngeal carcinoma with digoxigenin labelled probe prepared by polymerase chain reaction. **Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi.**, v. 13, n. 1, p. 13-6, Mar. 1999.

ZHENG, Z. M.; BAKER, C. C. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. **Front Biosci.**, v. 1, n. 11, p. 2286-302, Sep. 2006.

ZHENG, Y.; XIA, P.; ZHENG, C.- H.; TAKAHASHI, H.; MASUDA, S.; TAKANO, Y. The Screening of Viral Risk Factors in Tongue and Pharyngolaryngeal Squamous Carcinoma. **Anticancer Research** 30: 1233-1238. 2010.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. **Nat Rev Cancer.**, v. 2, n. 5, p. 342-50, 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE A – ESTRATÉGIAS DE BUSCA

a) Estratégia de busca PUBMED

Fase 1 – Fator prognóstico

(Human papillomavirus 6) OR (Papillomaviridae) OR (Papillomavirus) OR (ALPHAPAPILLOMAVIRUS) OR BETAPAPILLOMAVIRUS OR (GAMMAPAPILLOMAVIRUS) OR (MUPAPILLOMAVIRUS) (papillomavirus 6, Human) OR (HPV-6) OR (HPV 6) OR (Human papillomavirus type 6) OR (papillomavirus 18, Human) OR (HPV-18) OR (HPV 18) OR (Human papillomavirus type 18) OR (Human papillomavirus 18) OR (papillomavirus 11, Human) OR (HPV-11) OR (HPV 11) OR (Human papillomavirus type 11) OR (Human papillomavirus 11) OR (HPV-16) OR (HPV 16) OR (Human papillomavirus 16) OR (papillomavirus 31, Human) OR (Human papillomavirus 45) OR (Human papillomavirus 33).

Fase 2 – Manifestação de interesse (cancer de laringe)

(Laryngeal Neoplasms) OR (Neoplasms, Laryngeal) OR (Laryngeal Neoplasm) OR (Neoplasm, Laryngeal) OR (Larynx Neoplasms) OR (Larynx Neoplasm) OR (Neoplasm, Larynx) OR (Neoplasms, Larynx) OR (Cancer of Larynx) OR (Larynx Cancers) OR (Laryngeal Cancer) OR (Cancer, Laryngeal) OR (Cancers, Laryngeal) OR (Laryngeal Cancers) OR (Larynx Cancer) OR (Cancer, Larynx) OR (Cancers, Larynx) OR (Cancer of the Larynx).

Fase 3 – Tipo de estudo (coorte e caso-control)

(Cohort Study) OR (Studies, Cohort) OR (Study, Cohort) OR (Concurrent Studies) OR (Studies, Concurrent) OR (Concurrent Study) OR (Study, Concurrent) OR (Historical Cohort Studies) OR (Studies, Historical Cohort) OR (Cohort Studies, Historical) OR (Cohort Study, Historical) OR (Historical Cohort Study) OR (Study, Historical Cohort) OR (Analysis, Cohort) OR (Analyses, Cohort) OR (Cohort Analyses) OR (Cohort Analysis) OR (Closed Cohort Studies) OR (Cohort Studies, Closed) OR (Closed Cohort Study) OR (Cohort Study, Closed) OR (Study, Closed Cohort) OR (Studies, Closed Cohort) OR (Incidence Studies) OR (Incidence Study) OR (Studies, Incidence) OR (Study, Incidence) OR (**Case-Control** Study) OR (**Studies, Case-Control**) OR (Study, **Case-Control**) OR (Case-Comparison Studies) OR (Case Comparison Studies) OR (Case-Comparison Study) OR (Studies, Case-Comparison) OR (Study, Case-Comparison) OR (Case-Compeer Studies) OR (Case Compeer Studies) OR (Case-Compeer Study) OR (Studies, Case-Compeer) OR (Study, Case-Compeer) OR (Case-Referrent Studies) OR (Case Referrent Studies) OR (Case-Referrent Study) OR (Studies, Case-Referrent) OR (Study, Case-Referrent) OR (Case-Referent Studies) OR (Case Referent Studies) OR (Case-Referent Study) OR (Studies, Case-Referent) OR (Study, Case-Referent) OR (Case-Base Studies) OR (Case Base Studies) OR (Case-Base Study) OR (Studies, Case-Base) OR (Study, Case-Base) OR (**Case Control** Studies) OR (**Case Control** Study) OR (Studies, **Case Control**) OR (Study, **Case Control**) OR (Matched **Case-Control** Studies) OR (**Case-Control** Studies, Matched) OR (**Case-Control** Study, Matched) OR

(Matched **Case Control** Studies) OR (Matched **Case-Control** Study) OR (Studies, Matched **Case-Control**) OR (Study, Matched **Case-Control**) OR (Nested **Case-Control** Studies) OR (**Case-Control** Studies, Nested) OR (**Case-Control** Study, Nested) OR (Nested **Case Control** Studies) OR (Nested **Case-Control** Study) OR (Studies, Nested **Case-Control**) OR (Study, Nested **Case-Control**).

b) Estratégia de busca demais bases (BIREME e THE COCHRANE LIBRARY)

Fase 1 – Fator Prognóstico

(Human papillomavirus 6) OR (Papillomaviridae) OR (Papillomavirus) OR (ALPHAPAPILLOMAVIRUS) OR BETAPAPILLOMAVIRUS OR (GAMMAPAPILLOMAVIRUS) OR MUPAPILLOMAVIRUS (HPV-6) OR (HPV 6) OR (Human papillomavirus type 6) OR (HPV-18) OR (HPV 18) OR (Human papillomavirus type 18) OR (Human papillomavirus 18) OR (HPV-11) OR (HPV 11) OR (Human papillomavirus type 11) OR (Human papillomavirus 11) OR (HPV-16) OR (HPV 16) OR (Human papillomavirus 16) OR (Human papillomavirus 45) OR (Human papillomavirus 33).

Fase 2 – Manifestação de interesse (cancer de laringe)

(Laryngeal Neoplasms) OR (Laryngeal Neoplasm) OR (Larynx Neoplasms) OR (Larynx Neoplasm) OR (Cancer of Larynx) OR (Larynx Cancers) OR (Laryngeal Cancer) OR (Laryngeal Cancers) OR (Larynx Cancer) OR (Cancer of the Larynx).

Fase 3 – Tipo de estudo (coorte e caso-controle)

(Cohort Study) OR (Concurrent Studies) OR (Concurrent Study) OR (Historical Cohort Studies) OR (Historical Cohort Study) OR (Cohort Analyses) OR (Cohort Analysis) OR (Closed Cohort Studies) OR (Closed Cohort Study) OR (Incidence Studies) OR (Incidence Study) OR (Case-Control Study) OR (Case-Comparison Studies) OR (Case Comparison Studies) OR (Case-Comparison Study) OR (Case-Compeer Studies) OR (Case Compeer Studies) OR (Case-Compeer Study) OR (Case-Referrent Studies) OR (Case Referrent Studies) OR (Case-Referrent Study) OR (Case-Referent Studies) OR (Case Referent Studies) OR (Case-Referent Study) OR (Case-Base Studies) OR (Case Base Studies) OR (Case-Base Study) OR (Case Control Studies) OR (Case Control Study) OR (Studies, Case Control) OR (Matched Case-Control Studies) OR (Matched Case Control Studies) OR (Matched Case-Control Study) OR (Nested Case-Control Studies) OR (Nested Case Control Studies) OR (Nested Case-Control Study)

APÊNDICE B – E-MAIL PARA AUTOR DE ESTUDO – WALTER LEE

De: "Walter Lee, M.D." <walter.lee@duke.edu>
Data: 23 de janeiro de 2013 14:32:33 BRT
Para: Regis Bruni Andriolo <regis.andriolo@gmail.com>
Assunto: RE: Doubts about article on HPV

Regis

I am unable to access the data due to the materials being at the Cleveland Clinic – I have been at Duke for 5 years now

I will try to answer based on my recollection

- 1) We don't have genotyping only high risk (16 and 18) and low risk 6,11 due to the probe we used
- 2) Yes blinded
- 3) no withdrawled samples

Walter T. Lee MD FACS

Associate Professor and VAMC Staff Surgeon
Division of Otolaryngology-Head and Neck Surgery
Assistant Professor, Department of Radiation Oncology
Room 3532 - Blue Zone
Duke University Medical Center
Durham NC 27710
Phone: 919-681-8449
Fax: 919-684-9108

- The information in this electronic mail is sensitive, protected information intended only for the addressee(s). Any other person, including anyone who believes he/she might have received it due to an addressing error, is requested to notify the sender immediately by return electronic mail, and to delete it without further reading or retention. The information is not to be forwarded to or shared unless in compliance with Duke Medicine policies on confidentiality and/or with the approval of the sender.

APÊNDICE C - E-MAIL PARA AUTOR DE ESTUDO - ZHENG

Dear Zheng,

We have been mapping the evidences on the HPV as a risk factor for laryngeal cancer. After a systematic search, we could find one of your precious articles cited: *Zheng Y, Xia P, Zheng HC, Takahashi H, Masuda S, Takano Y. The screening of viral risk factors in tongue and pharyngolaryngeal squamous carcinoma. Anticancer Res. 2010 Apr;30(4):1233-8.*

Could you please (if possible, of course) provide us with a couple of additional details about your findings below?

1. Is there any information about some other risk factors for laryngeal cancer as for example (and principally) smoking and ethylism? (If so, What were the exact number of exposed patients in each one of the comparison groups)?
2. Were the data collector blinded to both exposition (HPV) and the outcome (Laryngeal cancer)?
3. Was there any withdrawal from your sample (if so, what were the reasons and the exact number by comparison group)?
4. Could you please provide us with the number of samples (by comparison group) positive for HPV (or even the mean and standard deviation of HPV concentrations)?

The main researcher of this review is João Guilherme, a post-graduate student from the Federal University of Pará (Brazil), for whom I am coping this e-mail.

Since now, we thank you for your collaboration.

Best wishes

Regis

APÊNDICE D - E-MAIL PARA AUTOR DE ESTUDO - RIBEIRO

Cara Karina,

Estamos rastreando todas as evidências sobre HPV como fator de risco para câncer de laringe e pudemos encontrar um de seus estudos. Dos quase 500 estudos encontrados em diferentes bases de dados da literatura médica mundial, pudemos observar que o seu estudo foi qualificado como o de maior rigor metodológico. Contudo, especificamente para a pergunta que motivou nosso rastreamento (HPV, especificamente para o câncer de laringe), não conseguimos encontrar dados separados para pacientes com esta condição. O estudo é *Ribeiro KB, Levi JE, Pawlita M, Koifman S, Matos E, Eluf-Neto J, et al. Low human papillomavirus prevalence in head and neck cancer: results from two large case-control studies in high-incidence regions. Int J Epidemiol.40(2):489-502.*

Gostaríamos muito de incluir dados separados sobre o câncer de laringe em nossa metanálise, já que o seu estudo, até o momento, é o de melhor qualidade metodológica. Ele será muito importante para estimarmos, com mais precisão, o quanto o HPV adicionaria de risco para o câncer de laringe.

Do exposto, você poderia nos fornecer dados separados somente para o câncer de laringe, do mesmo modo que foi apresentado na tabela 2 de seu artigo?

O principal autor de deste trabalho é o aluno de pós-graduação, João Guilherme, da Universidade Federal do Pará, para quem copio este e-mail. Ao ler o seu estudo, ele demonstrou interesse em replicar sua pesquisa aqui no estado, com sua colaboração e co-autoria se desejares. Isto será muitíssimo importante, pois a circulação do HPV parece alarmante.

Att

Regis Bruni Andriolo
Universidade do Estado do Pará

APÊNDICE E – FICHAS DE EXTRAÇÃO DE DADOS DOS ESTUDOS

Ficha de Risco de Viés

Almadori et al., 1996

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Métodos clínicos, histopatológico e estadiamento segundo o TNM
Pareamento	Baixo Risco	Área não-tumoral
Descrição detalhada de casos e controles	Baixo Risco	<p>Casos Média: 64 anos (amplitude 41-83) Gênero: 42 homens e 3 mulheres Fumantes: 40 Vinho: 38 Sítio: 4 glóticos, 14 supraglótico e transglóticos: 27 T: T1: 8; T2: 20 T3: 9; T4: 8 N: N0: 24; N1: 18; N2: 3 Grau: G1: 3; G2: 29; G3: 13</p> <p>Controle: 29 espécimens de área não tumoral</p>
Exposição	Baixo Risco	PCR
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	não
Perda de dados	Risco Incerto	Não informado

Applebaum et al. 2007

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Apesar de ter sido referido diagnóstico patológico dos Serviços de Patologia de cada centro, com não mais de 6 meses de diagnóstico, os autores não mencionaram os critérios para a definição de câncer de laringe. Os pacientes que apresentaram doença recorrente foram excluídos
Pareamento	Baixo Risco	Os controles foram pareados, de acordo com a idade, gênero e local de residência.
Descrição detalhada de casos e controles	Baixo Risco	<p>Casos: Idade média: 59,5 Gênero: M: 360 (74,2%); F: 125 (25,8%) Raça: Brancos 444 (91,5%), outras 41 (8,5%) Tabagismo: 395 (81,5%) Álcool: 485 (100%); mais de 25 copos ao final e semana: 145 (29,9%)</p> <p>Controle: Idade média: 61,0 (11,4) Gênero: M: 402 (73,2%); F: 147 (26,8%) Raça: Brancos 501 (91,3%), outras 48 (8,7) Tabagismo: 367 (66,9%) Álcool: 549 (100%), mais de 25 copos ao final e semana: 78 (14,2%)</p>
Exposição	Baixo Risco	PCR
Cegamento de avaliadores	Baixo Risco	Os avaliadores estiveram cegos quanto ao status sorológico para HPV16, história sexual e outros fatores de risco.
Perda de dados	Alto Risco	Perdas substanciais de 36% e de 32% entre controles, incluindo

		não adesão ao estudo, após consentimento em participar do mesmo e inviabilidade de amostras sanguíneas.
--	--	---

Asvadi et al. 2012

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Apesar de ter sido referido diagnóstico histológico, os autores não mencionaram os critérios para a definição de câncer de laringe
Pareamento	Baixo Risco	Idade e gênero
Descrição detalhada de casos e controles	Risco Incerto	<p>Casos Média: 39,71 anos (amplitude 27-50) Gênero: não especificado para o câncer da Laringe Fumantes: não especificado para o câncer da Laringe Alcool: não especificado para o câncer da Laringe</p> <p>Sítio: 5 Cavidade Oral, 3 Hipofaringe, 2 Orofaringe e 4 Laringe T: T1: 0; T2: 2; T3: 3; T4: 9; não especificado para o câncer da Laringe</p> <p>Controles Média: 32,91 anos (amplitude 18-50) Gênero: 43 Homens e 49 Mulheres Fumantes: 14 Alcool: 10</p>
Exposição	Baixo Risco	ok
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	não
Perda de dados	Risco Incerto	não mencionado

Brandsma; Abramson, 1989

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Consenso entre um médico patologista e um clínico.
Pareamento	Baixo Risco	Houve pareamento entre casos e controles, em relação a região anatômica do tumor
Descrição detalhada de casos e controles	Alto Risco	Não
Exposição	Baixo Risco	Southern Blot
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	não
Perda de dados	Risco Incerto	Não mencionado

Bryan et al., 1998

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Alto Risco	Não
Pareamento	Alto Risco	Não
Descrição detalhada de casos e controles	Alto Risco	Não
Exposição	Risco Incerto	PCR
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	NÃO
Perda de dados	Risco Incerto	Não mencionado

Clayman et al., 1994

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Apesar de ter sido realizada análise histopatológica por biópsia ou direto da peça cirúrgica, os autores não mencionaram os critérios para a definição de câncer de laringe.
Pareamento	Baixo Risco	De acordo com idade, gênero, estadiamento TNM
Descrição detalhada de casos e controles	Alto Risco	Não
Exposição	Baixo Risco	PCR
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	Não
Perda de dados	Risco Incerto	Não mencionado

Duray et al., 2011

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Apesar de ter sido referido o método histopatológico, os autores não mencionaram os critérios para a definição de câncer de laringe.
Pareamento	Alto Risco	Não
Descrição detalhada de casos e controles	Risco Incerto	<p>Descrição insuficiente, quanto à presença de outros fatores de risco, especialmente tabagismo e etilismo</p> <p>Casos Média: 57 anos (amplitude 36-88) Low-stage e 57 (amplitude 43-78) High-stage Gênero: 65 homens e 2 mulheres Sítio: 35 glóticos, 15 supraglótico e supraglótico e glótico 14 e Subglótico 3 T: T1: 34; T2: 12; T4: 21 N: N0: 56; N1: 15; N2: 6 Grau: G1: 50; G2: 16; G3: 1</p> <p>Controles Média: 55 anos (amplitude 7-83) Gênero: 23 Homens e 16 Mulheres Diagnóstico: Nodulo de corda Vocal 20; Laringite Crônica 13 e Papiloma 6</p>
Exposição	Baixo Risco	PCR
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	Não
Perda de dados	Baixo Risco	Perdas aceitáveis de 13% e 17%, respectivamente para casos e controles

García-Milián et al., 1998

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Alto Risco	Não
Pareamento	Alto Risco	Não
Descrição detalhada de casos e controles	Risco Incerto	<p>Descrição insuficiente, quanto à presença de outros fatores de risco, especialmente tabagismo e etilismo</p> <p>Casos Média: 63 anos (amplitude 35-80)</p>

		Gênero: Não especificado Controles Média: Papiloma - Jovens 8 anos (amplitude 5-16); adultos 37 anos (amplitude 20-70) e amostras de tecido laríngeo 39 anos (amplitude 22-86 anos) Gênero: Não especificado Diagnóstico: Nodulo de corda Vocal 20; Laringite Crônica 13 e Papiloma 6
Exposição	Baixo Risco	PCR
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	Não
Perda de dados	Risco Incerto	Não informado

Lee et al., 2010

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Risco Incerto	Apesar de ter sido realizado o método laringoscópico ou biopsia, os autores não mencionaram os critérios para a definição de câncer de laringe
Pareamento	Risco Incerto	não mencionado
Descrição detalhada de casos e controles	Risco Incerto	Descrição insuficiente, quanto à presença de outros fatores de risco, especialmente tabagismo e etilismo. Casos N=95 Média: 62 anos (amplitude 44-87) Gênero: 35 homens e 5 mulheres Sítio: 95 glóticos, T: T1: 26; T2: 21; T3: 13; T4: 35 N: N0: 78; N1: 6; N2: 10; N3:1 Controles
Exposição	Baixo Risco	PCR em tempo real
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	Não
Perda de dados	Risco Incerto	Não mencionado

Morshed et al., 2005

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Apesar de sido utilizado o método histopatológico, os autores não mencionaram os critérios para a definição de câncer de laringe
Pareamento	Risco Incerto	Não
Descrição detalhada de casos e controles	Risco Incerto	Descrição insuficiente, quanto à presença de outros fatores de risco, especialmente tabagismo e etilismo Casos Média: 57,5 anos (amplitude 40-74) Gênero: 35 homens e 5 mulheres Sítio: 13 glóticos, 25 supraglótico e subglóticos: 2 T: T1: 2; T2: 5 T3: 15; T4: 18 N: N0: 19; N1: 15; N2: 3; N3:3; Grau: G1: 9; G2: 27; G3: 4 Controle: Idade média: 41,4 (amplitude 21-71) Gênero: M: 19 e F: 14

Exposição	Baixo Risco	PCR
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	Não
Perda de dados	Risco Incerto	Não informado

Smith et al. 2000

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Baixo Risco	Apesar de ter sido utilizado o método histopatológico, os autores não mencionaram os critérios para a definição de câncer de laringe
Pareamento	Baixo Risco	Idade e gênero
Descrição detalhada de casos e controles	Baixo Risco	Casos: Idade média: 59,5 Gênero: M: 29 (65,9%); F: 15 (34,1%) Raça: Brancos 43(97,3%), outras 1 (2,7%) Controle: Idade média: 49 Gênero: M: 5 (41,8%); F: 7 (58,2%) Raça: Brancos: 11 (91,8%), outras 1 (8,2) Tabagismo: 367 (66,9%) Álcool: 549 (100%), mais de 25 copos ao final e semana:: 78 (14,2%)
Exposição	Baixo Risco	PCR
Cegamento de avaliadores	Alto Risco	Não
Perda de dados	Baixo Risco	5% do total de participantes, casos e controles, recusaram-se ou tiveram dificuldade de preencher o questionário.

Venuti et al. 2000

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Risco Incerto	Biópsias de carcinoma da laringe foram coletados ao longo de 2 anos.
Pareamento	Risco Incerto	Não informado
Descrição detalhada de casos e controles	Risco Incerto	Descrição insuficiente, quanto à presença de outros fatores de risco, especialmente tabagismo e etilismo. Casos: 25 pacientes (24 homens e uma mulher, com idade mediana de 64 anos, variando de 38-74 anos). Estadiamento foi feito de acordo com critérios TNM: dois T1 N2 M0; seis T2 N0 M0; dois T2 N1 M0; três N0 M0 T3; três N1 T3 M0; três T4 N0 M0; três T4 N1 M0; e três T4 N2 M0. Grau de Diferenciação:

		sete tumores bem diferenciados; sete moderadamente diferenciado; nove pouco diferenciado/indiferenciado. Controles: As biópsias da mucosa normal vizinha a lesão de 23 pacientes.
Exposição	Risco Incerto	PCR
Cegamento de avaliadores	Risco Incerto	Não informado
Perda de dados	Risco Incerto	Não informado

Zhao; Ye; Lu, 1999

Viés	Julgamento dos autores	Suporte para julgamento
Definição de caso	Risco Incerto	fresh tissue samples from 146 cases with different laryngeal lesions
Pareamento	Risco Incerto	Dados Insuficientes
Descrição detalhada de casos e controles	Risco Incerto	Casos: 146 casos com diferentes lesões laríngeas. Os resultados revelaram como segue: A taxa de infecção pelo HPV positivo foi de 45,6% (31/68) para o carcinoma da laringe, 20,0% (3/15) para o linfonodo metastático cervical, 11,8% (2/17) para lesões precarcinomas e 6,3% (1/16) para pólipos nas cordas vocais. 15 casos de tecidos normais adjacentes ao carcinoma e outros 15 tecidos normais opostas para o carcinoma foram todos negativo para o DNA de HPV. HPV 16 e 18 são os principais tipos de carcinoma de laringe e HPV6 e11 aparecem frequentemente em lesões benignas da laringe.
Exposição	Risco Incerto	PCR
Cegamento de avaliadores	Risco Incerto	Dados Insuficientes
Perda de dados	Risco Incerto	Dados Insuficientes

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO C.E.P – UEPA

UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO PARÁ - UEPA / CENTRO DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: A IMPLICAÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO CÂNCER DE LARINGE:
REVISÃO SISTEMÁTICA

Pesquisador: JOÃO GUILHERME PEREIRA BARROS

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 01772812.8.0000.5174

Instituição Proponente: Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 139.271

Data da Relatoria: 26/10/2012

Apresentação do Projeto:

O projeto encontra-se bem estruturado, consta todos os elementos necessários

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a implicação do HPV no câncer de laringe

Objetivo Secundário:

Avaliar a frequência de HPV em amostras de câncer de laringe

Identificar os genótipos de HPV presentes em amostra de câncer de laringe

Verificar correlação entre o estadiamento do câncer e a presença de HPV

Verificar correlação entre o prognóstico do câncer e a presença de HPV.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos relatados são claros tendo inclusive comoinimizá-los

Os benefícios estão em maior grau que os riscos

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa bibliográfica realizada na biblioteca do NMT, onde se buscará artigos sobre o papilomavirus em cancer de laringe

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos estão presentes

Endereço: Trav. Perebebui, 2623

Bairro: Marco

CEP: 66.087-670

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3276-0829

Fax: (91)3276-8052

E-mail: cep_uepa@hotmail.com

UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO PARÁ - UEPA / CENTRO DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E



Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto pode ser iniciado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado reunido em 26 de outubro acatou o parecer do relator e aprovou o presente projeto

BELEM, 06 de Novembro de 2012

Assinador por:
Nara Macedo Botelho
(Coordenador)

Endereço: Trav. Perebeui, 2623

Bairro: Marco

CEP: 66.087-670

UF: PA

Município: BELEM

Telefone: (91)3276-0829

Fax: (91)3276-8052

E-mail: cep_uepa@hotmail.com