

Genotipagem de Papiloma Vírus Humano em paciente com papilomatose laríngea recorrente

Genotyping of Human Papillomavirus in patient with recurrent laryngeal papillomatose

Antonio Márcio Teodoro Cordeiro Silva,¹ Aparecido Divino da Cruz,^{1,2,3} Cláudio Carlos da Silva,¹ Fabiano Ribeiro Borges¹ e Maria Paula Curado²

Resumo

Os HPVs são vírus de DNA circular de fita dupla medindo cerca de 8000pb. Vários estudos têm demonstrado que o HPV é o agente causal de tumores benignos, como papilomas, verrugas comuns e condilomas. Com o avanço das técnicas de detecção molecular, o genoma do HPV tem sido frequentemente identificado em células neoplásicas malignas de origem epitelial, passando-se a associar o HPV a alguns tumores epiteliais, principalmente ao carcinoma cervical. Recentemente, diversas pesquisas se concentraram na tentativa de associar a infecção por HPVs aos cânceres de cabeça e pescoço. O presente relato de caso consiste na avaliação de uma paciente com história de papilomatose recorrente na laringe. Uma criança com sete anos de idade, do sexo feminino, foi atendida há dois anos com queixas de desconforto na garganta e disfonia. Os vários procedimentos clínicos indicaram presença de papilomas na laringe e o histopatológico acusou presença de coilocitose, achado sugestivo da infecção por HPV. Assim, a paciente foi submetida à retirada cirúrgica dos papilomas. Das peças cirúrgicas foi obtido DNA total, usado na investigação molecular, por PCR, para detecção do genoma de HPV. Desta forma, foi confirmada a presença do HPV do tipo 11, corroborando os achados de outros autores que argumentam que a ocorrência latente do HPV11 tem participação na evolução dessa patologia em crianças.

Palavras-chave: papiloma; neoplasias laríngeas; papillomavirus humano; reação em cadeia por polimerase; DNA; HPV.

¹Núcleo de Pesquisas Replicon, Departamento de Biologia, Universidade Católica de Goiás, Goiânia, GO.

²Registro de Câncer de Base Populacional, Associação de Combate ao Câncer em Goiás, Goiânia, GO.

³LaGene - Laboratório de Citogenética Humana e Genética Molecular, SuLeide/SES-GO, Goiânia, GO. *Enviar correspondência para M.P.C.*
E-mail:acruz@ucg.br

Abstract

HPV is a circular double-stand DNA virus with approximately 8000bp. Some studies have implicated HPV as the etiological agent of benign tumors such as papilomas, commons warts, and condilomas. With the advance of molecular techniques, detection of the HPV genome has been made fairly easy and has been frequently identified in malign neoplastic cells of epithelial origin, associating the HPV with some epithelials tumors, mainly with cervical carcinoma. Recently, several studies have been aiming to understand the role HPV infection in the initiation and promotion of head and neck cancers. The following article consists of a case report of a patient with history of respiratory recurrent papillomatosis. A 7-year old female patient was examined upon complaint of discomfort and pain in her throat, including disphonic episodes. Common clinical procedures indicated the presence of papilomas in her larynx. The histopathological analysis of the papilomas revealed coilocytosis, suggesting HPV infection. The patient underwent a polypectomy and the tissue was used to extract total DNA for the molecular investigation of the HPV genome by PCR. The results confirmed the presence of HPV11, corroborating findings reported elsewhere that implicated HPV11 as a participant in the evolution of benign recurrent respiratory papillomatosis in children.

Key words: papilloma; laryngeal neoplasms; human papillomavirus; polymerase chain reaction; DNA; HPV.

INTRODUÇÃO

PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV)

Os HPVs são vírus da família Papovaviridae, que formam partículas virais icosaédricas sem envelope, com cerca de 55nm de diâmetro. Apresentam um DNA circular de fita dupla, medindo de 7500 a 8000pb (Figura 1). Atualmente, são conhecidos mais de 100 tipos de HPVs. Espera-se que os estudos de tipagem de HPVs associados aos cânceres de cabeça e pescoço possam aumentar ainda mais este número.¹⁻⁵

O HPV é considerado o agente causal de tumores benignos como papilomas, verrugas comuns e condilomas. Com o avanço das técnicas de detecção molecular, o genoma do HPV tem sido identificado em células neoplásicas malignas. Assim, o HPV passou a ser associado a cânceres, principalmente com o carcinoma cervical. As evidências da associação destes vírus com neoplasias somadas a estudos epidemiológicos publicados recentemente permitiram estabelecer uma relação etiológica entre alguns tipos de HPVs e o carcinoma cervical.⁶⁻⁸

O HPV infecta células epiteliais mucosas e cutâneas do tecido epitelial pavimentoso estratificado e produz vírions na medida que estas células se diferenciam. Por isso o ciclo de vida do HPV é denominado ciclo viral dependente da diferenciação. A infecção inicial por HPV ocorre, provavelmente, em células epiteliais tronco ou basais ou em células que estão transitoriamente se dividindo, localizadas nas camadas mais baixas do epitélio estratificado. À medida que as células mais profundas do epitélio vão se dividindo elas migram da camada basal e se tornam gradativamente diferenciadas⁹ (Figura 2).

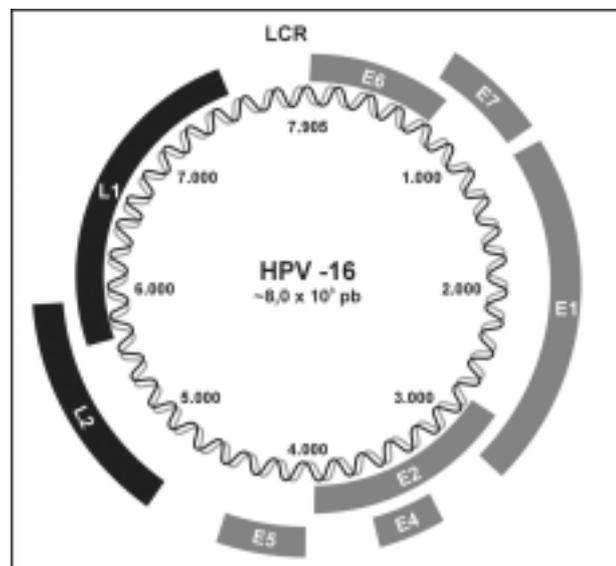


Figura 1: Mapa genético do papiloma vírus humano 16 (HPV16). Genoma circular de dupla-fita, mostrando organização e localização dos genes. LCR: Longa Região de Controle.

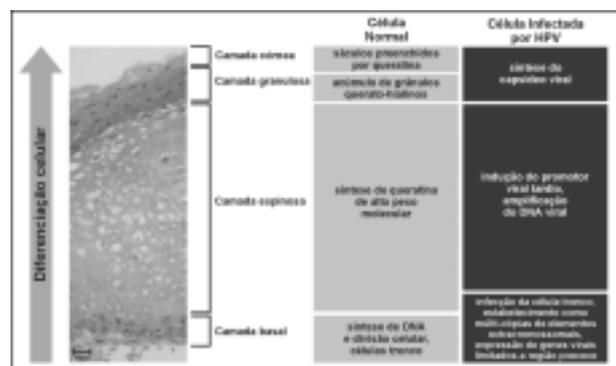


Figura 2: Fotomicrografia de tecido epitelial da laringe mostrando o ciclo viral dependente da diferenciação para células normais e infectadas por HPV.

Assim que o HPV infecta a célula, os genomas do vírus são mantidos como elementos extracromossômicos estáveis nos núcleos. Em seguida, as cópias do genoma viral são replicadas até o número de 50 a 100 cópias por célula. Quando as células infectadas se dividem acontece uma distribuição equivalente de genomas virais entre as células filhas. A divisão das células tronco tem duas finalidades: oferecer células para a diferenciação, que migrarão para a superfície do epitélio e manter as células indiferenciadas da camada basal. Assim, estas células funcionam como um reservatório do genoma viral.¹⁰

A estratégia da infecção pelo HPV envolve as células da camada basal, mas a produção de vírions é restrita à camada suprabasal, ou seja, a camada mais diferenciada. Essa diferenciação dependente é uma estratégia do vírus, pois promove a infecção através da produção de vírions nas células maduras e garante a manutenção persistente do HPV nas camadas basais por períodos de até vários anos.^{9,10}

CLASSIFICAÇÃO DOS HPVS

Existem duas classificações para os HPVs. A primeira está relacionada com o tropismo do vírus pelo tipo de epitélio; que são de duas classes distintas: (1) cutaneotrópicos, tipos virais capazes de infectar a epiderme; e (2) mucosotrópicos, tipos virais capazes de infectar mucosas em geral. A segunda divide os HPVs em duas categorias de risco para o desenvolvimento de neoplasias: (1) baixo risco e (2) alto risco oncogênico (Tabela 1).⁸ Os vírus considerados de baixo risco estão associados mais comumente a lesões benignas, como papilomas e verrugas simples, principalmente condilomas. Já os vírus considerados de alto risco estão associados a diferentes graus de lesões escamosas intra-epiteliais do colo do útero, vagina, vulva, pênis,^{11,12} dos carcinomas cervicais^{6,7} e de carcinomas de cabeça e pescoço, como por exemplo, os sítios anatômicos da cavidade oral, orofaringe, hipofaringe e laringe.¹³⁻¹⁹

Tabela 1. Classificação dos HPVs quanto ao risco oncogênico, incluindo a natureza das lesões virais mais frequentemente associadas.

Classificação	Tipo Viral	Lesão
Baixo risco	6, 11, 26, 42, 44, 54, 70 e 73	Benigna
Alto risco	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 55, 56, 58, 59, 66 e 68	Maligna

INTERAÇÃO MOLECULAR ENTRE O VÍRUS E A CÉLULA

O gene supressor de tumor *RB1* está localizado no cromossomo 13q14, cujo produto é a proteína celular pRb. A pRb está associada à inibição da progressão do ciclo celular, pois é capaz de seqüestrar o fator de transcrição E2F e impedi-lo de promover a transcrição

de genes necessários para a replicação do DNA na fase S. Assim, a pRb exerce uma regulação negativa do ciclo celular através da sua fosforilação específica ciclo-dependente. Uma vez fosforilada, a ligação entre pRb e E2F não acontece, resultando no estímulo da transcrição dos genes responsáveis pela replicação dos cromossomos durante a fase S do ciclo celular. A associação da proteína pRb com a proteína viral E7 causará uma perturbação no controle normal do ciclo celular, resultando em um estímulo excessivo para a proliferação das células infectadas.²⁰⁻²⁴

A proteína E7 de HPVs de alto risco está associada à inativação das proteínas da família pRb. A proteína viral E7 é reconhecidamente eficiente na formação de complexos com ciclinas A e E. No entanto, estudos recentes sugerem essa mesma eficiência quando E7 forma complexos estáveis com as proteínas pRb. Com a inativação da proteína pRb o fator de transcrição E2F não pode ser reprimido, em consequência, a célula perde o controle do ciclo celular.^{2,9,25}

O gene supressor de tumor p53 está localizado no cromossomo 17p13, cujo produto é a proteína p53. Uma vez ativada, a proteína p53 é capaz de reprimir o crescimento e sinalizar para a morte celular, rota metabólica denominada apoptose. A proteína p53 tem a habilidade em perceber diferentes tipos de estresses que podem acometer as células, com conseqüentes danos ao DNA. A ativação da proteína p53 após estresse celular é capaz de mobilizar uma defesa na qual a própria p53 age ativando outros genes capazes de codificar proteínas necessárias para esse processo de defesa, como por exemplo, os genes do mecanismo de reparo. Neste contexto, a proteína p53 é responsável por monitorar danos ocorridos nas biomoléculas de DNA. Desta forma o ciclo celular é impedido de prosseguir até que o dano no DNA seja restaurado.^{26,27}

A proteína E6 de HPVs de alto risco é capaz de se associar à proteína p53, que é responsável pela regulação da passagem da fase G1 para S e da fase G2 para M, no ciclo celular. A proteína viral E6 recruta a proteína celular E6AP, que funciona como uma ubiquitina-ligase para o complexo contendo p53. Este recrutamento resulta na ubiquitinação de p53 seguido de sua rápida degradação.⁷ Sem a proteína p53 a célula perde a capacidade de perceber e reparar possíveis danos no DNA, assim a divisão celular passa a ocorrer sem reparo. Conseqüentemente, aumenta-se a freqüência das mutações, dos rearranjos cromossômicos e das aneuploidias. O acúmulo de eventos mutacionais é a causa subjacente ao desenvolvimento de um fenótipo neoplásico e, assim, provavelmente, resultam no câncer.^{9,28-31}

PAPILOMATOSE LARÍNGEA

A infecção genital por HPV é de transmissão sexual, envolvendo tanto os HPVs de baixo risco quanto os de alto risco para o desenvolvimento de neoplasias. Os HPVs 6 e 11 são mais comumente encontrados em condilomas genitais, e os tipos 16, 18, 31 e 45 em carcinoma cervical. Estes últimos perfazem mais de 80% dos tipos detectados nos carcinomas cervicais. A manifestação clínica mais importante da infecção da laringe por HPV é o papiloma laríngeo, que é enquadrado na categoria das papilomatoses respiratórias recorrentes. Atualmente, esta enfermidade é dividida em dois grupos distintos: (1) papiloma laríngeo de início juvenil e (2) papiloma laríngeo de início na idade adulta.¹⁰

Os papilomas laríngeos de início juvenil são associadas aos HPVs transmitidos por via vertical de uma mãe com infecção anogenital ativa ou latente. Mais de 30% de mães com condilomas genitais deram à luz a crianças que desenvolveram papilomatose laríngea de início juvenil.³² Essa doença ocorre mais comumente em crianças do primeiro nascimento e por parto normal de mães jovens com condiloma genital. Os casos de crianças com papilomatose laríngea que nasceram por cesariana são raros. Estes HPVs estimulam a proliferação de papilomas nas vias aéreas, preferencialmente, na laringe. A progressão dos papilomas é lenta, gerando uma sintomatologia progressiva de dificuldade respiratória, disфония e tosse persistente.^{32,33}

A papilomatose laríngea juvenil acomete igualmente ambos os sexos e o fator mais preocupante é disseminação do vírus pela árvore traqueobronqueal, evoluindo para a papilomatose pulmonar, muitas vezes resultando em uma infecção incontrolável e fatal. Outro evento importante é a transformação maligna dos papilomas laríngeos que apesar de ser um evento raro, ocorre em cerca de 3 a 7% dos casos.¹⁰

O tratamento é baseado na remoção cirúrgica dos pólipos por laser de CO₂, que é o método de escolha, criado no início da década de 70. A cirurgia convencional está longe de ser a melhor categoria de tratamento, devido à etiologia viral da doença. O a-Interferon, às vezes, é administrado, especialmente para crianças, porque nestes casos em particular, a papilomatose laríngea é mais agressiva que nos casos adultos, com recidivas frequentes e possibilidade da migração do vírus para as partes baixas do trato respiratório. O objetivo do tratamento é manter as vias aéreas livres e a qualidade da voz.¹⁰

Os papilomas laríngeos de início na idade adulta acometem indivíduos com maior número de parceiros sexuais e maior frequência de contatos orogenitais. A hipótese de transmissão orogenital é baseada no fato de

que a papilomatose da laringe e os condilomas genitais apresentam os mesmos HPVs das infecções associadas, HPVs 6 e 11, sendo o tipo 6 o mais frequente. A área de transição de epitélios cubóide e cilíndrico na laringe e na cérvix uterina pode favorecer a ocorrência do HPV neste local e a semelhança entre essas regiões parece favorecer, preferencialmente, a infecção do epitélio da laringe sobre o epitélio bucal.^{10,33,34}

O presente estudo foi realizado objetivando a genotipagem molecular de HPV em um caso de papilomatose laríngea recorrente de uma paciente com sete anos de idade, com a finalidade de otimizar o tratamento e, conseqüentemente, auxiliar no prognóstico individual desse tipo particular de patologia.

RELATO DE CASO

Paciente do sexo feminino, com sete anos de idade, foi atendida há dois anos com queixas de desconforto na garganta e disфония. O corpo clínico constatou presença de hipertrofia amigdaliana bilateral com obstrução parcial do óstio da laringe, sem linfadenopatia. A paciente foi submetida a oroscopia, confirmando-se amigdalite de grau III e hipertrofia da amígdala e adenóide. A videolaringoscopia sugeriu papilomatose laríngea. Foi realizada uma microcirurgia para ressecção dos papilomas e um exame anatomopatológico do material da retirado da laringe. O histopatológico revelou presença de coilocitose, sendo esta alteração citopática sugestiva de infecção por HPV (Figura 3).

Cerca de 15 dias após a cirurgia, a paciente apresentou a primeira recidiva, com outras subseqüentes num período médio de dois meses, sendo então submetida à microcirurgia da laringe por três vezes e a laser de CO₂ na última recidiva. Neste ato operatório foi feita a ressecção completa dos papilomas. Destas peças cirúrgicas foi obtido DNA total usado na investigação molecular para detecção do genoma de HPV.

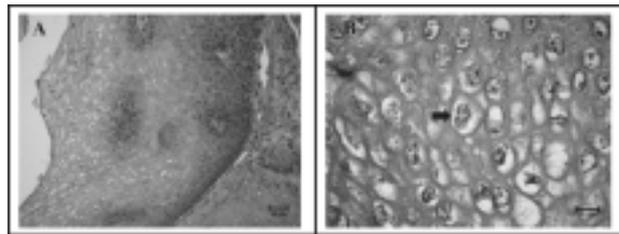


Figura 3: Histopatológico do tecido da laringe da paciente, corado por Hematoxilina-Eosina. (a) Em aumento de 400x. (b) A presença de coilocitose está indicada pela seta. O halo perinuclear é um efeito citopático sugestivo de infecção por HPV. Aumento de 1000x.

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra foi proveniente da biópsia obtida por secção cirúrgica de pólipos da laringe. A extração do DNA foi realizada por maceração do tecido em nitrogênio líquido, com posterior utilização do kit de purificação do DNA genômico *Wizard®* (Promega Corporation, EUA), seguindo-se as instruções do fabricante.

O DNA purificado foi submetido a duas PCRs. Na primeira PCR, foram usados dois conjuntos de *primers* genéricos MY09/11 e GP05/06 para a detecção de qualquer tipo de HPV. Posteriormente, na segunda PCR, foram utilizados os seguintes *primers* específicos para a genotipagem: HPV6, 11, 16 e 18 (Tabela 2). Como controle positivo para os *primers* de HPV, foi utilizado DNA de células HeLa, que contém inserido o genoma do HPV18. Como controle da presença de DNA, foi usado um conjunto de *primers* que amplificam a região D8S135 do cromossomo 8.

O protocolo de termociclagem utilizado para as PCRs está descrito na Tabela 2. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em campo elétrico constante de 8V/cm em gel de poliacrilamida a 6%, corado com brometo de etídio (5µg/mL) e as imagens foram capturadas em sistema de vídeo documentação (*ImageMasterVDS®*, Amersham Pharmacia Biotech, EUA).

Tabela 2. Seqüências consenso dos primers utilizados e o tamanho esperado do fragmento amplificado, segundo Karlsen et al (1996).

Tipos	S*	Seqüências 5' → 3'	Fragmento (pb)
HPV 6	F	CAC GTC TGC AAC GAC CAT AG	195
	R	CCA TGA AAT TCT AGG CAG CA	
HPV 11	F	CGC AGA GAT ATA TGC ATA TGC	90
	R	AGT TCT AAG CAA CAG GCA CAC	
HPV 16	F	TCA AAG CCA CTG TGT CCT GA	119
	R	CGT GTT CTT GAT GAT CTG CAA	
HPV 18	F	CCG AGC ACG ACA GGA ACG ACT	172
	R	TCG TTT TCT TCC TCT GAG TCG CTT	
D8S135	F	GGG AGG CTT TAT AAT TAT TTA GC	100
	R	CTG GGC AAC AGA GTG GGA C	
MY 09	R	CGT CCA AGA GGA TAC TGA TC	450
MY 11	F	GCC CAG GGT CAT AAC AAT GG	
GP 05	F	TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC	170
GP 06	R	GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C	

*S: Sentido - F: Forward (Direto) e R: Reverse (Reverso).

RESULTADO

O histopatológico do material da biópsia resultou em observações de coilocitoses, alterações citopáticas sugestivas de infecção por HPV (Figura 3). A análise

molecular resultou em bandas com os *primers* genéricos para amplificação de HPVs, indicando a presença do vírus (Figura 4a). A PCR com *primers* específicos para HPV do tipo 6, 11, 16 e 18, resultou na genotipagem de HPV do tipo 11 (Figura 4b).

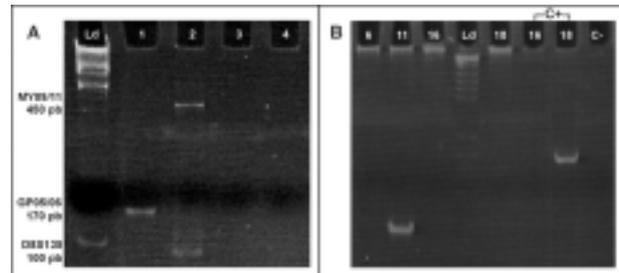


Figura 4: Gel de poliacrilamida a 6% com o resultado das amplificações: (a) PCR com primers genéricos. As amostras nas canaletas (1) com GP05/06 e (2) com MY09/11 e D8S135. As canaletas 3 e 4 são controles negativos para os conjuntos de primers citados, respectivamente. (b) PCR com primers específicos para HPV 6, 11, 16 e 18, mostrando amplificação na canaleta do HPV11. Células HeLa foram usadas como controle positivo com os primers para HPV 16 e 18. Ld: Marcador de tamanho de 100pb.

DISCUSSÃO

A papilomatose laríngea juvenil é uma doença que acomete crianças e provoca alterações respiratórias graves que se caracterizam por quadros de dispnéia e obstrução glótica, levando o paciente a tratamentos cirúrgicos de urgência, às vezes com traqueostomias que deixam seqüelas definitivas nestas crianças.

Apesar da papilomatose laríngea recorrente de início juvenil ser uma neoplasia de comportamento histológico benigno, esta doença apresenta recidivas freqüentes. Pelo menos a metade das crianças acometidas necessita de mais de 10 internações para extrair definitivamente os papilomas, e aproximadamente 7% necessitam de cerca de 100 internações. Por isso, a papilomatose laríngea é uma enfermidade cujo tratamento se revela, muitas vezes, pouco eficaz, gerando frustração tanto para o corpo clínico quanto para o paciente.³²

A caracterização do genótipo viral associado à papilomatose recorrente de laringe nas crianças é importante, uma vez que o tipo viral pode estar associado ao desenvolvimento tumoral nestes pacientes. Go et al³⁶ relatam que de sete crianças tratadas de papilomatose laríngea, quatro delas desenvolveram carcinoma espinocelular da laringe 28 anos após o tratamento, sendo genotipados os HPV 6 e 11. Os mesmos autores concluíram que a transição de papiloma para carcinoma nestes pacientes não passou pela fase de progressão presente no modelo da carcinogênese, já que estes tumores são muito difíceis de serem diagnosticados

precocemente. Nesse contexto, a papilomatose laríngea pode ser considerada como outro fator de risco para o câncer da laringe. Rady et al³⁷ mencionaram o papel do HPV 11 e mutação de p53 na transformação maligna do epitélio através de instabilidade genética progressiva. Estes autores identificaram que a mutação em p53 está associada à integração do HPV 11 em lesões histologicamente malignas. Rabah et al³⁸ afirmam que o HPV 11 está associado com a forma mais agressiva de papilomatose recorrente. Os autores avaliaram 61 pacientes e concluíram que a determinação do tipo viral era um fator importante no prognóstico das crianças. Naquele estudo, o HPV 11 foi o tipo viral mais comum entre crianças afro-americanas, com diagnóstico em idade mais jovem (três anos), o curso da doença apresentou-se mais ativo e agressivo, com longos períodos de recidiva. Do grupo acompanhado, 5% (3/61) desenvolveram papilomatose invasiva e evoluíram para carcinoma broncogênico, concluindo-se que o genótipo do HPV confere um caráter agressivo à papilomatose laríngea.

O histopatológico da biópsia da laringe indicou a presença de halos perinucleares, denominados coilocitoses. Este achado é sugestivo da infecção por HPV, uma vez que se trata de um efeito citopático causado por este vírus em particular. A análise molecular do mesmo material com os primers inespecíficos, MY09/11 e GP05/06 para a amplificação de qualquer tipo de HPV veio corroborar o achado do histopatológico. A utilização de dois conjuntos de *primers* genéricos para a detecção inicial do HPV se justifica pela necessidade de aumentar a capacidade de detecção do genoma viral por PCR, uma vez que a inserção do genoma viral no genoma da célula ocorre com perda parcial de seqüências dos genes do HPV, com perda das regiões de anelamento dos *primers* genéricos.

O conjunto de primers MY09/11 é largamente utilizado em estudos epidemiológicos das Américas do Norte e Sul e Ásia, já o conjunto GP05/06 é mais usado na Europa. Apesar do conjunto MY09/11 se apresentar mais sensível que o conjunto GP05/06, a utilização de ambos no presente estudo para a triagem inicial se justifica pela necessidade de aumentar a eficiência da detecção do genoma viral por PCR. Um estudo comparativo entre os dois conjuntos, utilizando vários tipos de HPVs, demonstrou que apesar dos primers MY09/11 se mostrarem mais robustos, apresentaram relativa ineficiência na detecção do HPV35, enquanto os primers GP05/06 apresentaram falhas para os HPVs 53 e 61.³⁹

A análise molecular do tipo viral foi realizada com primers específicos para os HPVs 6, 11, 16 e 18, e

resultou na genotipagem do HPV do tipo 11. O HPV11 é considerado um tipo viral de baixo risco oncogênico, e isso talvez explique o fato da paciente apresentar pólipos recorrentes na laringe e não um carcinoma espinocelular. Estudos recentes demonstram que, apesar da proteína E6 de HPV11 ser capaz de degradar a p53 via ubiquitinação, a sua eficiência não se compara a das oncoproteínas E6 dos HPVs de alto risco.^{40,41}

A papilomatose laríngea tem característica recorrente após a remoção cirúrgica de papilomas porque genomas de HPV são mantidos nas células da camada basal do epitélio da laringe. O vírus, nessa camada, apresenta um ciclo de vida latente, não produzindo proteínas do capsídeo e, conseqüentemente, não originando outros vírus. Esta estratégia garante a manutenção da infecção nas células basais e, conseqüentemente a formação de pólipos subsequente a cirurgias.⁹ A erradicação total da capacidade de formação de novos papilomas só irá ocorrer quando a peça cirúrgica se testar negativa para o genoma de HPV.

Apesar da literatura relatar que os papilomas laríngeos apresentam progressão lenta,³² o presente relato de caso demonstrou o oposto, pois o tempo médio de recorrência dos pólipos, que acometeram a paciente, foi de dois meses.

A confirmação da presença do HPV do tipo 11 corrobora os achados descritos na literatura, que associam esse HPV aos papilomas laríngeos recorrentes de início juvenil. Adicionalmente, a genotipagem confirma os achados de outros autores que argumentam que a ocorrência latente do HPV11 tem participação na evolução dessa patologia em crianças.^{9,10,32}

Portanto, a genotipagem do HPV em crianças com papilomatose recorrente da laringe e a condição de portadoras de condilomatose ou HPV em suas mães é uma forma segura de se conhecer e adotar a terapia específica para o tratamento de ambos. Assim, seria pertinente na clínica de ginecologia e obstetrícia testar amostras da mucosa da vulva, canal vaginal e cérvix por PCR para a detecção do genoma do HPV. Nos casos positivos, a cesariana seria o método de escolha para a parturiente, reduzindo a ocorrência de infecção no neonato.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jacob SE, Sreevidya S, Chacko E, Pillai MR. Cellular manifestations of human papillomavirus infection in laryngeal tissues. *J Surg Oncol* 2002;79:142-50.
2. Münger K, Basile JR, Duensing S, Eichten A, Gonzalez SL, Grace M, et al. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein.

- Oncogene 2001;20:7888-98.
3. Butel JS. Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 2000;21(3):405-26.
 4. Matzow T, Boysen M, Kalantari M, Johansson B, Hagmar B. Low detection rate of HPV in oral and laryngeal carcinomas. *Acta Oncol* 1998;37(1):73-6.
 5. Lin KY, Westra WH, Kashima HK, Mounts P. Coinfection of hpv-11 and hpv-16 in a case of laryngeal squamous papillomas with severe dysplasia. *Laryngoscope* 1997;107:942-7.
 6. Rivoire WA, Capp E, Corleta HE, Silva ISB. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. *Rev Bras Cancerol* 2001;47(2):179-84.
 7. Noronha V, Mello W, Villa L, Brito A, Macêdo R, Bisi F, et al. Papilomavírus humano associado a lesões de cérvix uterina. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32(3):235-40.
 8. Villa LL. Aspectos moleculares da oncogênese por papilomavírus. In: Bibbo M, Silva Filho MAS, editores. *Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital*. Rio de Janeiro: Revinter; 1998. p. 51-7.
 9. Stubenrauch F, Laimins LA. Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Cancer Biol* 1999;9:379-86.
 10. Aaltonen LM, Rihkanen H, Vaheri A. Human papillomavirus in larynx. *Laryngoscope* 2002;112:700-7.
 11. Stevens LM. Papillomavirus. *J Am Med Assoc* 2002;287(18):2452.
 12. Picconi MA, Eiján AM, Distéfano AL, Pueyo S, Alonío LV, Teysse AR, et al. Human papillomavirus (HPV) DNA in penile carcinomas in Argentina: analysis of primary tumors and lymph nodes. *J Med Virol* 2000;61:65-9.
 13. Badaracco G, Venuti A, Morello R, Muller A, Marcante ML. Human papillomavirus in head and neck carcinomas: prevalence, physical and relationship with clinical/pathological parameters. *Anticancer Res* 2000;20:1301-6.
 14. Niv A, Sion-Vardi N, Gatot A, Nash M, Fliss DM. Identification and typing of human papillomavirus (HPV) in squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *J Laryngol Otol* 2000;114:41-6.
 15. Smith EM, Summersgill KF, Allen J, Hoffman HT, McCulloch T, Turek LP, et al. Human papillomavirus and risk of laryngeal cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109:1069-76.
 16. van Houten VMM, van den Brekel MWM, Denkers F, Colnot DR, Westerga J, van Diest PJ, et al. Molecular diagnosis of head and neck cancer. *Recent Results Cancer Res* 2000;157:90-106.
 17. Rowley H. Molecular biology series: the molecular genetics of head and neck cancer. *J Laryngol Otol* 1998;112:607-12.
 18. Paz IB, Cook N, Odom-Maryon T, Xie Y, Wilczynski SP. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer: an association of HPV 16 with squamous cell carcinoma of Waldeyer's tonsillar ring. *Cancer* 1997;79(3):595-604.
 19. Thompson LD. Diagnostically challenging lesion in head and neck pathology. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997;254(8):357-66.
 20. Gonzalez-Gomez P, Bello MJ, Alonso ME, Arjona D, Lomas J, de Campos JM, et al. CpG island methylation status and mutation analysis of the RB1 gene essential promoter region and protein-binding pocket domain in nervous system tumours. *Br J Cancer* 2003;88:109-14.
 21. Münger K. Clefs, grooves, and (small) pockets: the structure of the retinoblastoma tumor suppressor in complex with its cellular target E2F unveiled. *PNAS* 2003;100(5):2165-7.
 22. Xiao B, Spencer J, Clements A, Aki-Khan N, Mitnacht S, Broceño C, et al. Crystal structure of the retinoblastoma tumor suppressor protein bound to E2F and the molecular basis of its regulation. *PNAS* 2003;100(5):2363-8.
 23. Classon M, Harlow E. The retinoblastoma tumor suppressor in development and cancer. *Nat Rev* 2002;2:910-7.
 24. Sandal T. Molecular aspects of the mammalian cell cycle and cancer. *Oncologist* 2002;7:73-81.
 25. Saunders JR Jr. The genetic basis of head and neck carcinoma. *Am J Surg* 1997;174:459-61.
 26. Gleich LL, Salamone FN. Molecular genetics of head and neck cancer. *Cancer Control* 2002;9(5):369-78.
 27. Lewin B. Oncogenes e câncer. In: *Genes VII*. São Paulo: Artmed; 2000. p. 837-73.
 28. Kehmeier E, Rühl H, Volland B, Stöppler MC, Androphy E, Stöppler H. Cellular steady-state levels of "high risk" but not "low risk" human papillomavirus (HPV) E6 proteins are increased by inhibition of proteasome-dependent degradation independent of their p53- and E6AP-binding capabilities. *Virology* 2002;299:72-87.
 29. Vogel F, Motulsky AG. Mutaç o: mutação som tica, c ncer e envelhecimento. In: *genética humana: problemas e abordagens*. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p. 355-76.
 30. Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, Lewontin RC, Gelbart WM. *Genética e diferenciação celular*. In: *Introdução   genética*. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p. 682-708.
 31. Vousden K. Interactions of human papillomavirus transforming proteins with the products of tumor suppressor genes. *FASEB J* 1993;7:872-9.
 32. Conejo PR, Puerto MJM, Soto AM, Martinez AM, Sanz MAV. Papilomatosis respiratoria recorrente: una causa de dificultad respiratoria progresiva. *An Esp Pediatr* 2001;55(6):558-60.
 33. Vancurova I, Wu R, Miskolci V, Sun S. Increased p50/p50 NF- B activation in human papillomavirus type 6- or type 11-induced laryngeal papilloma tissue. *J Virol* 2002;76(3):1533-6.

34. Auburn KJ, Little RD, Platt THK, Vaccariello MA, Schildkraut CL. Replicative intermediates of human papillomavirus type 11 in laryngeal papillomas: site of replication initiation and direction of replication. *Cell Biol* 1994;91:7340-4.
35. Karlsen F, Kalantari M, Jenkins A, Pettersen E, Kristensen G, Holm R, et al. Use of multiple PCR primer sets for optimal detection of human papillomavirus. *J Clin Microbiol* 1996;34(9):2095-100.
36. Go C, Schwartz MR, Donovan DT. Molecular transformation of recurrent respiratory papillomatosis: viral typing and p53 overexpression. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112(4):298-302.
37. Rady PL, Schnadig VJ, Weiss RL, Hughes TK, Tying SK. Malignant transformation of recurrent respiratory papillomatosis associated with integrated human papillomavirus type 11 DNA and mutation of p53. *Laryngoscope* 1998;108(5):735-40.
38. Rabah R, Lancaster WD, Thomas R, Gregoire L. Human papillomavirus-11-associated recurrent respiratory papillomatosis is more aggressive than human papillomavirus-6-associated disease. *Pediatr Dev Pathol* 2001;4(1):68-72.
39. Qu W, Jiang G, Cruz Y, Chang CJ, Ho GYF, Klein RS, et al. PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP05+/GP06+ primer systems. *J Clin Microbiol* 1997;35(6):1304-10.
40. Souvinos G, Rizos E, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism is linked to the development and not the progression of benign and malignant laryngeal tumours. *Oral Oncol* 2001;37:572-8.
41. Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature* 1998;393:229-34.