



# HÁ CORRELAÇÃO ENTRE O PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) E O CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE ESÔFAGO?

*Is there correlation between human papillomavirus (HPV) and esophageal epidermoid carcinoma?*

Luiz Filipe Alkamin **WOELLNER**<sup>1</sup>, Juliano Smaniotto de **MEDEIROS**<sup>1</sup>, Carmen Australia Paredes Marcondes **RIBAS**<sup>1</sup>, Paulo Afonso Nunes **NASSIF**<sup>1,2,3</sup>, Jurandir Marcondes **RIBAS-FILHO**<sup>1,2,3</sup>, Ana Cristina Lira **SOBRAL**<sup>1</sup>, Bruno Luiz **ARIEDE**<sup>2</sup>, Debora Azeredo Pacheco Dias **DA COSTA**<sup>2</sup>, Osvaldo **MALAFIA**<sup>1,2,3</sup>

**RESUMO - Racional:** Atualmente a infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV) tem sido relacionada em algumas regiões geográficas como fator de risco para o carcinoma epidermoide do esôfago. Ela resulta na imunopressão da proteína p16, que tem sido utilizada como marcadora da linhagem oncogênica por este agente etiológico. **Objetivo:** Correlacionar aspectos epidemiológicos do carcinoma epidermoide do esôfago com a prevalência de infecção pelo HPV. **Métodos:** Foram analisados 58 casos buscando-se perfil epidemiológico dos pacientes, com suas peças submetidas à análise histopatológica e imunohistoquímica pelo p16. **Resultado:** Dos 58 casos avaliados, 40 eram homens e 18 mulheres, com idade média de 63,2 anos. A imunopressão pelo p16 foi de 46,55%. **Conclusão:** A prevalência de infecção pelo HPV é alta no carcinoma epidermoide de esôfago apresentando-se em quase a metade dos casos (46,55%), sem diferenciação de idade quanto aos gêneros.

**DESCRIPTORIOS:** Carcinoma de células escamosas. Esôfago. Papillomaviridae. Genes p16.

	Masculino	Feminino	Geral
Média	63,62	62,27	63,2
Desvio-padrão	12,92	10,82	12,23
Máximo	92	79	92
Mínimo	31	34	31
Coefficiente de variação (%)	20,32%	17,39%	19,36%
Variância	167,16	117,27	149,74

Medidas descritivas com relação à idade dos pacientes

## Mensagem central

Atualmente, a infecção persistente pelo papilomavírus humano (HPV) tem sido relacionada em algumas regiões geográficas como fator de risco para carcinoma de células escamosas do esôfago. É possível que essa relação esteja baseada na intensa alteração do comportamento sexual e da promiscuidade que existe hoje em nossa sociedade.

## Perspectiva

A prevalência de infecção pelo HPV é alta no carcinoma epidermoide de esôfago apresentando-se em quase a metade dos casos (46,55%), sem diferenciação de idade quanto aos gêneros. Desde que teve sua relação primeiramente relatada em 1982, tem-se tentado estabelecer a prevalência da infecção por HPV nos CEC de esôfago. A proteína p16, que age como supressora tumoral ao inibir competitivamente as quinases dependentes de ciclina, é encontrada em baixas concentrações no epitélio normal e tem sua expressão aumentada em processos proliferativos e inflamatórios. Ela pode ser boa marcadora da correlação do HPV e câncer epidermoide do esôfago e, com a confirmação dessa relação, suscitar orientações preventivas nas relações sexuais para ser evitado o contágio pela via oral.

**ABSTRACT - Background:** Currently, persistent human papillomavirus (HPV) infection has been related in some geographic regions as a risk factor for esophageal squamous cell carcinoma. It results in the immunopression of the p16 protein, which has been used as marker of the oncogenic lineage by this etiological agent. **Aim:** To correlate epidemiological aspects of esophageal squamous cell carcinoma with the prevalence of HPV infection. **Methods:** Fifty-eight cases were analyzed and submitted to histopathological and immunohistochemical analysis by p16. **Results:** Of the 58 cases evaluated, 40 were men and 18 women, with a mean age of 63.2 years. p16 immunopression was positive in 46.55%. **Conclusion:** The prevalence of HPV infection is high in esophageal squamous cell carcinoma presenting in almost half of the cases (46.55%), without gender differentiation.

**HEADINGS:** Carcinoma, Squamous Cell. Esophagus. Papillomaviridae. Genes, p16.



[www.facebook.com/abcdrevista](http://www.facebook.com/abcdrevista)



[www.instagram.com/abcdrevista](http://www.instagram.com/abcdrevista)



[www.twitter.com/abcdrevista](http://www.twitter.com/abcdrevista)

Trabalho realizado no <sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>2</sup>Instituto de Pesquisas Médicas, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>3</sup>Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil.

Como citar esse artigo: Woellner LFA, De Medeiros JS, Ribas CAPM, Nassif PAN, Ribas-Filho JM, Sobral ACL, Ariede BL, Da Costa DAPD, Malafai O. Há correlação entre o papilomavírus humano (HPV) e o carcinoma epidermoide de esôfago? ABCD Arq Bras Cir Dig. 2021;34(1):e1528. DOI: /10.1590/0102-672020190001e1528

## Correspondência:

Luiz Filipe Alkamin Woellner  
E-mail: [luizfilipe.a.woellner@gmail.com](mailto:luizfilipe.a.woellner@gmail.com)  
[ana-sobral@uol.com.br](mailto:ana-sobral@uol.com.br)

Fonte de financiamento: não há  
Conflito de interesse: não há  
Recebido para publicação: 19/11/2019  
Aceito para publicação: 12/03/2020

## INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é bem conhecido e descrito como um dos agentes causadores do desenvolvimento de cânceres cervicais, vulvovaginais e anorretais<sup>6,8</sup>, sendo que os subtipos 16 e 18 são responsáveis por até 80% dessas malignidades<sup>17</sup>. Os primeiros relatos de seu envolvimento em carcinomas epidermóides ou carcinoma de células escamosas (CEC) do esôfago surgiram em 1982 com Syrjänen<sup>18,19</sup>. Desde então, mais de 100 estudos têm tentado relacionar a infecção desse vírus oncogênico - principalmente as cepas 16 e 18 de alto risco - com o aparecimento dessa neoplasia esofágica<sup>5,15,18,21</sup>.

Em 2013, o próprio Syrjänen<sup>18</sup> fez uma metanálise com base em 152 artigos elegíveis selecionados na literatura existente correlacionando a detecção do HPV em CEC de esôfago e concluiu que há grande variabilidade do HPV nessas lesões em diferentes regiões geográficas. Observando os resultados, ressaltou ainda que não é por causa de diferentes técnicas de identificação do vírus, mas sim pela origem geográfica do estudo<sup>7,20</sup>. Assim, ele afirmou que os dados corroboram o recém elaborado conceito de que o CEC de esôfago pode ter causa diferente em regiões geográficas de baixo e alto risco, sendo que o HPV desempenha papel importante apenas nas regiões de alto risco<sup>19</sup>.

Sabendo-se que não é possível fazer cultura do HPV, todos os testes virais em uso têm como base a detecção de ácidos nucleicos virais. Estes testes podem ser divididos em métodos de exame indireto (como a imunexpressão do p16), métodos de amplificação do sinal (como a captura híbrida) e métodos de amplificação do alvo (como o PCR<sup>4</sup>). A imunexpressão por p16 foi o método escolhido para este trabalho por sua melhor relação custo-benefício, com alta sensibilidade, baixo custo e simplicidade<sup>1,3,10,11,14</sup>.

Este trabalho busca avaliar a existência da relação entre o CEC de esôfago com a infecção por HPV nos pacientes submetidos à ressecção esofagiana pela neoplasia.

## MÉTODO

O presente trabalho foi realizado com base em uma pesquisa transversal e retrospectiva nos arquivos eletrônicos do Hospital Universitário Evangélico Mackenzie de Curitiba, Curitiba PR, Brasil, em busca de todos os casos com diagnóstico anatomopatológico confirmando CEC de esôfago, ocorridos no período de janeiro 2010 a janeiro de 2017. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição sob o parecer número 1.952.103.

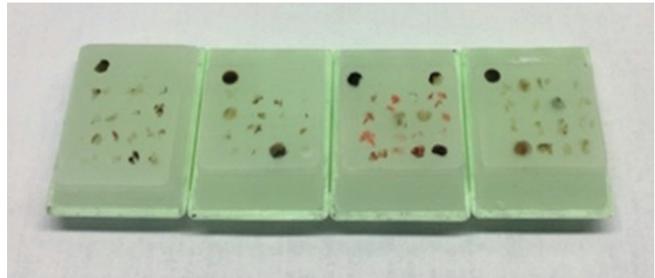
Dos pacientes selecionados, foram compilados do prontuário dados referentes ao gênero e idade. Obteve-se blocos de parafina e lâminas histopatológicas coradas pela técnica de H&E, ambos contendo amostras com diagnóstico prévio de CEC de esôfago. Foi considerado como critério de exclusão prontuários cujos laudos não contemplavam todas as informações pertinentes ao estudo, casos em que as lâminas e blocos selecionados pelo prontuário eletrônico não foram encontrados, bem como aqueles que, após a montagem do TMA (tissue microarrays ou blocos teciduais multiamostrais) não demonstraram neoplasia.

As lâminas histopatológicas foram revisadas com o fim de selecionar as áreas amostrais para a confecção dos blocos teciduais multiamostrais. Após a confecção destes blocos, eles foram utilizados para a confecção das lâminas multiamostrais, nas quais foram testados os biomarcadores pela técnica de imunistoquímica para verificar a presença ou não da positividade para o p16.

### Técnica da imunistoquímica

A técnica realizada para a construção dos TMAs ou blocos multiamostrais consistiu na montagem de blocos de parafina, com múltiplas amostras, para confecção de lâminas histológicas

com várias amostras, a fim de realizar técnicas imunistoquímicas em vários tecidos de uma só vez, barateando o custo do material. A partir das lâminas histológicas referentes aos casos do estudo foram selecionadas as regiões amostrais representativas de lesão e devidamente marcadas com caneta de retroprojeção. Através do sistema de espelho, a lâmina marcada foi utilizada para localização da mesma região no bloco-doador. A técnica consistia ainda em realizar uma perfuração no bloco doador na área amostral previamente marcada com a consequente obtenção de cilindro de tecido dentro da agulha e, depois disso, a implantação deste tecido no bloco receptor (Figura 1). Cada fragmento amostral retirado do bloco-doador foi colocado no bloco-receptor conforme o mapa tipo "plano cartesiano" - as colunas foram identificadas com letras e as linhas com números.

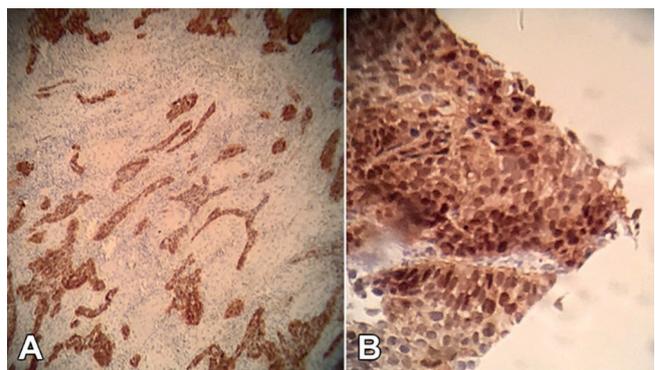


**FIGURA 1** – TMAs construídos para este estudo: Cada um continha oito casos com uma amostra de cada caso, além de uma amostra tecidual sinalizadora do início do mapa cartesiano, isto é, apenas demonstrando por onde o patologista deveria iniciar a leitura

As lâminas histológicas provenientes dos blocos em TMA artesanal foram submetidas à imunistoquímica. Este processo foi dividido em duas fases distintas: a aplicação da técnica padronizada no material do estudo e a leitura da área positiva (com imunomarcação tecidual positiva) nas lâminas do TMA previamente imunocoradas.

Para a leitura foram utilizadas duas lâminas de esôfago normal imunocoradas com os anticorpos p16, as quais foram usadas como padrão para definição em série da área média de expressão dos marcadores nas lâminas dos casos selecionados, através do software Image Pro Plus®.

Após determinar a área média de expressão dos marcadores em cada região delimitada, foi iniciada a coleta de dados dos laudos anatomopatológicos.



**FIGURA 2** – A) CEC positivo para o p16 (área marrom x100); B) detalhe da positividade ao p16 com marcação citoplasmática e nuclear fortes (castanho x400)

### Análise estatística

Todos os resultados e informações obtidos foram tabulados segundo protocolo de dados, e então expressos por meio de gráficos e tabelas, desenvolvidos a partir de planilhas Excel. Nesse estudo, foi utilizado teste do qui-quadrado para analisar a diferença entre o resultado observado e o resultado esperado. Porém, este teste é limitado. Quando mais de ¼ dos valores

esperados em tabela 2x2 fossem menores que 5, utilizou-se o teste exato de Fisher e a estatística V de Cramer. Para tabelas com variáveis que possuíam mais de dois parâmetros, maiores do que 2x2 foi realizada regressão logística para análise de dependência. A confiabilidade foi de 95%.

## RESULTADOS

A presente amostra constou de 66 casos, sendo que oito foram excluídos por não terem sido encontrados os materiais anatomopatológicos, pelo fato de eles não corresponderem com o laudo anatomopatológico ou pela montagem das lâminas multiamostrais terem algum erro técnico. Foram então selecionados 58 casos. Foram 40 homens (68,97% do total) e 18 mulheres (31,03% do total) com idades variando entre 31-92 anos nos homens (63,2±12,92) e nas mulheres 34-79 anos (62,27±10,82 - Tabela 1).

A medida de dispersão relativa denominada “coeficiente de variação”, utilizada para a comparação de distribuições diferentes como, por exemplo, as diferenças entre as idades comparando-se homens e mulheres encontraram-se valores iguais a 20,32% para os homens e 17,39% para as mulheres, sendo que no total foi de 19,36%. Assim pode-se considerar que os dois grupos (masculino e feminino) e o geral têm idades homogêneas (coeficiente de variação menor do que 30%), sendo o feminino mais homogêneo do que o masculino (Tabela 1).

TABELA 1 – Medidas descritivas com relação à idade dos pacientes

	Masculino	Feminino	Geral
Média	63,62	62,27	63,2
Desvio-padrão	12,92	10,82	12,23
Máximo	92	79	92
Mínimo	31	34	31
Coefficiente de variação (%)	20,32%	17,39%	19,36%
Variância	167,16	117,27	149,74

Teste F p=0,43593657; t de Student p=0,3508532

A prevalência de positividade do p16 nesta amostra foi de 46,55% (n=27), sendo 29,31% nos homens e 17,24% nas mulheres.

Em relação à distribuição entre faixas etárias, não foi observada significância estatística (p=0,513582974) com a imunomarcagem pelo p16 e nem na distribuição entre menores e maiores de 60 anos (p=0,7806).

## DISCUSSÃO

Desde que teve sua relação primeiramente relatada em 1982, tem-se tentado estabelecer a prevalência da infecção por HPV nos CEC de esôfago<sup>12</sup>. A proteína p16, que age como supressora tumoral ao inibir competitivamente as quinases dependentes de ciclina, é um importante exemplo dessa nova linhagem diagnóstica. Ela é encontrada em baixas concentrações no epitélio normal, tendo sua expressão aumentada em processos proliferativos e inflamatórios<sup>16</sup>. A principal razão para que ela seja estudada, permitindo a análise da infecção viral nesses tipos tumorais, é o fato de que, apesar de incerto, pacientes HPV positivos têm demonstrado melhor prognóstico, assim com melhor resposta ao tratamento com quimioterapia neoadjuvante<sup>11,13</sup>.

No presente estudo houve maior prevalência do CEC de esôfago em homens, contando com 40 dos 58 pacientes (68,97%, razão de 2,44:1), com idade média de 63,2 anos, o que é um pouco abaixo, mas corrobora com os dados divulgados pelo INCA (Instituto Nacional do Câncer – Brasil) em 2016, no qual tal índice foi de 73,54%. Além disso, essa prevalência maior em homens também é encontrada na pesquisa realizada por Kumar et al.<sup>11</sup> na Índia, que mostrou razão homem:mulher de 1,97:1. A média de idade encontrada por Antunes et al.<sup>2</sup>, em estudo na cidade de Santa Maria, no Rio Grande do Sul, Brasil foi de 60,1 anos de idade, também sendo mais prevalente nos homens (84,3%). Saxena et

al.<sup>17</sup> e Kumar et al.<sup>11</sup> também não relataram diferença estatística entre os gêneros e a positividade para o HPV.

A imunoposição da proteína p16 é um marcador biológico relacionado com a indução neoplásica pelo HPV. Ela demonstrou prevalência de 46,55% na presente casuística e Kumar et al.<sup>11</sup> descreveram que dentre 101 biópsias de CEC de esôfago, essa expressão esteve presente em 22 casos (22%). Em metanálise com base em 138 estudos, publicada por Hardefeldt et al.<sup>9</sup>, a prevalência média foi de 27,4% em 12.037 casos de CEC de esôfago. Comparados países em desenvolvimento com os desenvolvidos, os emergentes têm taxa por HPV 12,2% maior. Já Antunes et al.<sup>2</sup>, relataram que a prevalência da infecção pelo HPV não está associada ao CEC. Na metanálise de 33 estudos realizada por Wang et al.<sup>20</sup> foram 46,5% os casos positivos para o HPV, muito próximo ao encontrado neste trabalho. Possivelmente a discrepância dos valores encontrados na literatura e este estudo, podem estar relacionadas ao tamanho da amostra, e também à variação geográfica do papel carcinogênico do HPV descrito por diversos autores.

O presente estudo visou ampliar a compreensão sobre a oncogênese dos CEC de esôfago e a relação de um possível fator de risco. A maior limitação deste trabalho foi o tamanho médio da amostra e também, devido à dificuldade de acesso a maiores dados relacionados aos pacientes, só foi possível avaliar a presença ou não do HPV no processo patológico, sem serem feitas correlações com outros fatores de risco dessa neoplasia.

Não obstante seus resultados positivos, interessante seria aumentar a casuística para, com isso, ter maior representatividade destes resultados no território brasileiro. Também, dever-se-ia estimular outros estudos que permitam comparar, por exemplo, o comportamento biológico destes tumores com HPV com o prognóstico dos sem HPV.

## CONCLUSÃO

A prevalência de infecção pelo HPV é alta no carcinoma epidermoide de esôfago apresentando-se em quase a metade dos casos (46,55%), sem diferenciação de idade quanto aos gêneros.

## REFERÊNCIAS

1. Afonso LA, Moysés N, Cavalcanti SMB. Human papillomavirus detection and p16 methylation pattern in a case of esophageal papilloma. *Brazilian J Med Biol Res.* 2010;43(7):694–6.
2. Antunes LCM, Prolla JCP, Lopes A de B, da Rocha MP, Fagundes RB. No evidence of HPV DNA in esophageal squamous cell carcinoma in a population of Southern Brazil. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2013;19(39):6598. Available from: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v19/i39/6598.htm>
3. Brink AATP, Snijders PJF, Meijer CJLM. HPV detection methods. *Dis Markers.* 2007;23(4):273–81.
4. Castro ADAE, Skare TL, Yamauchi FI, Tachibana A, Ribeiro SPP, Fonseca EKUN, Sakuma AT, Peixoto MR, Rodrigues MAS, Barreiros MAM. Diagnostic value of c-reactive protein and the influence of visceral fat in patients with obesity and acute appendicitis. *Arq Bras Cir Dig.* 2018 Mar 1;31(1):e1339. doi: 10.1590/0102-672020180001e1339.
5. Degiovani M, Ribas CAPM, Czezczko NG, Parada AA, Fronchetti JA, Malafaia O. Is there a relation between *helicobacter pylori* and intestinal metaplasia in short column epithelization up to 10 mm in the distal esophagus? *Arq Bras Cir Dig.* 2019;32(4):e1480. Published 2019 Dec 20. doi:10.1590/0102-672020190001e1480
6. De-Souza ASC, Costa-Casagrande TA. Animal models for colorectal cancer. *Arq Bras Cir Dig.* 2018;31(2):e1369. doi:10.1590/0102-672020180001e1369
7. Dib VRM, Ramos AC, Kawahara NT, Campos JM, Marchesini JC, Galvão-Neto M, Guimarães AGDP, Picanço-Junior AP, Domene CE. O ganho de peso no seguimento de 15 anos após Nissen laparoscópico compromete o controle dos sintomas de refluxo? *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2020;33(1):e1488. DOI: /10.1590/0102-672020190001e1488
8. Freitas BA, Loth CAT, Swarowsky GL, Lourenço GM, Fillmann LS, Fillmann HS, Santos ML, Padoin AV. Obesidade e desenvolvimento de adenoma estão associados como precursores do câncer colorretal? *ABCD Arq Bras Cir Dig.* 2020;33(1):e1500. DOI: /10.1590/0102-672020190001e1500

9. Hardefeldt HA, Cox MR, Eslick GD. Association between human papillomavirus (HPV) and oesophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Epidemiol Infect* [Internet]. 2014 Feb 4;142(6):1119–37. Available from: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S0950268814000016](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0950268814000016)
10. Hubbard R a. Human papillomavirus testing methods. *Arch Pathol Lab Med*. 2003;127(8):940–5.
11. Kumar R, Ghosh SK, Verma AK, Talukdar A, Deka MK, Wagh M, Bahar HM, Tapkire R, Chakraborty KP, Kannan RR. p16 Expression as a Surrogate Marker for HPV Infection in Esophageal Squamous Cell Carcinoma can Predict Response to Neo-Adjuvant Chemotherapy. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2015;16(16):7161–5.
12. Löfdahl HE, Du J, Näsman A, Andersson E, Rubio CA, Lu Y, Ramqvist T, Dalianis T, Lagergren J, Dahlstrand H.. Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) in Oesophageal Squamous Cell Carcinoma in Relation to Anatomical Site of the Tumour. Deutsch E, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Oct 12;7(10):e46538. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0046538>
13. Ludmir EB, Palta M, Zhang X, Wu Y, Willett CG, Czito BG. Incidence and prognostic impact of high-risk HPV tumor infection in cervical esophageal carcinoma. *J Gastrointest Oncol*. 2014;5(6):401–7.
14. Mills AM, Dirks DC, Poulter MD, Mills SE, Stoler MH. HR-HPV E6/E7 mRNA In Situ Hybridization. *Am J Surg Pathol* [Internet]. 2017;41(5):607–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28403015> <http://insights.ovid.com/crossref?an=00000478-201705000-00005>
15. Norero E, Quezada JL, Cerda J, et al. Risk factors for severe postoperative complications after gastrectomy for gastric and esophagogastric junction cancers. *Arq Bras Cir Dig*. 2019;32(4):e1473. Published 2019 Dec 20. doi:10.1590/0102-672020190001e1473
16. Pastrez PRA, Mariano VS, da Costa AM, Silva EM, Scapulatempo-Neto C, Guimarães DP, Fava G, Neto SAZ, Nunes EM, Sichero L, Villa LL, Syrjänen KJ, Longatto-Filho A. The Relation of HPV Infection and Expression of p53 and p16 Proteins in Esophageal Squamous Cells Carcinoma. *J Cancer*. 2017 Apr 9;8(6):1062-1070. doi: 10.7150/jca.17080
17. Saxena PUP, Fernandes DJ, Vidyasagar MS, Singh A, Sharan K. Detection of human papilloma virus in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus planned for definitive chemo-radiotherapy, and a study of their clinical characteristics. *J Cancer Res Ther*. 2016;12(2):871–5.
18. Syrjänen K. Geographic origin is a significant determinant of human papillomavirus prevalence in oesophageal squamous cell carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Scand J Infect Dis* [Internet]. 2013;45:1–18.
19. Syrjänen KJ. HPV infections and oesophageal cancer. *J Clin Pathol*. 2002;55:721–8.
20. Wang J, Zhao L, Yan H, Che J, Huihui L, Jun W, Liu B, Cao B. A meta-analysis and systematic review on the association between human papillomavirus (Types 16 and 18) infection and esophageal cancer worldwide. *PLoS One*. 2016;11(7):1–14.
21. Yong F, Xudong N, Lijie T. Human papillomavirus types 16 and 18 in esophagus squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Ann Epidemiol* [Internet]. Elsevier Inc; 2013;1–9.