

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANA PAULA ALMEIDA CUNHA

**Prevalência do Papilomavírus Humano (HPV) em Carcinomas Penianos em
pacientes de São Luís, MA: correlações clínicas e epidemiológicas**

SÃO LUÍS – MA

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Prevalência do Papilomavírus Humano (HPV) em Carcinomas Penianos em
pacientes de São Luís, MA: correlações clínicas e epidemiológicas**

Orientado (a): Ana Paula Almeida Cunha

Orientador (a): Prof.^a Dra. Flávia Castello Branco Vidal

Monografia apresentada a
Universidade Federal do Maranhão
como pré-requisito para a
obtenção de grau bacharel e
licenciado em Ciências Biológicas.

SÃO LUÍS – MA

2017

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Cunha, Ana Paula Almeida.

Prevalência do Papilomavírus Humano HPV em Carcinomas Penianos em pacientes de São Luís, MA: correlações clínicas e epidemiológicas / Ana Paula Almeida Cunha. - 2017.

72 p.

Orientador(a): Flávia Castello Branco Vidal.
Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, 2017.

1. Câncer de pênis. 2. Genotipagem. 3. HPV. I. Vidal, Flávia Castello Branco. II. Título.

Ana Paula Almeida Cunha

Prevalência do Papilomavírus Humano (HPV) em Carcinomas Penianos em pacientes de São Luís, MA: correlações clínicas e epidemiológicas.

Monografia apresentada a Universidade Federal do Maranhão como pré-requisito para a obtenção de grau bacharel e licenciado em Ciências Biológicas.

A banca examinadora de Monografia apresentada em sessão pública considerou a candidata aprovada em 27 de janeiro de 2017.

Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA
Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão - BTMA

Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr. José Eduardo Batista
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ser a minha fonte infinita de fé e esperança de dias melhores.

Aos meus pais Ana Maria Costa de Almeida e Benevenuto João Borges Cunha, pelo amor incondicional e por serem o meu porto seguro em todos os momentos de minha vida.

Aos meus irmãos, Benevenuto Cunha Júnior, Wallyson Cunha e Victor Cunha, pelo apoio que me deram durante toda a minha vida, especialmente durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu namorado, Wilton Fabricio Sousa, que tanto fez por mim nos momentos de fraqueza e dificuldade, e por sempre acreditar no meu sucesso.

A minha orientadora, Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal, pelo esforço e dedicação em fornecer ensinamentos e orientações, pela paciência e pela dedicação que me concedeu ao longo deste trabalho.

A Profa. Dra. Zulmira da Silva Batista, pela amizade e pelo grande apoio no desenvolvimento deste trabalho.

A Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito e a Profa. Dra. Maria Bethânia Costa Chein pelo suporte técnico fornecido para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Elmary da Costa Fraga e Profa. Dra. Maria Claudene Barros pelo auxílio e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Aos companheiros de laboratório, em especial a Lucas Henrique de Lima Costa e Walna Luisa Barros, pela amizade e pelo apoio indispensável para a realização deste trabalho.

A Jucileide Mota Costa por sempre ter uma palavra amiga nos momentos de preocupação e desespero, me auxiliando a superar os obstáculos que surgiram em meu caminho.

Aos amigos da turma 2010.2 do curso de Ciências Biológicas da UFMA, em especial a Elaine dos Santos Piancó, Gessica Oliveira Marinho e Marta Regina de Castro Belfort, pela amizade e pelo conforto em momentos difíceis.

A todos os amigos e familiares que, direta ou indiretamente, me dedicaram um pouco de seu tempo e dedicação para me auxiliar no desenvolvimento deste trabalho, contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional.

A UFMA e a FAPEMA, pelo suporte técnico e financeiro para a execução deste trabalho.

RESUMO

A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo e sua infecção tem papel central na origem do câncer, com mais de 100 tipos de vírus HPV identificados, sendo mais de 30 deles transmitidos pelo contato sexual. O câncer de pênis é uma neoplasia rara, porém em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos, como os da Ásia, África e América do Sul, pode representar 10% a 20% dos tumores urogenitais masculinos. O HPV tem sido reconhecido como possível agente causador do carcinoma peniano, mas seu papel no desenvolvimento da doença e a correlação com o prognóstico ainda não estão claros. No Brasil, o câncer de pênis representa cerca de 2% de todos os casos de câncer que acometem homens, sendo mais frequente nas regiões Norte e Nordeste. O objetivo geral do estudo foi identificar a prevalência e os tipos virais do Papilomavírus Humano em amostras de carcinomas penianos de 25 pacientes tratados no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB) no período de 2014 a 2016. Através de questionários aplicados aos pacientes e revisão de prontuários, foram coletados dados sociodemográficos, clínicos e histopatológicos. Amostras tumorais retiradas durante cirurgia de penectomia foram coletadas e submetidas a extração de DNA e, posteriormente, foram realizadas reações de PCR para a detecção do HPV. Foi utilizada a técnica de PCR Nested e os primers utilizados foram PGMY09/11 para o primeiro round e GP+5/6 para o segundo round. Em seguida, foi realizada a técnica de eletroforese em gel de agarose para identificar a amplificação do vírus. As amostras positivas foram submetidas a técnica de sequenciamento automático para a genotipagem do tipo viral. A presença do vírus HPV foi detectada na maioria dos casos (68%). O tipo 16 foi o mais prevalente (29%), seguido dos tipos 6 (12%) e 45 (6%). A maioria dos homens estava na faixa etária maior que 60 anos (68%), se auto relatavam de cor de pele parda (60%), apresentavam união conjugal estável (64%), renda baixa de até 1 salário mínimo (56%), eram analfabetos (52%), residiam em municípios do interior do Estado (80%). Em relação aos hábitos de vida sexual, 56% declararam não ter realizado circuncisão, 36% sinalizaram a ocorrência de DST prévia e 32% relataram a presença de verrugas genitais. Houve predominância da glândula (30,4%) como a região mais afetada, seguido pela glândula e prepúcio (30,4%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a presença de HPV e características histopatológicas da lesão nos pacientes analisados. Em decorrência da elevada prevalência do HPV e do elevado número de casos de câncer de pênis no estado do Maranhão, torna-se fundamental o desenvolvimento de pesquisas que visem auxiliar no desenvolvimento de medidas preventivas contra a infecção pelo vírus HPV.

Palavras-chave: HPV, câncer de pênis, genotipagem.

ABSTRACT

Human Papillomavirus (HPV) infection is one of the most common sexually transmitted diseases worldwide and its infection plays a central role in the etiology of cancer, with more than 100 types of HPV viruses identified, more than 30 of which are transmitted through sexual contact. Penile cancer is considered a rare disease, but in developing and underdeveloped countries, such as Asia, Africa and South America, it can account for 10% to 20% of male urogenital tumors. HPV has been recognized as a possible causative agent of penile carcinoma, but its role in the development of the disease and the correlation with the prognosis are not yet clear. In Brazil, penile cancer represents about 2% of all cases of cancer that affect men, being more frequent in the North and Northeast of the country. The main goal of this study is to identify the prevalence and types of Human Papillomavirus in penile carcinomas of 25 patients treated at the Maranhão Institute of Oncology Aldenora Bello (IMOAB) in the period of 2014 to 2016. Sociodemographic, clinical and histopathological data were collected through questionnaires applied to the patients and reviewing of medical records. Tumor samples taken during penectomy surgery were collected and submitted to DNA extraction and subsequent PCR reactions for HPV detection. The Nested PCR technique were used, using primers PGMY09/11 for the first round, and GP+5/6 for the second round. Then, agarose gel electrophoresis was performed to identify the amplification of the virus DNA. Positive samples were submitted to an automatic sequencing technique for viral genotyping. HPV-virus DNA were detected in most cases (68%). HPV 16 was the most prevalent (29%), followed by types 6 (12%) and 45 (6%). Most men were older than 60 years (68%), self-declared brown skin (60%), had stable marital union (64%), income up to 1 minimum wage (56%), mostly illiterate (52%) and residents in the countryside. Regarding sexual habits, 56% reported not having performed circumcision, 36% reported the occurrence of previous STDs, and 32% reported the presence of genital warts. There was a prevalence of the glans (30,4%) as the region most affected by the penile cancer lesions, followed by glans and foreskin (30,4%). There was no statistically significant difference between the presence of HPV and histopathological features in the analyzed samples ($p < 0,05$). Due to the high prevalence of HPV and penile cancer in the state of Maranhão, the development of research aiming to help the prevention of HPV infection is fundamental.

Key words: HPV, penile cancer, genotyping.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organização do DNA circular do HPV e suas funções na patogênese do vírus. ..	20
Figura 2. Ciclo de vida do Papilomavírus Humano.	22
Figura 3. Progressão do câncer cervical mediada pelo vírus HPV.	24
Figura 4. Classificação dos tipos de HPV baseado na sequência de nucleotídeos de proteínas do gene L1 do capsídeo viral.....	26
Figura 5. Prevalência do vírus HPV nas amostras de carcinoma peniano analisadas.....	43
Figura 6. Prevalência de tipos de HPV nas amostras de tumores penianos analisadas.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sistema de classificação TNM para câncer de pênis.....	29
Tabela 2. Estadiamento de Jackson.	29
Tabela 3. Sequência de primers utilizados na reação de PCR Nested para a detecção do vírus HPV nas lesões penianas analisadas.....	40
Tabela 4. Características sociodemográficas dos 25 pacientes estudados diagnósticos de câncer de pênis.....	45
Tabela 5. Características associadas a fatores de risco e hábitos de vida sexual em 25 pacientes com diagnóstico de câncer de pênis.	46
Tabela 6. Frequência dos tipos histológicos e região anatômica afetada em 25 pacientes com diagnóstico de câncer de pênis.	47
Tabela 7. Associação entre a infecção pelo HPV e aspectos clínico-patológicos dos pacientes com diagnóstico de câncer de pênis analisados.	48
Tabela 8. Associação entre a presença do HPV e o tamanho da lesão peniana em pacientes com diagnóstico de câncer de pênis.	49

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ACIP - Advisory Committee on Immunization Practices

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

BTMA – Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão

DNA - Ácido Desoxibonucléico

dNTP – Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

DST - Doença Sexualmente Transmissível

FDA – *Food and Drug Administration*

HPV - Papilomavírus Humano

HUUFMA - Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

IARC – *International Agency for Research on Cancer*

IMOAB – Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello

LCR – *Long Control Region*

ORF - *Open Reading Frames*

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

pb – Pares de base

pRB – Proteína Retinoblastoma

SUS – Sistema Único de Saúde

UFMA - Universidade Federal do Maranhão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1 Papilomavírus Humano - Histórico.....	18
2.2 Biologia do HPV	19
2.3 Ciclo de vida	22
2.4 Carcinogênese mediada pelo HPV	23
2.5 Classificação dos tipos de HPV	25
2.6 Câncer de Pênis	27
2.7 Epidemiologia e Fatores de Risco do Carcinoma de Peniano.....	30
2.8 Vacinação contra o HPV e sua influência na prevenção do câncer	33
3. JUSTIFICATIVA.....	35
4. OBJETIVOS.....	36
4.1 Objetivo geral	36
4.2 Objetivos específicos.....	36
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
5.1 Delineamento do Estudo	37
5.2 Período e Local do Estudo	37
5.3 Pacientes.....	37
5.3.1 Critérios de Inclusão	37
5.3.2 Critérios de Exclusão	38
5.4 Coleta de Dados.....	38
5.5 Coleta de Amostras	38
5.6 Extração de DNA.....	38
5.7 Quantificação de DNA	39
5.8 PCR Nested	39
5.9 Visualização dos produtos da PCR.....	41
5.10 Purificação dos Produtos da PCR.....	41

5.11 Sequenciamento Automatizado	41
5.12 Análise por Bioinformática	42
5.13 Aspectos Éticos.....	42
5.14 Análise Estatística	42
6. RESULTADOS.....	43
7. DISCUSSÃO.....	50
8. CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
APÊNDICES	66
A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	66
B – Questionário Sociodemográfico	68
ANEXOS.....	70
A – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP.....	70

“A confiança que depositamos Nele é esta: em tudo quanto lhe pedirmos, se for conforme a Sua vontade, Ele nos atenderá. E se sabemos que Ele nos atende em tudo quanto lhe pedirmos, sabemos daí que já recebemos o que pedimos. ”

1Jo-5:14-21.

1. INTRODUÇÃO

O HPV é um vírus não envelopado com um capsídeo de 55nm de diâmetro, com uma dupla-fita de DNA circular e aproximadamente 8000 pares de base (pb) (AFONSO et al., 2016). A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo e sua infecção tem papel central na origem do câncer (ALBERO et al., 2013).

Atualmente existem mais de 100 tipos de vírus HPV identificados, sendo mais de 30 deles transmitidos pelo contato sexual, mas a maioria das infecções são combatidas naturalmente pelo organismo e não progredem para o câncer (AKOGBE et al., 2013). Segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), o HPV é classificado de acordo com seu potencial oncogênico, podendo ser de alto ou baixo risco. A infecção por tipos de baixo risco pode causar verrugas nas mãos e pés, além dos condilomas nas regiões genitais (WEI et al., 2016). Já os tipos ditos de alto risco, podem causar lesões intraepiteliais e possuem capacidade de progredir para carcinomas invasivos (GANGULY; PARIHAR, 2009; ZHOU et al., 2013). Aproximadamente 20 tipos virais, incluindo o HPV 16, 18, 33, 39, 45, 52 e 56 são classificados como de alto risco e estão associados ao desenvolvimento de câncer ou lesões pré-cancerosas, sendo os tipos 16 e 18 responsáveis por aproximadamente 70% dos casos de câncer cervical (ZACAPALA-GÓMEZ et al., 2016). Os subtipos considerados de baixo risco oncogênico, principalmente o HPV 6 e HPV 11, são responsáveis por até 90% dos casos de verrugas genitais em ambos os sexos (WEI et al., 2016).

O HPV tem sido reconhecido como possível agente causador do carcinoma peniano, mas seu papel no desenvolvimento da doença e a correlação com o prognóstico ainda não estão claros (ROMERO et al., 2013; SILVA et al., 2014). Smith e colaboradores (2010), em um ensaio clínico randomizado em 2700 homens não circuncidados na faixa etária 17-28 anos e residentes no Quênia, avaliaram que 46% dos homens apresentavam infecção pelo HPV na glândula e 19,1% presente na haste do pênis, sendo os tipos 16 e 18 os mais frequentes. Stankiewicz e colaboradores (2011) investigaram a presença do vírus HPV em 148 pacientes diagnosticados com carcinomas penianos e detectaram que 56% dos tumores penianos apresentavam infecção pelo HPV, sendo o HPV 16 o mais

prevalente (81%). No estudo realizado por Scheiner e colaboradores (2008) em 80 casos de pacientes com câncer de pênis e submetidos a tratamento em hospitais do Rio de Janeiro, foram detectados a presença de HPV em 75% dos pacientes com câncer invasivo, também detectando o HPV 16 como o mais frequente. Outros estudos demonstram a prevalência do HPV em até 71% dos casos de câncer de pênis (WANICK et al., 2011; ZACAPALA-GÓMEZ et al., 2016).

A patogênese do câncer de pênis ainda não está esclarecida, mas, fatores de riscos reconhecidos incluem fimose, tabagismo, maus hábitos de higiene, retenção de esmegma, processos inflamatórios e a infecção pelo HPV (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; MANNWEILER et al., 2013; MOSCONI et al., 2005). Além destes fatores, atividade sexual sem uso de preservativo e a infecção por outras doenças sexualmente transmissíveis também podem contribuir para o desenvolvimento do câncer de pênis (GRABOWSKI et al., 2016). Estudos tem mostrado que a expressão desregulada de dois oncogenes virais de HPVs de alto risco, E6 e E7, são fundamentais para a malignização das células cervicais, atuando no bloqueio de genes supressores tumorais como pRB e p53, alterando o ciclo celular (DO et al., 2013; WANG et al., 2015). A subsequente inativação dessas via de regulação pode levar a proliferação autônoma de células, contribuindo para o desenvolvimento do tumor (WANG et al., 2015; ZARGAR-SHOSHTARI et al., 2016).

O câncer peniano ocorre principalmente em homens maiores de 60 anos e está associado a um alto risco de metástase e morbidade, sendo o principal fator que leva a alta mortalidade por essa doença a demora por tratamento (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016). Geralmente, os pacientes procuram o serviço de saúde somente quando a doença encontra-se em estágios avançados, dificultando assim a possibilidade de tratamento (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; SILVA et al., 2014). O tratamento cirúrgico convencional para o carcinoma peniano envolve penectomia parcial ou total com margem de segurança de 2 cm (Ministério da Saúde). Essa abordagem é realizada no Brasil em 60% dos casos, o que demonstra a elevada morbidade existente no diagnóstico de câncer de pênis. As taxas de sobrevida dos pacientes em 5 anos variam de 0% a 66%, dependendo da extensão e da presença de linfonodos metastáticos (ALEMANY et al., 2016; REIS et al., 2010a).

No Brasil, o câncer de pênis representa cerca de 2% de todos os casos de câncer que acometem homens, sendo mais frequente nas regiões Norte e Nordeste (SILVA et al., 2014). A região Nordeste possui o maior número de casos, com taxas de aproximadamente 6%, superando as taxas de câncer de bexiga e câncer de próstata, enquanto a região Sudeste apresenta taxa de 1,2% dos casos (FAVORITO et al., 2008). Conforme dados do Ministério da Saúde, o Maranhão é o Estado que possui o maior número de casos de câncer de pênis do país, causado principalmente pelo baixo índice de desenvolvimento humano (FAVORITO et al., 2008). Além disso, estima-se que 850 cirurgias de penectomia parcial ou completa são realizados no Brasil, sendo aproximadamente 50% dos casos realizados nas regiões Norte e Nordeste (FAVORITO et al., 2008; FELLER et al., 2009).

Em decorrência da elevada prevalência do HPV e, conseqüentemente, o elevado número de casos de câncer de colo de útero e câncer de pênis no estado do Maranhão, torna-se fundamental o desenvolvimento de pesquisas que visem compreender o papel do vírus na etiologia do câncer, bem como auxiliar no desenvolvimento de medidas preventivas contra a infecção pelo vírus HPV.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Papilomavírus Humano - Histórico

Desde a Antiguidade tem-se registro do aparecimento de verrugas na pele e na região genital, também chamadas de condiloma acuminado (do grego *kondilus* = condilo; do latim *acuminare* = pontudo). Médicos gregos e romanos foram os primeiros a observar a presença dessas lesões, mas até então a sua causa era desconhecida e eram associadas principalmente a hábitos sexuais promíscuos (CAMARA et al., 2008). A primeira demonstração da causa das verrugas resultou de experimentos de transferência de células, evidenciando ser um vírus o responsável pela origem das verrugas genitais e orais (SHOPE; HURST, 1933). Eles perceberam que coelhos domésticos saudáveis poderiam desenvolver as verrugas quando inoculado um filtrado livre de células retirado das verrugas de coelhos selvagens. Experimentos realizados em 1907 também confirmaram a etiologia viral das lesões papilomatosas usando filtrado de células de verrugas comuns para transferir a infecção (SHOPE; HURST, 1933; ZUR HAUSEN, 1989).

Em 1965 os primeiros experimentos que buscaram identificar a estrutura genômica do HPV começaram a ser realizados e, posteriormente, concluíram que se tratava de um DNA circular de dupla fita (ZUR HAUSEN, 1989). Já em 1967 outros estudos buscaram identificar as diferentes formas em que o vírus podia se apresentar e no início dos anos 1970s a diversidade de HPV se tornou evidente (ZUR HAUSEN, 1989). Assim, concluiu-se que diferentes tipos de HPV seriam responsáveis pela formação de verrugas genitais e cutâneas e tais diferenças foram visualizadas em microscópio eletrônico e por estudos de aglutinação (ZUR HAUSEN, 1989, 1999).

zur Hausen e Gissmann buscaram detectar o DNA do vírus em tumores humanos a partir de experimentos de hibridização de ácidos nucleicos com RNA complementar do vírus de verrugas humanas (ZUR HAUSEN, 1996). A partir disso, foi possível realizar o isolamento e a caracterização de um novo vírus, que provava ser o agente causador das verrugas genitais, sendo chamado de HPV6 (ZUR HAUSEN, 1996, 2000). Posteriormente, foi possível a caracterização e isolamento do Papilomavírus mais intimamente relacionado ao papiloma de laringe, chamado de HPV11 (CAMARA et al., 2008; ZUR HAUSEN, 1989, 1996). Já no início dos anos

1980s foi caracterizado o tipo de HPV mais presente em tumor cervical, e posteriormente estabelecido ser um dos tipos mais importantes no desenvolvimento de neoplasias, chamado de HPV16 (CAMARA et al., 2008; ZUR HAUSEN, 1996). O HPV18, considerado o segundo tipo de HPV de maior risco oncogênico, foi isolado e caracterizado posteriormente (CAMARA et al., 2008).

Atualmente, mais de 100 tipos de HPV foram descritos e classificados de acordo com a estrutura e caracterização do genoma (GRAVITT, 2011; HONG; LAIMINS, 2016; WOODMAN et al., 2007). A partir de então, vários estudos moleculares continuam sendo realizados e confirmam a influência do HPV como precursor de neoplasias, entre eles o câncer cervical (LETO et al., 2011; ZUR HAUSEN, 2009).

2.2 Biologia do HPV

O HPV é um vírus pertencente à família Papillomaviridae, apresenta DNA circular entre 6800 e 8000 pares de bases (pb), possui diâmetro de até 50nm, não-envelopado e um capsídeo icosaédrico (BIRYUKOV; MEYERS, 2015; REIS et al., 2010a). O genoma do HPV é formado por uma região chamada *Open Reading Frames* (ORF) onde estão localizados os genes com capacidade de codificar proteínas, e uma região controladora chamada *Long Control Region* (LCR) (DE LIMA; DA SILVA; RABENHORST, 2013; WOODMAN et al., 2007). Apesar das variações em tamanho e número de ORFs, todos os Papilomavírus possuem genes principais envolvidos na replicação e encapsulamento do vírus e grande variedade nos genes remanescentes, cada um envolvido na entrada do vírus na célula, escape do sistema imune e liberação do vírus (FERRAZ et al., 2012; HONG; LAIMINS, 2016; TOMMASINO, 2016).

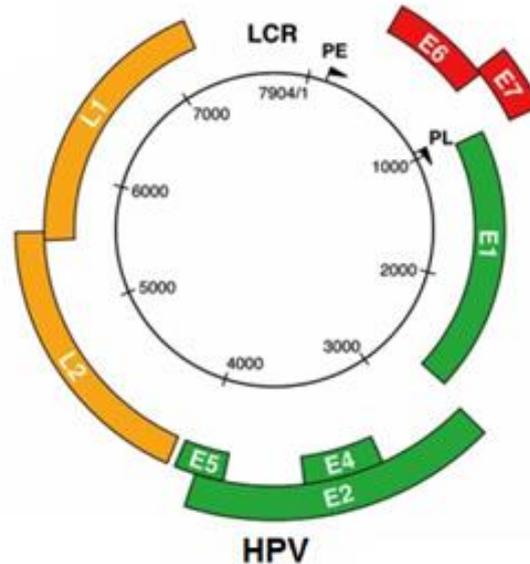


Figura 1. Organização do DNA circular do HPV e suas funções na patogênese do vírus. Fonte: Adaptado de BURK, 2009.

As ORFs podem ser diferenciadas em duas regiões: E (do inglês, *early* = antes) e L (do inglês, *late* = depois) (Figura 1). Na região E estão localizados os genes que são expressos inicialmente no ciclo celular do vírus, são eles os genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7 (FELLER et al., 2009; HONG; LAIMINS, 2016). Esses genes serão os responsáveis pela transcrição do DNA viral, maturação e liberação de partículas virais, transformação e imortalização das células infectadas (FELLER et al., 2009; REIS et al., 2010a; WOODMAN et al., 2007). Eles também auxiliam na replicação e atuam na regulação da expressão de genes virais (FELLER et al., 2009; HONG; LAIMINS, 2016). Além disso, E1 e E2 também são responsáveis pela manutenção do DNA viral na forma epissomal durante os estágios iniciais de infecção e durante o período latente de infecção nas células da camada basal (FELLER et al., 2009; WOODMAN et al., 2007). A integração do DNA viral no genoma da célula hospedeira está associado a certos tipos de câncer, onde ocorre a perda de E2 e a posterior perda da função repressora de E2, levando a ativação dos genes E6 e E7 e no aumento da expressão dessas oncoproteínas (BANSAL; SINGH; RAI, 2016; HONG; LAIMINS, 2016). Os genes restantes codificam proteínas que modificam o ambiente celular ou desempenham funções durante o ciclo de vida do Papilomavírus. Proteínas produzidas por E4 e E5 modulam a amplificação do DNA do HPV e a expressão de genes estruturais (HONG;

LAIMINS, 2016). Além disso, E4 desempenha papel importante na saída do vírus da superfície do epitélio (DOORBAR, 2016).

Durante a infecção do HPV, E6 e E7 facilitam a manutenção do DNA viral em sua forma episomal nas células da camada basal (FELLER et al., 2009; HONG; LAIMINS, 2016). Estes também têm papel importante na proliferação celular e no aumento da sobrevivência de células infectadas pela alteração de fatores de regulação do ciclo celular (DOORBAR, 2016; GRIFFIN; DOORBAR, 2016). Em HPVs de alto risco, E6 pode induzir a degradação da proteína supressora de tumor p53 através do bloqueio da via da ubiquitina (DOORBAR, 2016; HONG; LAIMINS, 2016).

A oncoproteína E7 é essencial para o ciclo de vida normal do vírus e durante todo o percurso de desenvolvimento do câncer, desde lesões precursoras benignas até carcinomas invasivos (SONGOCK; KIM; BODILY, 2016). O gene E7 pode inativar o supressor do gene que codifica a proteína retinoblastoma (pRB) e outras proteínas associadas a regulação do ciclo celular, atuando diretamente na malignização de células e o posterior desenvolvimento do câncer (BANSAL; SINGH; RAI, 2016; DOORBAR, 2016; FELLER et al., 2009). Os genes E6 e E7 também possuem papel fundamental na patogênese de HPVs de baixo risco, estando associado ao desenvolvimento de tumores benignos e, nos casos raros, na transformação em tumor maligno (FELLER et al., 2009; GRIFFIN; DOORBAR, 2016).

A região L é formada por genes que são expressos tardiamente no ciclo, sendo responsáveis pela incorporação do DNA viral e por codificar proteínas do capsídeo viral (DE LIMA; DA SILVA; RABENHORST, 2013; FERRAZ et al., 2012). O gene L1 codifica a maioria das proteínas do capsídeo viral e são expressas depois de L2 no ciclo, participando da montagem do vírion (DOORBAR, 2016). Proteínas produzidas por L2 atuam no transporte de proteínas L1 para o núcleo e no encapsulamento do DNA viral (FELLER et al., 2009; HONG; LAIMINS, 2016).

A região controladora LCR está localizada entre a extremidade de L1 e o início da região de expressão precoce (região E) e possui regiões promotoras, sítios de ligação de fatores de transcrição e a região de origem de replicação do vírus (ORF) (GRIFFIN; DOORBAR, 2016). De acordo com o tipo de HPV, as posições das regiões promotora e dos sítios de ligação podem variar, demonstrando que os diferentes tipos

de HPV seguiram diferentes caminhos evolutivos ao longo dos anos (DOORBAR, 2016; HONG; LAIMINS, 2016).

2.3 Ciclo de vida

O HPV possui tropismo por células epiteliais, infectando principalmente a pele e mucosas (HONG; LAIMINS, 2016). Entretanto, as infecções por HPV conseguem geralmente ser eliminadas pelo sistema imune do organismo, não evoluindo para manifestações clínicas em até 70% dos casos (ZACAPALA-GÓMEZ et al., 2016; ZUR HAUSEN, 2009). O vírus HPV infecta células da camada basal do epitélio escamoso, que são células menos diferenciadas e que ainda conseguem se proliferar (BIRYUKOV; MEYERS, 2015; HONG; LAIMINS, 2016; LI et al., 2016). A infecção se inicia quando o vírus entra na camada basal do epitélio através de microlesões encontradas nessas células (BIRYUKOV; MEYERS, 2015; CHAUX et al., 2013; HONG; LAIMINS, 2016). Uma vez dentro da célula, o DNA do vírus é liberado do capsídeo e transportado para o núcleo, onde o DNA do HPV vai replicar e se manter na forma epissomal (cerca de 100 cópias por célula) (FELLER et al., 2009; HONG; LAIMINS, 2016).

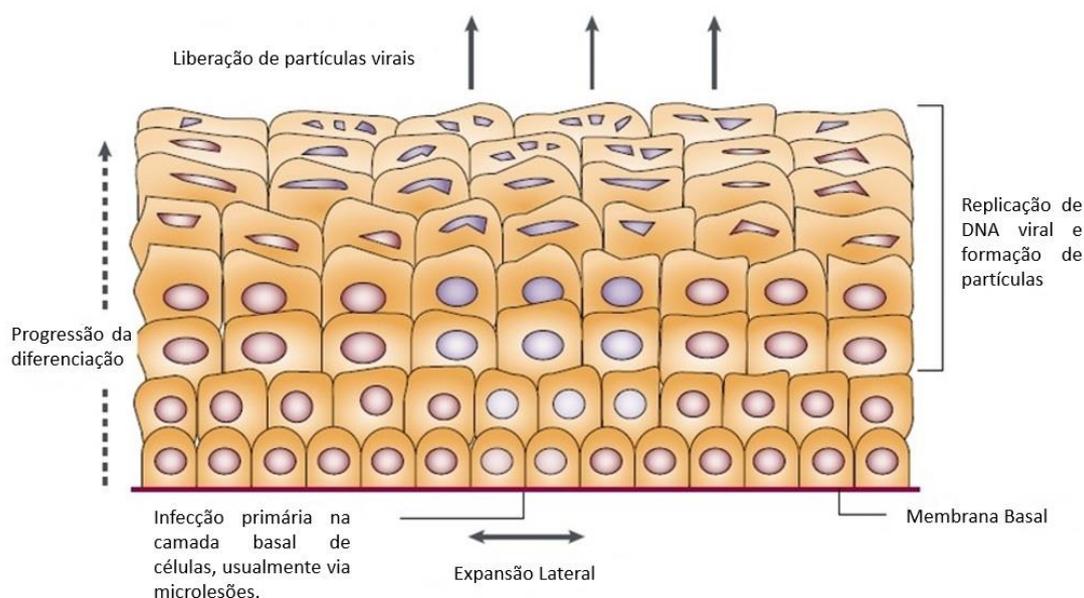


Figura 2. Ciclo de vida do Papilomavírus Humano. Fonte: Adaptado de zur HAUSEN, 2002.

Nas células da camada basal, as proteínas E1 e E2 são expressas e regulam a transcrição de genes precoces para a produção de vírions (Figura 2) (FELLER et al., 2009; REIS et al., 2010a; SPIESS et al., 2016). Não se sabe ao certo porque o HPV é capaz de infectar somente células da camada basal do epitélio escamoso, mas acredita-se que esteja relacionado a receptores restritos a essas células. Depois destas células se dividirem, E2 regula a distribuição do DNA viral para as células filhas (HONG; LAIMINS, 2016; SPIESS et al., 2016). Na infecção latente, o epitélio afetado não demonstra diferenças clínicas ou histológicas porque o vírus somente expressa os genes E1 e E2, podendo se manter assim por longos períodos, ser eliminado naturalmente pelo sistema imune ou progredir a infecção (GANGULY; PARIHAR, 2009; WOODMAN et al., 2007).

Com a maturação das células suprabasais, o ciclo do HPV progride e passa a expressar proteínas de E6 e E7 (BANSAL; SINGH; RAI, 2016; WOODMAN et al., 2007). A proteína E6 tem o papel de prevenir que a célula entre em apoptose (o que normalmente ocorre em resposta a infecção viral); e E7 consegue ativar mecanismos de replicação celular, levando a célula a entrar na fase S do ciclo celular, deixando assim a maquinaria de replicação celular disponível para a replicação do DNA viral (REIS et al., 2010a; SPIESS et al., 2016; WOODMAN et al., 2007). A produção de E1 e E2 conduz ao aumento da amplificação do genoma do HPV paralelamente aos estágios de maturação de células epiteliais. Eventualmente, a partir da expressão de proteínas L1 e L2, os vírus são formados e conseguem escapar das células epiteliais (FELLER et al., 2009; GRAVITT, 2011; ZUR HAUSEN, 2009).

2.4 Carcinogênese mediada pelo HPV

O mecanismo pelo qual o HPV leva a transformação maligna está associada tanto a carga viral, ao sítio e persistência da infecção, e a interação dos oncogenes virais E6 e E7, que são transcritos ativamente em células infectadas pelo vírus (DOORBAR, 2016; ZUR HAUSEN, 2009). Eles são capazes de estimular o crescimento celular e, assim, contribuir para a imortalização das células (Figura 3) (FELLER et al., 2009; HONG; LAIMINS, 2016; WALHART, 2015).

Estudos indicam que o gene E6 interage com a proteína p53, enquanto E7 interage com pRB (retinoblastoma) para bloquear a atividade dessas proteínas supressoras de tumor (BANSAL; SINGH; RAI, 2016; WOODMAN et al., 2007). Apesar das vias biológicas de progressão ao câncer estarem bem estabelecidas em tumores cervicais, alguns estudos indicam que a carcinogênese de pênis mediada pelo vírus HPV segue vias biológicas semelhantes (FLAHERTY et al., 2014; REIS et al., 2010a; ZUR HAUSEN, 2009).

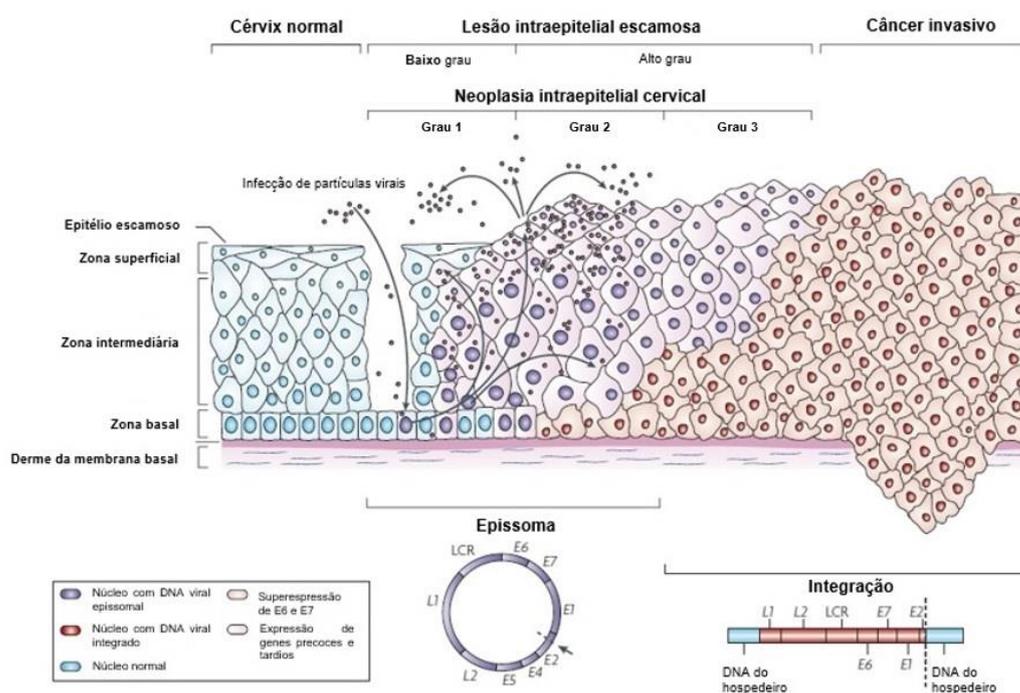


Figura 3. Progressão do câncer cervical mediada pelo vírus HPV. Fonte: WOODMAN et al, 2007.

A região de E6 no DNA do HPV codifica uma proteína que age diretamente sobre proteínas supressoras de tumor, principalmente a p53 (THOMAS; PIM; BANKS, 1999). A proteína p53 atua como regulador negativo de controle do ciclo celular e sua inibição pode levar a proliferação e desenvolvimento anormal da célula (DOORBAR, 2016; SOUTO, 2005; WALHART, 2015). Em resposta a danos na célula, a p53 pode desencadear o processo de apoptose para destruir células defeituosas e impedir que elas sejam replicadas (ANACKER; MOODY, 2016; FERRAZ et al., 2012). Na infecção pelo HPV, a proteína E6 consegue se ligar a proteína E6AP e formar um complexo ubiquitina-quinase, e esse complexo leva a ubiquitinação de p53 seguido por

sua degradação por um complexo proteossômico (ANACKER; MOODY, 2016; FERRAZ et al., 2012). Com isso, vários eventos deletérios podem ocorrer dentro da célula, mas ainda assim essas células conseguirão sobreviver e acumular mutações em uma taxa maior do que o normal e causando, conseqüentemente, a ausência de sinalização de apoptose e imortalização da célula (ANACKER; MOODY, 2016; FELLER et al., 2009; FERRAZ et al., 2012; ZUR HAUSEN, 2000).

A função principal do gene E7 é desregular o ciclo celular da célula infectada, induzindo a célula a sair da fase G₀ para a fase G₁ e S (ANACKER; MOODY, 2016; FERRAZ et al., 2012; HONG; LAIMINS, 2016). E7 é uma proteína que irá se ligar a proteína retinoblastoma (RB), que por sua vez é supressora tumoral e inibe a proliferação celular em resposta a sinais intra e extracelulares (BANSAL; SINGH; RAI, 2016). Normalmente a pRB encontra-se ligada ao fator de transcrição E2F, responsável por controlar a expressão de outros genes envolvidos no ciclo celular, mas que mantém seu domínio de ativação da transcrição bloqueado quando ligado a pRB (FERRAZ et al., 2012; WALHART, 2015). Ao degradar a proteína pRB ocorre a liberação de E2F, permitindo-lhe estimular a transcrição dos genes que estavam sendo reprimidos, entre eles a proteína p16. A proteína p16 é uma CDK (*Cyclin-dependent kinases* – quinases dependentes de ciclinas) que inibe a fosforilação de pRB, mantendo-a ativa e ligada ao fator de transcrição E2F, assim, sendo controlada pela pRB por feedback negativo (SOUTO, 2005; WOODMAN et al., 2007). Ou seja, a degradação de pRB por E7 resulta em um aumento na expressão de p16 nas células infectadas (RIVOIRE et al., 2001; SOUTO, 2005).

A degradação de proteínas celulares associadas ao ciclo celular pelas proteínas virais compromete a integridade do DNA replicado, causando instabilidade no DNA da célula e a proliferação anormal dessas células, favorecendo o desenvolvimento do tumor (FERRAZ et al., 2012; REIS et al., 2010a; WOODMAN et al., 2007).

2.5 Classificação dos tipos de HPV

Os Papilomavírus humanos são divididos em cinco gêneros e classificados de acordo com diferenças na sequência de DNA (a partir de sequências

do gene L1), devendo apresentar pelo menos 10% de diferenças de outros tipos (BANSAL; SINGH; RAI, 2016; FELLER et al., 2009). Os tipos de HPV que infectam humanos são classificados em Alfa, Beta, Gama, Nu e Mu, sendo os gêneros Alfa, Beta e Gama os grupos mais representativos (Figura 4) (BANSAL; SINGH; RAI, 2016; HARARI; CHEN; BURK, 2015).

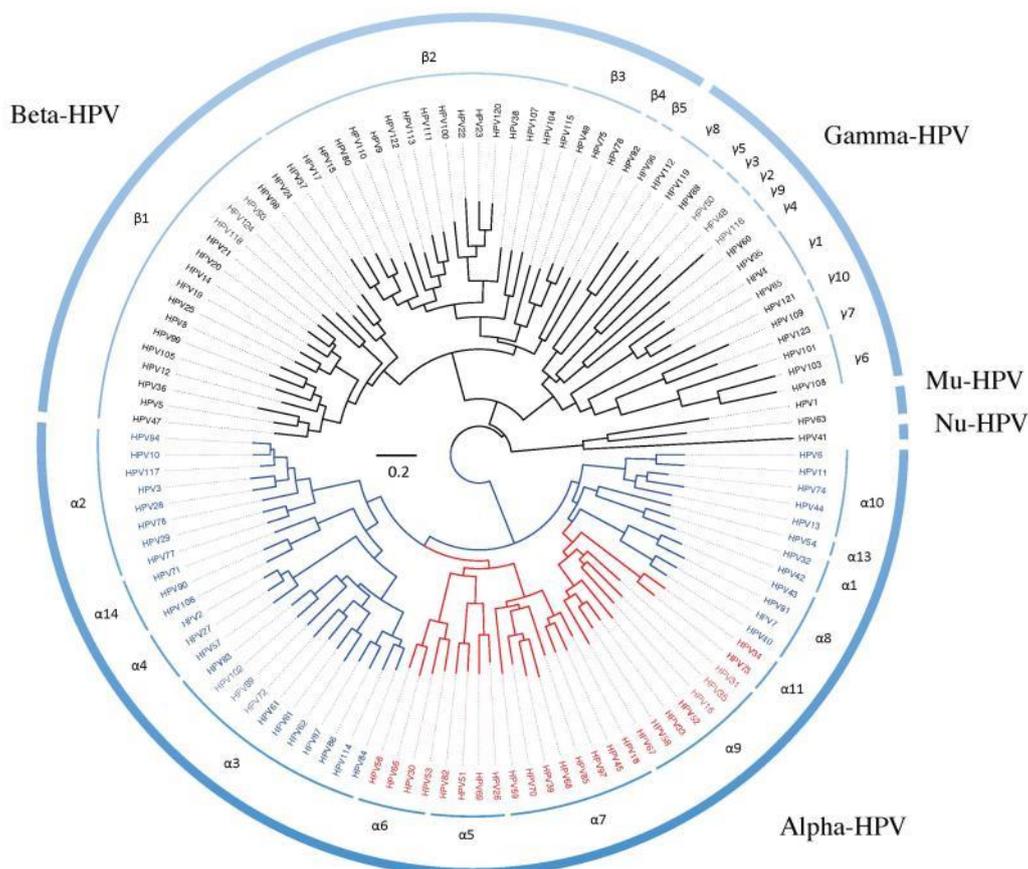


Figura 4. Classificação dos tipos de HPV baseado na sequência de nucleotídeos de proteínas do gene L1 do capsídeo viral. Fonte: HARARI et al, 2014.

Apesar de estarem divididos em diferentes gêneros, o HPV é comumente classificado de acordo com seu potencial oncogênico, podendo ser de alto ou de baixo risco de induzir a formações de lesões malignas (BIRYUKOV; MEYERS, 2015; ZUR HAUSEN, 2002, 2009). Dentre os tipos de alto risco, estão: HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82, 26, 53, 66 e 73. Dentre os tipos de HPV de baixo risco estão: HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72 e, 81 (BURD, 2016; FERRAZ et al., 2012; SOUTO, 2005). Os tipos de HPV do gênero Alfa são vírus que infectam a mucosa epitelial, muitos considerados de alto risco e outros de baixo risco (BURD,

2016). Os tipos de HPV de baixo risco podem causar lesões cutâneas, e outros podem causar somente infecções cutâneas benignas (FERRAZ et al., 2012). Alguns tipos de HPV de alto risco têm sido associados a etiologia do câncer de orofaringe e anogenital. Tipos de HPV pertencentes ao gênero Beta infectam principalmente a pele e não estão associados ao desenvolvimento de lesões precursoras de câncer (BURD, 2016). Dentre eles estão: HPV14, HPV19, HPV20, HPV24, HPV38, HPV35.

2.6 Câncer de Pênis

O câncer de pênis é uma neoplasia cujo tratamento gera efeitos drásticos a saúde física e mental dos pacientes. Ele geralmente tem início com uma pequena lesão na região da glândula, e vai gradativamente se estendendo para o restante do pênis (DO; GIULIANO, 2016). A região inguinal representa o principal sítio de metástase por carcinoma epidermóide de pênis e a extensão de metástase para os linfonodos inguinais constituem o fator prognóstico mais importante relacionado com a sobrevivência dos pacientes (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; DO; GIULIANO, 2016). Possui curso agressivo e progressivo, podendo levar o paciente a óbito em menos de dois anos após o diagnóstico da lesão primária. Estudos realizados em vários países têm estabelecido a relação entre o vírus HPV e o desenvolvimento de alguns subtipos de carcinomas de células escamosas, destacando, também, a patogênese do câncer de pênis através de duas vias principais, uma relacionada a infecção pelo HPV e outra não associada ao vírus (ALEMANY et al., 2016; CUBILLA et al., 2001; CUBILLA; SANCHEZ; JOSE, 2016; VELAZQUEZ; CHAUX; CUBILLA, 2012).

A maioria das neoplasias de pênis são carcinomas escamosos originados no epitélio escamoso que recobre a glândula e o prepúcio, representando mais de 90% dos casos nos Estados Unidos (HERNANDEZ et al., 2008). Outros tipos menos comuns incluem adenocarcinomas, melanomas e sarcoma de Kaposi (CUBILLA; SANCHEZ; JOSE, 2016; HERNANDEZ et al., 2008). Eritroplasia de Queyrat e doença de Bowen são termos usados para carcinoma epidermóide *in situ* e podem acometer a região genital, sendo o primeiro capaz de evoluir para câncer invasivo em 5-10% dos casos e o segundo em 10-33% dos casos (MOSCONI et al., 2005). De acordo com suas características histológicas, as neoplasias penianas podem ser classificadas em verrucoso, basalóide, condilomatoso, papilar, sarcomatóide, adenoescamoso ou misto,

podendo variar os níveis de agressividade e sobrevida dos pacientes (CUBILLA; SANCHEZ; JOSE, 2016; DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016). Os carcinomas de célula escamosa do tipo verrucoso e basalóide são os tipos que estão mais associados a infecção pelo HPV, influenciando assim na progressão do tumor (CUBILLA; SANCHEZ; JOSE, 2016). As lesões no pênis podem ser classificadas em ulcerativas, vegetativas e, verrucosa (RODNEY; MUNEEER, 2016).

O padrão de diferenciação do tumor é realizado pela classificação de Broders, que utiliza informações clínicas e histopatológicas para classificar o tumor em três categorias, podendo ser de grau I, quando está bem diferenciado, ou seja, o tecido apresenta padrão normal de epitélio escamoso; grau II, quando está moderadamente diferenciado e; grau III, quando estão indiferenciados, com predomínio de células imaturas, numerosas mitoses típicas e atípicas, e pouca queratinização (KOIFMAN et al., 2015). Podem ocorrer infiltração em corpo cavernoso, corpo esponjoso, uretra, perineural e estroma (KOIFMAN et al., 2015). Existe elevada correlação entre a profundidade de infiltração do tumor, o grau histológico e presença de metástases para os linfonodos. O padrão infiltrativo se mostra um fator de risco para o acometimento de linfonodos inguinais (CUBILLA et al., 2001; DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016). Tal preocupação com o comprometimento linfonodal inguinal se justifica pelo grande impacto no prognóstico, pois o maior número de linfonodos inguinais afetados pode refletir em maior risco de recidiva e morte pela doença (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; KOIFMAN et al., 2011).

Atualmente o método de estadiamento mais utilizado para o carcinoma de pênis é o TNM 2002 (Tabela 1). Esse sistema permite a avaliação do tumor e dos linfonodos da região inguinal com base no grau de invasão das estruturas penianas pelo tumor primário e a extensão para os linfonodos inguinais (LÓPEZ-ROMERO et al., 2013; REIS et al., 2010a). O sistema TNM observa o tamanho do tumor, o grau de infiltração em profundidade (T), a situação dos linfonodos regionais (N), e a presença ou ausência de metástase à distância (M) (CUBILLA; SANCHEZ; JOSE, 2016; REIS et al., 2010a).

Tabela 1. Sistema de classificação TNM para câncer de pênis. Fonte: Adaptado de AJCC Cancer Staging Manual (2010).

T – Sistema de Classificação TNM	
Tx	Tumor não definido.
T0	Sem evidências de tumor primário.
Tis	Carcinoma in situ (doença de Bowen ou Eritroplasia de Queyrat)
Ta	Carcinoma verrucoso não-invasivo.
T1	Tumor invadindo tecido conjuntivo sub-epitelial.
T2	Tumor invadindo corpo esponjoso ou cavernoso.
T3	Tumor invadindo uretra ou próstata.
T4	Tumor invadindo outras estruturas adjacentes.
N – Situação dos linfonodos	
Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
N0	Ausência de metástase em linfonodos regionais.
N1	Metástase em um único linfonodo regional superficial.
N2	Metástase em linfonodos múltiplos ou bilaterais inguinais superficiais.
N3	Metástase em linfonodos regionais inguinais profundos ou pélvicos, uni ou bilaterais.
M – Metástases	
Mx	Presença de metástase à distância não pode ser avaliada.
M0	Ausência de metástase à distância.
M1	Presença de metástase à distância.

O modelo de Jackson (Tabela 2) também é amplamente utilizado na classificação do câncer peniano, dividindo-o em quatro categorias de acordo com o tamanho e extensão da lesão, mas não leva em conta a profundidade e o comprometimento linfonodal (HERNANDEZ et al., 2008; JACKSON, 1966). Ambos os sistemas são amplamente utilizados e, apesar de o sistema TNM fornecer informações mais detalhadas, o sistema de Jackson ainda é muito utilizado.

Tabela 2. Estadiamento de Jackson. Fonte: JACKSON, 1966.

Estádio	Descrição
Estádio I	Tumor acometendo glândula e prepúcio.
Estádio II	Invasão de corpos cavernosos ou haste peniana, sem gânglios comprometidos ou metástase à distância.
Estádio III	Metástases para linfonodos inguinais.
Estádio IV	Tumor invadindo estruturas adjacentes, presença de massas pélvicas, ou metástase à distância.

Em relação a invasão do tumor, pode-se observar quatro padrões morfológicos de crescimento tumoral que estão relacionados com o prognóstico do paciente com câncer de pênis. Pode apresentar crescimento superficial, com baixa incidência de metástases inguinal; crescimento vertical, observado em tumores invasivos com grande potencial de causar metástases; crescimento verrucoso, associado a tumores com baixo potencial de disseminação e característica de crescimento exofítico, e; crescimento multicêntrico, quando ocorre a formação de duas lesões separadas por tecido benigno geralmente no prepúcio (FAVORITO et al., 2008; REIS et al., 2010a; VELAZQUEZ; CHAUX; CUBILLA, 2012). A superfície do tumor primário também é avaliada, levando-se em consideração a superfície tumoral até o local com maior profundidade da neoplasia (CUBILLA; SANCHEZ; JOSE, 2016). A presença de processo inflamatório pode contribuir para o desenvolvimento do câncer de pênis por ocasionar o aumento de secreções no saco prepucial, causando irritação e fornecendo ambiente propício para o crescimento de microrganismos, principalmente o vírus HPV (DE SOUZA et al., 2011; DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016).

2.7 Epidemiologia e Fatores de Risco do Carcinoma de Peniano

O câncer de pênis é uma neoplasia considerada rara, com estimativa de 22.000 casos anualmente no mundo (FLAHERTY et al., 2014). A incidência é maior em países em desenvolvimento, onde o câncer de pênis pode atingir mais de 10% dos cânceres que afetam homens, como é o caso da África, Ásia e América do Sul (ALEMANY et al., 2016; FLAHERTY et al., 2014). Nos Estados Unidos e Europa, o câncer de pênis varia de 0,4 a 0,7% de todas as neoplasias que acometem homens, já em países africanos pode alcançar até 20% dos casos (MARTINS et al., 2016; SOUSA et al., 2015; VILLA, 2008). A maior incidência ocorre em homens acima de 60 anos com a maioria dos tumores originando-se na glândula ou no prepúcio (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; MCDANIEL et al., 2015). A patologia dominante é o carcinoma de célula escamosa, mas outros casos também são relatados, como basocelulares, e sarcomas (STRATTON; CULKIN, 2016).

No Brasil, o carcinoma de célula escamosa de pênis representa 2% de todos os tipos de câncer em homens, sendo mais frequente nas regiões Norte e Nordeste onde os casos superam os números de câncer de próstata e câncer de bexiga (BRAGA et al., 2011; DE SOUZA et al., 2011; INGLES et al., 2015; ROMERO et al., 2013). A incidência é de 8,3 casos para cada 100.000 habitantes no Brasil, em contraste com Europa e Estados Unidos, onde varia entre 0.1 e 0.7 casos para cada 100.000 habitantes (BRAGA et al., 2011; DOORBAR, 2016; FAVORITO et al., 2008; SOUTO, 2005). No Nordeste, a incidência de câncer de pênis pode chegar a até 5,7%, e 5,3% na região Norte, e está relacionado diretamente com as condições socioeconômicas da população (FAVORITO et al., 2008; SILVA et al., 2014; SOUSA et al., 2015). Dados do Ministério da Saúde indicam que cerca de 850 cirurgias de penectomia parcial ou total são realizadas no Brasil, sendo aproximadamente 50% desses procedimentos realizados nas regiões Norte e Nordeste (BRAGA et al., 2011).

Essa variação geográfica na incidência de casos de câncer de pênis parece estar associada aos fatores de risco associados a doença, como ausência de circuncisão, fimose, tabagismo, obesidade, retenção de esmegma, maus hábitos de higiene e a presença do Papilomavírus Humano (HPV) (MCDANIEL et al., 2015; STRATTON; CULKIN, 2016; TORBRAND et al., 2016). Tais fatores de risco são observados principalmente nas áreas de maior incidência da neoplasia (BRAGA et al., 2011; CHAUX et al., 2013). O câncer de pênis causa elevada morbidade tanto pela doença em si como pelo tratamento, que inclui amputação parcial ou total do pênis (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016). A taxa de mortalidade associada a esta neoplasia varia entre 26 e 41%, mas a detecção precoce da doença pode reduzir essa taxa e permite um tratamento menos agressivo, contribuindo para a melhoria na qualidade de vida do paciente (BRAGA et al., 2011; FAVORITO et al., 2008; JAKOBSEN, 2015). O prognóstico é influenciado pelo grau, estágio do tumor e o envolvimento de linfonodos no momento do diagnóstico (DOORBAR, 2016; TORBRAND et al., 2016). Diferente do câncer cervical, cujo desenvolvimento está intimamente relacionado a presença do HPV, o câncer de pênis pode ou não estar associado a presença do vírus (BRAGA et al., 2011; DO; GIULIANO, 2016). A prevalência geral do HPV em câncer de pênis varia de 22 a 72%. Subtipos de alto risco tem sido detectado em 24 a 65% dos casos de câncer de pênis comparado com 12% nos casos controle (POW-SANG et al., 2010). Especificamente, o câncer de pênis está associado com o HPV 16 em 24% a 95% dos

casos e o HPV 18 em 10% a 55% dos casos (FLAHERTY et al., 2014; POW-SANG et al., 2010).

O status socioeconômico é uma importante ferramenta utilizada para avaliar a saúde da população em países em desenvolvimento, sendo analisado a partir de fatores individuais e comunitários que refletem no acesso aos serviços de saúde e hábitos de vida saudáveis (BENARD et al., 2008). Fatores como renda, educação, local de residência, nível de pobreza e raça podem ser utilizados como indicadores pois influenciam na saúde geral e podem impactar na incidência do câncer e as taxas de mortalidade (BENARD et al., 2008). Alguns estudos sugerem que a circuncisão após o nascimento confere proteção contra o câncer de pênis, e o tabagismo pode aumentar em até 4,5% as chances de desenvolvimento do tumor (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; DO; GIULIANO, 2016). Estudos realizados por Maden (1993) mostrou que em indivíduos que nunca haviam sido circuncidados o risco era 3,2 vezes maior do que nos indivíduos que haviam sido circuncidados ao nascimento e 3 vezes maior que os indivíduos que foram circuncidados durante o período neonatal. Acredita-se que indivíduos não circuncidados apresentam maiores de taxas de retenção de esmegma e, com isso, fornece ambiente favorável para o crescimento de vírus e bactérias (CHAUX et al., 2013; MOSCONI et al., 2005). A circuncisão reduz o risco de infecção por vírus HPV de elevado risco oncogênico e outras doenças sexualmente transmissíveis, mas é controverso se a circuncisão na idade adulta confere a mesma proteção contra o câncer de pênis (MORRISON, 2014). Além disso, fimose ou excesso de prepúcio, baixo nível socioeconômico e maus hábitos de higiene tem se estabelecido como os fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento do câncer de pênis (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; TORBRAND et al., 2016). Estudos realizados por Hellberg et al (1987) em 244 homens com carcinoma de pênis e 232 casos controle indicaram um risco relativo de câncer de pênis entre homens com fimose de 64,6%. Daling et al também detectou que fimose era mais comum em pacientes com câncer de pênis (35,2%) do que nos controles (7%) entre os homens que não haviam sido circuncidados na infância. A presença de verrugas genitais também tem sido reportada como fator de risco para o desenvolvimento do câncer de pênis. Estudo feito por Maden (1993) reportou que o risco de desenvolver câncer de pênis em homens com histórico de verrugas genitais era 5.9 vezes maior do que em homens sem histórico de verrugas. Em países desenvolvidos, com boa higiene e não

circuncidados, a incidência de câncer de pênis é quase a mesma que em homens circuncidados (POW-SANG et al., 2010).

Consequentemente, condições inflamatórias crônicas também tem sido reconhecida como fatores de risco para o câncer de pênis. Condições como balanite e líquen escleroso estão entre os mais frequentes (BRAGA et al., 2011; SONPAVDE et al., 2013). Tais condições inflamatórias são menos frequentes em populações onde a circuncisão neonatal é prática comum, como é o caso em Judeus e Muçumanos (SONPAVDE et al., 2013). Estudo realizado por Barnes (2016) também buscou identificar a relação entre o câncer de pênis e a obesidade. Eles perceberam uma elevada associação do desenvolvimento do câncer de pênis invasivo em indivíduos obesos.

Condições sociodemográficas também estão associados ao aumento no risco do câncer de pênis. Baixa escolaridade e baixa renda tem sido associado com o aumento no risco de câncer de pênis invasivo (TORBRAND et al., 2016). Similarmente, baixas condições de higiene também tem sido relacionado ao desenvolvimento do câncer de pênis, assim como o não uso de preservativo (REIS et al., 2010). Tais hábitos podem promover o acúmulo de sujeiras e favorecer a infecção por HPV e outras doenças sexualmente transmissíveis. Grupos que apresentam maior risco em desenvolver o câncer de pênis estão entre os países em desenvolvimento, onde as condições socioeconômicas são baixas (FAVORITO et al., 2008; REIS et al., 2010; TORBRAND et al., 2016). Além disso, taxas de escolaridade, higiene pessoal e reduzidas taxas de circuncisão são observadas nesses grupos e contribuem para o aumento na infecção pelo vírus HPV e, conseqüentemente, o aumento nas taxas de incidência do câncer de pênis nessas regiões (TORBRAND et al., 2016).

2.8 Vacinação contra o HPV e sua influência na prevenção do câncer

Os tipos considerados de alto risco, principalmente o HPV16 e HPV18, estão intimamente relacionado ao desenvolvimento de câncer cervical, assim como câncer anogenital e câncer de cabeça e pescoço (LEPIQUE; RABACHINI; VILLA, 2009). Nas últimas décadas tem se percebido rápidas evoluções no campo da prevenção contra o vírus HPV com o desenvolvimento de novas tecnologias para

expandir e implementar de forma eficaz as vacinas contra o HPV. Esse esforço se mostra fundamental para a prevenção do câncer, bem como para a erradicação do HPV e diminuição dos casos de infecção por HPV em homens e mulheres. Vacinas profiláticas tem sido desenvolvida no intuito de prevenir a infecção pelo HPV e, assim, reduzir o número de doenças associadas ao vírus.

Duas principais vacinas foram desenvolvidas, uma quadrivalente (Merk Sharp e Dohme 2006) que confere proteção contra os tipos de HPV 6, 11, 16 e 18, e a vacina bivalente (GlaxoSmithKline 2009) que confere proteção contra os tipos HPV 16 e 18. Tais vacinas foram produzidas utilizando a tecnologia recombinante, que utiliza partículas análogas virais (*virus-like particles*) a partir de proteínas do gene viral L1 por ser considerada uma das regiões mais conservadas do genoma do HPV (BURD, 2016; GRAVITT, 2011). Uma vez que a infecção ocorre principalmente por via sexual, a vacina é recomendada para indivíduos que ainda não iniciaram a vida sexual (LEPIQUE; RABACHINI; VILLA, 2009; NADAL; NADAL, 2008).

Inicialmente, a indicação da vacina pelo SUS foi direcionada somente para meninas na faixa etária de 09 a 13 anos e para crianças e jovens de 9 a 26 anos HIV positivos (Ministério da Saúde) (GIULIANO; PALEFSKY; GOLDSTONE, 2012). Isto se dá pelo fato de a chance de sucesso da prevenção contra o HPV ser maior antes do início da atividade sexual (VILLA, 2008; ZARDO et al., 2014). A partir de janeiro de 2017, o Ministério da Saúde passa a disponibilizar a vacina contra o HPV para meninos de 12 a 13 anos. A faixa etária será ampliada, gradativamente, até 2020, quando serão incluídos os meninos com 9 anos até 13 anos (Ministério da Saúde). Atualmente, recomenda-se a vacinação de homens entre 11 e 12 anos (STRATTON; CULKIN, 2016). O na vacinação de homens, conforme recomendado pela CDC, poderá proporcionar benefícios duradouros tanto para homens como para mulheres.

3. JUSTIFICATIVA

O Papilomavírus Humano (HPV) tem sido amplamente associado ao desenvolvimento de neoplasias, sendo responsável por até 60% dos casos de câncer de pênis, 100% dos casos de câncer cervical, 90% dos casos de câncer de ânus, 40% dos casos de câncer de vulva e até 70% dos casos de câncer de orofaringe (WEI et al., 2016). Poucos são os estudos realizados com o intuito de identificar os tipos mais prevalentes de HPV em tumores de pênis por ser ainda um tipo raro de neoplasia. Entretanto, as estimativas têm indicado um aumento no número de casos de câncer de pênis no Brasil, principalmente na região Nordeste e Norte (ALBERO et al., 2013; GIULIANO et al., 2012; ZARDO et al., 2014).

O Nordeste é a região que mais vem sofrendo com o aumento do número de casos de câncer de pênis a cada ano, estando associado principalmente aos baixos índices socioeconômicos e precárias condições de higiene. Atualmente, o número de casos diagnosticados varia de 1,5% a 3,7% por 100 mil habitantes, com estimativas de 36% desses casos serem associados ao HPV 16 e 18 (Cancer Facts & Figures, 2013). Fatores socioeconômicos têm sido reportados na literatura por sua associação com o desenvolvimento do câncer de pênis, entre eles estão a baixa escolaridade, saneamento básico precário, má higiene da região genital, não uso de preservativos, entre outros. A higienização precária do pênis está intimamente ligada ao aumento na retenção de esmegma e a infecção pelo HPV, contribuindo para ao desenvolvimento do câncer de pênis.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

- Identificar a prevalência do Papilomavírus humano em carcinomas penianos em pacientes de São Luís, Maranhão.

4.2 Objetivos específicos

- Analisar os tipos mais prevalentes de HPV nos tumores de pênis;
- Descrever as características sociodemográficas da população estudada e possíveis fatores de risco associados à mesma;
- Determinar possíveis associações existentes entre a infecção pelo HPV e os aspectos clínico – patológicos (estadiamento, grau e tamanho do tumor).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Delineamento do Estudo

Foi realizado um estudo transversal do tipo analítico e prospectivo de série de casos de carcinomas penianos.

5.2 Período e Local do Estudo

A pesquisa foi realizada no período de janeiro de 2014 a novembro de 2016. O método de amostragem foi por conveniência, totalizando 25 casos de indivíduos diagnosticados com carcinoma epidermóide de pênis. As amostras foram coletadas no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB), hospital de referência em oncologia no estado do Maranhão.

5.3 Pacientes

O estudo foi realizado em pacientes submetidos às cirurgias de penectomia parcial ou total no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB). As amostras foram coletadas mediante a autorização e assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para aqueles que concordaram em participar da pesquisa. (Anexo A)

5.3.1 Critérios de Inclusão

Participaram do estudo, pacientes que estiveram em acompanhamento e forneceram termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo A), com idade superior a 18 anos e com diagnóstico de carcinoma epidermóide de pênis.

5.3.2 Critérios de Exclusão

Pacientes que não aceitaram participar da pesquisa.

5.4 Coleta de Dados

Um questionário foi aplicado aos pacientes para coleta dos dados sociodemográficos (Anexo B). Os dados clínicos e patológicos do paciente e do tumor (regiões acometidas, estadiamento clínico, tipo histológico, presença ou ausência de comprometimento linfonodal e evolução clínica) foram obtidas diretamente do prontuário médico dos pacientes.

5.5 Coleta de Amostras

As amostras foram coletadas durante a cirurgia realizada no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB). Um fragmento de tecido tumoral com margem de segurança de 2 cm foi acondicionado em RNA Later (Life Technologies) e armazenado a 4°C. Após 24 horas, a amostra foi retirada do RNA later e armazenada em freezer a -80°C até o uso. Somente material tumoral foi analisado nos experimentos.

5.6 Extração de DNA

A extração do DNA foi realizada a partir de tecido fresco e seguindo protocolo descrito pelo manual de uso do kit Dneasy Blood and Tissue (QIAGEN Ltda, UK). Os tecidos tumorais foram seccionados e depositados em tubos de 2 mL, onde foram ressuspensos em 180µL de tampão ATL e 20µL de Proteinase K. Os tubos foram incubados a 56°C em termomixer por 24h para a lise do tecido. Após a digestão os tubos foram incubados a 90°C por 1 hora em termomixer. Foi adicionado 200µL de Tampão AL e esta foi homogeneizada no vortex por 15s. Em seguida, foi adicionado 200µL de Etanol P.A (Merck, BR) à amostra e esta foi novamente homogeneizada no vortex. A mistura foi transferida para tubo contendo

coluna de sílica (QIAamp MinElute) e centrifugada a 8.000rpm por 2 minutos. Após a centrifugação, a coluna foi reposicionada em um novo tubo coletor, descartando-se o filtrado. Iniciou-se as lavagens utilizando 500µL de Tampão AW1 e centrifugou-se a 8.000rpm por 2 minutos. Novamente a coluna foi posicionada em um novo tubo coletor e descartou-se o filtrado. Foi adicionado 500µL de Tampão AW2 e novamente centrifugado por 8.000rpm por 2 minutos. Novamente foi descartado o tubo coletor contendo o filtrado e a coluna foi reposicionada em tubo de 2mL com tampa. Foi adicionado 100µL de Tampão AE no centro da coluna a qual foi incubada, com tampa fechada, em temperatura ambiente, por 5 minutos. Em seguida, foi centrifugada a 14.000 rpm, durante 4 minutos para a obtenção do DNA.

As amostras foram identificadas e armazenadas a -20°C para posterior utilização nas reações de PCR.

5.7 Quantificação de DNA

O DNA extraído foi quantificado através da leitura de absorvância em espectrofotômetro Nanovue (GE) utilizando comprimento onda igual a 260nm. A pureza do DNA foi verificada a partir da leitura a 280nm, para a detecção de uma eventual contaminação da amostra por proteínas. Quando as relações entre as densidades ópticas, A_{260}/A_{280} , foi entre 1,6 e 1,9 o material foi considerado puro.

5.8 PCR Nested

Para a identificação do DNA do HPV nas amostras de tumores peniano, foi utilizada a técnica de amplificação PCR-Nested. Esta técnica consiste na amplificação do DNA de interesse em dois rounds e utilizando *primers* específicos para cada um. Com a realização de dois rounds de PCR a primeira amplificação é realizada de forma mais abrangente e a segunda reação, que utiliza como produto o amplicon produzido no primeiro round, leva à amplificação de seqüências menores e mais específicas do DNA viral.

O primeiro round utiliza os *primers* PGMY 09 e 11, amplificando seqüências de 450pb da região L1 do DNA viral; no segundo round são utilizados

os *primers* GP+5 e GP+6, que amplificam sequências de 190pb da região L1 do DNA viral (VIDAL et al., 2012). Como controle positivo da reação, utilizamos amostras conhecidamente positivas e, como controle negativo, foi utilizada água.

Tabela 2. Sequência de primers utilizados na reação de PCR Nested para a detecção do vírus HPV nas lesões penianas analisadas. Fonte: Autor Próprio.

Primer		Sequência 5' - 3'
PGMY11	PGMY11-A	GCA CAG GGA CAT AAC AAT GG
	PGMY11-B	GCG CAG GGC CAT AAT AAT GG
	PGMY11-C	GCA CAG GGA CAT AAT AAT GG
	PGMY11-D	GCC CAG GGC CAC AAC AAT GG
	PGMY11-E	GCT CAG GGT TTA AAC AAT GG
PGMY09	PGMY09-F	CGT CCC AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-G	CGA CCT AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-H	CGT CCA AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-Ia	G CCA AGG GGA AAC TGA TC
	PGMY09-J	CGT CCC AAA GGA TAC TGA TC
	PGMY09-K	CGT CCA AGG GGA TAC TGA TC
	PGMY09-L	CGA CCT AAA GGG AAT TGA TC
	PGMY09-M	CGA CCT AGT GGA AAT TGA TC
	PGMY09-N	CGA CCA AGG GGA TAT TGA TC
	PGMY09-Pa	G CCC AAC GGA AAC TGA TC
	PGMY09-Q	CGA CCC AAG GGA AAC TGG TC
	PGMY09-R	CGT CCT AAA GGA AAC TGG TC
	HMB01b	GCG ACC CAA TGC AAA TTG GT
	GP+5/6	GP+5
GP+6		GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C

Para a reação dos *primers* PGMY09/11 a desnaturação inicial ocorreu por 2 minutos a 95°C seguido por 40 ciclos de desnaturação por 40 segundos a 95°C, 40 segundos de anelamento a 55°C, 40 segundos de extensão a 72°C. A reação consistiu em um volume final de 25 µl contendo 10 pmol de cada primer, 2,5µl de tampão 10X, 0,5µl de cloreto de magnésio a 50 Mm, 10 Mm de dNTP e 0,2 µl de Taq Polimerase Platinum (Invitrogen) (COUTLÉE et al., 2002).

O segundo round da reação de PCR Nested foi realizado com os *primers* GP5+/GP6+ com uma desnaturação inicial de 4 minutos a 95°C seguida por 45 ciclos de desnaturação por 45 segundos a 95°C por 1 min, anelamento a

40°C por 1 minuto e extensão por 1 minuto a 72°C. Ao final da reação obteve-se 25 µl de volume, contendo 10 pmol de cada *primer*, 2,5µl de tampão 10X, 1,5µl de cloreto de magnésio a 50 Mm, 10 Mm de dNTP e 0,3 µl de Taq Polimerase Platinum (Invitrogen) (COUPLÉE et al., 2002).

5.9 Visualização dos produtos da PCR

Os produtos das reações foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão TBE 1X. Uma alíquota de 5µL de DNA foi homogeneizada em uma solução de tampão de carregamento (Sigma-Aldrich, USA) e corante 0,1% de Gel Red sendo toda a mistura aplicada no gel. A eletroforese foi realizada por 40 minutos a 5 V/cm² em cuba horizontal (Life Technologies, EUA). Os fragmentos de DNA amplificados foram separados de acordo com o número de pares de bases no gel e visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (BIO-RAD Laboratories, EUA).

5.10 Purificação dos Produtos da PCR

Os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit Genelute PCR Clean Up kit de acordo com o protocolo do fabricante (Sigma-Aldrich, USA). Em cada microtubo foram adicionados 500 µL de tampão de captura a 100 µL do produto da PCR. Esta solução foi transferida para uma coluna *Microspin* com tubo coletor e depois de uma série de lavagens com tampões, foram adicionados ao centro da coluna 25 µL de tampão de eluição. O material foi centrifugado e por fim reservado a -20°C para posterior sequenciamento.

5.11 Sequenciamento Automatizado

A determinação dos genótipos do HPV foi realizada por sequenciamento automatizado do produto de PCR utilizando o sequenciador MegaBACE 1000 (GE Healthcare, UK). As reações foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão

localizado no Centro de Estudos Superiores de Caxias (CESC - UEMA) sob a supervisão do Dr. Elmary da Costa Fraga e Dra. Maria Claudene Barros.

O sequenciamento foi realizado com o kit *ET Dye Terminator Cycle Sequencing kit* (GE Healthcare, UK), de acordo com o protocolo do fabricante. Foram utilizados, em cada reação, 2 µL do produto de PCR purificado, 40 ng dos oligonucleotídeos específicos para o éxon utilizado (senso ou antisenso) e 2 µL do kit *Big Dye*.

5.12 Análise por Bioinformática

Para a análise e alinhamento das sequências de nucleotídeos obtidas no sequenciamento foi utilizado o programa Chromas. Para a confirmação e identificação do tipo do HPV, foi realizada a comparação das sequências nucleotídicas das amostras sequenciadas, submetendo-as ao Banco de Dados Mundial de Nucleotídeos – Gene Bank, utilizando o programa BLAST (NCBI).

5.13 Aspectos Éticos

Este projeto segue as normas da Resolução 466/12 e foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMA tendo parecer positivo sob o nº 1.250.233. Ressalta-se que foi garantido o sigilo, a confiabilidade e a dignidade dos sujeitos da pesquisa, bem como garantida sua autonomia e a defesa de sua vulnerabilidade, conforme Resolução CNS 466/12.

5.14 Análise Estatística

A análise estatística será feita no programa SPSS (versão 17.0). (IBM, Chicago, IL, USA). Inicialmente foi realizada estatística descritiva dos dados por meio de medidas de frequência, média e desvio-padrão. Para a avaliação da relação entre os dados clínico-patológicos e a presença de HPV, foram utilizados o teste

Qui-quadrado e o teste exato de Fisher, sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

A Tabela 4 expressa as características sociodemográficas observadas nos pacientes acometidos pelo câncer de pênis analisados no presente estudo. A maioria dos homens estavam na faixa etária maior que 60 anos (68%), se auto relatavam de cor parda (60%), apresentavam união conjugal estável (64%), possuíam renda baixa de até 1 salário mínimo (56%), eram a maioria analfabetos (52%), residiam em municípios do interior do Estado do Maranhão (80%).

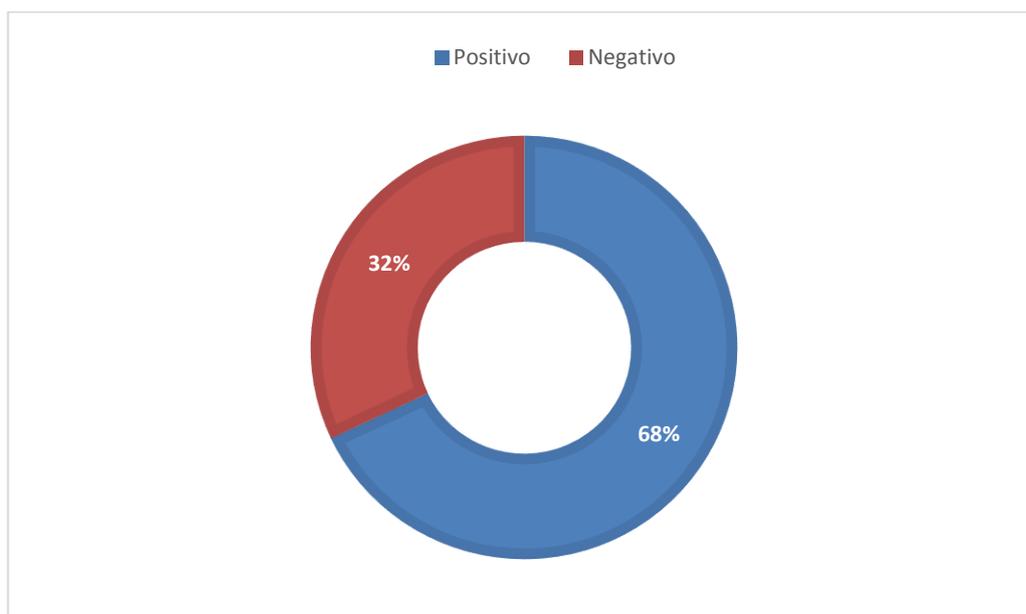


Figura 5. Prevalência do vírus HPV nas amostras de carcinoma peniano analisadas. Fonte: Autor próprio.

A presença do vírus HPV foi detectada na maioria dos casos (68%), como mostra a Figura 5. Dentre os tipos virais de alto risco, estavam presentes os tipos 16, 33, 45 e 52 (Figura 6). O tipo 16 foi o mais prevalente (29%), seguido dos tipos 6

(12%), 45 (6%) e 52 (6%). O HPV 6 foi o único tipo de baixo risco oncogênico encontrado (12%).

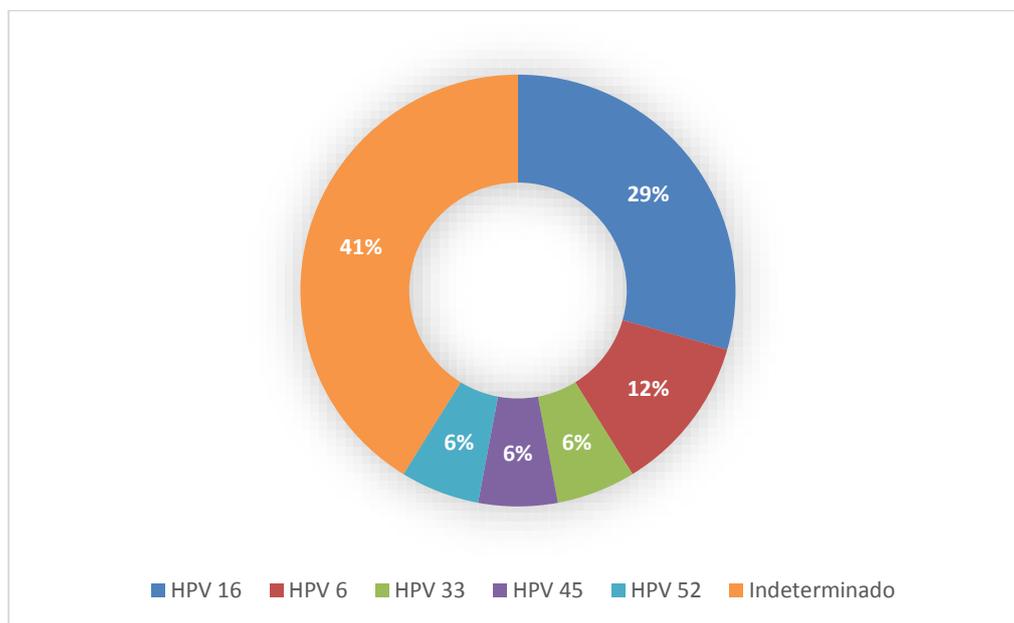


Figura 6. Prevalência de tipos de HPV nas amostras de tumores penianos analisadas.
Fonte: Autor próprio.

A Tabela 5 expressa as características referentes aos hábitos de vida sexual e fatores de risco associados ao câncer de pênis. A maioria dos indivíduos declararam ter realizado o 1º coito antes dos 18 anos (48%) e não terem realizado circuncisão durante a infância (56%). O uso de preservativos não era hábito comum, sendo que 52% declararam nunca ter utilizado durante a atividade sexual. Observou-se também que 56% realizavam sempre a higiene após a relação sexual, 36% sinalizaram a ocorrência de alguma DST prévia e 32% relataram a presença de verrugas genitais.

Tabela 3. Características sociodemográficas dos 25 pacientes estudados diagnósticos de câncer de pênis. Fonte: Autor Próprio.

Variáveis	Total
	n (%)
Faixa etária	
Até 60 anos	8 (32,0)
Maiores que 60 anos	17 (68,0)
Cor da pele	
Branca	5 (20,0)
Parda	15 (60,0)
Preta	5 (20,0)
Estado civil	
Com união estável	16 (64,0)
Sem união estável	7 (28,0)
Sem informação	2 (8,0)
Renda	
> 1 salário mínimo	6 (24,0)
≤ 1 salário mínimo	14 (56,0)
Sem informação	5 (20,0)
Escolaridade	
Analfabeto	13 (52,0)
Até 8 anos de estudo	8 (32,0)
Mais que 8 anos	2 (8,0)
Sem informação	2 (8,0)
Local de residência	
São Luís	4 (16,0)
Interior do Maranhão	20 (80,0)
Sem informação	1 (4,0)
Tabagismo	
Não	8 (32,0)
Ex-tabagista	10 (40,0)
Atual tabagista	5 (20,0)
Sem informação	2 (8,0)
Etilismo	
Não	7 (28,0)
Ex-etilista	13 (52,0)
Atual etilista	3 (12,0)
Sem informação	2 (8,0)

Tabela 4. Características associadas a fatores de risco e hábitos de vida sexual em 25 pacientes com diagnóstico de câncer de pênis. Fonte: Autor Próprio.

Variáveis	Total
	n (%)
Idade do 1º coito	
< 18 anos	12 (48,0)
≥ 18 anos	5 (20,0)
Sem informação	8 (32,0)
Número de parceiros sexuais durante a vida	
Até 10	7 (28,0)
Mais que 10	7 (28,0)
Sem informação	11 (44,0)
Parceiro sexual fixo	
Não	2 (8,0)
Sim	15 (60,0)
Sem informação	8 (32,0)
Circuncisão	
Não	14 (56,0)
Sim	3 (12,0)
Sem informação	8 (32,0)
Uso de preservativo	
Sempre	0 (0)
Às vezes	6 (24,0)
Nunca	13 (52,0)
Sem informação	6 (24,0)
Higiene genital após relação sexual	
Nunca	3 (12,0)
Às vezes	1 (4,0)
Sempre	14 (56,0)
Sem informação	7 (28,0)
Relato de DST prévia	
Não	10 (40,0)
Sim	9 (36,0)
Sem informação	6 (24,0)
Relato de verrugas genitais	
Não	10 (40,0)
Sim	8 (32,0)
Sem informação	7 (28,0)

A Tabela 6 refere-se às regiões acometidas e tipo histológico das lesões penianas nos pacientes estudados. Observou-se que houve predominância da glândula (30,4%) como a região mais afetada pela lesão de câncer peniano na amostra, seguido pela glândula e prepúcio (30,4%). O prepúcio foi afetado somente em 8,6% dos casos. Quanto a classificação histológica, 65,2% dos casos foram do tipo usual, seguido por 8,6% de tipo misto.

Tabela 5. Frequência dos tipos histológicos e região anatômica afetada em 25 pacientes com diagnóstico de câncer de pênis. Fonte: Autor Próprio.

Variáveis	Total	
	n	%
Região anatômica afetada		
Glande	7	30,4
Prepúcio	2	8,6
Glande + Prepúcio	7	30,4
Glande + Haste	2	8,6
Glande + Prepúcio + Haste	2	8,6
Sem informação	3	13,0
Tipo histológico		
Condilomatoso	1	4,3
Verrucoso	1	4,3
Usual	15	65,2
Misto	2	8,6
Sem informação	4	17,3

A Tabela 7 expressa dados clínico-patológicos das lesões penianas analisadas e sua associação com vírus HPV. Não houve diferença estatisticamente significativa, entre a presença de HPV e características histopatológicas da lesão ($P > 0,05$). A lesão ulcerada estava presente em 44% dos pacientes, já as lesões vegetante e verrucosa estavam presentes em 16%, cada. Quanto a classificação de Broders, a maioria dos casos foi classificado como Grau I (36%), seguido pelo Grau II (24%). Com relação ao estadiamento TNM, foi possível analisar somente o componente T, com a maioria classificado como T2 (28%), seguido pelo T1 (20%) e T3 (16%). Quanto a classificação de Jackson, a maioria dos casos foram classificados no estágio II (28%), seguido pelo estágio I (20%) e estágio III (8%).

Tabela 6. Associação entre a infecção pelo HPV e aspectos clínico-patológicos dos pacientes com diagnóstico de câncer de pênis analisados. Fonte: Autor Próprio.

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de P
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
Lesão ulcerada				0,661
Ausente	6 (24,0)	2 (33,3)	4 (66,7)	
Presente	11 (44,0)	4 (36,4)	7 (63,6)	
Sem informação	8 (32,0)	-	-	
Lesão verrucosa				0,554
Ausente	13 (52,0)	5 (38,5)	8 (61,5)	
Presente	4 (16,0)	1 (25,0)	3 (75,0)	
Sem informação	8 (32,0)	-	-	
Lesão vegetante				0,554
Ausente	13 (52,0)	5 (38,5)	8 (61,5)	
Presente	4 (16,0)	1 (25,0)	3 (75,0)	
Sem informação	8 (32,0)	-	-	
Invasão perineural				0,999
Ausente	13 (52,0)	5 (38,5)	8 (61,5)	
Presente	1 (4,0)	0 (0)	1 (100)	
Sem informação	11 (44,0)	-	-	
Invasão angiolinfática				0,272
Ausente	14 (56,0)	4 (28,6)	10 (71,4)	
Presente	3 (12,0)	2 (66,7)	1 (33,3)	
Sem informação	8 (32,0)	-	-	
Classificação de Broders				0,076
Grau I	9 (36,0)	5 (55,6)	4 (44,4)	
Grau II	6 (24,0)	0 (0)	6 (100)	
Grau III	4 (16,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	
Sem informação	6 (24,0)	-	-	
Componente T (TNM)				0,614
T1	5 (20,0)	1 (20,0)	4 (80,0)	
T2	7 (28,0)	2 (28,6)	5 (71,4)	
T3	4 (16,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	
Sem informação	9 (36,0)	-	-	
Classificação de Jackson				0,116
Estágio I	5 (20,0)	1 (20,0)	4 (80,0)	
Estágio II	7 (28,0)	2 (28,6)	5 (71,4)	
Estágio III	2 (8,0)	2 (100)	0 (0)	
Sem informação	11 (44,0)	-	-	

Valor de probabilidade calculado através do teste Exato de Fisher ou Qui-quadrado.

Com relação ao tamanho do tumor, não houve diferenças estatisticamente significantes na média do tamanho da lesão ($P = 0,794$) entre os grupos com HPV negativo ($3,52 \pm 2,49$) ou positivo ($3,23 \pm 2,25$) como observado na Tabela 8.

Tabela 7. Associação entre a presença do HPV e o tamanho da lesão peniana em pacientes com diagnóstico de câncer de pênis. Fonte: Autor Próprio.

Tamanho de lesão	Detecção de HPV		Valor de P
	Negativo	Positivo	
Média	3,52	3,23	0,794
± desvio-padrão	±2,49	±2,25	

Teste T de Student.

7. DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que os pacientes analisados eram, em sua maioria, maiores que 60 anos de idade, corroborando com dados da literatura de que o câncer de pênis é mais prevalente em homens acima da sexta década de vida (CHAUX et al., 2013; REIS et al., 2010b). O perfil socioeconômico dos pacientes avaliados foram indivíduos autodeclarados pardos, com renda inferior a um salário mínimo, de baixa escolaridade e residentes no interior do estado do Maranhão. Esses dados também corroboram com dados da literatura, de que o câncer de pênis acomete principalmente regiões com elevada taxa de pobreza (FLAHERTY et al., 2014; HERNANDEZ et al., 2008; TORBRAND et al., 2016). Estudos realizados por Hernandez (2008) indicaram que o risco de desenvolver câncer de pênis é 43% maior entre homens de municípios com mais de 20% de pobreza do que em municípios com até 10% de pobreza. Estudo realizado por Torbrand (2016) indicam que a baixa escolaridade e a baixa renda estão associadas com o aumento no risco de desenvolver o câncer de pênis. Outro estudo realizado nos Estados Unidos por Bernard *et al* (2008) examinaram a associação entre o perfil socioeconômico do município e o risco de desenvolver câncer relacionado ao HPV. Eles perceberam que baixa escolaridade, baixa renda, elevada pobreza e residência rural estavam todos associados ao aumento no risco de desenvolver o câncer de pênis. O diagnóstico e o tratamento do câncer de pênis são geralmente realizados tardiamente, resultando na rápida progressão da doença para estágios avançados. Isso se dá, principalmente, por medo ou por falta de conhecimento acerca dos riscos da doença, além da dificuldade de obter tratamento em virtude de a maioria dos casos acometerem indivíduos de regiões de elevada pobreza. A demora na procura por atendimento está fortemente associado com o nível de invasão do tumor e a ocorrência de metástases, traduzindo-se em um prognóstico ruim para os pacientes (FAVORITO et al., 2008). A maioria dos pacientes (64%) reportaram que já fizeram ou fazem uso de álcool durante a vida. Também foi reportado que 60% já fizeram ou fazem uso de tabaco (Tabela 4). Estes já foram estabelecidos na literatura como fatores de risco para o desenvolvimento de diversos cânceres, entre eles o câncer de pênis (FAVORITO et al., 2008; TORBRAND et al., 2016). Koifman (2011) também identificou que entre os pacientes acometidos pelo câncer de pênis no Brasil, mais de 50% eram fumantes ativos (mais de 10 cigarros por dia). Sabe-se

que há relação entre a dose diária de cigarros com a ocorrência de câncer de pênis. Estudos tem demonstrado que pacientes fumantes ativos possuem risco significativamente aumentado do que pacientes que fumam uma quantidade menor por dia (DALING et al., 2005).

Com relação aos hábitos de vida sexual, 52% indicaram nunca ter utilizado preservativo durante a relação sexual, 24% relataram usar algumas vezes. Por se tratarem, em sua maioria, de indivíduos residentes no interior, o acesso a preservativos e a consciência da importância que este representa na prevenção de diversas doenças sexualmente transmissíveis não são estimulados, aumentando o risco de contágio do HPV e outras DSTs. Além disso, também foi relatado a presença de DSTs prévias (36%) e de verrugas genitais (32%), podendo também estar associado ao não uso do preservativo. A associação entre a presença de doenças sexualmente transmissíveis e o câncer de pênis pode ser pelo fato de pacientes com DSTs apresentarem maior número de parceiros sexuais, aumentando também o risco de infecção pelo HPV (KOIFMAN et al., 2011).

Em nosso estudo, também foi detectado que 56% dos homens não haviam realizado circuncisão em algum momento da vida. A ausência de circuncisão está intimamente associada ao surgimento de fimose, caracterizado pela incapacidade de retração do prepúcio e exposição total da glândula, dificultando a limpeza adequada do pênis (DALING et al., 2005). Estudo realizado por Chaux (2013) em 103 pacientes acometidos pelo câncer de pênis identificou que apenas 10% dos pacientes foram submetidos ao procedimento de circuncisão, a maioria dos pacientes reportaram moderado a poucos hábitos de higiene genital e um histórico prévio de DSTs em 76% dos pacientes. Em estudo realizado por Koifman (2011) em 230 pacientes residentes no Brasil e diagnosticados com câncer de pênis, apenas 20% dos indivíduos eram circuncidados. A prática de circuncisão neonatal tem sido reportada como prática preventiva contra o câncer de pênis em algumas regiões, e tal proteção pode ser percebida entre os judeus, que praticam a circuncisão de forma universal e, assim, apresentam uma taxa de câncer de pênis quase nula (KOIFMAN et al., 2011).

A região do pênis mais acometida em nosso estudo foi a glândula, afetando 30% dos pacientes, independente da presença do vírus HPV (Tabela 6). A

glande e prepúcio associada obtiveram segunda maior incidência, presente também em 30% dos casos. Estudos semelhantes também demonstram essas regiões como as mais acometidas pelo câncer de pênis (BRAGA et al., 2011; FAVORITO et al., 2008). Estudo realizado por Chaux (2013) em 103 pacientes com câncer de pênis no Paraguai também observaram a glândula e o prepúcio como as regiões anatômicas mais afetadas, tanto em homens infectados como em homens não infectados pelo HPV. Com relação ao tipo histológico, houve predominância do tipo usual em 65% dos casos, seguido pelo tipo misto em 8,6% dos casos. Outros estudos também encontraram dado semelhante. Chaux (2011) em 121 casos de câncer peniano identificou a prevalência do subtipo usual em 52% dos casos, seguido pelo subtipo misto (verrucoso e basalóide) em 15% dos casos. Um estudo retrospectivo de 61 pacientes com câncer epidermóide de pênis realizado por Cubilla (2001) identificou o subtipo usual em 59% dos casos, o subtipo basalóide e condilomatoso em 10% dos casos, cada. Apesar de o subtipo basalóide estar mais associado a infecção por HPV, o mesmo não foi identificado em nosso estudo. O subtipo verrucoso foi encontrado em apenas um paciente. Apesar de os tumores de pênis estarem associados ao Papilomavírus Humano (HPV), outros fatores podem influenciar no desenvolvimento do tumor, bem como hábitos de higiene genital e vida sexual (CUBILLA et al., 2001; HERNANDEZ et al., 2008).

No contexto do HPV, houve uma elevada prevalência do vírus (68%) em amostras tumorais de pênis. Tal achado corrobora com outros estudos que evidenciam a presença do vírus variando entre 60 e 80% dos casos de câncer de pênis (DIORIO; LEONE; SPIESS, 2016; DO; GIULIANO, 2016). Em estudo realizado por Chaux (2013) em amostras de tecido tumoral fresco de 103 pacientes paraguaios diagnosticados com câncer de pênis, detectou-se a presença do HPV em 36% das amostras de tecido analisadas. Steinestel (2015), em um estudo de 58 amostras de tecido parafinado de pacientes com média de 64,5 anos e tratados cirurgicamente por câncer de pênis, detectou a presença de subtipos de HPV de alto risco em 29,3% dos casos. Entretanto, um estudo realizado por Vyas (2016) em amostras de lesões genitais de 352 pacientes residentes no Brasil, Estados Unidos e México, 88% dos casos apresentavam a infecção pelo HPV. Não se sabe ao certo se as diferenças em prevalência entre estudos se deve a uma real variação entre

populações ou se isso se deve a diferenças no tipo de amostra ou metodologia usada (ALEMANY et al., 2016; WEI et al., 2016).

Pela técnica de sequenciamento automático, detectou-se a presença do HPV 16 em 29% dos casos, seguido pelos tipos 33 (6%) e 45 (6%), todos considerados de elevado risco oncogênico. Entretanto, 41% das amostras obtiveram resultado indeterminado, não sendo possível identificar o tipo de HPV nessas amostras. Alemany (2016) descreveram a prevalência do HPV em tumores penianos e lesões pré-cancerosas em um estudo envolvendo 25 países e 1095 pacientes. Foi detectado a presença do HPV 16 em 79,6% dos indivíduos com lesão intraepitelial e 68,7% dos casos de câncer invasivo. Além disso, dos tipos considerados de alto risco, os tipos HPV 16 e 18 juntos chegaram a 70% dos casos de câncer invasivo (ALEMANY et al., 2016). A incidência de câncer de pênis e lesões precursoras tem aumentado ao longo da última década e o autor sugere que a elevada prevalência do vírus HPV, assim como a baixa taxa de indivíduos circuncidados podem ser os principais fatores de risco (ALEMANY et al., 2016). Os tipos de alto risco oncogênico, principalmente os tipos 16 e 18, são considerados os agentes etiológicos primários para o câncer cervical e lesões pré-cancerosas em mulheres (WENTZENSEN et al., 2016). Eles também estão associados a lesões precursoras e carcinomas de células escamosas no trato anogenital de homens (VYAS et al., 2016). O HPV 6 foi o único de baixo risco encontrado em nosso estudo (12%) e está associado ao desenvolvimento de verrugas genitais benignas. Esse resultado reforça os potenciais benefícios das vacinas contra o HPV na redução dos casos de lesão neoplásica de pênis e outros cânceres associados ao HPV, pois os tipos mais prevalentes identificados neste estudo corroboram os dados da literatura e são contemplados na vacina tetravalente.

Em nosso estudo também avaliamos a correlação entre a presença do HPV e características histopatológicas nos casos de câncer de pênis, mas não houveram diferenças estatisticamente significativas para as variáveis analisadas ($P > 0,05$), como morfologia predominante e grau de estadiamento. Tais resultados corroboram com outros estudos que não encontraram relação do HPV com tais variáveis (ALEMANY et al., 2016; CASTELLSAGUÉ et al., 2009; DO et al., 2013; FÉLEZ-SÁNCHEZ et al., 2016). Em estudo realizado por Chaux (2013) em 103 pacientes com câncer de pênis, não encontraram diferenças significativas entre o

grau de estadiamento das lesões penianas e a presença do HPV. Entretanto, pode-se perceber que 28% dos pacientes apresentaram estágio T2 para a classificação TNM, ou seja, com tumor avançado e invadindo corpo cavernoso ou esponjoso (Tabela 7). Na classificação de Broders, houve prevalência do grau I (36%) e grau II (24%). Estudo de Koifman (2011) relatou a prevalência de homens em estágio II (56,9%) e estágio I (37,8%). Quanto a classificação de Jackson, 28% foram classificados no estágio II e 20% estavam em estágio I. Percebe-se que houve uma prevalência dos tumores em estágios iniciais nos três sistemas de classificação, o que difere dos dados observados na literatura (CHAUX et al., 2013; FAVORITO et al., 2008; KOIFMAN et al., 2011; MARTINS et al., 2016). Este fato pode ser devido a ausência de informações nos prontuários e laudos de alguns pacientes, refletindo em subidentificação de algumas variáveis. Além disso, o tamanho amostral de nosso estudo pode não ter sido suficiente para evidenciar uma associação entre o HPV e as variáveis histopatológicas, por se tratar de apenas 25 pacientes acometidos pelo câncer de pênis. O seguimento deste estudo será o alargamento do tamanho amostral para posteriores análises. Em relação a morfologia da lesão, predominou-se o tipo ulcerada (44%), seguida pelos tipos vegetante e verrucosa (ambas com 16%). Este dado também é corroborado pela literatura, que indica a morfologia ulcerada presente na maioria dos casos de câncer de pênis (BRAGA et al., 2011; CHAUX et al., 2013).

A associação entre o tamanho das lesões e a presença do vírus HPV também foi realizado. A média de tamanho da lesão peniana foi de 3,52 para os indivíduos negativos para o HPV e 3,23 para os positivos para o HPV, demonstrando que não houve diferença estatisticamente significativa entre a presença do HPV e o tamanho do tumor ($p=0,794$) como indicado na Tabela 8. Esse dado também corrobora com dados da literatura, que indicam a predominância de tumores penianos variando de 2,1 a 5,0cm, mas não foi observado associações entre o tamanho da lesão e a presença do HPV (BRAGA et al., 2011; FAVORITO et al., 2008; SOUSA et al., 2015).

É necessário o desenvolvimento de novos estudos para que se possa entender a origem e progressão do câncer, bem como a relação entre o HPV e o desenvolvimento de lesões precursoras tumorais. A vacinação se mostra uma importante ferramenta no intuito de reduzir a infecção pelo HPV na população em

geral e, conseqüentemente, reduzir a incidência de diversos tipos de câncer relacionado ao HPV em homens e mulheres. Por conferir proteção contra os principais tipos de alto risco oncogênico (HPV 16 e 18) e os dois mais prevalentes em verrugas genitais (HPV 6 e 11), espera-se que estes sejam reduzidos ao longo do tempo. Ao incluir os homens no calendário de vacinação do Sistema Único de Saúde (SUS) permite-se também diminuir a transmissão do HPV para mulheres e, assim, contribuir para a redução dos casos de câncer cervical.

Por ser uma doença de rápida progressão e o tratamento geralmente consistir de penectomia parcial ou total, deve-se estimular os homens a realizar a higienização adequada do pênis e incentivar a visita ao médico antes que a doença alcance estágios avançados. A conscientização sobre as formas de prevenção contra o HPV e os fatores de risco associados ao câncer de pênis devem ser incentivados principalmente em regiões de baixo índice socioeconômico, a fim de informar a população e contribuir para a redução dos casos da doença nessas regiões.

8. CONCLUSÃO

- ✓ Prevalência de 68% de infecção por HPV nas amostras analisadas
- ✓ Prevalência do HPV 16, de elevado risco oncogênico, em 29% dos casos
- ✓ Maioria dos pacientes eram maiores de 60 anos (68%), apresentavam união conjugal estável, renda inferior a 1 salário mínimo, eram analfabetos e residiam no interior do estado do Maranhão
- ✓ Maioria relataram não ter realizado circuncisão, nunca ter utilizado preservativo e realizar frequentemente a higienização da região genital
- ✓ Região do pênis mais acometida foi glândula e prepúcio e o tipo histológico predominante foi o subtipo usual.
- ✓ Não houveram diferenças estatisticamente significativas entre a infecção pelo HPV e os dados histopatológicos do tumor

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO, L. A. et al. Infection / Inflammation High Risk Human Papillomavirus Infection of the Foreskin in Asymptomatic Men and Patients with Phimosis. **Infection/Inflammation**, v. 195, p. 1784–1789, 2016.
- AKOGBE, G. O. et al. Race and prevalence of human papillomavirus infection among men residing in Brazil, Mexico, and the United States. **International Journal of Cancer**, v. 131, n. 3, p. 1–18, 2013.
- ALBERO, G. et al. Male circumcision and prevalence of genital human papillomavirus infection in men : a multinational study. **BMC Cancer**, v. 13, n. 18, p. 1–10, 2013.
- ALEMANY, L. et al. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. **European Urology**, v. 69, p. 953–961, 2016.
- ANACKER, D. C.; MOODY, C. A. Modulation of the DNA Damage Response During the Life Cycle of Human Papillomaviruses. **Virus Research**, 2016.
- BANSAL, A.; SINGH, M. P.; RAI, B. Human papillomavirus-associated cancers: A growing global problem Biology of Human Papilloma. **International Journal of Applied and Basic Medical Research**, v. 6, n. 2, p. 84–89, 2016.
- BARNES, K. T. et al. Obesity is associated with increased risk of invasive penile cancer. **BMC Urology**, v. 16, n. 42, p. 7–10, 2016.
- BENARD, V. B. et al. Examining the association between socioeconomic status and potential human papillomavirus-associated cancers. **Cancer**, v. 113, n. 10 SUPPL., p. 2910–2918, 2008.
- BIRYUKOV, J.; MEYERS, C. Papillomavirus infectious pathways: A comparison of systems. **Viruses**, v. 7, n. 8, p. 4303–4325, 2015.
- BRAGA, F. et al. Squamous cell carcinoma of the penis : clinicopathologic. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1082–1091, 2011.
- BROTHERTON, J. M. L. et al. Early effect of the HPV vaccination programme on cervical abnormalities in Victoria, Australia: An ecological study. **The Lancet**, v. 377, n. 9783, p. 2058–2092, 2011.
- BROTHERTON, J. M. L.; OGILVIE, G. S. Current status of human papillomavirus vaccination. **Current opinion in oncology**, v. 27, n. 5, p. 399–404, 2015.

BURD, E. M. Human Papillomavirus Laboratory Testing: the Changing Paradigm. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 29, n. 2, p. 291–319, 2016.

BURK, R. D.; CHEN, Z.; VAN DOORSLAER, K. Human papillomaviruses: Genetic basis of carcinogenicity. **Public Health Genomics**, v. 12, n. 5–6, p. 281–290, 2009.

CAMARA, G. N. N. DE L. et al. Os papilomavírus humanos – HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 149–158, 2008.

CAMPBELL, C. M. P. et al. Consistent Condom Use Reduces the Genital Human Papillomavirus Burden Among High- Risk Men : The HPV Infection in Men Study. **Journal of Infectious Diseases**, v. 208, p. 373–384, 2013.

CASTELLSAGUÉ, X. et al. HPV vaccination against cervical cancer in women above 25 years of age: Key considerations and current perspectives. **Gynecologic Oncology**, v. 115, n. 3 SUPPL., p. S15–S23, 2009.

CASTLE, P. E.; MAZA, M. Prophylactic HPV vaccination: past, present, and future. **Epidemiology and Infection**, v. 144, n. 3, p. 449–468, 2016.

CHATURVEDI, A. K. Beyond Cervical Cancer: Burden of Other HPV-Related Cancers Among Men and Women. **Journal of Adolescent Health**, v. 46, n. 4 SUPPL., p. S20–S26, 2010.

CHAUX, A. et al. Epidemiologic Profile, Sexual History, Pathologic Features, and Human Papillomavirus Status of 103 Patients with Penile Carcinoma. **World Journal of Urology**, v. 31, n. 4, p. 861–867, 2013.

COUTLÉE, F. et al. Use of PGM1 Primers in L1 Consensus PCR Improves Detection of Human Papillomavirus DNA in Genital Samples Use of PGM1 Primers in L1 Consensus PCR Improves Detection of Human Papillomavirus DNA in Genital Samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 902–907, 2002.

CUBILLA, A. L. et al. Histologic classification of penile carcinoma and its relation to outcome in 61 patients with primary resection . **International Journal of Surgical Pathology** , v. 9, n. 2, p. 111–120, 2001.

CUBILLA, B. A. L.; SANCHEZ, D. F.; JOSE, M. The Variegated Morphology of HPV-Related Neoplasms of the Penis. **Cancer Network**, v. 30, n. 3, p. 2–6, 2016.

DALING, J. R. et al. Penile cancer: Importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in in situ and invasive disease. **International Journal of Cancer**, v. 116, n. 4, p. 606–616, 2005.

DE LIMA, M. A. P.; DA SILVA, C. G. L.; RABENHORST, S. H. B. Papel das Proteínas Precoces do Papilomavírus Humano na Carcinogênese. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 59, n. 4, p. 565–573, 2013.

DE SOUZA, K. W. et al. Estratégias de prevenção para câncer de testículo e pênis: revisão integrativa. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 45, n. 1, p. 277–282, 2011.

DIORIO, G. J.; LEONE, A. R.; SPIESS, P. E. Management of Penile Cancer. **Urology**, v. 96, p. 15–21, 2016.

DO, G. J. D.; GIULIANO, A. R. The Role of Human Papilloma Virus in Penile Carcinogenesis and Preneoplastic Lesions A potencial target for vaccination and treatment strategies. **Urologic Clinics of NA**, v. 43, n. 4, p. 419–425, 2016.

DO, H. T. T. et al. The etiologic role of human papillomavirus in penile cancers : a study in Vietnam. **British Journal of Cancer**, v. 108, p. 229–233, 2013.

DOORBAR, J. Model systems of human papillomavirus-associated disease. **Journal of Pathology**, v. 238, n. 2, p. 166–179, 2016.

DOORBAR, J. et al. Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Reviews in Medical Virology**, v. 25, p. 2–23, 2016.

FAVORITO, L. A. et al. Epidemiologic Study on Penile Cancer in Brazil. **International Brazilian Journal Of Urology**, v. 34, n. 5, p. 587–593, 2008.

FÉLEZ-SÁNCHEZ, M. et al. Infection , Genetics and Evolution Searching beyond the usual papillomavirus suspects in squamous carcinomas of the vulva , penis and head and neck. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 45, p. 198–204, 2016.

FELLER, L. et al. Epithelial maturation and molecular biology of oral HPV. **Infectious Agents and Cancer**, v. 4, n. 16, p. 1–9, 2009.

FERRAZ, L. D. C. et al. Ciclo celular , HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical : seleção de marcadores biológicos. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 30, n. 2, p. 107–111, 2012.

FLAHERTY, A. et al. Implications for human papillomavirus in penile cancer. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 32, n. 1, p. 53.e1-53.e8, 2014.

GANGULY, N.; PARIHAR, S. P. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. **Journal of Biosciences**, v. 34, n. 1, p. 113–123, 2009.

GIULIANO, A.; PALEFSKY, J.; GOLDSTONE, S. Efficacy of Quadrivalent HPV vaccine

against HPV infection and disease in males. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 5, p. 401–411, 2012.

GIULIANO, A. R. et al. Circumcision and Sexual Behavior: Factors Independently Associated with Human Papillomavirus (HPV) Detection among Men in The HIM Study. **International Journal of Cancer**, v. 124, n. November 2007, p. 1251–1257, 2012.

GRABOWSKI, M. K. et al. Partner Human Papillomavirus Viral Load and Incident Human Papillomavirus Detection in Heterosexual Couples. **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, p. 948–956, 2016.

GRAVITT, P. E. The known unknowns of hpv natural History. **Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 12, p. 4599, 2011.

GRIFFIN, H.; DOORBAR, J. Detection of Papillomavirus Gene Expression Patterns in Tissue Sections. **Current Protocols in Microbiology**, n. May, p. 14B.7.1-14B.7.20, 2016.

HARARI, A.; CHEN, Z.; BURK, R. D. HPV Genomics: Past, Present and Future. **Current Problems in Dermatology**, v. 45, p. 1–18, 2015.

HELLBERG, D. et al. Penile cancer: is there an epidemiological role for smoking and sexual behaviour? **British medical journal (Clinical research ed.)**, v. 295, n. 6609, p. 1306–8, 1987.

HERNANDEZ, B. Y. et al. Burden of invasive squamous cell carcinoma of the penis in the United States, 1998-2003. **Cancer**, v. 113, n. 10, p. 2883–2891, 2008.

HONG, S.; LAIMINS, L. A. Manipulation of the innate immune response by human papillomaviruses. **Virus Research**, 2016.

INGLES, D. J. et al. Human Papillomavirus Virus (HPV) Genotype- and Age-Specific Analyses of External Genital Lesions Among Men in the HPV Infection in Men (HIM) Study. **Journal of Infectious Diseases**, v. 211, p. 1060–1067, 2015.

JACKSON, S. M. Treatment of Carcinoma of the Penis. **British Journal of Surgery**, v. 53, n. 1, p. 33–35, 1966.

JAKOBSEN, J. K. A urologist ' s contemporary guide to penile cancer. **Scandinavian Journal of Urology**, v. 1805, p. 7–12, 2015.

JOURA, E. A. et al. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. **The New England journal of medicine**, v. 372, n. 8, p. 711–23, 2015.

KOIFMAN, L. et al. Epidemiological aspects of penile cancer in Rio de Janeiro: Evaluation of

230 cases. **International Braz J Urol**, v. 37, n. 2, p. 231–240, 2011.

KOIFMAN, L. et al. Proteomics analysis of tissue samples from patients with squamous cell carcinoma of the penis and positive to human papillomavirus. **International Brazilian Journal Of Urology**, v. 41, n. 4, p. 642–654, 2015.

KOSS, L. G.; DURFEE, G. R. Unusual Patterns of Squamous Epithelium of the Uterine Cervix: Cytologic and Pathologic Study of Koilocytic Atypia. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 63, p. 1245–1261, 1956.

LEPIQUE, A. P.; RABACHINI, T.; VILLA, L. L. HPV vaccination : the beginning of the end of cervical cancer ? - A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104, n. February, p. 1–10, 2009.

LETO, M. DAS G. P. et al. biologia molecular e manifestações clínicas * clinical manifestations. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 2, p. 306–317, 2011.

LI, W. J. et al. Characteristics of Carcinogenic Human Papillomavirus Infection in Suzhou : Epidemiology , Vaccine Evaluation , and Associated Diseases. **Journal of Medical Virology**, 2016.

LÓPEZ-ROMERO, R. et al. HPV frequency in penile carcinoma of Mexican patients : important contribution of HPV16 European variant. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 6, n. 7, p. 1409–1415, 2013.

MADEN C, ET AL. History of Circumcision , Medical Conditions , and Sexual Activity and Risk of Penile Cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 85, n. 15, 1993.

MANNWEILER, S. et al. Two major pathways of penile carcinogenesis : HPV-induced penile cancers overexpress p16 ink4a , HPV-negative cancers associated with dermatoses express p53 , but lack p16 ink4a overexpression. **Journal of American Dermatology**, v. 69, n. 1, p. 73–81, 2013.

MARTINS, T. R. et al. HPV genotype distribution in Brazilian women with and without cervical lesions : correlation to cytological data. **Virology Journal**, v. 13, n. 138, p. 1–9, 2016.

MCDANIEL, A. S. et al. Genomic Profiling of Penile Squamous Cell Carcinoma Reveals New Opportunities for Targeted Therapy. **American Association for Cancer Research**, v. 75, n. 24, p. 5219–5228, 2015.

MORRISON, B. F. Risk Factors and Prevalence of Penile Cancer. **West Indian Medical Journal**, v. 63, n. 6, p. 559–560, 2014.

MOSCONI, A. M. et al. Cancer of the penis. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v.

53, p. 165–177, 2005.

NADAL, L. R. M.; NADAL, S. R. Indicações da Vacina Contra o Papilomavirus Humano
Indications for Human Papillomavirus Vaccination. **Revista Brasileira de Coloproctologia**,
v. 28, p. 124–126, 2008.

POW-SANG, M. R. et al. Epidemiology and natural history of penile cancer. **Urology**, v. 76,
n. SUPPL. 2, p. S2–S6, 2010.

REIS, A. A. DA S. et al. Aspectos clínico-epidemiológicos associados ao câncer de pênis
Clinico-epidemiological aspects associated with penile cancer. **Ciencia & Saude Coletiva**,
v. 15, n. 1, p. 1105–1111, 2010a.

REIS, A. A. DA S. et al. Infecção viral e os estudos moleculares dos carcinomas associados
ao Papolimavírus Humano. **Estudos**, v. 37, p. 607–624, 2010b.

RIVOIRE, W. A. et al. Bases Biomoleculares da Oncogenese Cervical. **Revista Brasileira
de Cancerologia**, v. 47, n. 2, p. 179–84, 2001.

RODNEY, B. S.; MUNEEER, A. HPV and Penile Cancer: Perspectives on the Future
Management of HPV-Positive Disease. **Cancer Network**, v. 30, n. 3, p. 250–252, 2016.

ROMERO, F. R. et al. Prevalence and risk factors for penile lesions / anomalies in a cohort
of Brazilian men ≥ 40 years of age. **IBJU**, v. 39, n. 1, p. 55–62, 2013.

SCHEINER, M. A. et al. Human papillomavirus and penile cancers in Rio de Janeiro, Brazil:
HPV typing and clinical features. **International Brazillian Journal of Urology**, v. 34, n. 4, p.
467–474, 2008.

SHABBIR, M. et al. Primary prevention and vaccination for penile cancer. **Therapeutic
Advances in Urology**, v. 5, n. 3, p. 161–169, 2013.

SHOPE, B. R. E.; HURST, B. E. W. Infectious Papillomatosis of Rabbits. **Journal of
Experimental Medicine**, v. 58, n. 603, 1933.

SILVA, R. S. et al. Aspectos demográficos e epidemiológicos da mortalidade por câncer no
pênis. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 27, n. 1, p. 44–47, 2014.

SMITH, J. S. et al. Prevalence and risk factors of Human Papillomavirus infection bt penile
site in uncircumcised Kenyan men. **International Journal of Cancer**, v. 126, n. 2, p. 572–
577, 2010.

SONGOCK, W. K.; KIM, S.; BODILY, J. M. The human papillomavirus E7 oncoprotein as a
regulator of transcription. **Virus Research**, 2016.

SONPAVDE, G. et al. Penile cancer: Current therapy and future directions. **Annals of Oncology**, v. 24, n. 5, p. 1179–1189, 2013.

SOUSA, I. D. B. DE et al. Prevalence of human papillomavirus in penile malignant tumors : viral genotyping and clinical aspects. **BMC Urology**, v. 15, n. 13, p. 1–6, 2015.

SOUTO, R. ET AL. O Papilomavírus Humano : um fator relacionado com a formação de neoplasias. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 2, p. 155–160, 2005.

SPIESS, P. E. et al. Pathophysiological Basis of Human Papillomavirus in Penile Cancer : Key to Prevention and Delivery of More Effective Therapies Pathophysiological Basis of Human Papillomavirus in Penile Cancer : Key to Prevention and Delivery of More Effective Therapies. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 66, n. 6, p. 481–495, 2016.

STANKIEWICZ, E. et al. Alternative HER/PTEN/Akt pathway activation in HPV positive and negative penile carcinomas. **PLoS ONE**, v. 6, n. 3, p. 2–8, 2011.

STEINESTEL, J. et al. The role of histologic subtype , p16 INK4a expression , and presence of human papillomavirus DNA in penile squamous cell carcinoma. **BMC Cancer**, v. 15, n. 220, p. 1–9, 2015.

STEPHEN, J. K. et al. Significance of p16 in Site-specific HPV Positive and HPV Negative Head and Neck squamous cell carcinoma. **Cancer Clinical Oncology**, v. 2, n. 1, p. 51–61, 2013.

STRATTON, K. L.; CULKIN, D. J. A Contemporary Review of HPV and Penile Cancer. **Cancer Network**, p. 1–8, 2016.

THOMAS, M.; PIM, D.; BANKS, L. The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. **Oncogene**, v. 18, n. 53, p. 7690–7700, 1999.

TOMMASINO, M. The biology of beta human papillomaviruses. **Virus Research**, 2016.

TORBRAND, C. et al. Socioeconomic factors and penile cancer risk and mortality; a population-based study. **BJU International**, 2016.

TUNA, M.; AMOS, C. I. Next generation sequencing and its applications in HPV- associated cancers. **Oncotarget**, p. 1–13, 2016.

VELAZQUEZ, E. F.; CHAUX, A.; CUBILLA, A. L. Histologic classification of penile intraepithelial neoplasia. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 29, n. 2, p. 96–102, 2012.

VIDAL, F. C. B. et al. Análise crítica dos métodos moleculares para detecção do papilomavírus humano : revisão da literatura. **Femina**, v. 40, n. 5, p. 264–267, 2012.

VILLA, L. L. Introduction of HPV prophylactic vaccines : A new challenge for Public Health in the 21 st century. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. 3, p. 516–518, 2008.

VYAS, N. S. et al. Role of Histological Findings and Pathologic Diagnosis for Detection of Human Papillomavirus Infection in Men. **Journal of Medical Virology**, v. 87, n. 10, p. 1777–1787, 2016.

WALHART, T. Human Papillomavirus Biology, Pathogenesis, and Potential for Drug Discovery: A Literature Review for HIV Nurse Clinical Scientists. **Journal of the Association of Nurses in AIDS Care**, v. 26, n. 6, p. 693–702, 2015.

WANG, H. et al. Prevalence of type-specific oncogenic human papillomavirus infection assessed by HPV E6 / E7 mRNA among women with high-grade cervical lesions. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 37, p. 135–142, 2015.

WANICK, F. B. F. et al. Carcinoma epidermoide do pênis: estudo clínico-patológico Squamous cell carcinoma of the penis: clinicopathologic study of 34 cases. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1082–1091, 2011.

WEI, F. et al. Human papillomavirus prevalence and associated factors in women and men in south China: a population-based study. **Emerging Microbes & Infections**, v. 5, n. 11, p. e119, 2016.

WENTZENSEN, N. et al. Triage of HPV positive women in cervical cancer screening. **Journal of Clinical Virology**, v. 76, p. S49–S55, 2016.

WOODMAN, C. . et al. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues - ProQuest. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. January, p. 11–22, 2007.

ZACAPALA-GÓMEZ, A. E. et al. Changes in global gene expression profiles induced by HPV 16 E6 oncoprotein variants in cervical carcinoma C33-A cells. **Virology**, v. 488, p. 187–195, 2016.

ZARDO, G. P. et al. Vacina como agente de imunização contra o HPV Vaccines as an agent for immunization against HPV. **Ciencia & Saude Coletiva**, v. 19, p. 3799–3808, 2014.

ZARGAR-SHOSHTARI, K. et al. Clinical Significance of p53 and p16ink4a Status in a Contemporary North American Penile Carcinoma Cohort. **Clinical Genitourinary Cancer**, p. 12–17, 2016.

ZHOU, J. et al. Inhibition of cervical cancer cell growth in vitro and in vivo by lentiviral-vector mediated shRNA targeting the common promoter of HPV16 E6 and E7 oncogenes. **Antiviral Research**, v. 98, n. 2, p. 305–313, 2013.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses in Anogenital Cancer as a Model to Understand the Role of Viruses in Human Cancers. **Cancer Research**, v. 49, n. 17, p. 4677–4681, 1989.

ZUR HAUSEN, H. Papillomavirus infections — a major cause of human cancers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1288, n. 2, p. F55–F78, 1996.

ZUR HAUSEN, H. Immortalization of human cells and their malignant conversion by high risk human papillomavirus genotypes. **Seminars in cancer biology**, v. 9, p. 405–411, 1999.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, n. 9, p. 690–8, 2000.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 5, p. 342–350, 2002.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. **Virology**, v. 384, n. 2, p. 260–265, 2009.

APÊNDICES

A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

ESTUDO: Envolvimento do papilomavírus humano na tumorigênese de carcinomas penianos em pacientes de São Luís, Maranhão.

Prezado Senhor,

Você está sendo convidado a participar do estudo *Envolvimento do papilomavírus humano na tumorigênese de carcinomas penianos em pacientes de São Luís, Maranhão*, que pretende analisar através de exames laboratoriais, a presença e tipo de papilomavírus humano (HPV) presente no tumor peniano, e avaliar a expressão de algumas proteínas.

Para a realização dos exames de laboratório, não será realizado nenhum procedimento adicional. É solicitada a vossa senhoria, apenas uma pequena amostra do tumor que será retirado durante a cirurgia.

Com esta amostra iremos realizar os seguintes exames: extração do DNA a partir da coleta de uma fração do tumor pelo médico cirurgião, Reação em Cadeia da Polimerase e Sequenciamento Automático para detecção de infecção por HPV e genotipagem do tipo viral, análise da expressão de proteínas pela técnica de Imunohistoquímica e, PCR em tempo real para a determinação do status físico do HPV na célula hospedeira. Após a realização dos exames, as amostras serão desprezadas de forma adequada. O senhor também responderá um questionário com algumas perguntas que serão feitas pelo pesquisador envolvido no projeto.

Com sua participação, poderemos obter dados importantes para a epidemiologia do câncer de pênis, melhorar o conhecimento acerca da doença e estudar a possibilidade de novas formas de tratamento e profilaxia. Os riscos são mínimos neste estudo, sendo representados apenas por algum constrangimento durante a realização do questionário. O senhor estará livre para não responder a perguntas que lhe causem constrangimento.

Sua autorização deverá ser voluntária. Você não receberá nenhum valor em dinheiro e também não terá despesas referentes a sua participação. Você poderá entrar em contato com a nossa equipe a qualquer momento para tirar dúvidas.

Após as informações fornecidas, no caso de aceitação no estudo, assine ao final deste documento que está em duas vias assinada pelo pesquisador responsável. Uma das vias é sua.

Sua colaboração será muito importante para nós. Mas, se quiser desistir a qualquer momento, isto não lhe causará nenhum prejuízo. Você terá a garantia de sigilo, direito de retirar o consentimento a qualquer tempo, sem prejuízo da continuidade na forma de tratamento, assistência, cuidado ou acompanhamento.

Responsável:

Data do aceite ____ / ____ / ____

São Luís, ____ de _____ de _____.

Nome dos Pesquisadores:

Responsável: Flávia Castello Branco Vidal

Telefone de contato (98) 98225-9660

Participantes:

Walna Luisa Barros e Ramos

Telefone de contato: (98) 98278-0918

Ana Paula Cunha

Telefone de contato: (98) 98749-6355

Comitê de Ética em Pesquisa – UFMA

Avenida dos Portugueses, S/N, Campus Universitário do Bacanga, Prédio do CEB Velho,
 PPPG, Bloco C Sala 07. Telefone: 3272-8708

B – Questionário Sociodemográfico

QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO DO PROJETO

Envolvimento do Papilomavírus humano na tumorigênese de carcinomas penianos em pacientes de São Luís, Maranhão.

Nº de Prontuário:		
Nome do paciente:		
IDENTIFICAÇÃO		
Cor: () branca () parda () preta () outra: _____		
Data da coleta:	Naturalidade:	
Data de Nascimento:	Telefone:	
Endereço:		
Estado civil: () casado () solteiro () união consensual () viúvo () divorciado		
Renda familiar:	Nível de Educação:	
1ª pessoa:	() Analfabeto	
1ª pessoa:	() 1º grau	
1ª pessoa:	() 2º grau	
1ª pessoa:	() 3º grau	
Renda total:	() Completo () Incompleto	
HÁBITOS DE VIDA		
Tabagismo:	Etilismo:	Higiene da região genital:
() Sim	() Sim	() Não realiza
Tempo de tabagismo:	Frequência/se:	() Água e sabão
() Não	() Não	() Expõe a glândula
() Ex-tabagista	() Ex-etilista	() Parcial
Há quanto tempo parou:	Há quanto tempo parou:	() Total

() Passivo Tipo: Cigarros/dia:	Tipo: Doses/dia:	
HÁBITOS SEXUAIS		
Idade da 1ª relação:	Atividade sexual atual: () Sim () Não	
Nº de parceiro durante a vida:	Parceiros Fixos: () Sim () Não	
Circuncisão: () Sim () Não	Idade da circuncisão:	
Orientação sexual: () Homossexual () Heterossexual () Bissexual		
Já teve relação homossexual:	Penetração anal: () Sim () Não	
Frequencia do uso de camisinha: () Nunca () Às vezes () Sempre	Usou camisinha na última relação vaginal: () Sim () Não Usou camisinha na última relação anal: () Sim () Não Usou camisinha com a parceira fixa: () Sim () Não Usou camisinha com parceiras extraconjugais: () Sim () Não	
Lava-se após as relações sexuais: () Sim () Não		
PRECEDENTES MÓRBIDOS PESSOAIS E FAMILIARES		
Verrugas genitais: () Sim () Não	Idade do aparecimento:	
HPV diagnosticado: () Sim () Não Quando:	Tratamentos: () Sim () Não Quando:	
Parceira com diagnóstico de HPV: () Sim () Não Quando:	Tratamentos: () Sim () Não Quando:	
DST Prévia: () Sim () Não	Idade do aparecimento:	
Tipo de DST: () cancro mole () condiloma acuminado () gonorréia () clamídia () herpes () linfogranuloma venéreo () sífilis () outras:		
Tratamento da(s) DST(s): () sim () não Quais:		
Balanite: () sim () não Quando:	Trauma no pênis anteriormente: () sim () não Quando:	

Câncer prévio: () não () sim Local:	Câncer na família: () sim () não Local: Grau de parentesco:
HISTÓRIA DA DOENÇA ATUAL	
Data de aparecimento da lesão inicial:	
Local de aparecimento da lesão inicial: () glândula () prepúcio () haste do pênis () base do pênis	Tipo de lesão inicial: () perda de pigmentação ou manchas esbranquiçadas () feridas e caroços no pênis () tumoração no pênis e/ou virilha () inflamações de longos períodos com vermelhidão e coceira () secreções e odor fétido
Auto conduta prévia: () sim () não Qual:	Evolução: () piora () melhora () inalterado
Tratamento prévio: () sim () não Qual:	Evolução: () piora () melhora () inalterado
Data de procura ao centro de saúde:	Data do diagnóstico:
Tipo de atendimento: () público () privado	Estadiamento ao diagnóstico:
Grau histológico:	Tratamento: () Penectomia () Quimioterapia () Radioterapia () Outros:
Data de início do tratamento:	Depressão: () sim () não
Recidiva: () não () local () regional () À distância	Data da recidiva:
Entrevistador:	

Observações do entrevistador:

ANEXOS

A – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Envolvimento do Papilomavírus humano na tumorigênese de carcinomas penianos em pacientes de São Luís, Maranhão

Pesquisador: Flávia Castello Branco Vidal Cabral

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 46911015.9.1001.5087

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.250.233

Apresentação do Projeto:

O Papilomavírus humano (HPV) é um vírus não envelopado que infecta o epitélio cutâneo ou de mucosas. Sua transmissão é principalmente por via sexual, podendo ocorrer também através de auto-inoculação ou transmissão vertical, da mãe para o bebê durante o parto. O câncer de pênis representa cerca de 10% a 20% dos tumores malignos do homem em países em desenvolvimento como os da Ásia, África e América do Sul. A patogênese desta doença ainda não está esclarecida, mas, fatores de riscos reconhecidos incluem fimose, tabagismo, maus hábitos de higiene, retenção de esmegma, processos inflamatórios e a infecção pelo HPV. No Brasil, poucos estudos analisam a associação entre a presença do HPV e o câncer peniano. Este trabalho é um estudo epidemiológico, do tipo analítico, prospectivo e seccional de série histórica de casos de carcinomas epidermóides penianos. As amostras serão coletadas no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Belo. As amostras serão coletadas durante a cirurgia e o DNA extraído para análise da infecção pelo HPV. As amostras positivas para o vírus serão genotipadas e a correlação entre a presença e o tipo de HPV com o desfecho clínico dos pacientes, será analisado. Outros parâmetros laboratoriais como observação da integração do DNA viral ao DNA humano serão realizados para enriquecimento dos resultados da pesquisa.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040

UF: MA **Município:** SAO LUIS

(98)3272-8708

Fax: (98)3272-8708

E-mail: cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 1.250.233

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste estudo é analisar o papel do HPV na tumorigênese de carcinomas penianos em pacientes de São Luís,

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

Os riscos deste trabalho ao paciente são mínimos, representados apenas por um possível constrangimento durante a aplicação do questionário pelos pesquisadores. O paciente terá o direito a não responder à pergunta que lhe cause constrangimento.

BENEFÍCIOS

Os benefícios da pesquisa são representados pelo ganho de informações referentes à patologia do câncer de pênis. Além disso, com os resultados obtidos acerca do envolvimento da infecção pelo HPV na etiologia do câncer de pênis, poderemos obter respaldo para no futuro solicitar a ampliação da vacinação pública contra o HPV também para o público masculino.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Objetivos são claros, foram citados diversos trabalhos na área que dão suporte a pesquisa, a amostra foi descrita detalhadamente assim como os critérios de inclusão e exclusão, os riscos poucos assim como os possíveis benefícios justificam a execução da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios estão apresentados de forma satisfatória (aceite das instituições, projeto de pesquisa, folha de rosto, TCLE e informações básicas do projeto), existindo clara referência sobre o sujeito estar ciente que ele tem a liberdade de se retirar da pesquisa a qualquer momento, sem ser penalizado.

Quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa, foram citadas garantias sobre o sigilo que defenda a privacidade dos sujeitos.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não existem pendências ou qualquer inadequação. Desta forma meu parecer é favorável à aprovação do presente projeto.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040

UF: MA **Município:** SAO LUIS

(98)3272-8708

Fax: (98)3272-8708

E-mail: cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO

Continuação do Parecer: 1.250.233

MARANHÃO/MA

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_516634.pdf	06/07/2015 08:50:52		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.docx	06/07/2015 08:49:05		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Aceite UEMA.pdf	06/07/2015 08:42:54		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Aceite Aldenora.pdf	06/07/2015 08:42:33		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto Pênis.pdf	06/07/2015 08:42:09		Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto Plataforma Brasil.pdf	06/07/2015 08:40:10		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 29 de setembro de 2015

Assinado por:

Richard Diego Leite (Coordenador)

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética

CEP: 65.080-040

UF: MA

Município: SAO LUIS

(98)3272-8708

Fax: (98)3272-8708

E-mail: cepufma@ufma.br