



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DO  
ADULTO E DA CRIANÇA  
MESTRADO ACADÊMICO



**PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS  
HUMANO EM CARCINOMAS EPIDERMÓIDES PENIANOS  
DE PACIENTES DO ESTADO DO MARANHÃO**

**WALNA LUISA BARROS E RAMOS**

**São Luís  
2017**

WALNA LUISA BARROS E RAMOS

**PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS  
HUMANO EM CARCINOMAS EPIDERMÓIDES PENIANOS  
DE PACIENTES DO ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto e da Criança da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de mestre em Saúde do Adulto e da Criança.

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal

São Luís  
2017

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

barros e ramos, walna luisa.

PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM  
CARCINOMAS EPIDERMÓIDES PENIANOS DE PACIENTES DO ESTADO DO  
MARANHÃO / walna luisa barros e ramos. - 2017.

64 f.

Orientador(a): flavia castello branco vidal.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, sao  
luis, 2017.

1. CANCER DE PENIS. 2. GENOTIPAGEM. 3. HPV. I.  
castello branco vidal, flavia. II. Título.

WALNA LUISA BARROS E RAMOS

**PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS  
HUMANO EM CARCINOMAS EPIDERMÓIDES PENIANOS  
DO ESTADO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto e da Criança da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de mestre em Saúde do Adulto e da Criança.

A Banca Examinadora de Defesa da Dissertação de Mestrado apresentada em sessões públicas, considerou o candidato aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Flávia Castello Branco Vidal (Orientadora)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Prof. Dra. Rita da Graça Carvalhal Frazão Corrêa (Examinador)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Prof. Dra. Haissa Oliveira Brito (Examinador)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Prof. Dr. Carlos Leonardo Figueiredo Cunha (Examinador)  
Faculdade Laboro

## RESUMO

O papilomavírus humano (HPV) é o agente etiológico de umas das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais comuns. É classificado de acordo com o potencial oncogênico em baixo risco e alto risco, os subtipos de alto risco causam lesões que podem progredir para carcinomas invasivos e vem sendo reconhecido como possível agente etiológico no carcinoma peniano. O Brasil tem uma das maiores incidências de câncer de pênis do mundo. O objetivo geral deste trabalho é associar a infecção do HPV com o perfil histopatológico de carcinomas epidermóides penianos em pacientes do Estado do Maranhão. Trata-se de um estudo analítico prospectivo de 29 amostras de pacientes que foram submetidos a cirurgia de penectomia no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello. Dados sociodemográficos foram coletados através de um questionário aplicado aos paciente, os dados clínicos e histopatológicos foram coletados dos prontuários. As amostras tumorais foram coletadas durante as cirurgias de penectomia, e em laboratório foram realizadas as etapas de: extração e quantificação do DNA, PCR *Nested* com os *primers* PGMY e GP+ para detecção do HPV, visualização dos produtos amplificados, purificação do produto da PCR e sequenciamento automatizado. Os produtos do sequenciamento foram decodificados através do programa BLAST. Os dados foram analisados através do programa estatístico SPSS, o nível de significância foi de 5%. Foi observado que a maioria dos homens estava na faixa etária acima de 60 anos (69%), apresentavam união conjugal estável (75,9%), renda familiar de até um salário mínimo (75,9%), eram analfabetos (55,2%), residiam em municípios do interior do Estado (79,3%), relataram o uso de tabaco em algum momento da vida (62%). Em relação aos hábitos sexuais, 62,1% relataram não ter realizado circuncisão, 41,4 % a ocorrência de DST prévia, 72,4% nunca fizeram uso de preservativo, 48,3% tiveram o 1º coito antes dos 18 anos. A presença de HPV foi detectada em 69% dos casos, dentre os tipos virais, o HPV 16 foi o mais prevalente (55,5%). Em relação a lesão, 51,7% dos casos apresentou mais de uma região afetada, estando a glândula afetada em 93,1% dos casos. O tipo de lesão mais prevalente foi a do tipo ulceração (51,7%). Dentre as classificações histopatológicas, 41,4% das amostras foram classificadas no grau I da escala de Broders, 27,7% no estágio T1 do estadiamento TNM e na classificação de Jackson, os estágios I e II apresentam a mesma prevalência, 27,6% das amostras. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as variáveis avaliadas e a presença de HPV. A baixa escolaridade, a baixa renda e a não circuncisão foram observados no estudo com um percentual elevado, sendo possível correlacionar tais variáveis com o aumento no risco de desenvolvimento do câncer de pênis. A presença de HPV em 69% das amostras e a prevalências dos subtipos de alto risco sugerem a necessidade de mais ações de prevenção da disseminação desse vírus na população.

**Palavras- chave:** HPV, Câncer de Pênis, Genotipagem

## ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) is the etiologic agent of one of the most common sexually transmitted infections (STIs). According to the oncogenic potential, it is classified in low risk and high risk; high risk subtypes cause lesions that may progress to invasive carcinomas and has been recognized as a possible etiologic agent in penile carcinoma. Brazil has one of the highest incidences of penile cancer in the world. The general objective of this work is associate HPV infection with the histopathological profile of squamous cell carcinomas in patients from the State of Maranhão. This is a prospective analytical study of 29 samples of patients who underwent penectomy surgery at the Aldenora Bello Institute of Oncology of Maranhão. Sociodemographic data were collected through a questionnaire applied to the patients, clinical and histopathological data were collected from the medical records. Tumor samples were collected during penectomy surgeries, and the following steps were performed at the laboratory: DNA extraction and quantification, Nested PCR with PGMY and GP + primers for HPV detection, visualization of amplified products, purification of the PCR product and automated sequencing. The sequencing products were decoded through the BLAST program. Data were analyzed through the SPSS statistical program, with a 5% level of significance. It was observed that the majority of the men were over 60 years of age (69%), had stable marital union (75.9%), family income of up to one minimum wage (75.9%), were illiterate (55.2%), lived in countryside towns (79.3%), reported using tobacco at some moment in their lives (62%). Regarding sexual habits, 62.1% reported not having performed circumcision, 41.4% had a previous STD, 72.4% had never used a condom, 48.3% had the first intercourse before age 18. The presence of HPV was detected in 69% of the cases, among the viral types, HPV 16 was the most prevalent (55.5%). Regarding to lesion, 51.7% of the cases presented more than one affected region, and the glans was affected in 93.1% of the cases. The most prevalent type of lesion was ulceration (51.7%). Among the histopathological classifications, 41.4% of the samples were classified in degree I of the Broders scale, 27.7% in stage T1 of the TNM staging and according to the Jackson classification, both stages I and II presented the same prevalence, 27.6% of samples. There was no statistically significant difference between the variables evaluated and the presence of HPV. Low education, low income and no circumcision were highly observed in the study, being possible to correlate such variables with the increase of the risk of penile cancer development. The presence of HPV in 69% of the samples and the prevalence of high risk subtypes suggest the need for more actions to prevent the spread of HPV over the population.

**Keywords:** HPV, Penile Cancer, Genotyping.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	Representação esquemática do genoma do HPV 16.....	16
<b>Figura 2</b>	Progressão tumoral mediada pelo HPV.....	17
<b>Figura 3</b>	Fluxograma de coleta de dados.....	28
<b>Gráfico 1</b>	Distribuição da detecção de HPV na amostra de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017....	34
<b>Gráfico 2</b>	Distribuição dos tipos de HPV identificados pela técnica de sequenciamento automatizado de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.....	35

## LISTA DE QUADRO

<b>Quadro 1</b>	Classificação dos HPVs quanto ao risco oncogênico e a natureza das lesões virais mais frequentemente associadas.....	14
<b>Quadro 2</b>	Estadimento de Jackson.....	20
<b>Quadro 3</b>	Classificação do estadiamento TNM.....	21
<b>Quadro 4</b>	Sequência de nucleotídeos dos primers utilizados no estudo.....	26

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Associação entre a detecção de HPV, variáveis socioeconômicas e hábitos de vida de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.....	30
<b>Tabela 2</b>	Associação entre a detecção de HPV e variáveis referentes a hábitos sexuais de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.....	31
<b>Tabela 3</b>	Associação entre a detecção de HPV, os antecedentes pessoais/familiar do câncer de pênis e características clínicas da lesão peniana de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.....	32
<b>Tabela 4</b>	Associação entre a detecção de HPV, variáveis histopatológicas da lesão e o estadiamento tumoral de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.....	33

## LISTA DE SIGLAS

AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEP	Carcinoma epidermóide de pênis
CESC/UEMA	Centro de Estudos Superiores de Caxias da Universidade do Estado do Maranhão
CEP	Comitê de ética e pesquisa
CESC/UEMA	Centro de Estudos Superiores de Caxias da Universidade do Estado do Maranhão
DNA	Ácido Desoxiribonucléico
FDA	Food and Drug Administration
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papilomavírus Humano
HUUFMA	Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMOAB	Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello
INCA	Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva
IST	Infecção sexualmente transmissível
LCR	Long Control Region
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RNA	Ácido Ribonucléico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UICC	União Internacional Contra o Câncer
URR	Upstream Regulatory Region
SCC	Carcinoma de Células Escamosas
SUS	Serviço Único de Saúde
VLP	Vírus-like particles

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	13
<b>2.1 Histórico</b> .....	13
<b>2.2 Epidemiologia do HPV</b> .....	13
<b>2.3 Infecção viral</b> .....	14
<b>2.4 Biologia do vírus e o ciclo de vida</b> .....	15
<b>2.5 Câncer de pênis</b> .....	18
2.5.1 Classificações do câncer de pênis.....	19
2.5.1.1 Tipo histológico.....	19
<b>2.6 A relação do HPV com o câncer de pênis</b> .....	21
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	23
<b>3.1 Geral</b> .....	23
<b>3.2 Específicos</b> .....	23
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	24
<b>4.1. Tipo de estudo</b> .....	24
<b>4.2 Período e local do estudo</b> .....	24
<b>4.3 Amostra</b> .....	24
4.3.1 Critério de inclusão.....	24
4.3.2 Critérios de não inclusão .....	24
<b>4.4 Instrumento de coleta de dados</b> .....	24
4.4.1 Coleta das amostras .....	25
4.4.2 Extração e quantificação do DNA .....	25
4.4.3 PCR Nested .....	25
4.4.4 Visualização dos produtos amplificados .....	27
4.4.5 Purificação do produto de PCR .....	27
4.4.6 Sequenciamento automatizado .....	27
<b>4.5 Análise estatística</b> .....	29
<b>4.6 Aspectos Éticos</b> .....	29
<b>5 RESULTADOS</b> .....	30
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	36
<b>7 RECOMENDAÇÕES</b> .....	37
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	38

<b>ANEXOS .....</b>	<b>44</b>
<b>ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é um DNA-vírus pertencente a família Papovaviridae – gênero Papillomavirus. É constituído por uma única molécula de DNA circular de dupla fita com cerca de 8kb, tendo uma pequena variação de acordo com o genótipo de HPV. Até o presente já foram reconhecidos cerca de 150 genótipos de HPV (KOVANDA et al., 2011). O vírus tem forte tropismo para tecidos epiteliais estratificados, podendo infectar mucosas ou a pele e causar diversas patologias (CROW, 2012).

O HPV pode ser classificado de acordo com o seu potencial oncogênico. (CALMON et al., 2011). Os vírus classificados como de baixo risco estão comumente associados a lesões benignas como papilomas, verrugas simples e condilomas. Enquanto os vírus considerados de alto risco estão associados a diferentes graus de lesões escamosas intraepiteliais da cavidade oral, do colo do útero, vagina, vulva, pênis entre outros (SILVA et al., 2003; CALMON et al., 2011).

Os vírus são causadores de cerca de 20% dos tumores que acometem os seres humanos e entre estes vírus, o HPV é um dos mais importantes. Estudos revelam que 30% da população mundial sexualmente ativa está contaminada com o HPV e por ano cerca de 500 mil novos casos são detectados, sendo 70% registrados em países em desenvolvimento (CHAVES et al., 2011). Em torno de 560.000 novos casos de tumores anualmente, no mundo, estão associados diretamente a este vírus (CHAUX et al., 2009).

O Brasil tem uma das maiores incidências de câncer de pênis do mundo, a incidência de casos é de 8,3 casos por 100.000 habitantes, tendo em 2009 uma estimativa de mais de 4600 casos. Em 2013 foi responsável por 396 mortes. (INCA, 2016). O primeiro estudo epidemiológico realizado pela Sociedade Brasileira de Urologia em 2007 mostrou as taxas de incidência do câncer de pênis invasivo no Brasil, onde o estado do Maranhão (10,66%) aparece em 3º lugar, ficando atrás apenas de São Paulo (24,26%) e Ceará (12,87%). De acordo com a mesma sociedade, são realizadas cerca de 1000 amputações penianas por ano (COSTA, 2013).

A etiologia do câncer de pênis é considerada multifatorial, dentre os diversos fatores de risco para o seu desenvolvimento está a infecção pelo HPV, estudos pioneiros demonstraram relações incontestáveis do HPV com a sua patogênese. (DE PAULA et al., 2005). De acordo com Wei e colaboradores (2016) o HPV é responsável por 100% dos cânceres cervicais, 90% dos cânceres de ânus, 70 % dos cânceres de vagina e 50% dos cânceres de pênis.

Na Europa Ocidental, o câncer de pênis representa 0,3 a 0,6 % dos tumores malignos, já em países da África a incidência chega até 10% de todos os cânceres malignos que acometem

os homens. No Brasil, representa 2% sendo as regiões Norte e Nordeste com maior prevalência. Nas regiões onde a incidência é alta os casos chegam a superar os casos de câncer de bexiga e próstata (CHAVES et al., 2011).

Apesar dos avanços da medicina, em permitir o controle da doença e em muitos casos a cura, o diagnóstico de câncer de pênis está associado à alta morbidade e produz fortes repercussões emocionais nos pacientes, devido a própria doença e ao tratamento mutilador em fases mais avançadas (BARROS et al., 2009).

Por ser uma neoplasia rara em países desenvolvidos, há uma diminuição do interesse pela doença e uma limitação dos estudos relacionados a epidemiologia e aos fatores de risco associados (FAVORITO et al., 2008). Entretanto estudos comprovam um aumento significativo do número de casos de câncer de pênis no Brasil, principalmente na região Nordeste (ZARDO et al., 2014). A compreensão acerca do perfil sociodemográfico e dos hábitos sexuais dos homens acometidos pela doença podem auxiliar no desenvolvimento de políticas públicas voltadas para a prevenção da doença.

A identificação da prevalência e da genotipagem do HPV presente nos casos diagnosticados pode contribuir como subsídio para o desenvolvimento de outras pesquisas e como incentivo para a extensão da vacinação contra HPV em homens, como forma de reduzir o câncer de pênis causado pelo vírus.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Histórico**

Desde a Grécia Antiga são descritas lesões verrucosas e papilomatosas que comprometem a pele. No início do século XX foram iniciadas as pesquisas sobre o papilomavírus (PV) e em 1933 o mesmo foi considerado como possível agente etiológico de verrugas em coelho. Dois anos depois pesquisadores descreveram que as verrugas em coelhos tinham potencial para transformação maligna. (LETO, 2011). Em 1949 foi observado através de microscopia eletrônica partículas de PV em verrugas humanas (STRAUSS, 1949).

Em 1950, foi descoberto o potencial carcinogênico do papilomavírus humano (HPV) em pacientes com epidermodisplasia verruciforme e foi descrito pela primeira vez a sua transmissão ao ser verificado a presença de verrugas genitais em esposas de soldados regressos da guerra da Coreia, onde os mesmos haviam mantido relações sexuais com mulheres nativas nas quais a prevalência de condilomatose genital era alta (CHAVES et al., 2011).

Crawford e Crawford (1963) desvendaram a estrutura do genoma viral e Zur Hausen na década de 70 propôs a hipótese de que o HPV participava da etiologia dos cânceres de colo de útero. No início da década de 80 foram identificados os HPVs 16 e 18 e a relação dos mesmos com o câncer cervical foi estabelecida. Em 1987, o primeiro estudo epidemiológico sobre o HPV e câncer cervical foi publicado (DE VILLIERS, 1987).

### **2.2 Epidemiologia do HPV**

Atualmente a infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV) acomete em torno de 30 % da população sexualmente ativa sendo uma das doenças sexualmente transmissíveis mais frequentes. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), uma em cada dez pessoas estão infectadas pelo HPV e a cada ano são detectados 500 mil novos casos de câncer cervical (GIRALDO et al., 2008). Destes novos casos, aproximadamente 70% são observados em países em desenvolvimento (ZARDO et al., 2014).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), estima-se que no Brasil haja de 3 a 6 milhões de homens infectados pelo HPV. Respeitando-se as diferenças populacionais e metodológicas, a prevalência do DNA-HPV no sexo masculino tem sido descrita entre 3,6% e 84% (CHAVES et al., 2011). Mundialmente, estudos apontam que surjam

por ano, 32 milhões de novos casos de verrugas genitais, no Brasil esse número está em torno de 19 milhões de casos por ano (GIRALDO et al, 2008).

Estudos comprovam que a incidência de cânceres relacionados a infecção por HPV está aumentando. Na Escócia e Inglaterra, a incidência de câncer anal aumentou em aproximadamente 100% entre os anos de 1986 e 2003. Nos Países Baixos, na Suécia, EUA e Austrália, a incidência de câncer de amígdala relacionado ao HPV apresentou um rápido aumento ao longo dos últimos anos (NATUNEN et al., 2011).

### 2.3 Infecção viral

Os HPVs podem ser classificados de acordo com o tropismo do vírus pelo tipo de epitélio e de acordo com o risco oncogênico. Com relação ao tropismo do vírus pelo tipo de epitélio os mesmos podem ser classificados em cutaneotrópicos, que são os tipos virais capazes de infectar a epiderme e mucosotrópicos, os tipos capazes de infectar mucosas em geral (SILVA et al., 2003).

De acordo com o risco oncogênico, os HPVs são classificados em baixo risco e alto risco (tabela 1). Os vírus de baixo risco estão comumente associados a lesões benignas como papilomas, verrugas simples e condilomas. Enquanto os vírus considerados de alto risco estão associados a diferentes graus de lesões escamosas intraepiteliais do colo do útero, vagina, vulva e pênis (SILVA et al., 2003).

**Quadro 1** – Classificação dos HPVs, quanto ao risco oncogênico e a natureza das lesões virais mais frequentes associadas.

<b>Classificação</b>	<b>Tipo viral</b>	<b>Tipo de lesão</b>
Baixo risco	6,11,26,42,44,54,70,73 e 81	Benigna
Alto risco	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68	Maligna

Adaptado de: SILVA et al. (2003).

São descritos hoje aproximadamente 150 genótipos de HPV, dos quais 40 infectam a mucosa genital. Os tipos 16 e 18 são responsáveis por cerca de 70% dos casos de câncer cervical, 50% das lesões pré-cancerosas consideradas de alto risco e 25% das lesões de baixo risco (ZARDO et al., 2014).

A transmissão do HPV ocorre principalmente por via sexual, através da superfície do epitélio genital durante o coito. Pode ocorrer também através de autoinoculação já que as mãos

são consideradas reservatórios da infecção em ambos os sexos (HERNANDEZ et al., 2008). Estudos sugerem que o HPV também pode ser transmitido da mãe para o bebê durante o parto (LEE et al., 2013).

A população masculina é a principal responsável pela transmissão da infecção ao sexo feminino. Isso ocorre porque, diferente de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), o HPV é transmitido mais facilmente do homem para a mulher do que da mulher para o homem (NATUNEN et al., 2011).

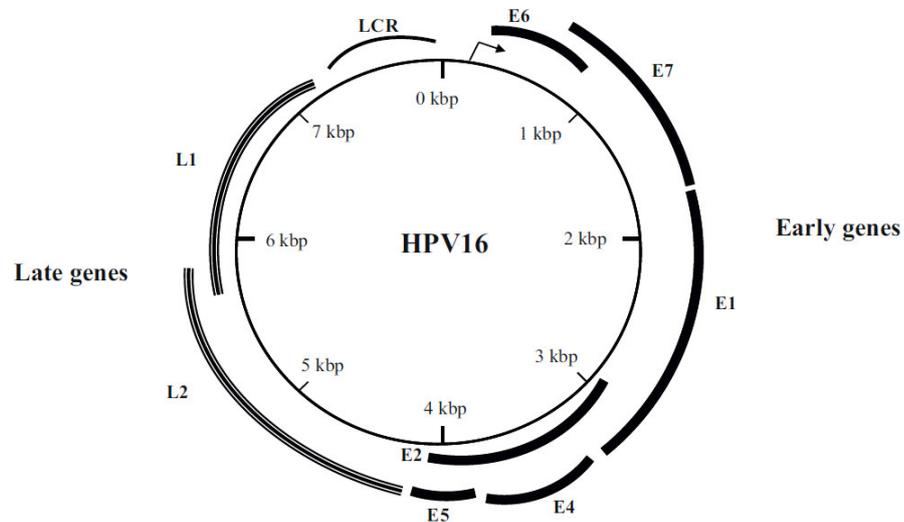
A infecção genital pelo HPV pode ser clínica, subclínica ou latente. A forma clínica é a forma mais facilmente diagnosticada tanto em homens quanto em mulheres. A forma subclínica é a mais frequente apresentação do HPV no homem (CHAVES et al., 2011). Normalmente o homem somente é avaliado após apresentar lesões clínicas o que é preocupante uma vez que a investigação da presença de HPV nos homens mesmo na ausência de lesões clínicas aparentes, possibilitaria o diagnóstico precoce de infecção e atuaria como medida de prevenção para tumores epiteliais anogenitais (TEIXEIRA et al., 2002; REIS et al., 2010).

Para a detecção do HPV atualmente a técnica mais indicada devido a sua especificidade é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR do inglês, *Polymerase Chain Reaction*), do tipo NESTED, que usa duas sequências específicas de *primers* para amplificação de DNA viral tornando-se ideal para o diagnóstico de HPV (FÉLEZ-SANCHEZ et al., 2016; REIS et al., 2010). Para a genotipagem, o sequenciamento automatizado tem sido reconhecido como a técnica mais confiável e sensível para a identificação dos subtipos virais de HPV (TUNA; AMOS, 2016).

## **2.4 Biologia do vírus e o ciclo de vida**

O HPV é um vírus de DNA, com aproximadamente 8.000 pares de base. Seu genoma é dividido em 3 regiões: *Early* (E), *Long Control Region* (LCR) ou *Upstream Regulatory Region* (URR) e *Late* (L) (Figura 1). A região *Early* é assim denominada porque expressa precocemente as suas proteínas no ciclo viral, sendo as proteínas oncogênicas E6 e E7 envolvidas no processo tumorigênico. Em lesões de baixo grau o DNA do HPV é encontrado geralmente na forma episomal, enquanto que em lesões de alto grau o DNA-HPV se integra ao DNA da célula. (WEISS, 2011)

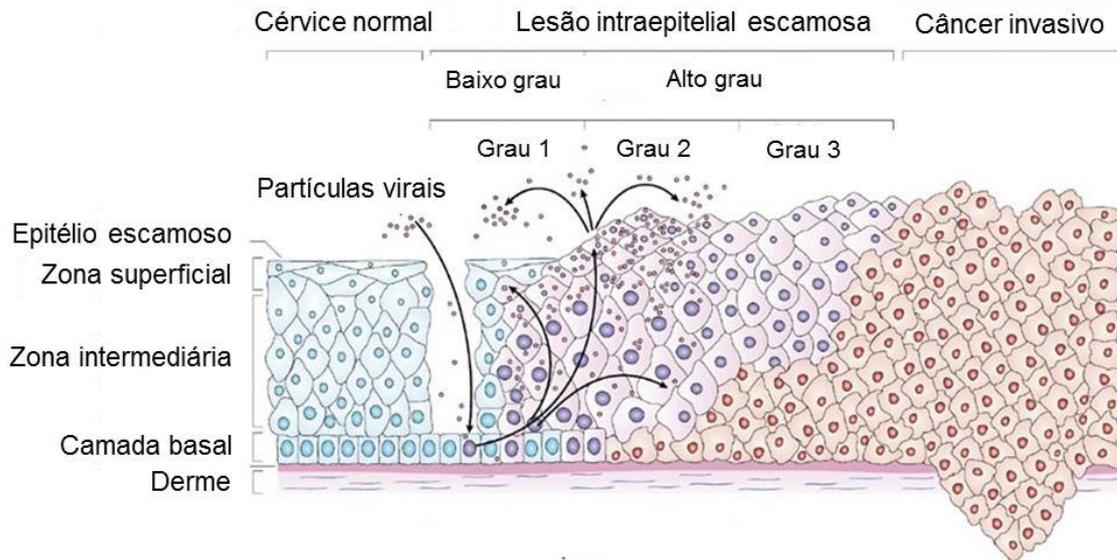
**Figura 1** - Representação esquemática do genoma do HPV 16



Legenda: O genoma é composto por  $\pm 8000$  pb (ou 8kpb) e dividido em três regiões: LCR, L e E. A região E codifica 6 diferentes genes: E1, E2, E4, E5, E6 e E7; a região L codifica dois genes: L1 e L2. A região LCR não é codificante e controla a transcrição viral e a replicação do DNA. E – early; L – late; LCR – long control region. FONTE: GANGULY, PARIHAR (2009).

O ciclo de vida do HPV está intimamente relacionado com o processo de diferenciação e renovação do epitélio. O epitélio escamoso normal cresce como camadas estratificadas onde apenas as células da camada basal são capazes de proliferar, enquanto as células dos estratos superiores tornam-se diferenciadas e não-proliferativas. Durante a renovação do epitélio, a célula basal se divide e uma das células filha migra para as camadas superiores, do tecido, iniciando sua diferenciação e interrompendo seu ciclo proliferativo, enquanto a outra célula filha permanece na camada basal com fenótipo proliferativo perpetuando a linhagem. Células infectadas pelo HPV perdem a capacidade de controlar o ciclo celular mesmo quando diferenciadas (Figura 2) (WOODMAN et al., 2007).

**Figura 2 - Progressão tumoral mediada pelo HPV**



Legenda: O HPV acessa a camada basal através de microfissuras no epitélio. Após a infecção, o DNA viral inicia sua replicação e nas camadas superficiais do epitélio, ocorre a liberação de novas partículas virais. A progressão de lesões não tratadas está associada a integração do DNA viral ao DNA da célula (núcleo vermelho).

FONTE: WOODMAN et al. (2007).

A entrada do HPV na célula ocorre através de microfissuras na camada basal do epitélio. Através de um processo ainda não conhecido, o HPV penetra na célula, migra para o núcleo e permanece na forma episomal, ou seja, circular no núcleo da célula do hospedeiro. Após seu estabelecimento, o HPV inicia sua replicação extracromossômica na célula hospedeira chegando ao número de 50/100 episomos por célula. À medida que a célula basal se divide, os episomos do HPV também são replicados e se distribuem entre as células filhas. Nas camadas mais superficiais do epitélio, o DNA viral é envolvido pelo capsídeo recém-sintetizado e os vírions formados são liberados junto com a descamação normal do epitélio (Figura 2) (HEBNER, LAIMINS, 2006; GANGULY, PARIHAR, 2009).

A malignização das lesões ocasionadas pelo HPV dependem da integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira (SNIJDERS et al., 2006). Durante o processo de integração, a estrutura episomal do DNA-HPV é aberta na região codificante E2 levando a deleção das regiões E4 e E5 e partes das regiões E2 e L2 (OLTHOF et al., 2012). A deleção de parte da região E2 leva a superexpressão das oncoproteínas virais E6 e E7. Portanto, a infecção relevante clinicamente é aquela que apresenta expressão detectável dos oncogenes virais E6 e E7. As proteínas E6 e E7 ocasionam a proliferação desordenada das células hospedeiras através de diferentes processos (OLTHORF et al., 2012; FERRAZ, SANTOS, DISCACCIATI, 2012).

## 2.5 Câncer de pênis

Denomina-se câncer o conjunto de mais de 100 patologias caracterizado pelo crescimento desordenado de células anormais que atingem tecidos e órgãos. Dentre os tipos de câncer que acometem os homens, está o câncer de pênis (BULLEN et al., 2009). O câncer do pênis é considerado uma doença rara, com incidência maior em homens com idade superior a 50 anos embora possa atingir uma faixa etária menor (INCA, 2016).

O câncer peniano representa 2% de todos os tipos de câncer que afetam o homem no Brasil, sendo mais frequente nas regiões Norte e Nordeste, onde supera os casos de câncer de próstata e bexiga. Nos Estados Unidos e na Europa o câncer de pênis corresponde a 0,4 a 0,7% de todas as doenças malignas encontradas nos homens, em países africanos esse percentual pode chegar a 20% (WANICK, 2011).

A etiologia da doença ainda é incerta mas está associada a vários fatores tais como: baixas condições socioeconômicas, má higiene, infecção pelo HPV, presença de fimose e resistência dos homens em procurar assistência médica (BLEEKER et al., 2009). Outros fatores de risco associados ao desenvolvimento do câncer de pênis incluem o elevado número de parceiros sexuais; condições inflamatórias, tais como balanopostite e líquen escleroso; tratamento com fotoquimioterápico, com psoraleno e radiação ultravioleta; início de vida sexual precoce e tabagismo (PIZZOCARO, 2009).

A manifestação clínica mais comum do câncer de pênis é caracterizada por poucas pápulas, úlcera persistente ou ainda por tumoração localizada na glande, prepúcio, sulco coronal, corpo peniano, frênulo e meato uretral. A presença de uma destas manifestações, associadas à retenção de esmegma (secreção branca) pode ser um sinal de câncer no pênis (BLEEKER et al., 2009). Coceira ou queimadura sob o prepúcio da glande ou ulceração do prepúcio são considerados os sintomas mais precoce (KAYES, 2007). A presença de linfonodos inguinais aumentados pode significar um sinal agravante na progressão da doença (BLEEKER et al., 2009).

O carcinoma se origina na grande maioria na glande (80%), seguido pelo prepúcio (15%) e membrana balanoprepucial (5%). Macroscopicamente as lesões podem ser vegetativas ou ulceradas. As lesões vegetativas tem um melhor prognóstico e tendem a crescer em comparação com as ulceradas que são mais infiltrativas e mais frequentemente associadas a metástases (KAYES, 2007).

Os tumores penianos tendem a evoluir lentamente, inicialmente são superficiais, posteriormente invadem o córion, o tecido esponjoso da glândula e os corpos cavernosos. A infiltração da uretra ocorre raramente e geralmente nas fases avançadas da evolução da doença. O comportamento biológico desses carcinomas tendem a ser uniforme, com disseminação para linfonodos inguinais, pelvicos, periaorticos e raramente apresentam comprometimento visceral. Os pacientes não tratados ou que o tratamento não foi eficaz, geralmente morrem por hemorragias das lesões tumorais de grandes vasos ou por sepse (PIZZOCARO et al., 2009).

Na maioria dos casos a doença é diagnosticada tardia, em decorrência da demora dos pacientes em procurarem atendimento, pela inexperiência dos médicos em diagnosticarem lesões precursoras de câncer de pênis ou pela dificuldade de acesso aos serviços de saúde em nosso país. A doença pode acarretar grandes morbidades, tanto pela doença em si quanto pelo tratamento que é a amputação parcial ou total do pênis na maioria dos casos (WANICK, 2011). As taxas de sobrevivência dos pacientes em 5 anos varia de 0% a 66%, dependendo da extensão sobre a região e presença de linfonodos metastáticos (SPIESS et al., 2013).

Um terço dos casos de câncer do mundo poderiam ser evitados, a prevenção refere-se a um conjunto de medidas para reduzir ou evitar a exposição aos fatores de risco. Em relação ao câncer de pênis, campanhas de prevenção para conscientizar a população podem ajudar a diminuir a incidência da doença e o diagnóstico nos estágios iniciais, diminuindo assim a severidade da doença. A limpeza com água e sabão principalmente após as relações sexuais e a masturbação, o uso do preservativo em todas as relações sexuais para diminuir as chances de contágio com o vírus HPV, a cirurgia de fimose e o autoexame do órgão são práticas que podem ser adotadas para a redução da doença (REIS et al., 2010).

## 2.5.1 Classificações do câncer de pênis

### 2.5.1.1 Tipo histológico

De acordo com o tipo histológico, os tumores penianos são classificados em: carcinoma *in situ*, carcinoma epidermoide de células escamosas (CEC), carcinoma basaloide, carcinoma verrucoso, carcinoma sarcomatoso, carcinoma epidermoide da variante verrucosa, carcinoma papilar e adenocarcinoma (CHAUX et al., 2009). O CEC é o tipo histológico mais comum, representa 95% dos casos de câncer de pênis, possui uma tendência maior a infiltração e ulceração além de possuir um maior potencial metastático. Linfoma, melanoma, sarcoma de Kaposi são outros tipos histológicos, porém mais raros (DE PAULA et al., 2005).

O carcinoma basaloide é uma variante incomum do CEC, considerado um tumor agressivo com uma taxa de metástase entre 50-100%. O carcinoma verrucoso é uma variante do carcinoma epidermoide de baixo grau, geralmente invade apenas os níveis anatômicos superficiais, apresenta um excelente prognóstico. Os dois subtipos estão fortemente associados com infecção por HPV (CHAUX et al., 2009).

A graduação histológica mais comumente utilizada é a de Broders que baseia-se no grau de queratinização, número de mitoses e no pleomorfismo nuclear (DE PAULA et al., 2005). É dividido em três níveis de diferenciação (PAIVA, 2010, p. 20):

- **Grau I:** bem diferenciado. Arquitetura tecidual se assemelha a um padrão normal de epitélio escamoso;
- **Grau II:** moderadamente diferenciado. Apresentam certo grau de pleomorfismo nuclear, atividade mitótica e pouca queratinização;
- **Grau III:** indiferenciado. Predomínio de células imaturas, numerosas mitoses típicas e atípicas, bem como presença de mínima queratinização.

Para o estadiamento clínico histopatológico do tumor são utilizados dois estadiamentos: o estadiamento de Jackson (1966) e a classificação TNM. O estadiamento de Jackson é considerado o estadiamento mais antigo, classifica a doença em quatro estágios clínico e é descrito através de números romanos, variando de I a IV (Quadro 2). O estadiamento TNM é o mais utilizado, foi preconizado pela União Internacional Contra o Câncer (UICC), classifica os tumores de acordo com o tamanho, grau e infiltração em profundidade (T), situação dos linfonodos regionais (N) e a presença de metástase à distância (Quadro 3). (SOBIN, 2002).

**Quadro 2 – Estadiamento de Jackson**

<b>Estágio I</b>	Encontra-se circunscrito à glândula e ao prepúcio, sem envolvimento do corpo do pênis ou do corpo cavernoso
<b>Estágio II</b>	Ocorre invasão de corpos cavernosos ou haste peniana, mas sem disseminação para linfonodos.
<b>Estágio III</b>	Apresenta disseminação clínica nos linfonodos regionais da virilha. A possibilidade de cura depende do número e da extensão dos linfonodos envolvidos.
<b>Estágio IV</b>	Tumor invadindo estruturas adjacentes, presença de massas pélvicas, ou metástase à distância.

Adaptado de: JACKSON (1966).

**Quadro 3 - Classificação do estadiamento TNM.**

<b>T – Tamanho do tumor e grau de Infiltração</b>	
<b>Tx</b>	Tumor não definido.
<b>T0</b>	Sem evidências de tumor primário.
<b>Tis</b>	Carcinoma in situ (doença de Bowen ou Eritroplasia de Queyrat)
<b>Ta</b>	Carcinoma verrucoso não-invasivo.
<b>T1</b>	Tumor invadindo tecido conjuntivo sub-epitelial.
<b>T2</b>	Tumor invadindo corpo esponjoso ou cavernoso.
<b>T3</b>	Tumor invadindo uretra ou próstata.
<b>T4</b>	Tumor invadindo outras estruturas adjacentes.
<b>N – Situação dos linfonodos</b>	
<b>Nx</b>	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
<b>N0</b>	Ausência de metástase em linfonodos regionais.
<b>N1</b>	Metástase em um único linfonodo regional superficial.
<b>N2</b>	Metástase em linfonodos múltiplos ou bilaterais inguinais superficiais.
<b>N3</b>	Metástase em linfonodos regionais inguinais profundos ou pélvicos, uni ou bilaterais.
<b>M – Metástases</b>	
<b>Mx</b>	Presença de metástase à distância não pode ser avaliada.
<b>M0</b>	Ausência de metástase à distância.
<b>M1</b>	Presença de metástase à distância.
<b>M1a</b>	Metástases ocultas.
<b>M1b</b>	Metástases únicas em um único órgão.
<b>M1c</b>	Metástases múltiplas em um único órgão.
<b>M1d</b>	Metástases em múltiplos órgãos.

Adaptado de: SOUSA (2008); DE PAULA et al (2005).

## 2.6 A relação do HPV com o câncer de pênis

A maioria das infecções causadas pelo HPV é transitória, onde apenas uma pequena parcela de indivíduos infectados tende a mantê-la de forma persistente. Em pacientes infectados com os tipos virais de alto risco oncogênico a persistência é maior, sugerindo que as infecções persistentes são as que contribuem efetivamente para a tumorigênese peniana (REIS et al., 2010).

Cerca de 10% a 15% de todos os tipos de câncer que afetam o homem são causados por vírus oncogênicos. Estima-se que 560.000 novos casos por ano em todo mundo estão diretamente relacionados com infecção pelo HPV (MARTIN e GUTKIND, 2008). A primeira vez que a presença do HPV foi detectada em carcinomas de pênis foi no início dos anos 80

(DURST et al., 1983). No Brasil os primeiros relatos foram registrados no ano de 1986, onde a presença do HPV foi observada em 44,4 % a 50,9% dos pacientes como diagnósticos de câncer de pênis (MCCANCE et al.,1986; VILLA e LOPES,1986).

O HPV tem sido reconhecido como possível agente etiológico no carcinoma peniano, mas seu papel no desenvolvimento da doença e a correlação com o prognóstico ainda não estão claros (PROWSE et al., 2008; STANKIEWICZ et al., 2011). Prowse e colaboradores (2008) encontraram o DNA do HPV em 54% dos carcinomas de pênis. Stankiewicz e colaboradores (2011) avaliaram que 56% dos tumores penianos apresentavam infecção pelo HPV.

No Brasil, poucos estudos analisam a associação entre a presença do HPV e o câncer peniano. McCance e colaboradores (1986) demonstraram a presença de HPV em 49% dos tumores de pênis enquanto que Bezerra e colaboradores (2001) observaram uma prevalência de 30,5% em um estudo realizado em São Paulo-SP. Scheiner et al (2008) em estudo realizado no Rio de Janeiro- RJ verificaram uma prevalência de HPV variando de 30 a 72% em pacientes com câncer de pênis. Sousa e colaboradores (2015) em um estudo realizado no estado do Maranhão com 76 pacientes com câncer de pênis, detectaram a presença de HPV em 63,15% das amostras.

De todos os tumores urológicos, o câncer de pênis é considerado o mais próximo ao câncer de colo de útero. Estudos epidemiológicos demonstram uma correlação forte entre os dois tipos de câncer. Mulheres cujos parceiros apresentam câncer de pênis possuem risco 2,8 a 3,2 maior para o desenvolvimento do câncer de colo uterino. Tais evidencias mostram o HPV como um dos agentes do câncer de colo de útero, tornando provável a associação entre o HPV e o câncer de pênis (COSTA, 2013).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Associar a infecção do HPV com o perfil histopatológico de carcinomas epidermóides penianos em pacientes do Estado do Maranhão.

#### **3.2 Específicos**

- Correlacionar variáveis sociodemográficas, hábito de vida, hábito sexuais e características clínicas/ patológicas dos tumores de pênis com a presença de HPV;
- Verificar a prevalência da infecção pelo HPV em tumores de pênis;
- Analisar os tipos mais prevalentes de HPV nos tumores de pênis;
- Relacionar os aspectos morfológicos, histológicos e o estadiamento dos tumores com a presença de HPV.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1. Tipo de estudo**

Trata-se de um estudo transversal prospectivo.

### **4.2 Período e local do estudo**

A pesquisa foi realizada no período de 30 de setembro de 2015 a abril de 2017. As amostras foram coletadas no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB), considerado hospital de referência em oncologia no Estado do Maranhão. A análise das amostras foi realizada no BioBanco de Tumores do Maranhão e no Centro de Estudos Superiores da Universidade Federal do Maranhão - Caxias-MA.

### **4.3 Amostra**

O método de amostragem foi por conveniência. Participaram da pesquisa 29 pacientes que foram submetidos a cirurgia de penectomia no período do estudo.

#### **4.3.1 Critério de inclusão**

Pacientes com diagnóstico clínico de câncer de pênis atendidos no IMOAB que foram submetidos a cirurgia de penectomia e concordaram em participar da pesquisa assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A)

#### **4.3.2 Critérios de não inclusão**

Pacientes que não aceitaram participar da pesquisa.

### **4.4 Instrumento de coleta de dados**

Um questionário elaborado pela equipe de pesquisa do BTMA foi aplicado aos pacientes antes do procedimento cirúrgico para coleta dos dados sociodemográficos e antecedentes pessoais (ANEXO B). Os dados clínicos e histopatológicos foram coletados dos prontuário dos pacientes.

#### 4.4.1 Coleta das amostras

Um dia antes da cirurgia, o mapa cirúrgico do hospital era fornecido com a data e hora do procedimento. No pré-operatório imediato, na sala de espera para a cirurgia, o paciente era convidado à participar da pesquisa e após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e da aplicação do questionário, o mesmo era encaminhado para a sala cirúrgica. Durante o procedimento cirúrgico, em média 2 fragmentos de tecido tumoral de aproximadamente 0,5 cm eram coletados, colocados em um eppendorf contendo RNA later (Life Technologies®) à 4° C e após 24hs armazenados em freezer a -80°C até o uso.

#### 4.4.2 Extração e quantificação do DNA

O DNA genômico total das amostras congeladas foi extraído como descrito pelo manual de uso do kit Dneasy Blood and Tissue (QIAGEN Ltd,UK). O DNA foi eluído em tampão Tris-Borato- EDTA e armazenado a -20°C até sua quantificação.

A pureza e a concentração do DNA foi determinada através do espectrofotômetro Nanovue (GE®, USA). As amostras que tiveram a absorbância no comprimento de onda 260/280 nm entre 1,8-2,0 foram eluídas em tampão TE e diluída a uma concentração de ~5 ng/μL.

#### 4.4.3 PCR Nested

A técnica de PCR Nested foi utilizada para a detecção viral. Os *primers* utilizados foram os PGMY 09 e PGMY11 no primeiro round e os *primers* GP+5 e GP+6 no segundo round. A sequência de nucleotídeos dos *primers* está no (Quadro 4).

**Quadro 4** – Sequência de nucleotídeos dos *primers* utilizados no estudo.

Primers		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		TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC
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 resultou em um volume final de 25 µL contendo 10 p mol de cada primer, 2,5µL de tampão 10X, 0,5µL de cloreto de magnésio a 50 Mm, 10 Mm Dntp e 0,2 µL de Taq Polimerase Platinum (Invitrogen ®) (COUPLÉE et al., 2002).

O segundo round da reação de PCR Nested foi realizado com os *primers* GP5+/GP6+ onde a desnaturação inicial ocorreu com 4 minutos a 95°C seguida por 45 ciclos de desnaturação por 45 segundos a 95°C, anelamento a 40°C por 1 minuto e extensão por 1 minuto a 72°C. A reação consistiu em um volume final de 25 µL contendo 10 pmoL de cada *primer*, 2,5µL de tampão 10X, 1,5µL de cloreto de magnésio a 50 Mm, 10 Mm Dntp e 0,3 µL de Taq Polimerase Platinum (Invitrogen ®)111 (COUPLÉE et al., 2002).

#### 4.4.4 Visualização dos produtos amplificados

Os produtos das reações foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 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 30 minutos a 5 V/cm<sup>2</sup> em cuba horizontal (Life Technologies, EUA). Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (BIO-RAD Laboratories, EUA).

#### 4.4.5 Purificação do produto de PCR

Os produtos de PCR foram purificados com o kit Genelute PCR Clean up kit de acordo com o protocolo do fabricante (Sigma-Aldrich, USA). A cada microtubo foram adicionados 500 µL de tampão de captura a 100 µL de produto de PCR. Esta solução foi transferida para uma coluna *Microspin* com tubo coletor e depois de uma série de lavagens com tampões, foi adicionado ao centro da coluna 25 µL de tampão de eluição. O material foi centrifugado, 2 µL do DNA purificado foram submetidos a uma corrida eletroforética em gel de agarose 2 % para avaliação da amostra purificada. Por fim, este material foi reservado a – 20 °C para a realização do sequenciamento.

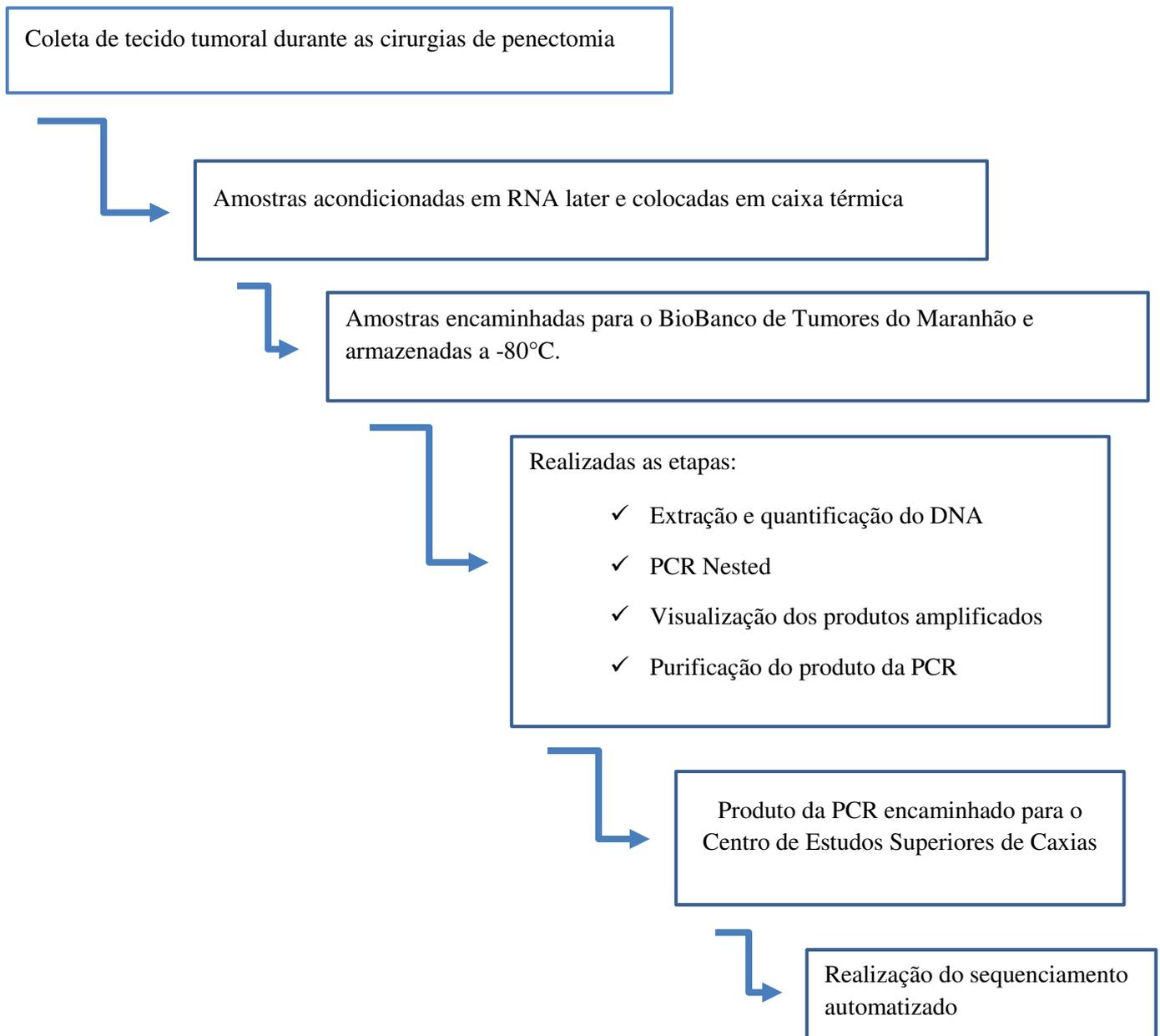
#### 4.4.6 Sequenciamento automatizado

O sequenciamento automatizado foi utilizado para a genotipagem dos subtipos virais. As reações de sequenciamento foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão localizado no Centro de Estudos Superiores de Caxias-CESEC-UEMA sob a supervisão do Dr. Elmary da Costa Fraga. 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 cada exon (senso ou antisenso) e 2 µL do kit. O sequenciador automatizado utilizado foi o MegaBACE 1000 (GE Healthcare, UK).

A sequência nucleotídica fornecida pelo sequenciador foi analisada no software Chromas 2.6.4 (Technelysium Pty Ltd, Cordelia St South Brisbane, Austrália) e inserida no software Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (NCBI, Bethesda, USA). O programa realiza alinhamentos entre as sequências

fornecidas pelo pesquisador (denominada query) e as sequências contidas em um banco de dados denominado GeneBank (sbjct).

**Figura 3** Fluxograma da coleta de dados



#### **4.5 Análise estatística**

Os dados foram analisados através do programa estatístico SPSS (versão 17.0, IBM, Chicago, IL, USA). A variável dependente foi representada pela detecção do HPV (ausência ou presença), enquanto as variáveis independentes englobaram a caracterização socioeconômica, comportamentos, hábitos de higiene, variáveis clínicas, histopatológicas e caracterização genética.

Inicialmente foi realizada a estatística descritiva dos dados por meio de medidas de frequência, média e desvio-padrão. O teste Qui-quadrado ou Exato de Fisher foi utilizado para comparar a distribuição das variáveis categóricas entre os grupos com ausência ou presença de HPV. O coeficiente de Spearman (Rs) foi utilizado para analisar a correlação entre as variáveis ordinal de graduação da lesão neoplásica (Jackson, Broders e Componente T da escala TNM). O nível de significância adotado foi de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

#### **4.6 Aspectos Éticos**

Em conformidade com as normas para pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução CNS nº 466/12), o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da UFMA, com o parecer nº 1.250.233 (ANEXO C).

## 5 RESULTADOS

Participaram da pesquisa 29 homens com idade média de 63,5,  $\pm$ 17,6 anos, submetidos a cirurgia de penectomia. Observou-se que a maioria dos homens submetidos a penectomia estavam na faixa etária maior que 60 anos (69,0%), se auto relatavam de cor não branca (82,8%), apresentavam união conjugal estável (75,9%), renda de até 1 salário mínimo (75,9%), analfabetos (55,2%) e residiam em municípios do interior do Estado do Maranhão (79,3%). Com relação aos hábitos de vida, observou-se que 62,0% da amostra já tinham feito uso de produto de tabaco e 69,0% de álcool durante a vida. Na análise de associação com a presença de HPV, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes para as variáveis analisadas ( $P > 0,05$ ). (Tabela 1)

**Tabela 1.** Associação entre a detecção de HPV, variáveis socioeconômicas e hábitos de vida de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de <i>p</i>
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Faixa etária</b>				0,591
Até 60 anos	9 (31,0)	3 (33,3)	6 (66,7)	
<b>Maiores que 60 anos</b>	<b>20 (69,0)</b>	<b>6 (30,0)</b>	<b>14 (70,0)</b>	
<b>Cor da pele</b>				0,497
Branca	5 (17,2)	1 (20,0)	4 (80,0)	
<b>Não branca</b>	<b>24 (82,8)</b>	<b>8 (33,3)</b>	<b>16 (66,7)</b>	
<b>Estado civil</b>				0,630
<b>Com união estável</b>	<b>22 (75,9)</b>	<b>7 (31,8)</b>	<b>15 (68,2)</b>	
Sem união estável	7 (24,1)	2 (28,6)	5 (71,4)	
<b>Renda</b>				0,630
> 1 salário mínimo	7 (24,1)	2 (28,6)	5 (71,4)	
<b>≤ 1 salário mínimo</b>	<b>22 (75,9)</b>	<b>7 (31,8)</b>	<b>15 (68,2)</b>	
<b>Escolaridade</b>				0,404
<b>Analfabeto</b>	<b>16 (55,2)</b>	<b>5 (31,3)</b>	<b>11 (68,7)</b>	
Até 8 anos de estudo	10 (34,5)	4 (40,0)	6 (60,0)	
Mais que 8 anos	3 (10,3)	-	3 (100)	
<b>Local de residência</b>				0,339
São Luís	6 (20,7)	3 (50,0)	3 (50,0)	
<b>Interior do Maranhão</b>	<b>23 (79,3)</b>	<b>6 (26,1)</b>	<b>17 (73,9)</b>	
<b>Tabagismo</b>				0,999
Não	11 (38,0)	4 (36,4)	7 (63,6)	
<b>Ex-tabagista</b>	<b>13 (44,8)</b>	<b>4 (30,8)</b>	<b>9 (69,2)</b>	
<b>Atual tabagista</b>	<b>5 (17,2)</b>	<b>1 (20,0)</b>	<b>4 (80,0)</b>	
<b>Etilismo</b>				0,999
Não	9 (31,0)	3 (33,3)	6 (66,7)	
<b>Ex-etilista</b>	<b>16 (55,2)</b>	<b>5 (31,3)</b>	<b>11 (68,7)</b>	
<b>Atual etilista</b>	<b>4 (13,8)</b>	<b>1 (25,0)</b>	<b>3 (75,0)</b>	

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

Na tabela 2, notou-se que a maior frequência de homens relatou a ocorrência do primeiro coito com idade menor que 18 anos (48,3%), 44,8% relataram ter tido mais de 10 parceiras sexuais durante a vida, 82,8 % apresentavam parceiro sexual fixo, 62,1% não haviam passado por procedimento de circuncisão, 72,4% nunca haviam utilizado preservativo e 62,1% relataram não praticar sexo anal. Observou-se também que 75,9% realizavam sempre a higiene após a relação sexual, 75,9% relataram nunca ter praticado zoofilia, 41,4% sinalizaram a ocorrência de alguma DST prévia. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na distribuição das variáveis supracitadas entre os grupos com ou sem a detecção de HPV entre os homens com câncer de pênis submetidos à penectomia ( $P > 0,05$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Associação entre a detecção de HPV e variáveis referentes aos hábitos sexuais de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de <i>p</i>
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Idade do 1º coito</b>				0,592
< 18 anos	14 (48,3)	3 (21,4)	11 (78,6)	
≥ 18 anos	7 (24,1)	1 (14,3)	6 (85,7)	
Sem informação	8 (27,6)	-	-	
<b>Número de parceiros sexuais durante a vida</b>				0,232
Até 10	11 (38,0)	3 (27,3)	8 (72,7)	
Mais que 10	13 (44,8)	1 (7,7)	12 (92,3)	
Sem informação	5 (17,2)	-	-	
<b>Parceiro sexual fixo</b>				0,497
Não	5 (17,2)	1 (20,0)	4 (80,0)	
Sim	24 (82,8)	8 (33,3)	16 (66,7)	
<b>Circuncisão</b>				0,421
Não	18 (62,1)	5 (27,8)	13 (72,2)	
Sim	3 (10,3)	-	3 (100)	
Sem informação	8 (27,6)	-	-	
<b>Uso de preservativo</b>				0,191
Sempre	-	-	-	
Às vezes	8 (27,6)	1 (12,5)	7 (87,5)	
Nunca	21 (72,4)	8 (38,1)	13 (61,9)	
<b>Prática de sexo anal</b>				0,287
Não	18 (62,1)	4 (22,2)	14 (77,8)	
Sim	6 (20,7)	-	6 (100)	
Sem informação	5 (17,2)	-	-	
<b>Higiene genital após relação sexual</b>				0,795
Nunca	4 (13,8)	2 (50,0)	2 (50,0)	
Às vezes	3 (10,3)	1 (33,3)	1 (66,7)	
Sempre	22 (75,9)	6 (27,3)	16 (72,7)	
<b>Prática de Zoofilia</b>				0,630
Nunca	22 (75,9)	7 (31,8)	15 (68,2)	

Já praticou	7 (24,1)	2 (28,6)	5 (71,4)	0,634
<b>Relato de DST prévia</b>				
Não	11 (37,9)	3 (27,3)	8 (72,7)	
<b>Sim</b>	<b>12 (41,4)</b>	<b>3 (25,0)</b>	<b>9 (75,0)</b>	
Sem informação	6 (20,7)	-	-	

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

Na tabela 3, constatou-se que 62,2% dos homens não relataram outros casos de câncer na família, embora 10,3 % sinalizaram que haviam casos prévios de câncer de pênis em outros membros da família. Observou-se que 3 homens (10,3%) já haviam sido diagnosticados com câncer anteriormente, sendo um dos casos câncer de pênis. Com relação a região anatômica afetada pela lesão, metade da amostra (51,7%) apresentava duas ou mais regiões afetadas, sendo a glândula citada em 93,1% dos casos, seguido pelo prepúcio (44,8%) e haste do pênis (20,7%) Não houve diferença estatisticamente significante, entre a presença de HPV e a região ou características da lesão ( $P > 0,05$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Associação entre a detecção de HPV, os antecedentes pessoais/familiar do câncer de pênis e características clínicas da lesão peniana de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de P
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Relatos de câncer na família</b>				0,523
<b>Sem relatos</b>	<b>18 (62,2)</b>	<b>5 (27,8)</b>	<b>13 (72,2)</b>	
Câncer de pênis	3 (10,3)	-	3 (100)	
Outros tipos de câncer	5 (17,2)	2 (40,0)	3 (60,0)	
Sem informação	3 (10,3)	-	-	
<b>Câncer prévio</b>				0,311
<b>Não</b>	<b>26 (89,7)</b>	<b>9 (34,6)</b>	<b>17 (65,4)</b>	
Sim	3 (10,3)	-	3 (100)	
<b>Número de Regiões anatômica afetada</b>				0,449
Apenas uma	14 (48,3)	5 (35,7)	9 (64,3)	
<b>Duas ou mais</b>	<b>15 (51,7)</b>	<b>4 (26,7)</b>	<b>11 (73,3)</b>	
<b>Glândula afetada</b>				0,467
Não	2 (6,9)	-	2 (100)	
<b>Sim</b>	<b>27 (93,1)</b>	<b>9 (33,3)</b>	<b>18 (66,7)</b>	
<b>Prepúcio afetada</b>				0,335
Não	16 (55,2)	6 (37,5)	10 (62,5)	
<b>Sim</b>	<b>13 (44,8)</b>	<b>3 (23,1)</b>	<b>10 (76,9)</b>	
<b>Haste do pênis afetada</b>				0,081
Não	23 (79,3)	9 (39,1)	14 (60,9)	
<b>Sim</b>	<b>6 (20,7)</b>	<b>-</b>	<b>6 (100)</b>	

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

A Tabela 4 ilustra a frequência estatisticamente mais elevada de lesão do tipo ulcerada (51,7%), quando comparadas às lesões do tipo verrucosa (24,1%). Observou-se também a invasão perineural em apenas 1 caso (3,4%) e a invasão angiolinfática em 13,8% da amostra.

Em relação a classificação do câncer de pênis através do grau de Broders, 41,4 % das amostras foram classificadas como grau I, ou seja, sua arquitetura tecidual se assemelha a um padrão normal de epitélio escamoso. De acordo com o estadiamento TMN, 24,1 % das amostras são classificadas com T2, ou seja, invadem corpo cavernoso ou esponjoso, em apenas um caso foi detectado a presença de metástase em linfonodos profundos e em todos os casos não foi possível avaliar metástase distante, sendo possível fazer associação com a presença de HPV apenas o componente T. As amostras também foram analisadas quanto a classificação de Jackson onde constatou-se que a maior parcela das amostras encontram-se no estágio I e II, ambas com uma frequência de 27,6%.

**Tabela 4.** Associação entre a detecção de HPV, variáveis histopatológicas da lesão e o estadiamento tumoral de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.

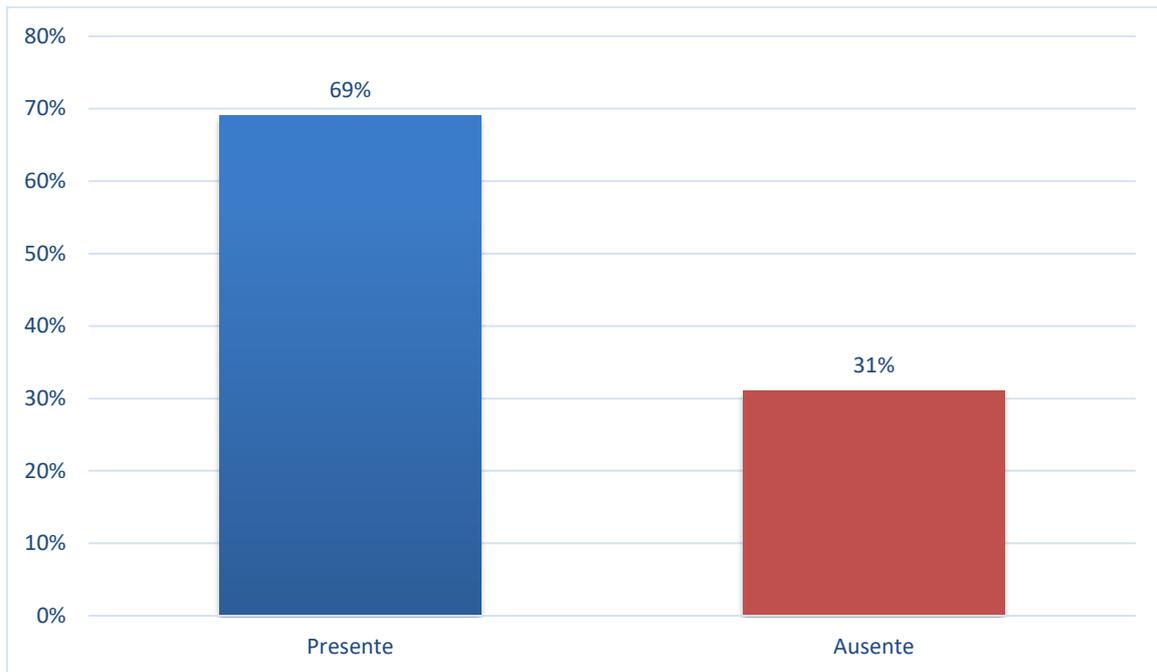
Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de P
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Características da lesão:</b>				
<b>Ulceração</b>				0,273
Ausente	10 (34,5)	2 (20,0)	8 (80,0)	
<b>Presente</b>	<b>15 (51,7)</b>	<b>6 (40,0)</b>	<b>9 (73,7)</b>	
Sem informação	4 (13,8)	-	-	
<b>Verrucosa</b>				0,246
Ausente	18 (62,1)	7 (38,9)	11 (61,1)	
<b>Presente</b>	<b>7 (24,1)</b>	<b>1 (14,3)</b>	<b>6 (85,7)</b>	
Sem informação	4 (13,8)	-	-	
<b>Invasão perineural</b>				0,689
Não detectada	28 (96,6)	9 (32,1)	19 (67,9)	
<b>Detectada</b>	<b>1 (3,4)</b>	-	<b>1 (100)</b>	
<b>Invasão angiolinfática</b>				0,364
Ausente	25 (86,2)	7 (28,0)	18 (72,0)	
<b>Presente</b>	<b>4 (13,8)</b>	<b>2 (50,0)</b>	<b>2 (50,0)</b>	
<b>Classificação de Broders</b>				0,073
<b>Grau I</b>	<b>12 (41,4)</b>	<b>6 (50,0)</b>	<b>6 (50,0)</b>	
Grau II	7 (24,1)	-	7 (100)	
Grau III	4 (13,8)	2 (50,0)	2 (50,0)	
Sem informação	6 (20,7)	-	-	
<b>Componente T (TNM)</b>				1,000
<b>T1</b>	<b>8 (27,7)</b>	<b>2 (25,0)</b>	<b>6 (75,0)</b>	
T2	7 (24,1)	2 (28,6)	5 (71,4)	
T3	5 (17,2)	2 (40,0)	3 (60,0)	
Sem informação	9 (31,0)	-	-	
<b>Classificação de Jackson</b>				0,161
<b>Estágio I</b>	<b>8 (27,6)</b>	<b>2 (25,0)</b>	<b>6 (75,0)</b>	
<b>Estágio II</b>	<b>8 (27,6)</b>	<b>2 (25,0)</b>	<b>6 (75,0)</b>	
Estágio III	2 (6,9)	2 (100)	-	

Sem informação	11 (37,9)	-	-
----------------	-----------	---	---

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

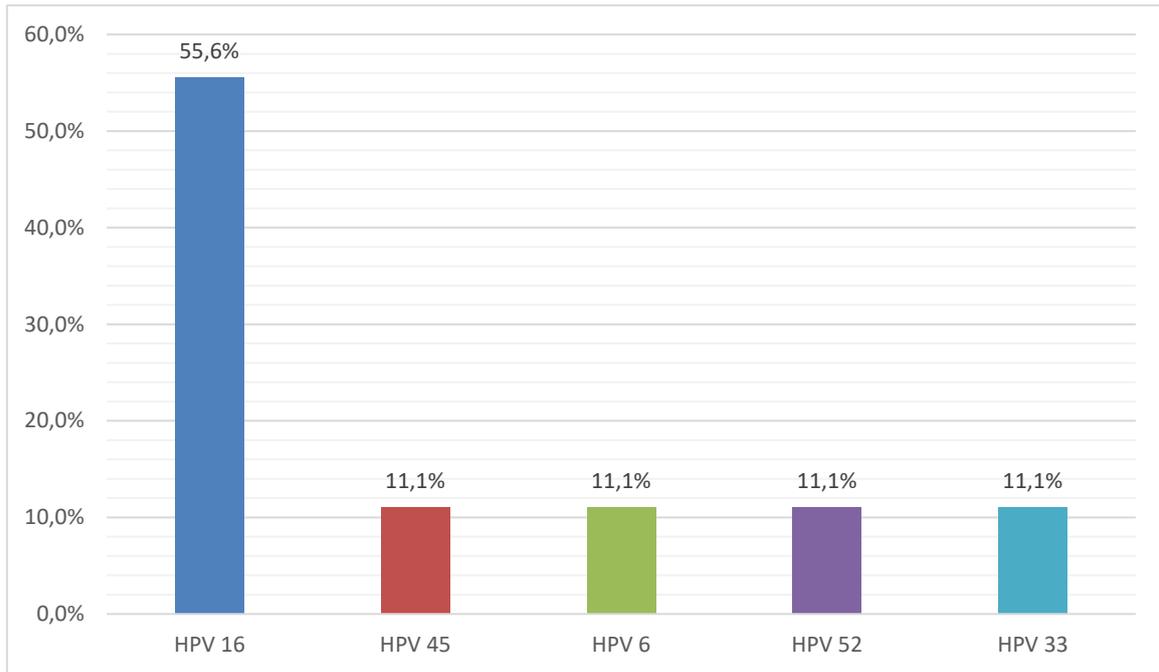
Das 29 amostras analisadas, 100% das amostras foram classificadas com carcinoma epidermóide invasivo.

Dentre as 29 amostras do estudo, em 20 (69%) foram confirmadas a presença do HPV (Gráfico1).



**Gráfico 1.** Distribuição da detecção de HPV na amostra de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.

Através da técnica do sequenciamento automatizado, foi possível identificar os tipos virais em 45% das amostras. O tipo 16, considerado de alto risco oncogênico, esteve presente em 55,6% das amostras, seguidos dos tipos 45 (11,1%), 6 (11,1%), 52 (11,1%) e 33 (11,1%) (Gráfico 2).



**Gráfico 2.** Distribuição dos tipos de HPV identificados pela técnica de sequenciamento automatizado de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no estado do Maranhão em 2017.

## 6 CONCLUSÃO

O elevado percentual de pacientes residentes no interior do Maranhão e de analfabetos revelam a precariedade na educação dos interiores do estado, que tem por consequência a falta de informação sobre a importância do uso de preservativo e de higiene, fatores relevantes para a prevenção do câncer de pênis.

Observou-se que, em sua maioria os homens não eram circuncidados e apresentavam lesão tumoral na região da glândula. Tal resultado pode contribuir para reforçar a influência da ausência de circunsição com o desenvolvimento do câncer de pênis e o risco aumentado de contrair o HPV. A presença de fimose dificulta a exposição da glândula, impedindo sua correta higienização e propiciando o início de um processo inflamatório que pode resultar no desenvolvimento de lesão cancerígena. Além disso, a presença de fimose pode dificultar a detecção da lesão na fase inicial pelo homem, o que pode contribuir para o diagnóstico tardio da doença.

Apesar de não ter sido observado correlação estatisticamente significativa entre as características histopatológicas das lesões e a presença do HPV, o mesmo foi encontrado com um percentual relevante e que corrobora com estudos nacionais e internacionais. Tal resultado pode contribuir para reforçar os estudos já existentes que mostram a infecção pelo HPV como um forte fator de risco para o desenvolvimento do câncer peniano. De todos os subtipos virais identificados, somente o tipo 6 não é considerado de alto risco, os outros subtipos (16,45,52,33) estão associados com o desenvolvimento de outros tipos de câncer. A malignidade destes subtipos encontrados evidencia a necessidade de políticas públicas voltadas para a inclusão cada vez maior dos homens nas campanhas de vacinação contra o HPV.

A falta de correlação estatisticamente significativa pode ser consequência da ausência de informações devido ao viés de esquecimento da amostra, por se tratar de paciente idosos e da falta de registros nos prontuários dos pacientes, ressaltando a necessidade dos completos registros, tanto para uma melhor assistência aos pacientes quanto para as pesquisas científicas.

## 7 RECOMENDAÇÕES

Este trabalho tem a grande responsabilidade de se constituir em um referencial para a adoção de medidas de fortalecimento do que se identifica como positivo e redimensionamento do que se mantém como problema ou entrave, portanto, podem-se sugerir algumas estratégias a partir da análise de nossos resultados:

a) Implementação de políticas públicas com modernização da gestão, utilizando novas tecnologias que conduzam ao crescimento econômico, com uma distribuição de renda equitativa e vinculada a intervenções que atendam às necessidades essenciais (serviços de saúde, ambientes saudáveis, oportunidades educativas);

b) Fortalecimento da Linha de Cuidado à Saúde do Homem, no que tange aos serviços preventivos e de tratamento do Câncer Peniano, por meio da vigilância em saúde com notificação dos casos, descentralização e expansão dos serviços e adoção de mecanismos de referência e contra referência;

c) Garantia da qualificação profissional e a adoção de protocolos e consensos clínicos sobre o agravo em estudo.

## REFERÊNCIAS

- ALEMANY, L. et al. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. **European Urology**, v. 69, p. 953–961, 2016.
- BACKES, D. M. et al. Systematic review of human papillomavirus prevalence in invasive penile cancer. **Cancer Causes Control**, v. 20, n. 4, p. 449-457, 2009.
- BAILEY, R. et al. A circuncisão masculina para a prevenção do HIV em homens jovens em Kisumu, Quênia: um estudo controlado randomizado. **Lancet**, v: 369, p. 643-656, 2007.
- BARROS, E.N.; MELO, M.C.B. Câncer de pênis: perfil sócio-demográfico e respostas emocionais à penectomia em pacientes atendidos no Serviço de Psicologia do Hospital de Câncer de Pernambuco. **Rev. SBPH.**, v. 12, n. 1, p. 99-111, 2009.
- 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.
- BEZERRA, A.L et al. Human papillomavirus as a prognostic factor in carcinoma of the penis: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. **Cancer**, v.91, n.12, p.2315-21, 2001.
- BLEEKER, M.C. et al. Penile cancer: epidemiology, pathogenesis and prevention. **World J Urol**, v. 27, n. 2, p. 141- 150, 2009.
- Brasil, Ministério da Saúde. Meninos também serão vacinados contra HPV. 2016. Disponível em <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/25953-meninos-tambem-serao-vacinados-contrahpv>. Acesso em: 30 de dezembro de 2016.
- BORSATTO, A.Z.; VIDAL, M.L.B.; ROCHA, R.C.N.P. Vacina contra o HPV e a Prevenção do Câncer do Colo do Útero: Subsídios para a Prática. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v.57, n.1, p. 67-74, 2011.
- BULLEN, K. et al. Exploring men’s experiences of penile cancer surgery to improve rehabilitation. **Nurs Times**. v. 105, n. 12, p. 20-24, 2009.
- CALMON, M.F. et al. Penile carcinoma: risk factors and molecular alterations. **The Scientific World JOURNAL: TSW Urology**, v.11, 2011.
- 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, p. 15–23, 2009.
- 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.

- CHAUX, A. et al. The prognostic index: a useful pathologic guide for prediction of nodal metastases and survival in penile squamous cell carcinoma. **Am J Surg Pathol**, v.33, n.7, p.1049-1057, 2009.
- CHAVES, J.H.B. et al. Peniscopia no rastreamento das lesões induzidas pelo papilomavirus humano. **Rev Bras Clin Med. São Paulo**, v.9, n.1, p.30-35,2011.
- CHOI, J.W. et al. Adenoviral p53 effects and cell-specific E7 protein-protein interactions of human cervical cancer cells. **Biosens Bioelectron**. v.20, n. 11, p.2236-2243, 2005.
- COUTLÉE, F. et al. Use of PGMV 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.
- CRAWFORD, L.V.; CRAWFORD, E.M. A comparative study of polyoma viruses. **Virology**. v. 21, p.258-263, 1963.
- CROSIGNANI, P. et al. Towards the eradication of HPV infection through universal specific vaccination. **BMC Public Health**. v.11, n.13, p.642-650, 2013.
- CROW, J. M. HPV: The global burden. **Nature**, v. 488, n. 7413, p. S2-3, 2012.
- COSTA, S.et al. Câncer de pênis: epidemiologia e estratégias de prevenção. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde Facipe, Recife**, v. 1, n.2, p. 23-33, 2013.
- CUBILLA, A. et al. A célula basalóide é o melhor marcador de tecido para papilomavírus humano em carcinoma invasivo de células escamosas do pênis: um estudo de 202 casos do Paraguai. **Am J Surg Pathol**, v.34, p. 104-114, 2010.
- 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 PAULA, A. A. P. et al. Carcinoma epidermóide do pênis: considerações epidemiológicas, histopatológicas, influência viral e tratamento cirúrgico. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 3, p. 243-252, 2005.
- DE VILLIERS, E.M. et al. Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology. **Lancet**. v.2, p.703- 706, 1987.
- DO, H.T. et al. The etiologic role of human papillomavirus in penile cancers: a study in Vietnam. **Br J Cancer**,v. 108, n.1,p.229-233, 2013.
- DURST, M. et al. Papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy sample from different geographic regions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 80, p. 3812- 3815, 1983.
- FAVORITO, L.A. et al. Epidemiologic Study on Penile Cancer in Brazil. **International Braz J Urol**, v. 34, n. 5, p. 587-593, 2008.

FAY, C.E.S. **Avaliação da expressão imunoistoquímica do fator tecidual no carcinoma de pênis.** 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado)- Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2014.

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.

FERRAZ, L.C.; SANTOS, A.B.R.; DISCACCIATI, M.G. Cell cycle, HPV and cervical intraepithelial neoplasia evolution: biomarkers selection. **J Health Sci Inst.** v.30, n.2, p. 107-111, 2012.

FRANCO, E.L. Primary screening of cervical cancer with Human Papillomavirus test. **Journal of the National Cancer Institute, Monographs**, v. 31, p. 89-96, 2003.

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.

GIRALDO, P.C. et al. Prevenção da infecção por HPV e lesões associadas com o uso de vacinas. **DST - J bras Doenças Sex Transm**, v.20, n.2, p.132-140, 2008.

GIULIANO, A.R. et al. The Human papillomavirus infection in men study: Human papillomavirus prevalence and type distribution among men residing in Brazil, Mexico and United States. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v:17, n.2, p.2036-2043. 2008.

GRAY, R. et al. A circuncisão masculina para a prevenção do HIV em homens em Rakai, Uganda: um ensaio randomizado. **Lancet**, v.369, p.657-666, 2007

HEBNER, C.M.; LAIMINS, L.A. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. **Rev Med Virol.** v.16, n.2, p.83-97, 2006.

HERNANDEZ, B.Y. et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. **Emerg Infect Dis.** v.14, n.6, p.888-894, 2008.

INCA, Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. **HPV e cancer-perguntas frequentes**, 2016. Disponível em:

<[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo\\_uterio/hpv-cancer-perguntas-mais-frequentes](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio/hpv-cancer-perguntas-mais-frequentes) > . Acesso em :10 de novembro de 2016.

INCA, Instituto Nacional do Câncer, Ministério da Saúde. **Câncer de pênis**, 2016 .Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/penis> Acesso em: 05 de outubro de 2016.

JACKSON, S.M. The treatment of carcinoma of the penis. **Br J Surg**, v. 53, n.1, p. 33-35, 1966.

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. 711–723, 2015.

- KAYES, O. et al. Molecular and genetic pathways in penile cancer. **The Lancet Oncol**, v.8, n.5, p. 420–429, 2007.
- 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.
- KOVANDA, A. et al. Characterization of a Novel Cutaneous Human Papillomavirus Genotype HPV-125. **PLoS ONE**. V.6, n.7, p.214-224, 2011.
- LARKE N., Thomas S., dos Santos Silva I., Weiss H.A circuncisão masculina e câncer de pênis: uma revisão sistemática e meta-análise. **Causas de câncer de controle**.v:22, n.1, p.1097-1110, 2011.
- LEE, S.M. et al. Risk of vertical transmission of human papillomavirus throughout pregnancy: a prospective study. **PLoS One**, v.8, n.6, p.663-668, 2013.
- LETO, M.G.P. et al. Infecção pelo papilomavirus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **An Bras Dermatol**. v.86, n. 2, p. 306-317, 2011.
- LINHARES, A.C.; VILLA, L.V. Vaccines against rotavirus and human papillomavirus (HPV). **J Pediatrics**, v.82, n. 3, p. 25-34, 2006.
- MADEN, C. et al. History of circumcision medical conditions and sexual activity and the risk of penile cancer. **J Nat Cancer Inst**, v. 42, n. 1, p.19-24, 1993.
- MARTIN, D.; GUTKIND, J. S. Human tumor-associated viruses and new insights into the molecular mechanisms of cancer. **Oncogene**, v.27, n.2, p.S31-S42, 2008.
- MCCANCE, D.J. et al. Human papillomavirus types 16 and 18 in carcinomas of the penis from Brazil. **Int J Cancer**.v.37, n.1, p. 55-59, 1986.
- MOTA, M.T. O. **Identificação e validação de genes diferencialmente expressos em carcinoma de pênis**. 2013. 101 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/103865>> Acesso em: 20 mai. 2017.
- NATUNEN K. et al. Aspects of prophylactic vaccination against cervical cancer and other human papillomavirus-related cancers in developing countries. **Infect Dis Obstet Gynecol**, v.2011, n.1, p. 1-10, 2011.
- OLTHOF, N.C. et al. Next generation treatment strategies for HPV-related head and neck squamous cell carcinomas: Where do we go? **Rev Med Virol**, v. 22, n.2, p.88-105, 2012.
- PAIVA, G. R. **Carcinoma de pênis: panorama da doença no estado da Bahia: considerações epidemiológicas e histopatológicas**.2010.70f. Dissertação (mestrado)- Universidade Federal da Bahia, 2010.
- PIZZOCARO, G. et al. EAU penile cancer guidelines. **European Urology**, v.57, n.2010 p.1002-1012, 2009.

PROWSE, D.M. et al. Human papillomavirus-associated increase in p16INK4A expression in penile lichen sclerosus and squamous cell carcinoma. **Br J Dermatol.** v.158, n.2, p.261-265, 2008.

REIS, A.A. et al. Aspectos clínico-epidemiológicos associados ao câncer de pênis. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, n.1, p. 1105-1111, 2010.

RIPPENTROP, J.M; JOSLYN, S.A; KONETY, B.R. Squamous cell carcinoma of the penis evaluation of data from the surveillance, epidemiology and end results program. **Cancer**, v.101, n.6, p.1357-1363. 2004

RODEN, R.; WU, T.C. How will HPV vaccines affect cervicalcancer? **Nature Reviews Cancer**, v.6, n.10, p.753- 763, 2006.

SCHEINER, M.A. et al. Human Papillomavirus and Penile Cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV Typing and Clinical Features. **International Braz J Urol.** v.34, n.4, p. 467-476, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. Primeiro Estudo Epidemiológico sobre o Câncer de Pênis Disponível em:< [http://www.sbu.org.br/pdf/bolu\\_232-2007.pdf](http://www.sbu.org.br/pdf/bolu_232-2007.pdf). > Acesso em:13 de outubro de 2015.

SILVA, A. M. T. C. et al. Genotipagem de Papiloma Vírus Humano em paciente com papilomase laríngea recorrente. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 49, n. 3, p. 167- 174, 2003.

SILVA, M.J.P.M. et al. A eficácia da vacina profilática contra o HPV nas lesões HPV induzidas. **Femina**, v.37, n.10, p.1-8, 2009.

SLAOUI, A. et al. Penile cancer: about ten cases at the University Hospital of Rabat, review of the literature. **Pan Afr Med J.** v.22, n.53, 2015.

SNIJDERS, P.J. et al. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. **J Pathol.** v.208, n.2, p.152-64, 2006.

SOBIN, L.; WITTEKIND C. **TNM Classification of Malignant Tumors.** 6<sup>th</sup> edition. John Wiley and Sons, 2002.

SOUSA, A. F. M. **Detecção e Genotipagem de Papiloma Vírus Humano em Tumores de Pênis.** 2008. 98p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia. 2008  
SOUSA, I.D.B. 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.

SPIESS, P.E. et al. Current concepts in penile cancer. **J Natl Compr Canc Netw.** v.15, n.5, p.617-624, 2013.

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.

STANKIEWICZ, E. et al. The retinoblastoma protein/p16 INK4A pathway but not p53 is disrupted by human papillomavirus in penile squamous cell carcinoma. **Histopathology**, v. 58, n. 3, p. 433-439, 2011.

STRAUSS, M. J. et al. Crystalline virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies. **Proc Soc Exp Biol Med**, v.72, n.1, p. 46-50, 1949.

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

TEIXEIRA, J. C. et al. Avaliação do parceiro sexual e risco de recidivas em mulheres tratadas por lesões genitais induzidas por Papilomavírus Humano (HPV). **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 24, n. 5, p. 315-320, 2002.

TORBRAND, C., et al. Socioeconomic factors and penile cancer risk and mortality; a population-based study. *BJU International*, v.119, p.254–260, 2017.

VILLA, L. L.; LOPES, A. Human Papillomavirus DNA sequence in penile carcinomas in Brazil. **International Journal of Cancer**, v. 37, p. 853- 855, 1986.

WANICK.F.B. F. et al. Carcinoma epidermoide do pênis: estudo clínico-patológico de 34 casos. **An. Bras. Dermatol**, v.86, n.6, 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.

WEISS, T.W.; ROSENTHAL, S.L.; ZIMET, G.D. Attitudes toward HPV Vaccination among Women Aged 27 to 45. **ISRN obstetrics and gynecology**, v. 2011, n.1, p.1-6, 2011.

WOODMAN, C.B.; COLLINS, S.I.; YOUNG, L.S. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer*. Jan; v.7, n.1, p.11-22. 2007.

ZARDO, G.P. et al. Vacina como agente de imunização contra o HPV. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n.9, p. 3799-3808, 2014.

ZUR HAUSEN, H. Human Papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. **Curr Top Microbiol Immunol.**; v.78,p. 1-30. 1977.

## **ANEXOS**

## ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
BIOBANCO DE TUMORES E DNA DO MARANHÃO

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E 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, pesquisa para infecção pelo HPV através da reação em cadeia da polimerase, genotipagem viral por sequenciamento automático, análise da expressão proteica por PCR em tempo real. 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 que o senhor possa sentir 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 causará nenhum prejuízo a você. 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 20

**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

Jéssica Maran

Telefone de contato: (98) 98147-6275

**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

## ANEXO B – Questionário Sociodemográfico.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
BIOBANCO DE TUMORES E DNA DO MARANHÃO



**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/sem:	( ) água e sabão
( ) Não	( ) Não	( ) Expõe a glande
( ) Ex-tabagista	( ) Ex-etilista	( ) Parcial
Há quanto tempo parou:	Há quanto tempo parou:	( ) Total

( ) Passivo Tipo: Cigarros/dia:	Tipo: Doses/dia:	
<b>HÁBITOS SEXUAIS</b>		
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		
<b>PRECEDENTES MÓRBIDOS PESSOAIS E FAMILIARES</b>		
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:
<b>HISTÓRIA DA DOENÇA ATUAL</b>	
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:
<b>Entrevistador:</b>	

**Observações do entrevistador:**

## ANEXO C – Parecer Consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
MARANHÃO/MA



**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  
**Telefone:** (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 a 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 o ampliado 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 a 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  
**Telefone:** (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
MARANHÃO/MA



Continuação do Parecer: 1.250.233

**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_BASICAS_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  
**Telefone:** (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

ANEXO D – Normas da Revista  
Urology Internationalis

Classificação WEBQUALIS Medicina I- B2

Normas editoriais para autores/ Normas para autores

Condições

Todos os manuscritos estão sujeitos a revisão editorial. Os manuscritos são recebidos com o entendimento explícito de que eles não estão sob consideração simultânea por qualquer outra publicação. A submissão de um artigo para publicação implica a transferência dos direitos autorais do autor para o editor após a aceitação. Os documentos aceitos tornam-se a propriedade permanente de 'Urologia Internationalis' e não podem ser reproduzidos por qualquer meio, no todo ou em parte, sem o consentimento por escrito da editora.

Por razões legais, devemos receber sua "[Declaração de Envio](#)" com sua assinatura original (manuscrita). Faça o download, imprima, assine e envie um fax ou digitalize-o para torná-lo juridicamente vinculativo.

É responsabilidade do autor obter permissão para reproduzir ilustrações, tabelas, etc. de outras publicações.

Carta de apresentação

Deve incluir declarações sobre os seguintes pontos:

1. Todos os autores fizeram um contributo significativo para os achados e métodos no artigo.
2. Todos os autores leram e aprovaram o rascunho final.
3. Os interesses financeiros ou comerciais devem ser reconhecidos (se não houver interesses financeiros ou comerciais, isso deve ser indicado).
4. O trabalho ainda não foi publicado e não foi submetido simultaneamente a qualquer outro periódico.
5. O autor correspondente assume as responsabilidades acima com sua assinatura.

Política de Plágio

Seja intencional ou não, o plágio é uma violação grave. Definimos o plágio como um caso em que um artigo reproduz outro trabalho com pelo menos 25% de similaridade e sem citação. Se a evidência de plágio for encontrada antes / depois da aceitação ou após a publicação do artigo, o autor receberá uma chance de refutação. Se os argumentos não forem considerados satisfatórios, o manuscrito será retraído e o autor será sancionado pela publicação de documentos por um período a ser determinado pelo (s) Editor (es) responsável (s).

Arranjo

Página de título: A primeira página de cada artigo deve indicar o título, os nomes dos autores e o instituto onde o trabalho foi realizado.

Além disso, o seguinte deve ser colocado na página de título:

1. **Título abreviado** para uso como corredor
2. Uma lista de 3-10 **palavras-chave** para fins de indexação é essencial
3. **Autor correspondente** : um dos autores deve ser indicado como o autor correspondente. O nome completo e o endereço de correspondência completo, o

endereço de e-mail, bem como os números de telefone e fax desse indivíduo a quem a correspondência, as provas e os pedidos de reimpressões devem ser endereçados, devem ser fornecidos na parte inferior da página de título.

**Resumo:** Cada artigo deve ter um resumo estruturado (Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Conclusões) de até 20 linhas (aproximadamente 150 palavras). Resumos de relatórios de casos não precisam ser estruturados.

**Notas de rodapé:** evite notas de rodapé. Quando essenciais, eles são numerados consecutivamente e digitado no pé da página apropriada.

**Tabelas e ilustrações:** Tabelas e ilustrações (ambas numeradas em algarismos arábicos) devem ser preparadas em páginas separadas. As tabelas exigem um título e figura uma legenda, também preparada em uma página separada. Por razões técnicas, figuras com um fundo de tela não devem ser enviadas. Quando possível, agrupe várias ilustrações em um bloco para reprodução (tamanho máximo 180 x 223 mm) ou forneça marcas de corte. As imagens de cores e meia-tons em preto e baixo apresentadas eletronicamente devem ter uma resolução final de 300 dpi após a escala, desenhos de linha um de 800-1200 dpi. Os arquivos de figuras não devem ser incorporados em um arquivo de documento, mas enviados separadamente (para obter instruções detalhadas, consulte Instruções de envio on-line).

#### Ilustrações coloridas

**Edição on-line:** ilustrações coloridas são reproduzidas gratuitamente. Na versão impressa, as ilustrações são reproduzidas em preto e branco. Por favor, evite se referir às cores no texto e figura lendas.

**Edição impressa:** até 6 ilustrações em cores por página podem ser integradas no texto a CHF 960,00 por página.

#### Referências

No texto, identifique referências por algarismos arábicos [entre colchetes]. O material enviado para publicação, mas ainda não aceito, deve ser anotado como "dados não publicados" e não deve ser incluído na lista de referência. A lista de referências deve incluir apenas as publicações citadas no texto. Não alfabete; Número de referências na ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Os sobrenomes dos autores seguidos pelas iniciais devem ser dados. Não deve haver pontuação diferente de uma vírgula para separar os autores. De preferência, cite todos os autores. Abrande os nomes dos periódicos de acordo com o sistema Index Medicus. Veja também o Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas: Requisitos uniformes para manuscritos submetidos a revistas biomédicas ( [www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

*Software de Gerenciamento de Referência:* o uso do EndNote é recomendado para fácil gerenciamento e formatação de citações e listas de referência.

#### Identificador de Objeto Digital (DOI)

S. Karger Publishers suporta IDs como identificadores únicos para artigos. Um número DOI será impresso na página de título de cada artigo. Os DOI podem ser úteis no futuro para identificar e citar artigos publicados on-line sem informações de volume ou emissão. Mais informações podem ser encontradas em [www.doi.org](http://www.doi.org).

## ARTIGO CIENTÍFICO

### **Prevalência e genotipagem do papilomavírus humano em carcinomasepidermóides penianos de pacientes do Estado do Maranhão, Brasil.**

Título abreviado: Prevalência e genotipagem do papilomavírus humano em carcinomas epidermóides penianos.

RAMOS, Walna Luisa Barros; CUNHA, Ana Paula Almeida; COSTA, Lucas Henrique de Lima; DIAS, Aíla Maria Castro; BRITO, Luciane Maria Oliveira; VIDAL, Flávia Castello Branco.

Universidade Federal do Maranhão

Biobanco de Tumores do Maranhão

Correspondente: Flávia Vidal Castello Branco Vidal. Rua Coelho Neto, 311. Centro, São Luis-MA, CEP:65020-140. E-mail: flavidal@hotmail.com

#### RESUMO:

**OBJETIVO:** Avaliar a prevalência da infecção pelo vírus HPV em carcinomas penianos. **Material e Métodos:** Estudo analítico prospectivo de 29 pacientes submetidos a cirurgia de penectomia. Dados coletados através de um questionário e análise de prontuário. Amostras tumorais coletadas durante as cirurgias e em laboratório realizadas as etapas de: extração de DNA, PCR Nested e sequenciamento automatizado. Os dados foram analisados através do programa estatístico SPSS, nível de significância de 5%. **Resultados:** A média de idade da maioria dos pacientes (69%) foi superior a 60 anos, 75.9% possuíam renda familiar de até um salário mínimo, 55.2% eram analfabetos e 79.3% residiam em municípios do interior do Estado. Grande parte dos pacientes (62%) eram fumantes ou ex-fumantes, 62.1% não eram circuncidados, 41.4 % relataram DST prévia e 72.4% nunca usaram preservativo. O HPV foi detectado em 69% dos casos, sendo o HPV 16 de alto risco oncogênico o mais prevalente (55.5%), 51.7% dos casos apresentou mais de uma região peniana afetada sendo a glândula envolvida em 93.1% dos casos. O tipo de lesão mais prevalente foi a ulcerativa (51.7%). Dentre as classificações histopatológicas, 41.4% foram classificadas no grau I da escala de Broders, 27.7% no estágio T1 do estadiamento TNM e na classificação de Jackson, os estágios I e II apresentam a mesma prevalência, 27.6%. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as variáveis avaliadas e a presença de HPV. **Conclusão:** A baixa escolaridade, a baixa renda e a não circuncisão podem contribuir para o aumento no risco de desenvolvimento do câncer de pênis. A alta prevalência do HPV e dos subtipos de alto risco sugerem a necessidade de mais ações de prevenção da disseminação desse vírus na população.

Palavras-chave: HPV, câncer de pênis, genotipagem

## INTRODUÇÃO

A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) é uma das infecções sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo [1]. Estudos revelam que 30% da população mundial sexualmente ativa está contaminada com o HPV e por ano cerca de 500 mil novos casos são detectados, sendo 70% registrados em países em desenvolvimento [2].

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 [3,4]. Na Europa Ocidental o câncer de pênis representa 0.3 a 0.6 % dos tumores malignos, já em países da África a incidência chega até 10% de todos os cânceres malignos que acometem os homens. No Brasil representa 2%, sendo as regiões Norte e Nordeste com maior prevalência [2] A identificação da prevalência e da genotipagem do HPV presente nos casos diagnosticados é um importante identificador epidemiológico para avaliar a eficácia dos programas de rastreio para o HPV e das campanhas de vacinação que recentemente foram estendidas, no Brasil, para o público masculino.

## MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal prospectivo, realizado entre os anos de 2015 e 2017 em um hospital de referência oncológica do estado do Maranhão, Brasil. Participaram da pesquisa 29 pacientes submetidos a cirurgia de penectomia parcial ou total, a amostra foi por conveniência. Um questionário foi aplicado aos pacientes para coleta dos dados sociodemográficos e antecedentes pessoais, os dados clínicos e histopatológicos foram coletados dos prontuários. Durante o procedimento cirúrgico, fragmentos de tecido tumoral eram coletados e encaminhados para laboratório. O DNA das amostras foi extraído através do kit Dneasy Blood and Tissue (QIAGEN Ltd,UK). Para amplificação do DNA viral, foi utilizada a técnica de PCR-Nested com os *primers* PGMY09/11 no primeiro round e os *primers* GP+5/+6 no segundo round. A visualização dos produtos amplificados foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1.5%. As amostras positivas para o DNA-HPV foram encaminhadas para sequenciamento automatizado em sequenciador 3500 Series Genetic Analyzer (ThermoFisher, MA, USA) realizado com o kit *ET Dye Terminator Cycle Sequencing kit* (GE Healthcare, UK). A análise estatística realizada através do programa estatístico SPSS (versão 17.0, IBM, Chicago, IL, USA). O nível de significância adotado foi de 5% ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS

A Tabela 1 expressa a distribuição amostral das variáveis socioeconômicas e de hábitos de vida. Observou-se que a maioria dos homens estavam na faixa etária maior que 60 anos (69%), com renda de até 1 salário mínimo (75.9%), eram analfabetos (55.2%), residiam em municípios do interior do Estado do Maranhão (79.3%), 62% já fizeram uso de tabaco.

**Tabela 1. Associação entre a detecção de HPV, variáveis socioeconômicas e hábitos de vida.**

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de P
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Faixa etária</b>				0.591
Até 60 anos	9 (31.0)	3 (33.3)	6 (66.7)	
Maiores que 60 anos	20 (69.0)	6 (30.0)	14 (70.0)	
<b>Renda</b>				0.630
> 1 salário mínimo	7 (24.1)	2 (28.6)	5 (71.4)	
≤ 1 salário mínimo	22 (75.9)	7 (31.8)	15 (68.2)	
<b>Escolaridade</b>				0.404
Analfabeto	16 (55.2)	5 (31.3)	11 (68.7)	
Até 8 anos de estudo	10 (34.5)	4 (40.0)	6 (60.0)	
Mais que 8 anos	3 (10.3)	0 (0)	4 (100)	
<b>Local de residência</b>				0.339
São Luís	6 (20.7)	3 (50.0)	3 (50.0)	
Interior do Maranhão	23 (79.3)	6 (26.1)	17 (73.9)	
<b>Tabagismo</b>				0.999
Não	11 (38.0)	4 (36.4)	7 (63.6)	
Ex-tabagista	13 (44.8)	4 (30.8)	9 (69.2)	
Atual tabagista	5 (17.2)	1 (20.0)	4 (80.0)	

Valor de probabilidade calculado através do teste Exato de Fisher.

A tabela 2 expressa a distribuição das variáveis referentes ao comportamento sexual. Notou-se que 62.1% não haviam passado por procedimento de circuncisão, 72,4% nunca haviam utilizado preservativo e 41.4% sinalizaram a ocorrência de alguma DST prévia.

**Tabela 2. Associação entre a detecção de HPV e variáveis referentes aos hábitos sexuais.**

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de P
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Circuncisão</b>				0.421
Não	18 (62.1)	5 (27.8)	13 (72.2)	
Sim	3 (10.3)	0 (0)	3 (100)	
Sem informação	8 (27.6)	-	-	
<b>Uso de preservativo</b>				0.191
Sempre	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Às vezes	8 (27.6)	1 (12.5)	7 (87.5)	
Nunca	21 (72.4)	8 (38.1)	13 (61.9)	
<b>Relato de DST prévia</b>				0.634
Não	11 (37.9)	3 (27.3)	8 (72.7)	
Sim	12 (41.4)	3 (25.0)	9 (75.0)	
Sem informação	6 (20.7)	-	-	

Valor de probabilidade calculado através do teste Exato de Fisher.

A tabela 3 expressa as características das lesões penianas. A maioria dos pacientes (51.7%) apresentaram mais de uma região afetada, sendo a glândula envolvida em 93.1% das amostras.

**Tabela 3. Associação entre a detecção de HPV e variáveis clínicas da lesão peniana.**

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de P
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Número de Regiões anatômica afetada</b>				0.449
Apenas uma	14 (48.3)	5 (35.7)	9 (64.3)	
Duas ou mais	15 (51.7)	4 (26.7)	11 (73.3)	
<b>Glândula afetada</b>				0.467
Não	2 (6.9)	0 (0)	2 (100)	
Sim	27 (93.1)	9 (33.3)	18 (66.7)	

Valor de probabilidade calculado através do teste Exato de Fisher. \*Diferenças estatisticamente significantes (P < 0.05).

A Tabela 4 ilustra a frequência estatisticamente mais elevada de lesão do tipo ulcerada (41.4%).

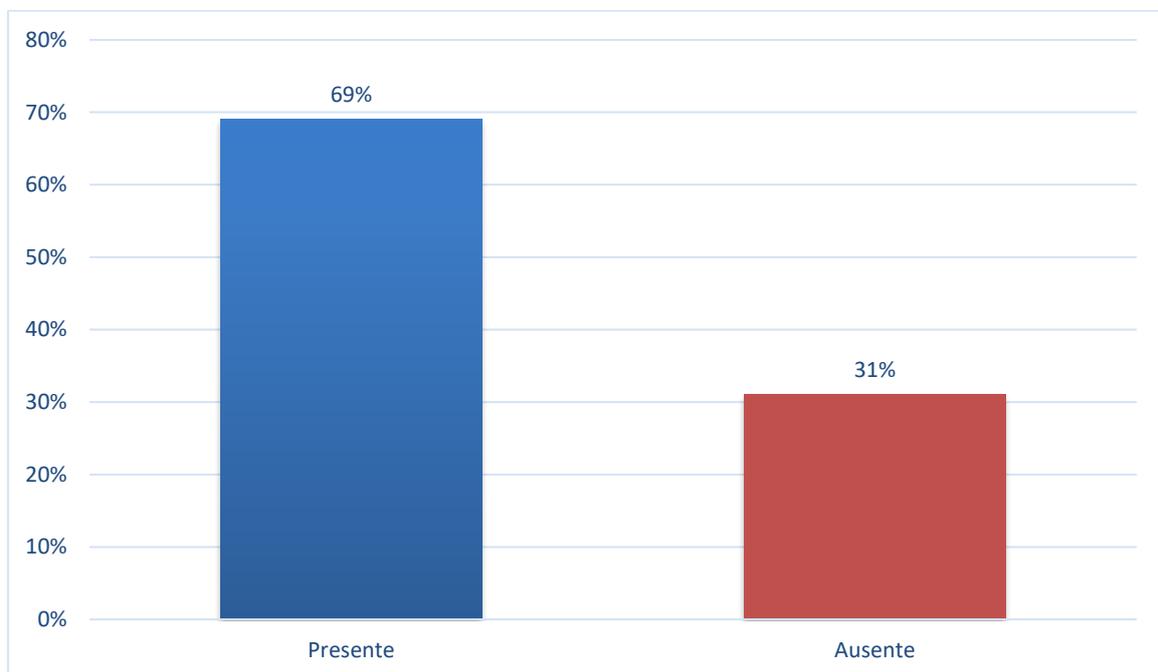
**Tabela 4. Associação entre a detecção de HPV e variáveis histopatológicas da lesão.**

Variáveis	Total n (%)	HPV		Valor de P
		Ausente n (%)	Presente n (%)	
<b>Lesão ulcerada</b>				0.323
Ausente	9 (31.0)	2 (22.2)	7 (77.8)	
Presente	12 (41.4)	5 (41.7)	7 (58.3)	
Sem informação	8 (27.6)	-	-	
<b>Lesão verrucosa</b>				0.592
Ausente	17 (58.6)	6 (35.3)	11 (64.7)	
Presente	4 (13.8)	1 (25.0)	3 (75.0)	
Sem informação	8 (27.6)	-	-	

Valor de probabilidade calculado através do teste Exato de Fisher. \*Diferenças estatisticamente significantes ( $P < 0.05$ ).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre todas as variáveis analisadas e a presença de HPV.

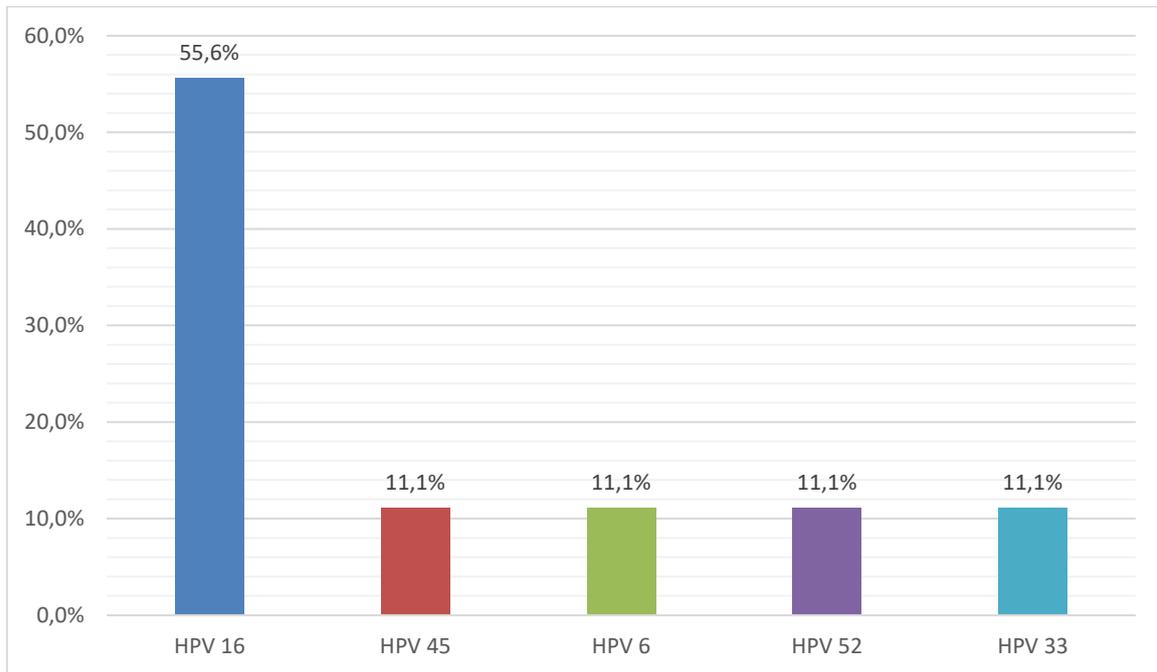
Dentre as 29 amostras do estudo, em 20 (69%) foram confirmadas a presença do HPV (Gráfico1).

**Gráfico 1.** Distribuição da detecção de HPV na amostra.

Fonte: Autor próprio (2017)

Através da técnica do sequenciamento automatizado, foi possível identificar os tipos virais em 45% das amostras. O tipo 16, considerado de alto risco oncogênico, esteve

presente em 55,6% das amostras, seguidos dos tipos 45 (11,1 %), 6 (11,1%), 52 (11,1 %) e 33 (11,1%) (Gráfico 2).



**Gráfico 2.** Distribuição dos tipos de HPV identificados pela técnica de sequenciamento automatizado.  
**Fonte:** Autor próprio (2017)

## DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo revelam que 69% dos homens submetidos a cirurgia de penectomia eram maiores de 60 anos. Tal achado corrobora com a literatura que diz que a incidência de câncer de pênis é maior em homens na sexta década de vida [5]. Resultado semelhante foi encontrado nos trabalhos de Favorito e colaboradores [6], Hernandez e colaboradores [7], Chaux e colaboradores [5], Sousa [8] e Fay [9]. Apenas no trabalho de Slaoui e colaboradores<sup>10</sup> a idade média dos pacientes foi abaixo dos 60 anos.

De acordo com Koifman [11], a incidência de câncer de pênis tende a variar regionalmente, e essa incidência está mais relacionada à área de residência do paciente, do que com sua área de origem. Neste trabalho, 79.3% dos pacientes residiam em municípios do interior do estado do Maranhão. Tal dado corrobora com o estudo de Chaux e colaboradores [5] que identificaram elevada incidência (83%) de homens com câncer de pênis fora dos grandes centros. O resultado de ambos os trabalhos pode ser explicado pela demora em procurar atendimento médico dos homens que residem nos interiores devido as dificuldades de acesso aos serviços de saúde. No questionário sociodemográfico, o grau de escolaridade, a renda familiar e o estado civil também foram avaliados. Houve uma prevalência de homens

analfabetos e com renda familiar de até um salário mínimo. Tais achados corroboram com a literatura que diz que a neoplasia acomete principalmente homens de classe social e nível de instrução baixos [7,12,13]. No estudo de Hernandez e colaboradores [7] a incidência de câncer de pênis foi mais elevada nos municípios onde menos de 75% da população completou o ensino médio em comparação com os pacientes que viviam em comunidades com maior índice de instrução. Torbrand e colaboradores [13] afirmam que o baixo nível educacional está associado a um risco maior de desenvolvimento do câncer de pênis invasivo.

Em relação aos hábitos de vida, neste estudo a maioria dos pacientes (62%) reportaram o uso de tabaco em algum momento da vida. Daling e outros autores [14] demonstraram a relação entre o uso de tabaco e o risco de desenvolver câncer de pênis, onde os fumantes ativos apresentaram uma razão de chance de 2.3 e os ex- fumantes de 1.9 de desenvolver o câncer. Entre os fumantes atuais, Daling e colaboradores [14] observaram um risco 1.5 vezes maior para o desenvolvimento de câncer de pênis *in situ* e de 4.5 vezes maior para o desenvolvimento de câncer invasivo. No estudo de Wanick[15] o uso de tabaco foi observado em 75% dos casos de câncer de pênis invasivo. No estudo de Favorito e outros autores [6] o uso de tabaco foi referido em 35.68% dos casos. Destes pacientes que afirmaram uso de tabaco, 86.13% apresentaram tumor de baixo grau e 13.86% apresentaram tumor de alto grau. Incidência alta também foi encontrada no trabalho de Chaux e colaboradores [5], 76% relataram uso de tabaco e no trabalho de Koifman e colaboradores[11] realizado no Rio de Janeiro, 56.5% dos pacientes diagnosticados com câncer de pênis relataram tabagismo. O papel preciso dos mecanismos exatos que o tabagismo desempenha no desenvolvimento do câncer de pênis ainda são desconhecidos [5].

Também foi observado que 62.1% dos pacientes nunca foram submetidos a cirurgia de circuncisão. No trabalho de Koifman e colaboradores [11] realizado no Brasil, a falta de circuncisão também foi comum. A presença de fimose e prepúcio exuberante dificultam a exposição da glândula e a limpeza adequada da região genital, influenciando, assim, no desenvolvimento do câncer de pênis [5]. A incidência de câncer de pênis em países com prática de circuncisão neonatal, como Israel e EUA, é extremamente baixa, podendo chegar a índices menores que 1% [12].

O câncer de pênis é extremamente raro em homens que são circuncidados ao nascer. Uma revisão sistêmica recente analisando o efeito da circuncisão sobre o câncer de pênis confirmou o seu efeito benéfico quando realizado antes dos 18 anos em comparação com um risco aumentando de desenvolver tal câncer quando realizado já na fase adulta [16]. Chaux e

colaboradores [5] sugerem que esse efeito contrário da circuncisão na fase adulta possa estar relacionado com o desenvolvimento da cicatrização e a presença de lesões penianas subclínicas antes do procedimento.

A circuncisão também mostrou reduzir de forma significativa o risco de desenvolver infecção por HPV [17]. O efeito preventivo primário da circuncisão reduziu em 50-60% o risco de contrair o HPV em estudos realizados por Bailey e colaboradores [18] e Gray e colaboradores [19]. Atualmente, os serviços de circuncisão estão se expandindo em vários países da África como forma de prevenção para o desenvolvimento do HPV e, como em muitos países africanos a incidência de câncer de pênis é relativamente alta, a expansão desses serviços pode proporcionar uma oportunidade para reduzir a incidência de câncer de pênis [16].

Em relação a localização predominante da lesão peniana, em 51.7% dos casos houve mais de uma região afetada e a glândula foi observada em 93.1% dos casos. Este resultado corrobora com o estudo de Wanick e colaboradores [15] onde a glândula isoladamente foi a localização predominante do câncer de pênis em 55.5% dos pacientes e em associação com outras regiões do pênis em 91.1% dos casos.

Com relação a detecção do DNA-HPV, nos casos de câncer de pênis, a presença de HPV foi detectada em 69% das amostras. Em uma pesquisa realizada por Mota [20] em pacientes dos estados do Pará e São Paulo, a prevalência geral foi 74% para algum tipo de HPV. Em contrapartida, Backes e colaboradores [21] encontraram 48% de prevalência de HPV em 1266 casos de 30 estudos de câncer de pênis invasivo. Chaux e colaboradores [5] encontraram DNA de HPV em 36 % das amostras analisadas. Há grande variação nas incidências de HPV encontrados nos estudos envolvendo o de câncer de pênis, variando de 15% a 77.5%. Esta variação pode ser explicada pela metodologia empregada na detecção de HPV, pela população estudada e pela conservação das amostras [22]. A técnica PCR utilizando os primers PGMY 09/11 e GP5+/6+ têm sido muito utilizada em estudos epidemiológicos de HPV devido a sua alta especificidade e sensibilidade [2].

Através do sequenciamento automatizado, foi detectado o HPV 16 em 55.5% das amostras. Em seguida foi observado os subtipos 6, 33,45 e 52, todos com 11.1% de prevalência. Cubilla e outros autores [24] encontraram o HPV 16 em 72% e em seguida o subtipo 6 em 9% dos casos. Em um estudo realizado por Scheiner e colaboradores [25] no Rio de Janeiro, Brasil, o subtipo 16 também foi o mais prevalente (52%). Alemany e outros autores [26] também constataram uma incidência maior do subtipo 16. No Brasil, os HPVs de alto risco são responsáveis por 25 a 56% dos casos de câncer [27].

De acordo com a análise histológica, a lesão predominante neste estudo foi a do tipo ulceração (51.7%). A alta prevalência de lesões ulceradas nos casos de câncer invasivo reforça os indícios que a ulceração está associada a invasão tumoral [15].

## CONCLUSÃO

O elevado percentual de pacientes residentes no interior do Maranhão ( 79.3%) e de analfabetos (55.2%) revelam a precariedade na educação dos interiores do estado, que tem por consequência a falta de informação sobre a importância do uso de preservativo e de higiene, fatores relevantes para a prevenção do câncer de pênis.

Observou-se que, em sua maioria os homens não eram circuncidados e apresentavam lesão tumoral na região da glândula. Tal resultado pode contribuir para reforçar a influência da ausência de circuncisão com o desenvolvimento do câncer de pênis e o risco aumentado de contrair o HPV. A presença de fimose dificulta a exposição da glândula, impedindo sua correta higienização e propiciando o início de um processo inflamatório que pode resultar no desenvolvimento de lesão cancerígena. Além disso, a presença de fimose pode dificultar a detecção da lesão na fase inicial pelo homem, o que pode contribuir para o diagnóstico tardio da doença.

Apesar de não ter sido observado correlação estatisticamente significativa entre as características histopatológicas das lesões e a presença do HPV, o mesmo foi encontrado em 69% das amostras, percentual relevante e que corrobora com estudos nacionais e internacionais. Tal resultado pode contribuir para reforçar os estudos já existentes que mostram a infecção pelo HPV como um forte fator de risco para o desenvolvimento do câncer peniano. De todos os subtipos virais identificados, somente o tipo 6 não é considerado de alto risco, os outros subtipos (16,45,52,33) estão associados com o desenvolvimento de outros tipos de câncer. A malignidade destes subtipos encontrados evidencia a necessidade de políticas públicas voltadas para a inclusão cada vez maior dos homens nas campanhas de vacinação contra o HPV.

A falta de correlação estatisticamente significativa pode ser consequência da ausência de informações devido ao viés de esquecimento da amostra, por se tratar de paciente idosos e da falta de registros nos prontuários dos pacientes, ressaltando a necessidade dos completos registros, tanto para uma melhor assistência aos pacientes quanto para as pesquisas científicas.

## REFERÊNCIAS

1. Albero G et al. Male circumcision and prevalence of genital human papillomavirus infection in men : a multinational study. *Bmc cancer*, 2013, 13 (18): 1–10.
2. Chaves JHB. et al. Peniscopia no rastreamento das lesões induzidas pelo papilomavirus humano. *Rev bras clin med. São Paulo*, 2011, 9(1):30-35.
3. Romero FR et al. Prevalence and risk factors for penile lesions / anomalies in a cohort of brazilian men  $\geq$  40 years of age. *Ibju*, 2013, 39 (1): 55–62.
4. Silva RS et al. Aspectos demográficos e epidemiológicos da mortalidade por câncer no pênis. *Acta Paulista de Enfermagem*, 2014, 27 (1): 44–47.
5. Chaux A et al. Epidemiologic profile, sexual history, pathologic features, and human papillomavirus status of 103 patients with penile carcinoma. *World journal of urology*, 2013, 31 (4): 861–867.
6. Favorito LA et al. Epidemiologic study on penile cancer in brazil. *International Braz J Urol*, 2008, 34 (5): 587-593.
7. Hernandez BY et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg Infect Dis.*, 2008, 14(6):888-894.
8. Sousa IDB et al. Prevalence of human papillomavirus in penile malignant tumors: viral genotyping and clinical aspects. *Bmc Urology*, 2015, 15(13):1-6.
9. Fay CES. Avaliação da expressão imunoistoquímica do fator tecidual no carcinoma de pênis. 2014, 89 f. Dissertação (mestrado). Potifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2014.
10. Slaoui A et al. Penile cancer: about tem cases at the university hospital of rabat, review of the literature. *Pan Afr Med J.*, 2015, 22 (53).
11. Koifman L et al. Epidemiological aspects of penile cancer in rio de janeiro: evaluation of 230 cases. *International Braz J Urol*, 2011, 37(2): 231–240.
12. Costa S et al. Câncer de pênis: epidemiologia e estratégias de prevenção. *Cadernos de graduação - ciências biológicas e da saúde Facipe, Recife*, 2013, 1(2):23-33.
13. Torbrand C et al. Socioeconomic factors and penile cancer risk and mortality ; a population-based study. *Bju international*, 2016.
14. Daling JR et al. Penile cancer: importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in in situ and invasive disease. *International Journal Of Cancer*, 2005, 116 (4):606–616.
15. Wanick FBF et al. Carcinoma epidermoide do pênis: estudo clínico-patológico de 34 casos. *An. Bras. Dermatol*, 2011, 86(6).

16. Larke N, Thomas S, Dos Santos Silva I, Weiss H. A circuncisão masculina e câncer de pênis: uma revisão sistemática e meta-análise. *Causas de câncer de controle*. 2011, 22(1): 1097-1110.
17. Castellsagué X et al. HPV vaccination against cervical cancer in women above 25 years of age: key considerations and current perspectives. *Gynecologic oncology*, 2009, 115 (3):15–23.
18. Bailey R et al. A circuncisão masculina para a prevenção do hiv em homens jovens em kisumu, quênia: um estudo controlado randomizado. *Lancet*, 2007, 369:643-656.
19. Gray R et al. A circuncisão masculina para a prevenção do HIV em homens em Rakai, Uganda: um ensaio randomizado. *Lancet*, 2007, 369: 657-666.
20. Mota MTO. Identificação e validação de genes diferencialmente expressos em carcinoma de pênis. 2013. 101 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/103865>>.
21. Backes DM et al. Systematic review of human papillomavirus prevalence in invasive penile cancer. *Cancer causes control*, 2009, 20(4):449-457.
22. Stankiewicz E et al. Alternative her/pten/akt pathway activation in hpv positive and negative penile carcinomas. *Plos One*, 2011, 6(3):2-8.
23. 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*, 2016, 45:198–204.
24. Cubilla A et al. A célula basalóide é o melhor marcador de tecido para papilomavírus humano em carcinoma invasivo de células escamosas do pênis: um estudo de 202 casos do paraguai. *Am J Surg Pathol*, 2010, 34:104-114.
25. Scheiner MA et al. Human papillomavirus and penile cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV typing and clinical features. *International Braz J Urol.*, 2008, 34(4):467-476.
26. Alemany L et al. Role of human papillomavirus in penile carcinomas worldwide. *European Urology*, 2016, 69:953–961.
27. Giuliano AR et al. The human papillomavirus infection in men study: human papillomavirus prevalence and type distribution among men residing in Brazil, Mexico and United Sates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2008, 17(2): 2036-2043.