



**Universidade Federal do Maranhão**  
**Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação**  
**Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto**  
**Mestrado Acadêmico**



**A INFLUÊNCIA DO TABAGISMO NA INFECÇÃO POR HPV  
NO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE PÊNIS:  
ESTUDOS CLÍNICOS**

**Ana Paula de Araújo Abreu**

**São Luís  
2020**

**ANA PAULA DE ARAÚJO ABREU**

**A INFLUÊNCIA DO TABAGISMO NA INFECÇÃO POR HPV  
NO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE PÊNIS:  
ESTUDOS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde do Adulto.

Área de concentração: Processos biológicos em saúde

Linha de Pesquisa: HPV e câncer

Orientador: Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito

Co-orientador: Profa. Dra. Haissa Oliveira Brito

Coordenadora: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

**São Luís  
2020**

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

de Araújo Abreu, Ana Paula.

A Influência do Tabagismo na Infecção por HPV no  
Desenvolvimento do Câncer de Pênis: Estudos Clínicos/ Ana  
Paula de Araújo Abreu. - 2020.  
118 f.

Coorientador(a): Haissa Oliveira Brito.

Orientador(a): Luciane Maria Oliveira Brito.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São  
Luís, 2020.

1. Câncer de Pênis. 2. HPV. 3. Tabagismo. I. Maria  
Oliveira Brito, Luciane. II. Oliveira Brito, Haissa. III.  
Título.

**ANA PAULA DE ARAÚJO ABREU**

**A INFLUÊNCIA DO TABAGISMO NA INFECÇÃO POR HPV  
NO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE PÊNIS:  
ESTUDOS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

A Banca Examinadora da Defesa de Mestrado, apresentada em sessão pública, considerou o candidato aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

---

Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito (Orientadora)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Profa. Dra. Haissa Oliveira Brito (Co-orientadora)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

---

Profa. Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier (Examinador externo)  
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

---

Prof. Dr. Rui Miguel Gil da Costa Oliveira (Examinador)  
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

---

Prof. Dr. Marcelo Magalhães Silva (Examinador)  
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

## **Dedico**

A minha família e amigos por todo amor e apoio.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conduzir nesse caminho, me proteger e fortalecer nesse trajeto.

Ao meu esposo Fernando Targino, por me dar suporte nos tropeços, me incentivar a ir mais longe e compreender a minha ausência nos últimos meses. À minha filha de coração Amanda Targino, por compreender todos os momentos de ausência e estar nos meus pensamentos me fortalecendo sempre.

À minha mãe, Ana Maria de Araújo, meu pai, Paulo Abreu e à tia Cleonice, por me motivarem a estudar sempre e serem exemplos de que é importante perseverar na vida. Ao meu irmão Nildo, por ser “a peste” da minha vida, além de um orgulho para mim.

À minhas famílias do coração, a família Targino e a família Soares (em especial à minha sogra Dona Anita), que me acolheram e me apoiaram durante essa jornada.

Aos meus amigos e irmãos de vida Enio Aguiar e Suzana Beliche. Perdi as contas de quantas vezes chorei para vocês as amarguras da vida de uma mestranda, e de quantas vezes eu ouvi o incentivo para que eu não desistisse. Amo vocês.

À minha madrasta Eliza, que me mostrou que a vida é surpreendente e divertida, apesar das adversidades, que devemos permitir que as pessoas entrem, apesar das diferenças, e que temos que dar oportunidade ao próximo. Obrigada por cuidar do meu pai durante a sua vida, e de nos permitir fazer parte dela. Que Deus a tenha em seus braços e que me perdoe por não estar muito mais próxima nos seus últimos meses de vida.

Agradeço imensamente à minha orientadora, Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito, por me orientar e dar a oportunidade de crescer profissionalmente, de me permitir me aproximar e perceber como podemos fazer diferença na vida dos outros.

A minha co-orientadora, Profa. Dra. Haissa Oliveira Brito, muito obrigada por me dar essa oportunidade, por me incentivar a crescer, e acreditar no meu potencial, mesmo que muitas vezes eu mesma não acreditasse. Não consigo descrever a imensa gratidão que tenho por Deus ter te colocado na minha vida.

À professora Flávia Vidal, pela colaboração e disponibilidade em compartilhar seus conhecimentos. Ao professor Rui Miguel pelo incentivo na reta final, as suas palavras

foram fundamentais para me manter no foco do que era fundamental, além de me ajudar a dar desfecho ao trabalho.

Aos amigos que o mestrado me deu: Jhessica Gomes, por toda a ajuda no decorrer da execução do projeto, todas as conversas descontraídas e pela amizade; Daniel Reis, por todo o incentivo no decorrer do processo; e aos meus colegas da turma 16 do mestrado pelos momentos de cumplicidade e descontração.

Aos alunos Leonardo, Carlos Álvaro, Bruno e Érica que contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Profa. Maria do Desterro, José, Emanuel e toda a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto, pelo apoio e ajuda em todo este percurso.

Ao Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA), onde foi possível realizar as diversas etapas necessárias para a finalização deste trabalho.

Aos professores do Centro de Pesquisa Clínica do HUUFMA (CEPEC) por toda ajuda prestada. Ao Centro de Estudos Superiores de Caxias – CESC-UEMA onde foi realizada a etapa de sequenciamento das amostras.

A toda equipe médica e ao Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB), Hospital Geral e Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA) onde foi possível realizar a coleta das amostras.

A todos os pacientes que aceitaram participar da pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Maranhão (FAPEMA), por todo apoio financeiro para realização da pesquisa.

À UFMA, junto ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD).

“Eu quero desaprender para aprender de novo. Raspar as tintas com que me pintaram. Desencaixotar emoções, recuperar sentidos.”

Rubem Alves

## RESUMO

O tabagismo e a infecção pelo HPV são considerados fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de pênis, uma neoplasia rara, que no Maranhão exibe uma grande incidência. Além disso, fatores genéticos podem deixar a população maranhense mais suscetível ao desenvolvimento de cânceres, como a deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, que estão envolvidos na desintoxicação celular, inclusive de componentes do cigarro. Dessa forma, o presente trabalho justifica-se pela necessidade de entender o impacto do tabagismo, da deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1* e infecção pelo HPV no desenvolvimento do câncer de pênis. O objetivo geral foi analisar a relação do tabagismo com a infecção pelo HPV no desenvolvimento de câncer de pênis. Trata-se de um estudo epidemiológico, do tipo analítico, qualitativo, retrospectivo e seccional de série histórica de casos de carcinomas epidermóides penianos, realizado em 55 amostras de tumores penianos armazenados no Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA). Dados sociodemográficos foram obtidos através de um questionário, dados clínicos e histopatológicos foram coletados por meio de análise de prontuário. O DNA genômico das amostras foi extraído e realizada a reação em cadeia de polimerase PCR/*Nested* para detecção do HPV utilizando os *primers* PGMY e GP+ e em seguida a eletroforese em gel de agarose. Amostras positivas foram submetidas ao sequenciamento pelo método de Sanger para identificação do tipo viral. Para análise da deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1* foi realizada PCR convencional, seguida de eletroforese em gel de agarose. Observou-se que a maioria dos pacientes eram homens acima de 60 anos de idade (63,6%), procedentes do interior do Maranhão (60%), eram fumantes ou ex-fumantes (65,5%), possuíam o vírus HPV presente (74,5%), sendo os HPVs de alto risco oncogênico mais frequentes (41,4%) e destes 64,7% eram do subtipo 16. A maioria dos participantes da pesquisa possuíam lesão ulcerada, tipo histológico epidermóide e subtipo usual. Quanto ao estadiamento TNM observou-se um predomínio de estágios tumorais mais avançados, II e III (61,8%). Pacientes com HPV e exposição ao tabaco tendem a apresentar estadiamentos mais elevados (52,9%). Os participantes que apresentaram deleção nos genes *GSTT1* e/ou *GSTM1*, exibiram estadiamentos TNM II e III (54,2%), principalmente na combinação *GSTT1*+/*GSTM1*nulo (41,7%), com  $p=0,012$  estatisticamente significativo. Em conclusão, o tabagismo está associado ao câncer de pênis, e exerce influência no estadiamento tumoral em pacientes que em conjunto apresentam o vírus HPV, maiores estudos devem ser realizados para estreitar esta associação, bem como para melhorar o entendimento sobre os mecanismos de interferência do tabagismo na progressão tumoral e a influência deste nos genes *GSTT1* e *GSTM1*.

**Palavras-chave:** Câncer de pênis. Tabagismo. HPV. *GSTM1*. *GSTT1*. Polimorfismo.

## ABSTRACT

Tobacco smoking and HPV infection are considered risk factors for penile cancer development, a rare neoplasia that, in the state of Maranhão, has a high incidence. Besides that, genetic factors might make the population of Maranhão more susceptible to the development of cancers, like the deletion of *GSTM1* and *GSTT1* genes, which are involved in cellular detoxification, including cigarette compounds. Thereby, this work is justified by the need for understanding of the impact of tobacco smoking, the deletion of *GSTM1* and *GSTT1* genes and HPV infection in the development of penile cancer. The objective was the analysis of the relation between the smoking and the HPV infection in the development of penile cancer. This is an analytical, qualitative, retrospective and cross-sectional epidemiological study, of a historical series of epidermoid penile carcinomas, which used 55 penile tumor samples stored in the Tumor and DNA Biobank – “Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão” (BTMA). Sociodemographic data was obtained by means of a questionnaire, clinical and histopathologic data were collected from the medical record. The genomic DNA of the samples was extracted then Nested Polymerase Chain Reaction (Nested PCR) was executed for the detection of HPV using PGMY and GP+ primers, and then agarose gel electrophoresis was executed. Positive samples were sequenced by Sanger method for the identification of the virus type. In order to analyse the deletion of *GSTM1* and *GSTT1* gene, conventional PCR was used, followed by the agarose gel electrophoresis. It was observed that most of the patients were men above 60 years old (63.6%), from interior of Maranhão state (60%), they were smokers or former smokers (65.5%), carriers of HPV (74.5%), being most frequently the high-risk oncogenic HPV (41.4%), and from those, 64.7% were subtype 16. Most research subjects had ulcerated lesions of the epidermoid histological type and usual subtype. Regarding the TNM staging, it was observed a predominance of higher tumor stages, II and III (61.8%). HPV patients and those exposed to tobacco tend to present with higher stages (52.9%). The subjects that presented deletion in their *GSTT1* and/or *GSTM1* genes presented TNM stages II and III (54.2%), mostly in the combination *GSTT1*+/*GSTM1*null (41.7%), with statistically significant  $p=0.012$ . In conclusion, tobacco smoking is associated to penile cancer and exerts influence in the tumor stage on patients that are also HPV patients. More extensive studies should be carried out in order to narrow this association, as well as, improve the understanding of the interference mechanisms of tobacco smoking on tumor progression and the influence of this practice on the *GSTT1* and *GSTM1* genes.

**Keywords:** Penile cancer. Tobacco smoking. HPV. *GSTM1*. *GSTT1*. Polymorphism.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Itens e pontuação do Teste de Fagerström para Dependência à Nicotina.....	24
4	
Tabela 2 - Classificação da OMS (2016) dos Carcinomas de células escamosas (CCE) de pênis.....	38
Tabela 3 - Sequência de <i>primers</i> utilizados na reação de PCR <i>Nested</i> para detecção do vírus HPV nas lesões penianas analisadas.....	46
Tabela 4 – Associação entre os hábitos tabágicos e a prevalência do HPV em 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	52
Tabela 5 – Associação entre a detecção de HPV e exposição ao tabaco, com variáveis socioeconômicas e hábitos de vida de 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	52
Tabela 6 – Associação entre a detecção de HPV e os hábitos tabágicos em 36 pacientes expostos ao tabaco e diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	54
Tabela 7 – Associação entre a exposição ao tabaco e a prevalência dos subtipos de HPV em 41 pacientes HPV positivo diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	55
Tabela 8 – Associação entre detecção do HPV e exposição ao tabaco, com variáveis histopatológicas da lesão, e o estadiamento tumoral em 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	56
Tabela 9 – Associação entre tabagismo, estadiamento TNM e faixa de renda de 35 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	59
Tabela 10 – Associação entre Câncer prévio, local de lesão e a detecção de HPV e exposição ao tabaco de 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	60
Tabela 11 – Associação entre a detecção de HPV e exposição ao tabaco, e variáveis referentes aos hábitos sexuais de 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	62

Tabela 12 – Associação entre etilismo, tabagismo e HPV, classificação de grau de Broders de 39 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	64
Tabela 13 – Associação entre a detecção de HPV e exposição ao tabaco, e variável Metástase dos 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	65
Tabela 14 – Associação entre os genótipos de GSTM1 e GSTT1 em pacientes com CA de pênis e tabagismo e etilismo.....	67
Tabela 15 – Associação entre as combinações de Genótipos de GSTM1 e GSTT1 em 32 pacientes com CA de pênis e tabagismo.....	67
Tabela 16 – Associação entre genótipos de GSTM1 e GSTT1 em pacientes com CA de pênis e variáveis características da lesão, estadiamento TNM e HPV .....	68
Tabela 17 – Associação entre as combinações de genótipos de GSTM1 e GSTT1 em pacientes com CA de pênis e variáveis características da lesão e estadiamento TNM.....	70
Tabela 18 – Associação entre genótipos de GSTM1 e GSTT1 em pacientes com CA de pênis e variáveis tabagismo e relacionadas ao HPV.....	71

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – N-Nitrosaminas específicas do Tabaco.....	28
Quadro 2 – Subtipos de HPV de acordo com o risco pela OMS.....	35
Quadro 3 – Classificação de Grau de Broder's.....	39
Quadro 4 – Classificação de Jackson para o estadiamento do câncer de pênis.....	40
Quadro 5 – Sistema TNM – proposto pela UICC/AJCC para estadiamento do câncer de pênis .....	40
Quadro 6 – Definição de estágio do câncer de pênis pela Classificação TNM.....	41
Quadro 7 – Primers utilizados na PCR convencional.....	48

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema dos possíveis efeitos do tabagismo ativo a saúde do paciente...	23
Figura 2 – Componentes do cigarro .....	26
Figura 3 – Conjugação da Glutathione com um xenobiótico genérico (X) Via GST que resulta na formação de uma Glutathione-S conjugado.....	31
Figura 4 – Detoxificação intracelular via p450 e Glutathione S-Transferase.....	32
Figura 5 – Representação esquemática do genoma do HPV.....	34
Figura 6 – Ciclo de vida do vírus HPV.....	36
Figura 7 – Demonstração em mapa da procedência dos pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.....	51
Figura 8 – Produto da PCR em gel de agarose 2,5% com as bandas de detecção para <i>GSTT1</i> (X), <i>ALBUMIN</i> (Y) e <i>GSTM1</i> (Z).....	66

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAs	Aminas Aromáticas
AJCC	Comitê Americano sobre o Câncer
ASK1	<i>Apoptosis signal-regulating kinase 1</i>
CCE	carcinomas epidermóide de células escamosas
CP	Câncer de Pênis
CYPs	citocromo P450
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DNA	Ácido Desoxirribonucleico.
E	<i>Early</i>
ERRO	Espécie Reativa de Oxigênio
GST	Sistema Glutathiona S-transferase
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 de Câncer
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IST	Infecção sexualmente transmissível
JKN1	c-JUN N-Terminal quinase 1
L	<i>Late</i>
LCR	<i>Long Control Region</i>
MSS	<i>Main-stream smoke</i> ou fumaça principal
n-AChRs	Receptores nicotínicos de acetilcolina
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan Americana da Saúde
ORF	<i>Open Reading Frames</i>
PCR	Reação em cadeia de Polimerase
PeIN	Neoplasia Intraepitelial Peniana
PETab	Pesquisa Especial de Tabagismo
pRB	Proteína retinoblastoma

SSS	<i>Side-stream smoke</i> ou fumaça secundária
THS	<i>Thirdhand Smoke</i> ou “fumo de terceira mão”
UICC	União Internacional de Contra o Câncer
URR	<i>Upstream Regulatory Region</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>20</b>
<b>2.1</b>	<b>Câncer de pênis</b>	<b>20</b>
<b>2.2</b>	<b>Tabagismo</b>	<b>21</b>
2.2.1	Cigarro	25
2.2.2	Sistema Glutationa S-transferase (GST)	30
<b>2.3</b>	<b>Papilomavírus Humano - HPV</b>	<b>33</b>
<b>2.4</b>	<b>Aspectos clínicos e histopatológicos</b>	<b>37</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>43</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral</b>	<b>43</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>Tipo de estudo</b>	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>Período e local de estudo</b>	<b>44</b>
<b>4.3</b>	<b>Crterios de inclusão/exclusão</b>	<b>44</b>
<b>4.4</b>	<b>Coleta de Dados</b>	<b>44</b>
4.4.1	Coleta das amostras	45
<b>4.5</b>	<b>Extração e quantificação do DNA</b>	<b>45</b>
<b>4.6</b>	<b>PCR <i>Nested</i></b>	<b>46</b>
4.6.1	Visualização dos produtos amplificados	47
4.6.2	Purificação dos produtos de PCR	47
4.6.3	Sequenciamento pelo método de Sangers	47
<b>4.7</b>	<b>Análise da deleção dos genes <i>GSTT1</i> e <i>GSTM1</i></b>	<b>47</b>
<b>5</b>	<b>ASPECTOS ÉTICOS</b>	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>51</b>
<b>8</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>72</b>
<b>9</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>80</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>82</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>90</b>
	<b>ARTIGO</b>	<b>102</b>

# 1 INTRODUÇÃO

O tabagismo é uma das maiores ameaças evitáveis à saúde pública mundial, e segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Embora tenha havido esforços para seu combate, foi observado um aumento no número de fumantes, apesar da diminuição da prevalência de 23% em 2007 para 21% em 2013. Isto se deu devido ao aumento população mundial (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015). No Brasil, em consonância com o restante do mundo, ocorreu um declínio da prevalência do tabagismo em adultos. Entretanto, entre os jovens, permanece estável em torno de 5% para ambos os sexos (INSTITUTO NACIONAL DE CANCER, 2018).

O impacto em fumantes atuais e o efeito de muitos anos de tabagismo em ex-fumantes ainda é aparente, dada a incidência e prevalência de doenças relacionadas ao uso do tabaco (BRASIL, 2015). Embora o tabaco seja uma possível causa ambiental de muitos cânceres genitourinários, como câncer de bexiga, próstata e pênis, a cessação precoce do tabagismo diminui o efeito no desenvolvimento e progressão do câncer (GOTTLIEB, et al., 2016).

Um desses possíveis cânceres é o câncer de pênis (CP), que ocorre com maior frequência após os 60 anos de idade, é considerada uma neoplasia rara na maioria das nações, mas que em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos exibe uma alta incidência, como por exemplo no Brasil. Dentro deste, o estado do Maranhão é um dos que apresenta um dos maiores números de casos (COELHO et al., 2018).

Além do fumo, existem alguns outros fatores de risco para o desenvolvimento de CP, que incluem a falta de circuncisão, fimose, balanite, obesidade e doenças sexualmente transmissíveis, como a infecção por Papilomavírus humano (HPV) (DALING et al., 2005; DOUGLAWI; MASTERSON, 2019). Esta infecção está relacionada com o CP entre 30% - 50% dos casos, porém o seu papel no desenvolvimento ainda não está esclarecido (FAVORITO et al., 2008).

A maioria das infecções por HPV se mantem assintomática e 70% delas são eliminadas em menos de um ano. Essa infecção pode resultar em um espectro de manifestações genitourinárias, e nos homens pode causar verrugas genitais, neoplasia intraepitelial peniana (PeIN) e carcinomas penianos (STRATTON; CULKIN, 2016).

O HPV é um vírus não envelopado com 72 capsômeros e um genoma de DNA dupla fitada, pertence à família *papillomaviridae*, gênero Papilomavirus. Existem mais de 200 tipos de HPV identificados, e são classificados em alto risco oncogênico e baixo risco oncogênico (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012).

Os HPVs de alto risco, como os de tipo 16 e 18, quando integram o genoma de células epiteliais escamosas do hospedeiro, vão expressar E6 e E7 que irão suprimir a proteína supressora de tumor p53 e pRB e permitir que o DNA do HPV seja sintetizado. Além disso, a diminuição na expressão de E2 colabora com a desregulação dos oncogenes E6 e E7 promovendo um descontrole na replicação viral, interrompendo a apoptose e aumentando a proliferação celular (BRIANTI; FLAMMINEIS; MERCURI, 2017; FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012).

Uma vez que a imunização previne especificamente alguns tipos de HPV mais comuns na população, especialmente os tipos -16 e -18, o conhecimento da distribuição dos tipos de HPV é de extrema importância para avaliação do impacto desta vacina. O estudo desta na população masculina é importante já que os dados encontrados podem determinar o potencial impacto da vacinação dos homens no PeIN (ALEMANY et al., 2016; BEAVERS; RAMONDETTA, 2019). Além disso, o conhecimento acerca dos genes humanos alterados por este vírus pode contribuir para a pesquisa de novos biomarcadores e alvos de tratamento.

O HPV associado a outros fatores de risco, como o uso de derivados do tabaco, pode estar relacionado com a tendência de progressão do CP (GOTTLIEB, et al., 2016). Além disso, existem fatores genéticos que podem deixar a população maranhense mais suscetível ao desenvolvimento de cânceres, como a deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, da família das Glutathione S-Transferase (GST), que são responsáveis pela desintoxicação celular de várias substâncias tóxicas, inclusive de componentes do cigarro (GATTÁS et al., 2004). Porém, poucos estudos abordam essa associação, principalmente, o desenvolvimento desse carcinoma na população brasileira e maranhense. Conhecer o impacto desses fatores de risco associados ajudaria a entender o desenvolvimento deste tipo de câncer, possibilitando, por consequência, estabelecer um melhor ou pior prognóstico para o paciente.

Dessa forma, o presente trabalho justifica-se pela necessidade de entender o impacto do tabagismo, da deleção dos genes *GSTM1* e *GSTT1* e infecção pelo HPV no desenvolvimento do câncer de pênis.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Câncer de pênis

O câncer de pênis (CP) é um câncer geniturinário agressivo e mutilante que afeta diretamente a autoestima do paciente. É considerado raro em países desenvolvidos, porém apresenta alta incidência em países em desenvolvimento como o Brasil (COELHO et al., 2018; COUTO et al., 2014; FAVORITO et al., 2008).

Há uma ampla variação mundial na incidência padronizada por idade do CP por 100 000 habitantes. Por exemplo, nos Estados Unidos, a incidência média varia de 0,3-1,8/100 000 habitantes, uma incidência considerada baixa e comum em países desenvolvidos. Já em países em desenvolvimentos, médias mais altas são observadas. No Brasil, a incidência 1,5 - 3,7/100 000 habitantes (CHAUX et al., 2010a; POW-SANG et al., 2010). Quando diagnosticado na sua fase inicial, o CP é altamente curável. Entretanto, o maior obstáculo para que isso ocorra é a demora do paciente em procurar atendimento médico (PORTH, 2010).

No Maranhão, segundo o estudo de COELHO et al., (2018), há uma incidência de 6,1/ 100 000 habitantes, sendo o estado no Brasil com maior incidência. Se associa esta alta incidência à dificuldade no acesso a assistência à saúde, pois a capital maranhense se encontra muito isolada, e o estudo observou que a maioria dos pacientes são de baixa renda, agricultores e residem no interior.

Existem diversos fatores de riscos associados ao desenvolvimento de neoplasia peniana, como baixas condições socioeconômicas (COUTO et al., 2014; DOUGLAWI; MASTERSON, 2019; FAVORITO et al., 2008; POW-SANG et al., 2010). Segundo TORBRAND et al. (2017), a baixa renda da população bem como o baixo nível educacional estariam relacionados com o aumento do risco de câncer invasivo de pênis na população estudada.

O histórico de fimose ocorre em aproximadamente 25% a 60% dos pacientes com CP e está fortemente associado com carcinomas mais invasivos. Tanto que pacientes circuncidados durante a infância já apresentam associação inversa quanto a essa invasibilidade, e o risco relativo de CP invasivo entre não-circuncidados e circuncidados é de 22:1 (POW-SANG et al., 2010).

Quanto ao fator de risco tabagismo, a exposição às substâncias

carcinogênicas leva ao aumento da incidência. Homens que já fumaram tem 2,4 vezes mais chance de desenvolver CP (DOUGLAWI; MASTERSON, 2019; POW-SANG et al., 2010).

As inflamações crônicas estão associadas ao aparecimento de diversos tipos de cânceres, inclusive o de pênis. Situações como injúrias na região peniana, líquen escleroso e a balanite, uma condição mediada por linfócitos, crônica, inflamatória que afeta a glândula e o prepúcio, podem aumentar 3.8 vezes mais o risco de surgimento de carcinoma peniano de células escamosas (BLEEKER et al., 2009; DOUGLAWI; MASTERSON, 2019).

Outro fator de risco para o desenvolvimento de CP são as doenças sexualmente transmissíveis, como o papilomavírus humano (HPV). Este vírus é implicado na origem de diversos cânceres genitais (PORTH, 2010). MADEN et al. (1993), associaram ao surgimento de verrugas genitais ao desenvolvimento de CP, tanto que reportou que homens com este histórico têm um risco 6 vezes maior de desenvolvimento desta patologia.

Devido a todos os fatores de risco descritos, se faz importante realizar campanhas preventivas para conscientizar a população, a fim de reduzir ou evitar a exposição a tais fatores de risco. E dessa forma auxiliar na redução da incidência da doença e no diagnóstico precoce, nos estágios iniciais, proporcionando uma maior chance de cura e aumento de sobrevivência. (REIS et al., 2010).

Para maior entendimento, será aprofundado sobre alguns dos fatores de riscos envolvidos com desenvolvimento de cancer como tabagismo, fatores genéticos relacionados ao tabaco e a infecção pelo HPV.

## **2.2 Tabagismo**

O tabagismo é uma doença crônica evitável que se caracteriza pela dependência do uso de produtos que contém a nicotina, derivadas do tabaco. A Organização Mundial da Saúde - OMS (2015) estima que quase 6 milhões de pessoas morrem a cada ano pelo uso direto do tabaco ou pelo fumo passivo, e em 2020 isto deve chegar 7,5 milhões (SANTOS et al., 2011; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

O consumo do tabaco pode ser feito de formas diferentes, pelo tabaco

fumado ou não fumado. O tabaco fumado é originado a partir da queima de produtos (fumaça), como : cigarro, cachimbo, charuto, narguilé, e outros, já o não fumado temos o exemplo do rapé e do tabaco mascado (BRASIL, 2015; SANNER; GRIMSRUD, 2015).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2013, no Brasil o uso do cigarro é mais prevalente em homens (21,6%) que em mulheres, e o uso diário de produtos derivados do tabaco é frequente, entre os fumantes atuais ou regulares 15,1% realizam. O produto mais consumido em todas as regiões do país é o cigarro industrializado (14,4%), enquanto uso de cigarro de palha ou o enrolado a mão é bem menor (5,1%). Já o consumo de outros produtos derivados do tabaco, como charuto, cachimbo, narguilé é muito pequeno (BRASIL, 2008; BRASIL, 2015)

Ao observar a idade de iniciação no consumo do tabaco, em uma pesquisa realizada pelo PETab (Pesquisa Especial de Tabagismo) em 2008 com fumantes regulares diários e ex-fumantes diários com idade entre 20 e 34 anos, verificou-se que a idade média de iniciação variava entre 15 e 19 anos (BRASIL, 2008).

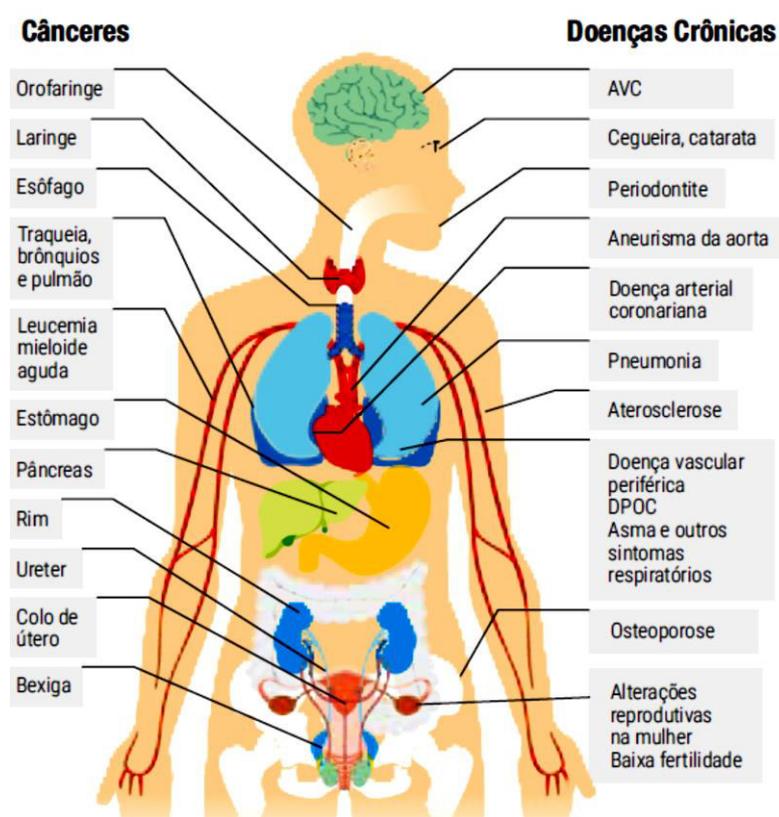
Diante disso, um fumante regular se caracteriza por ser aquele que já fumou mais 100 cigarros durante a vida e continua a fumar regularmente, e em fase de experimentação aquele fumou abaixo disto. Já aquele que fumou mais de 100 cigarros durante a vida, porém parou de fumar, é considerado ex-fumante. Essa definição não é consenso na literatura, porém auxilia os profissionais da área da saúde a planejar e acompanhar pacientes tabagistas (BRASIL, 2015).

O critério relatado anteriormente é utilizado pela Organização Pan Americana da Saúde (OPAS) e pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA). Porém, os estudos divergem sobre o conceito de fumante regular: se seria o que fuma “todos os dias” ou “alguns dias”. A OMS discrimina o “uso regular” como sendo quando o paciente usa pelo menos 5 cigarros por dia há mais de 15 dias. Os diferentes conceitos sobre como é caracterizado o tabagista podem trazer confusão ao comparar dados sobre o tabagismo em diferentes populações e influenciar a interpretação de resultados (SANTOS et al., 2011).

O Brasil, por ter dimensões continentais, demonstra diferenças entre suas regiões quanto ao consumo e a produção do tabaco. A região sul do país é a maior produtora e é a que apresenta as maiores prevalências de consumo entre adultos e jovens do país (BRASIL, 2008).

A exposição ao tabaco pode causar doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), sendo as mais predominantes as relacionadas a problemas cardiovasculares, diabetes, doenças respiratórias crônicas e as neoplasias, como ilustrado na figura 1 abaixo. As DCNTs são responsáveis por 63% das mortes no mundo e por 72% no Brasil, sendo o tabagismo um dos principais fatores de risco para o seu desenvolvimento (BRASIL, 2015).

**Figura 1** – Esquema dos possíveis efeitos do tabagismo ativo a saúde do paciente.



Fonte: CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA, (2019)

O tabagismo é, hoje, a principal causa global de morbimortalidade prevenível. O tratamento para cessação do tabagismo está entre as intervenções médicas que apresentam a melhor relação custo-benefício, superior inclusive aos tratamentos direcionados para hipertensão arterial leve a moderada, dislipidemia e infarto do miocárdio (BRASIL, 2015).

A nicotina encontrada em produtos derivados do tabaco é considerada uma droga psicoativa, e o uso frequente pode levar à dependência e a tolerância. A

dependência à nicotina é um processo complexo que envolve a dependência física (farmacológica), a comportamental (condicionamento) e a psicológica, sendo o fator farmacológico o principal para a dependência e a tolerância à nicotina (HALTY et al., 2002; SANTOS et al., 2011).

Alguns questionários são utilizados para rastreamento da dependência dos pacientes à nicotina, porém um dos mais utilizados é o Questionário de Tolerância de Fagerström para Dependência à Nicotina (tabela 1). Este questionário é muito utilizado devido à praticidade na sua aplicação, além de interesse na clínica, pois estabelece um nível de dependência. Isto é importante para a determinação do sucesso de intervenções terapêuticas, minimizando o risco de fracasso no abandono do tabagismo (SANTOS et al., 2011).

**Tabela 1 – Itens e pontuação do Teste de Fagerström para Dependência à Nicotina.**

Questão	Respostas	Pontos
1. Quanto tempo depois de acordar você fuma seu primeiro cigarro?	Dentro de 5 minutos	3
	6-30 minutos	2
	31-60 minutos	1
	Após 60 minutos	0
2. Você acha difícil abster-se do fumo em lugares onde ele é proibido, por ex., na igreja, na biblioteca, no cinema, etc.?	Sim	1
	Não	0
3. Qual cigarro você mais odiaria ter de largar?	0 primeiro pela manhã	1
	Qualquer outro	0
4. Quantos cigarros/dia você fuma?	10 ou menos	0
	11-20	1
	21-30	2
	31 ou mais	3
5. Você fuma mais frequentemente durante as primeiras horas após acordar do que durante o resto do dia?	Sim	1
	Não	0
6. Você fuma se estiver tão doente a ponto de ficar na cama a maior parte do dia?	Sim	1
	Não	0

Fonte: MENESES-GAYA et al., 2009

A partir deste questionário aplicado, é obtido um escore que permite a classificação da dependência em cinco níveis: muito baixo (0 a 2 pontos); baixo (3 a 4 pontos); moderado (5 pontos); alto (6 a 7 pontos); e muito alto (8 a 10 pontos). A avaliação da dependência à nicotina é importante para a investigação do seu efeito, bem como, em estudos relacionados ao tratamento do tabagismo e das várias doenças a ele associadas. (MENESES-GAYA et al., 2009).

### 2.2.1 Cigarro

Os cigarros modernos são sistemas de entrega de nicotina que envolvem numerosas substâncias e materiais como tabaco, papel e filtro. Os demais componentes são chamados de aditivos, que são substâncias que tem por função alterar características do produto do tabaco. São aditivos comuns flavorizantes e intensificadores, como por exemplo: cacau, alcaçuz e o mentol, umectantes como propilenoglicol, glicerina e sorbitol, e diversos açúcares e composto de amônio, estes ingredientes são chamados pela indústria de revestimentos (*casing*). Em uma fase posterior da produção ao cigarro são adicionadas as coberturas, que são aditivos voláteis, os flavorizantes capazes de conferir aromas diferenciados ao cigarro. Correspondem aos revestimentos, 1% - 5%; e as coberturas, 0,1% do peso final do cigarro (PAUMGARTTEN; GOMES-CARNEIRO; OLIVEIRA, 2017).

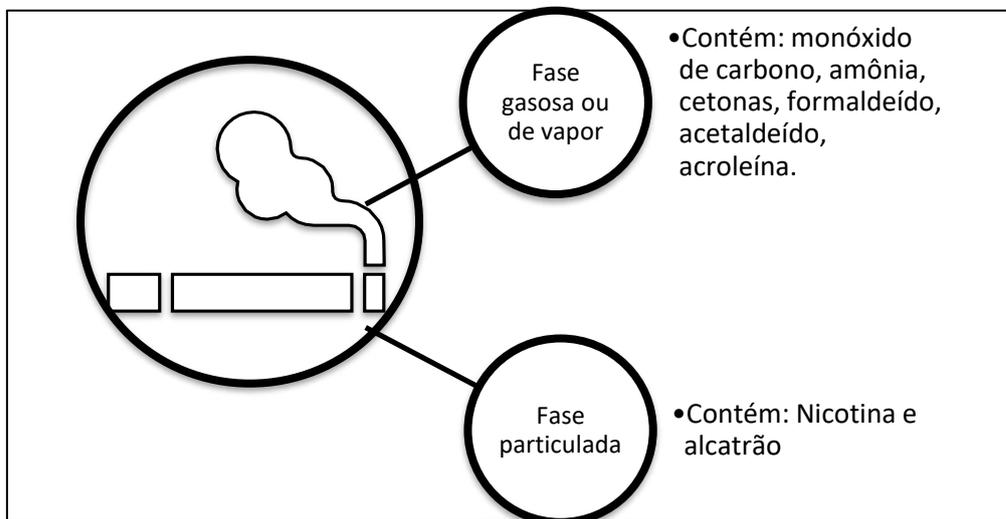
Os aditivos são colocados principalmente em cigarros de tabaco do tipo Burley (americanos) que usam misturas (*blends*) de fumos. Já os do tipo Virginia utilizam poucos aditivos. O tabaco apresenta diferentes tipos devido aos diferentes processos de cura pelas quais suas folhas passam (PAUMGARTTEN; GOMES-CARNEIRO; OLIVEIRA, 2017; THIELEN; KLUS; MÜLLER, 2008). Ainda não se tem esclarecimentos sobre a toxicidade que a queima dos aditivos pode acarretar à saúde dos indivíduos (PAUMGARTTEN; GOMES-CARNEIRO; OLIVEIRA, 2017).

O tabaco do tipo Burley é seco em temperatura ambiente em galpões ventilados, ao longo de 4-8 semanas, cura prolongada, o que confere um produto com baixo teor de açúcar e alto teor de nicotina. Já a cura do tabaco do tipo Virginia é feita em temperaturas elevadas durante um período de 5-7 dias, em um processo de secagem ao ar quente, dando a esse tipo de tabaco um teor mais alto de açúcar e um teor de médio a alto de nicotina. Os aditivos são acrescentados para compensar alguns sabores perdidos durante a secagem, como melhorar o sabor, repondo açúcares no do tipo Burley e acrescentando aroma como uma “assinatura sensorial” de algumas marcas. No Brasil os cigarros de fumo do tipo Burley são os mais vendidos (PAUMGARTTEN; GOMES-CARNEIRO; OLIVEIRA, 2017; THIELEN; KLUS; MÜLLER, 2008).

Dependendo do tipo de cigarro, os componentes e as concentrações da fumaça gerada pela queima podem se alterar. No geral, o cigarro é composto por uma

fase gasosa e por uma fase particulada, como ilustrado na figura 2 abaixo (INCA, 2018).

**Figura 2 – Componentes do cigarro.**



Fonte: (INCA, 2018)

A fumaça do cigarro é composta por aproximadamente 4720 substâncias tóxicas diferentes. A fase gasosa é composta por monóxido de carbono, amônia, cetonas, formaldeído, acetaldeído, acroleína, entre outros componentes; já a fase particulada, por alcatrão e nicotina. O alcatrão é composto por mais 40 substâncias carcinogênicas, formadas a partir da sua combustão nos derivados de tabaco, dentre elas: o arsênio, níquel, benzopireno, cádmio, resíduos de agrotóxicos, substâncias radioativas, como o Polônio 210, acetona, naftalina e até fósforo P4/P6. A nicotina é responsável pela dependência, sendo considerada uma droga psicoativa (INCA, 2018; BEHERA; XIAN; BALASUBRAMANIAN, 2014).

Em geral, a fumaça do cigarro é dividida em corrente principal da fumaça, do termo *Main-stream smoke* (MSS) e fumaça secundária, *Side-stream smoke* (SSS). A MSS é tragada diretamente pelo fumante e a SSS é emitida pela queima da ponta do cigarro. Esta última é a mais prejudicial à saúde, uma vez que possui níveis maiores de substâncias cancerígenas. Além disso, a maioria dos cigarros comerciais possui filtro, o que diminui a porcentagem de componentes tóxicos inalados da corrente principal de fumaça (BEHERA; XIAN; BALASUBRAMANIAN, 2014; CHIBA; MASIRONI, 1992).

Segundo Behera et al. (2014), devido a maiores quantidades de elementos causadores de câncer na SSS, as pessoas que convivem com fumantes, os fumantes passivos, têm um risco aumentado de terem cânceres a longo prazo. Logo, a exposição à MSS e à SSS, tanto em fumantes atuais quanto em passivos, oferecem risco a saúde quanto ao surgimento diversas DCNTs relacionadas ao uso do cigarro.

Inclusive, atualmente, se discute outra forma de exposição, a *Thirdhand Smoke* (THS), ou “fumo de terceira mão”, termo pouco difundido em português, uma mistura de compostos voláteis e material particulado que pode ser depositada ou adsorvida em superfícies, incluindo roupas, móveis e estofados. Alguns elementos persistem, mesmo que não se visualize mais a fumaça ou o cheiro, e esse é o risco invisível do THS.

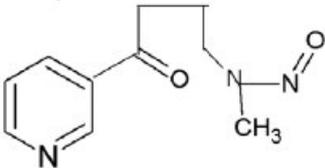
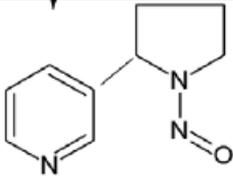
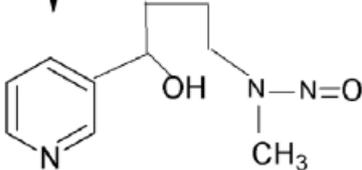
Estes poluentes do THS são capazes de se manter retidos no ambiente, podendo ser reemitidos para o ar ou serem capazes de reagir com oxidantes ou com outros compostos do ambiente para formação de poluentes secundários. Esses resíduos, caso sejam lançados de volta para o ar, podem ser inalados ou absorvidos, tanto por via oral quanto através da pele (FIGUEIRÓ; ZIULKOSKI; DANTAS, 2016).

O risco da exposição ao THS ainda não foi completamente elucidado, porém há o risco de carcinogênese gerado pela exposição, principalmente em crianças. Segundo Ramírez et al. (2014), existe um risco da exposição a todas as nitrosaminas provenientes do THS em casas de fumantes, e isto corresponde a um caso extra de câncer a cada mil pessoas expostas (FIGUEIRÓ; ZIULKOSKI; DANTAS, 2016; RAMÍREZ et al., 2014).

Mais de 80% da nicotina absorvida a partir da exposição do tabaco é metabolizada pelo fígado através do CYP2A6, UDP-glucuronosyltransferase, e flavin-containing monooxygenase, gerando vários metabolitos, os principais são a cotinina (gerado de 70 a 80%) e Norcotinina (BENOWITZ; HUKKANEN; JACOB, 2009).

A nicotina apresenta alta toxicidade, tanto que é usada como inseticida contra pragas da agricultura. Não é diretamente oncogênica, mas ocorre a sua nitrosação, produzindo as N-nitrosaminas específicas do tabaco que o são. A formação das nitrosaminas ocorrem durante o processo da cura do tabaco, da queima no ato de fumar e através de formação endógena a partir de ação enzimática do fígado (mediado por citocromo P450), (BENOWITZ; HUKKANEN; JACOB, 2009; ROSEMBERG, 2003). São quatro principais encontradas no quadro abaixo.

**Quadro 1 – N-Nitrosaminas específicas do Tabaco.**

Sigla	Estrutura	Nitrosamina	Considerações
NNK		4-(metilnitrosamina)- 1-(3-piridil)-1- butanona	- Carcinógeno. - 50 vezes mais encontrada na Fumaça secundária - SSS (ponta do cigarro), que na fumaça principal MSS.
NNN		N <sup>o</sup> -nitrosornicotina	- Carcinógeno. -De 5-10 vezes mais encontrado na Fumaça secundária - SSS que na MSS
NNAL		4- (methilnitrosamina)- 1- (3-piridil)-1- butanol	- Metabólico do NNK

Fonte: (ROSEMBERG, 2003; SANNER; GRIMSRUD, 2015)

O mecanismo de ação responsável pelo efeito genotoxicidade causada pela nicotina ainda não está bem estabelecido. Porém foi relatado por CHENG et al. (2003), a formação de adutos entre o DNA e a Nicotina e/ou N-nitrosaminas específicas do tabaco (aminas aromáticas - AAs) e essa formação seria responsável pelo começo da carcinogêneses (CHEN; ZHANG; VOUIROS, 2018).

A mutação causada por carcinógeno geralmente ocorre em consequência a um dos seguintes processos: modificação química de uma base do DNA, falhas nas vias de apoptose e de supressão tumoral, no reparo de lesões e na incorporação de nucleotídeos atípicos ao DNA durante a replicação celular (GEHM, 2013).

Os agentes cancerígenos reagem diretamente com o DNA ou passam por

ativação metabólica de espécies eletrofilicas, como epóxidos, íons diazônio e íons de nitrênio, que se ligam ao DNA e formam os adutos de DNA. Quando essa substância se liga ao nucleotídeo do DNA, pode causar lesões na sequência de DNA, porém as células possuem um sistema de autoproteção para reparar caso isto ocorra. Entretanto, não há garantias de que todas as lesões serão reparadas. Quando não ocorrem, podem induzir a um desvio de base durante a replicação do DNA e gerar uma mutação genética, levando a um câncer. Portanto, a presença de adutos de DNA pode ser um indicador potencial para a avaliação do desenvolvimento de câncer (CHEN; ZHANG; VOUIROS, 2018; CHENG et al., 2003).

A combinação entre a nicotina e metabólitos, com receptores nicotínicos de acetilcolina (n-AChRs) estimula a rota de sinalização e reações de aumento de proliferação celular e sobrevivência celular. Alguns estudos mostram que os efeitos da nicotina são reduzidos na presença de antioxidantes, sugerindo que radicais oxidativos estão envolvidos, e que o dano no DNA é reduzido na presença de antagonista de n-AChR, indicando uma rota de dependência ao receptor para a indução do estresse oxidativo (SANNER; GRIMSRUD, 2015).

As espécies reativas de oxigênio (ERO's), por intermédio de danos oxidativos no DNA (quebras, e formação de adutos), estão associadas ao aparecimento de várias doenças. Portanto, espécies reativas têm importante função biológica. Porém, quando sua produção é exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio. O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes, e com consequente dano celular (VALENTE et al., 2017). Com a exposição ao tabaco, as EROs são produzidas, promovendo um desbalanço e um estresse oxidativo, o que pode gerar lesões nas estruturas e funções celulares (ALSAAD et al., 2019; PRASAD; GUPTA; TYAGI, 2017).

Diante disso, vemos o tabagismo como um fator de risco para desencadeamento de tumores malignos, destacando os geniturinários, como tumores de bexiga, próstata, rins e de pênis. Inclusive podendo impactar diretamente em um pior resultado do tratamento (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA, 2019).

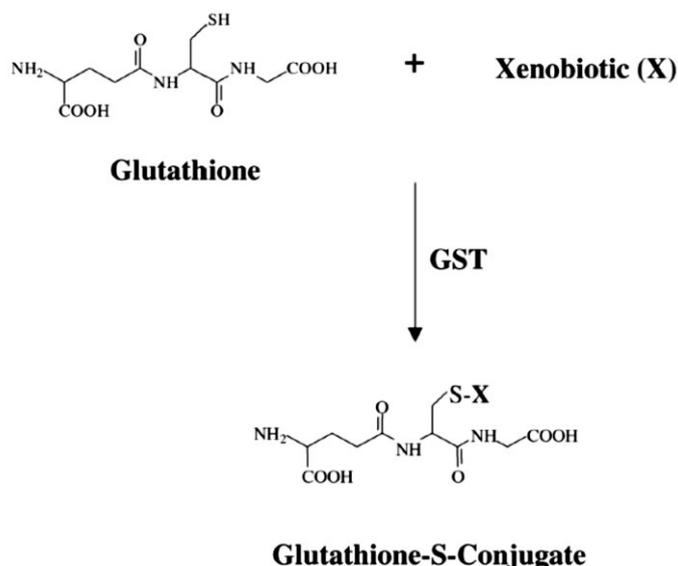
### 2.2.2 Sistema Glutathiona S-transferase (GST)

Como descrito anteriormente, a literatura sugere que o uso do tabaco é um fator de risco para diversos cânceres, e o sistema Glutathiona S-Transferase (GST) é importante na detoxificação celular de uma ampla variedade de substâncias, incluindo xenobióticos tóxicos, metabólitos e produtos reativos de processos intracelulares. As GSTs compõem uma família multigene de enzimas de fase II, que participam do sistema de defesa celular contra o estresse oxidativo e, diferentemente de outras enzimas antioxidantes, se destacam pela detoxificação de produtos intermediários citotóxicos originados pelas EROs (A. SHARMA, A. MISHRA, B.C.DAS, S. SARDANA, 2006; PINHEIRO, 2013; YU et al., 2017a).

As GSTs são altamente expressa em mamíferos, classificadas com base em seu ponto isoelétrico, na similaridade da sequência de aminoácidos e especificidade por substrato. Até o momento são conhecidas oito classes de GSTs citosólicas humanas: Alpha, Kappa, Mu, Ômega, Pi, Sigma, Theta e Zeta. Destacando-se o *GSTT1* e *GSTM1*, sobretudo em razão da grande quantidade de estudos realizados sobre a associação do polimorfismo de deleção destes dois genes com a susceptibilidade a diferentes tipos de câncer (FIRIGATO et al., 2018; GATTÁS et al., 2004; YU et al., 2017b).

A *GSTM1* e *GSTT1* conjugam glutathiona reduzida a substratos eletrofílicos, o que torna os produtos glutathiona-conjugados menos reativos e mais hidrossolúveis, facilitando sua excreção. São os principais sistema de enzimas desintoxicantes envolvidas nas reações de biotransformação de fase II (reações de conjugação), como pode ser visto abaixo na figura 3 (KRÜGER et al., 2015; LEME et al., 2010).

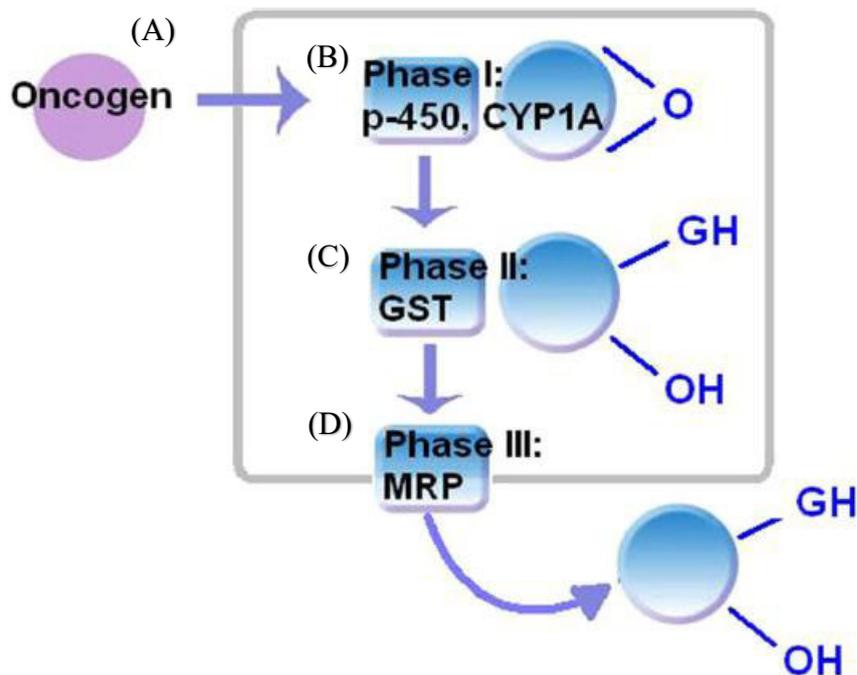
**Figura 3** – Conjugação da Glutathione com um xenobiótico genérico (X) Via GST que resulta na formação de uma Glutathione-S conjugado.



**Fonte:** (TOWNSEND; TEW; CHASE, 2003)

Dois grupos de enzimas estão envolvidos no processo de biometabolização dos compostos químicos do álcool e do cigarro, as enzimas do metabolismo de oxidativo de Fase I e as enzimas conjugadoras de Fase II. A detoxificação celular pode ser dividida em 3 passos (Figura 4): após a difusão do agente tóxico no citosol, na Fase I, há a conversão de agentes lipofílicos em hidrofílicos e menos tóxicos, principalmente pelas superfamílias de enzimas P450 (CYPs) que o realizam através do consumo de oxigênio para um epóxi. Além disso, as epoxididratases formam dióis, que são inativados na chamada desintoxicação de Fase II, pelo sistema p450 ou por conjugação com glutathione (GSH), ácido UDP-glucurônico ou glicina. A conjugação de GSH e a redução dos hidroperóxidos formados na fase I são transmitidas pelo GST, quer dizer, as enzimas conjugadora de Fase II atuam inativando o produto da Fase I, tornando os metabolitos mais hidrofílicos e passíveis de excreção. Na Fase III, os conjugados hidrofílicos são transportados ativamente através da membrana plasmática via bomba de membrana GS-X, com consumo de ATP (KRÜGER et al., 2015; LEME et al., 2010).

**Figura 4** – Detoxificação intracelular via p450 e Glutathiona S-Transferase.



Legenda: (A) Entrada de um carcinógeno (oncogen). (B) Na fase I (Phase I) hidratases e enzimas P450 formam epóxis nos benzopirenos. (C) Na fase II (Phase II) há a conjugação da glutathiona e o epóxi pelos GSTs. (D) Na fase III (Phase III) transporte do conjugado de glutathiona hidrofílico formado na fase II, para o espaço extracelular através de uma transmembrana ATPase. Fonte: (KRÜGER et al., 2015)

Além de sua função na desintoxicação celular, o GST também regula o mecanismo de quinase da via mitogênio ativado (MAP), que regula a sobrevivência e apoptose das células. Isso ocorre por uma interação proteína-proteína direta de GST- $\pi$  e GST- $\mu$  com a c-Jun N-terminal quinase 1 (JNK1). As interações da GST quinase são influenciadas pelo estresse oxidativo, porque espécies reativas de oxigênio levam à dissociação de GSTM1 e ASK1 (*Apoptosis signal-regulating kinase 1*) (KRÜGER et al., 2015; SINGH, 2015).

Inclusive quanto à terapia do câncer, as GSTs podem contribuir no mecanismo de resistência ao medicamento para alguns tipos de câncer, mas isto pode variar de acordo com o tecido, com o perfil do medicamento e expressão dos transportadores, incluindo as bombas GS-X. Essa resistência pode ocorrer por meio de sua atividade catalítica, de modo que os inibidores de GST permanecem como uma ferramenta terapêutica potencial na modulação da eficácia de medicamentos (SINGH, 2015)

O gene *GSTM1* está localizado no cromossomo 1p13.3. É polimórfico

possuindo dois alelos funcionais (*GSTM1*\*A e *GSTM1*\*B) igualmente eficientes na atividade metabólica de detoxicação, compreende a classe GST- $\mu$  (Mu). A classe  $\theta$  de GST (GSTT) consiste em 2 genes, *GSTT1* e *GSTT2*. O *GSTT1* está localizado no cromossomo 22q11.23. A deleção polimórfica destes genes está presente em 50% da população europeia e 27% na população africana (KRÜGER et al., 2015).

Tanto *GSTT1* quanto *GSTM1* apresentam deleção total do gene, resultando no genótipo homozigoto nulo (*GSTT1*nulo e *GSTM1*nulo), podem alterar a expressão ou função das mesmas e resultar em ativação ou detoxificação de compostos carcinogênicos. Estão envolvidas na biossíntese e metabolismo de muitos carcinógenos químicos exógenos, tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, que são encontrados no cigarro (LEME et al., 2010).

A ausência de uma ou mais formas de GST pode tornar a célula mais susceptível ao estresse químico e oxidativo, os quais podem levar à disfunção celular, tornando de grande relevância a caracterização da influência da deleção dos genes *GSTT1* e *GSTM1* no risco de doenças (CORRAL et al., 2014; WANG et al., 2018; YU et al., 2017a).

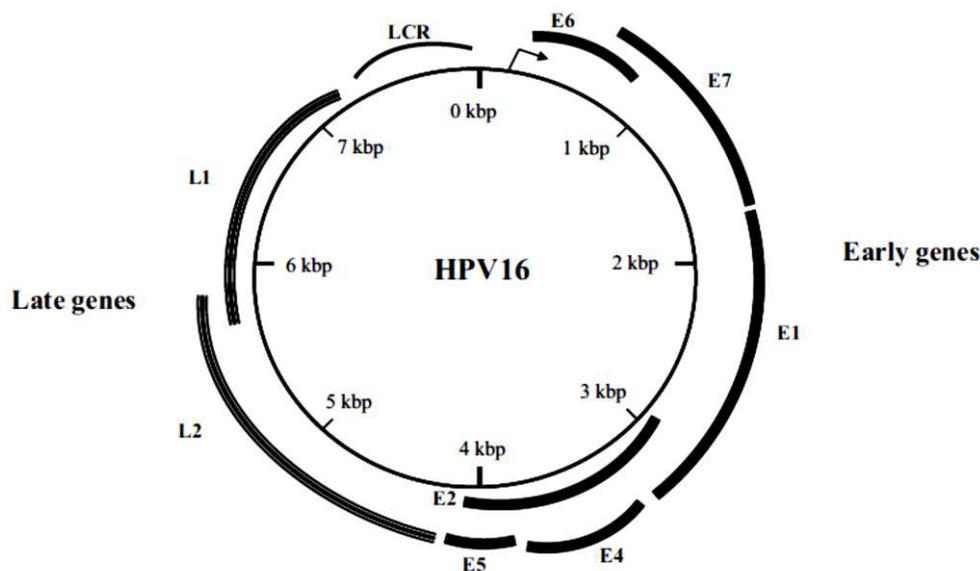
Inclusive há associações relatadas na literatura entre a deleção de *GSTM1* e/ou *GSTT1* com câncer de bexiga, pulmão e colorretal, bem como carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (GATTÁS et al., 2004; KRÜGER et al., 2015; LEME et al., 2010; YU et al., 2017a). Indivíduos homozigóticos nessa deleção correm um risco aumentado de malignidade como consequência de uma capacidade reduzida de desintoxicar a célula de carcinógenos (SINGH, 2015). Por isso, se faz importante estudos do impacto desta deleção em canceres urinários.

### **2.3 Papilomavírus Humano (HPV)**

O papilomavírus humano (HPV) pertence à família *Papillomaviridae*, gênero Papilomavírus. São vírus não envelopados de simetria icosaédrica, com capsídeo composto por 72 capsômeros e um genoma de DNA dupla fita circular, com cerca de 8.000 pares de bases. O genoma é formado por uma região denominado *Open Reading Frames* (ORF), onde são encontrados os genes capazes de realizar a codificação de proteínas, nas regiões *Early* (E) e *Late* (L) e outra área controladora

*Long Control Region* (LCR). Como pode ser visto na Figura 5 (BRIANTI; FLAMMINEIS; MERCURI, 2017; FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012).

**Figura 5** – Representação esquemática do genoma do HPV



Fonte: GANGULY; PARIHAR, 2009

Os genes codificadores de proteína da região *Late* (L1 e L2) codifica as proteínas formadora do capsídeo viral, a região *Early* (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) codifica proteínas envolvidas na replicação, transcrição e transformação, e a região não codificadora, LCR (BRIANTI; FLAMMINEIS; MERCURI, 2017; GANGULY; PARIHAR, 2009).

O HPV é um vírus que apresenta um epiteliotropismo heterogêneo, muitos dos quais estão agrupados filogeneticamente em 3 gêneros o Alpha ( $\alpha$ )-, Beta ( $\beta$ )- e Gamma ( $\gamma$ )-papillomavirus. Sendo o tipo  $\alpha$ -HPV, o mais predominantes em lesões de mucosa e genitais, neste estão inclusos 13 tipos virais classificados como alto risco oncogênicos (carcinógeno tipo I) pela Organização Mundial da Saúde, devido à sua maior prevalência no câncer do colo do útero (Quadro 2) (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012; SICHERO et al., 2014; SICHERO; GIULIANO; VILLA, 2019).

**Quadro 2 – Subtipos de HPV de acordo com o risco pela OMS.**

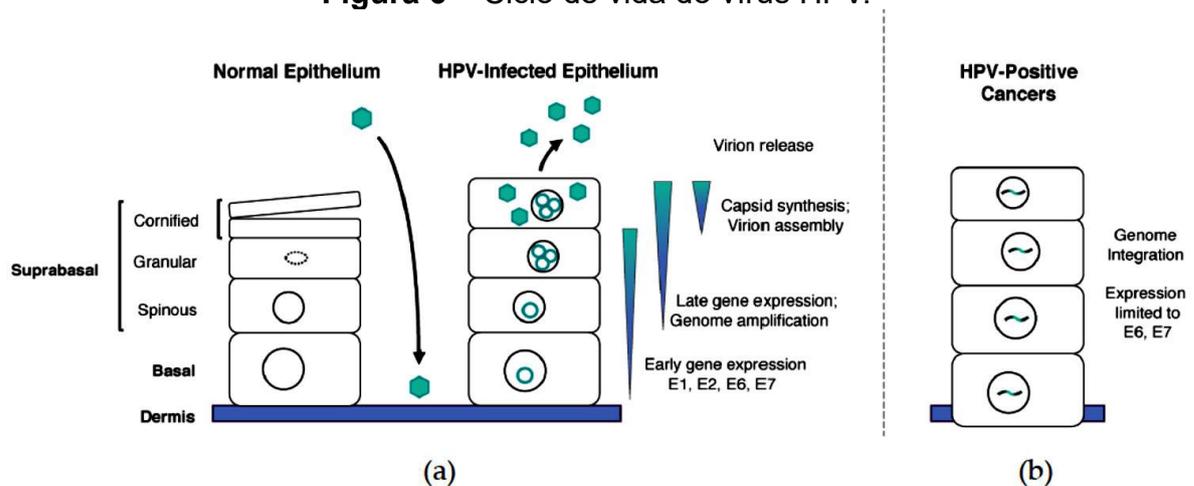
HPV de Alto risco	HPV de baixo risco
-16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58, -59, -66;	-6, -11, -40, -42, -43, -44, e -54

Fonte: (SICHERO et al., 2014)

O risco oncogênico do HPV está diretamente ligado ao seu comportamento genômico no núcleo da célula hospedeira. O HPV de baixo risco tende a se manter íntegro, circular e epissomal no núcleo da célula, diferentemente do comportamento do HPV de alto risco, em que o DNA circular se abre, sofre deleções e se integra ao DNA celular, conforme figura 3 abaixo sobre o ciclo de vida (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012). Apesar dessa divisão, alguns HPVs de baixo risco como o HPV-6 foram identificados em lesões cancerosas, incluindo carcinomas penianos (SICHERO; GIULIANO; VILLA, 2019).

Para entender o ciclo de vida do HPV (figura 6a), precisamos observar que as células supra basais do epitélio repousam na membrana basal, que é suportada pela derme. O papilomavírus humano (HPV) acessa as células basais através de microabrasões no epitélio normal. Após a infecção, os genes iniciais do HPV E1, E2, E4, E5, E6 e E7 são expressos e o DNA viral se réplica do DNA epissomal (na figura, núcleos verdes). Nas camadas superiores do epitélio, as células filhas, o genoma viral é replicado ainda mais, e os genes tardios L1 e L2 e E4 são expressos. L1 e L2 encapsidam os genomas virais para formar virions de progênie no núcleo. O vírus derramado pode então iniciar uma nova infecção. Lesões intraepiteliais de baixo grau suportam replicação viral produtiva (SPRIGGS; LAIMINS, 2017; WOODMAN; COLLINS; YOUNG, 2007).

**Figura 6 – Ciclo de vida do vírus HPV.**



Fonte:(SPRIGGS; LAIMINS, 2017)

Algumas infecções por HPV de alto risco progredem para neoplasia, e essa progressão de lesões não tratadas para câncer micro invasivo e invasivo está associada à integração do genoma do HPV nos cromossomos hospedeiros (na figura 6b), com perda associada ou interrupção de E2 e subsequente regulação positiva da expressão de oncogene E6 e E7, e isso é um passo chave para a progressão (malignidade) e tumorigênese (SPRIGGS; LAIMINS, 2017).

A incidência da infecção por HPV em pênis está em torno de 16-69%, dependendo do estudo e da técnica de detecção do HPV. Pode progredir em lesões externas no genital, na maioria das vezes lesões condilomatosas, e em neoplasia intraepitelial peniana (PeIN), que precede o CP (SICHERO; GIULIANO; VILLA, 2019; STRATTON; CULKIN, 2016).

A maioria dos HPVs se mantem assintomáticos, e em média desaparecem em cerca de 7,5 meses, e em HPVs de alto risco uma média de 12,2 meses. Porém quando a infecção não é eliminada, a maioria se manifesta como uma lesão externa ao genital, como verrugas genitais, que no geral, são benignas e tipicamente assintomáticas, mas podem se tornar problemáticas apresentando dor, coceira e sangramento (STRATTON; CULKIN, 2016).

Para diminuir a incidência deste vírus na população, se faz importante medidas para prevenção, como a orientação da população sobre esta patologia, sobre a prevenção desta e outras infecções sexualmente transmissíveis (IST's), inclusive a disponibilização da vacina para crianças e adolescentes. A vacina do HPV é recomendada para meninos e meninas entre 9 – 26 anos, como um modo de

prevenção. A OMS recomenda a vacinação entre os 9 – 12 anos para meninos e meninas, divididas em duas doses. Também podem ser vacinadas crianças mais velhas com 13-14 anos, porém, para adolescentes entre 15 – 26 anos são menos efetivas (ALEMANY et al., 2016; BEAVERS; RAMONDETTA, 2019).

## 2.4 Aspectos clínicos e histopatológicos

As manifestações clínicas mais comuns do CP são caracterizadas por poucas pápulas, úlcera persistente ou ainda por tumoração localizada na glândula, prepúcio, sulco coronal, corpo peniano, frênulo e meato uretral. Além destas manifestações, a associação com a retenção de esmegma, que é um resíduo de epitélio descamado, podem ser um sinal de câncer peniano. A presença de linfonodos inguinais aumentados pode significar um sinal agravante na progressão da doença (BLEEKER et al., 2009).

Os tumores penianos são classificados de acordo com o tipo histológico em: carcinoma *in situ*, carcinoma epidermóide de células escamosas (CCE), carcinoma basalóide, carcinoma verrucoso, carcinoma sarcomatoso, carcinoma epidermóide variante verrucoso, carcinoma papilar e adenocarcinoma. Para o Comitê Americano sobre o Câncer (AJCC) existem os seguintes subtipos de CCE: sarcomatóide, usual, basalóide, papilar, verrucoso, condilomatoso e misto (CHAUX et al., 2010b; CUBILLA et al., 2018).

Em 95% dos cânceres penianos são carcinomas epidermóide de células escamosas (CCE) (CUBILLA et al., 2018; PORTH, 2010). Recentemente a OMS trouxe uma nova classificação, onde a classificação da CCE está descrita de acordo com a presença ou ausência do HPV e subtipo histológico (CUBILLA et al., 2018). Estas informações estão resumidas na tabela 2 abaixo.

**Tabela 2** – Classificação da OMS (2016) dos Carcinomas de células escamosas (CCE) de pênis.

<b>CCE não relacionada ao HPV</b>	<b>CCE relacionada ao HPV</b>	<b>Outros</b>
Carcinoma de célula escamosa (CCE)	Carcinoma Basalóide	Carcinoma
Carcinoma Usual	Carcinoma Basalóide-Papilar	não classificado
Carcinoma Pseudohyperplastico	Carcinoma condilomatoso	
Carcinoma Pseudoglandular	Carcinoma Condilomatoso-Basalóide	
Carcinoma Verrucoso	Carcinoma de célula clara	
Carcinoma verrucoso Puro	Carcinoma do tipo Linfoepitelioma	
Carcinoma Cuniculatum		
Carcinoma Papilar, NOS		
Carcinoma Adenoescamoso		
Carcinoma Sarcomatoide Escamoso		
Carcinoma Misto		

Fonte: CUBILLA et al., 2018

O carcinoma mais comum é o de subtipo usual (50-70% dos casos) seguido pelo condilomatoso basalóide (9-17%), papilar (7-15%) e condilomatoso (3-10%) (HÖLTERS et al., 2019).

O carcinoma basalóide é uma variante incomum, representa de 4-10% dos CCE, é considerado um tumor mais invasivo, relacionado ao HPV e com maior taxa de metástase. O carcinoma condilomatoso também é relacionado com o HPV, porém é de crescimento lento e de baixo grau, é verruciforme, representa 7-10% dos carcinomas. Já o carcinoma verrucoso não é relacionado com o HPV, é uma variante de baixo grau, representa de 3-8% dos carcinomas penianos, tem um crescimento lento e é bem diferenciado, normalmente invade apenas níveis anatômicos superficiais e apresentam um bom prognóstico. As outras formas são menos frequentes como: carcinoma papilar, basalóide, sarcomatóide, cuniculatum,

pseudohiperplástico e adenoescamoso. (CHAUX et al., 2010b). Além disso, segundo Wanick (2011), as lesões malignas no pênis podem ser: vegetativas, ulcerativas e verrucosas.

O carcinoma invasivo do pênis inicia na forma de um pequeno nódulo ou úlcera. Quando há fimose, podem ocorrer tumefação dolorosa, drenagem purulenta ou dificuldade na micção. Na maioria dos casos pode-se verificar a presença de linfonodos palpáveis na região inguinal. O diagnóstico é baseado no exame físico e nos resultados de biópsia (PORTH, 2010).

As opções de tratamento variam de acordo com o estágio, o tamanho, a localização e a natureza invasiva do tumor. O carcinoma *in situ* pode ser tratado de modo conservador, com aplicação de creme de fluoruracila ou tratamento com laser, sendo que esse tipo de tratamento conservador requer exames frequentes de acompanhamento. Já a cirurgia continua sendo a base do tratamento para o carcinoma invasivo, sendo indicada a penectomia parcial ou total com dissecação apropriada dos linfonodos (CUBILLA et al., 2018; PORTH, 2010).

Para entender melhor o tumor é importante a realização da biópsia, de preferência na porção central da lesão e em profundidade. A partir deste exame, pode-se caracterizar a lesão e dessa forma direcionar o tratamento. Em relação a diferenciação histológica, utiliza-se a classificação de Broders (quadro 3) que compreende 3 categorias: grau I - bem diferenciado, grau II/III - moderadamente diferenciado e grau IV - indiferenciado (EDGE et al., 2010; PIZZOCARO et al., 2010; POMPEO et al., 2006; WANICK et al., 2011).

**Quadro 3 – Classificação de Grau de Broder's**

Gradação	Sigla	Característica
Grau I	G1	0 a 25% de células indiferenciadas – Bem diferenciado
Grau II	G2	25-50% de células indiferenciadas – Moderadamente diferenciado
Grau III	G3	50-75% de células indiferenciadas – Pouco diferenciado
Grau IV	G4	75-100% de células indiferenciadas – Indiferenciado

Fonte: EDGE et al., 2010; PIZZOCARO et al., 2010

Para o estadiamento clínico histopatológico são utilizados dois

estadiamentos: o estadiamento de Jackson (JACKSON, 1962) e a classificação TNM (BRIERLEY; GOSPODAROWICZ; WITTERKIND, 2017). O estadiamento de Jackson é um estadiamento mais antigo, mas ainda utilizado, classifica a doença em quatro estágios clínicos, como no quadro 4 (JACKSON, 1962; POMPEO et al., 2006).

**Quadro 4** – Classificação de Jackson para o estadiamento do câncer de pênis.

Estágio I	Tumor limitado à glândula e/ou prepúcio
Estágio II	Tumor invadindo os corpos cavernosos
Estágio III	Tumor com metástases para linfonodos inguinais
Estágio IV	Tumor invadindo estruturas adjacentes ou com linfonodos inoperáveis, ou metástases à distância

Fonte: JACKSON, 1962; POMPEO et al., 2006

O estadiamento TNM é um dos mais utilizados pois é recomendado pela União Internacional Contra o Câncer (UICC), foi revisado em 2016, e classifica o tumor de acordo com sua característica histológica: o tamanho do tumor, tamanho dos nódulos regionais acometidos e presença de metástase a distância (quadro 5). Essa combinação de informações determina o estadiamento descrito de I a IV, observado no quadro 6 (BRIERLEY; GOSPODAROWICZ; WITTERKIND, 2017; REIS et al., 2010).

**Quadro 5** – Sistema TNM – proposto pela UICC/AJCC para estadiamento do câncer de pênis.

<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
<b>Ta</b> Carcinoma verrucoso não-invasivo.
<b>T1</b> Tumor invadindo tecido conjuntivo subepitelial.
<b>T1a</b> Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial sem invasão linfovascular e não é pouco diferenciado
<b>T1b</b> Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial com invasão linfovascular ou é pouco diferenciado
<b>T2</b> Tumor invadindo corpo esponjoso com ou sem invasão da uretra.
<b>T3</b> Tumor invadindo corpo cavernoso com ou sem invasão da uretra.
<b>T4</b> Tumor invadindo outras estruturas adjacentes.

<b>N – Situação dos linfonodos regionais</b>	
<b>Nx</b>	Linfonodos regionais não avaliados.
<b>N0</b>	Nenhum linfonodo inguinal palpável ou visivelmente aumentado. Ausência de metástase em linfonodos regionais.
<b>N1</b>	Linfonodos inguinais unilaterais móveis palpáveis. Metástase em um dos linfonodos inguinais.
<b>N2</b>	Linfonodos inguinais móveis múltiplos ou bilaterais palpáveis. Metástase em mais de dois nodos inguinais unilaterais ou linfonodos inguinais bilaterais.
<b>N3</b>	Massa nodal inguinal fixa ou linfadenopatia pélvica unilateral ou bilateral. Metástase em linfonodos regionais inguinais profundos ou pélvicos, uni ou bilaterais ou extensão extranodal de metástase de linfonodos regionais.
<b>M – Metástase Distante</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.

Fonte: (BRIERLEY; GOSPODAROWICZ; WITTERKIND, 2017)

**Quadro 6** – Definição de estágio do câncer de pênis pela Classificação TNM.

<b>Estágio</b>	<b>Componente T</b>	<b>Componente N</b>	<b>Componente M</b>
<b>Estágio 0</b>	Tis, Ta	N0	M0
<b>Estágio I</b>	T1a	N0	M0
<b>Estágio IIA</b>	T1b, T2	N0	M0
<b>Estágio IIB</b>	T3	N0	M0
<b>Estágio IIIA</b>	T1, T2, T3	N1	M0
<b>Estágio IIIB</b>	T1, T2, T3	N2	M0
<b>Estágio IV</b>	T4	Any N	M0
	Any T	N3	M0
	Any T	Any N	M1

Fonte: (BRIERLEY; GOSPODAROWICZ; WITTERKIND, 2017)

Mediante informações dadas por essas classificações, é possível pensar na melhor forma de tratamento, bem como no prognóstico do paciente. Homens com câncer de pênis apresentam uma taxa de sobrevivência global de 5 anos de 65 a 90%. Sendo o indicador de prognóstico mais importante o estado dos linfonodos. Para homens com linfonodos inguinais positivos para tumor, a taxa de sobrevivência de 5 anos é de 30 a 50%, enquanto para aqueles com linfonodos ilíacos positivos a taxa é de 20% (PORTH, 2010).

O diagnóstico na maioria das vezes é dado tardiamente, e por isso o

paciente normalmente se encontra em estágio avançado.

Logo nesses casos é observada baixa sobrevida. Neste tipo de câncer, os portadores vivenciam um processo particular de fragilização psicológica típica, devido ao binômio câncer de pênis e mutilação. Boa parte dos pacientes abandonam o tratamento, principalmente se o tratamento de escolha for a penectomia. O paciente penectomizado, no âmbito psicológico, perde a sua referência de masculinidade e não retorna ao serviço de saúde para dar seguimento ao tratamento e controle da doença (REIS et al., 2010).

### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 Objetivo geral**

Analisar a relação do tabagismo com a infecção pelo HPV no desenvolvimento de câncer de pênis.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

1. Descrever o perfil clínico, epidemiológico e histopatológico dos indivíduos com câncer de pênis;
2. Avaliar a prevalência da infecção pelo HPV em tumores de pênis;
3. Analisar os tipos mais prevalentes de HPV nos tumores penianos.
4. Avaliar a prevalência de hábitos tabágicos e a sua relação com a incidência de desenvolver câncer de pênis.
5. Determinar possíveis associações existentes entre a infecção pelo HPV, tabagismo e os aspectos histopatológicos;
6. Avaliar a prevalência de polimorfismo nos genes *GSTM1* e *GSTT1* nas amostras tumorais de pênis e suas associações com o tabagismo e HPV.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 Tipo de estudo**

Foi realizado um estudo epidemiológico, do tipo analítico, retrospectivo e seccional de série histórica de casos de carcinomas epidermóides penianos.

### **4.2 Período e local do estudo**

As amostras de carcinoma epidermóide de pênis foram coletados nos Hospitais de Referência em oncologia do Estado do Maranhão, no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Belo (IMOAB), Hospital Geral Tarquíneo Lopes Filho (HG) e Hospital da Universidade Federal do Maranhão (HU-UFMA), no período de 2018 a 2019, sendo esta amostragem por conveniência.

A população do estudo foram pacientes submetidos às cirurgias de penectomia nos hospitais acima citados, e que aceitaram participar da pesquisa. Aos pacientes foi explicada toda a pesquisa e entregue o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A) para aqueles que concordaram participar e posteriormente aplicado questionário sociodemográfico e sobre seus hábitos tabágicos (ANEXO B e C).

### **4.3 Critério de inclusão e exclusão**

Participaram do estudo pacientes que aceitaram participar da pesquisa, que assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), com idade superior a 18 anos, com diagnóstico de carcinoma epidermóide de pênis, e que ao responder o questionário informaram sobre seus hábitos tabágicos.

Foram excluídos pacientes que não aceitaram participar da pesquisa e que não relataram no questionário sobre seus hábitos tabágicos.

### **4.4 Coleta de dados**

Um questionário foi aplicado para coleta dos dados sociodemográficos

(Anexo B) e o Teste de Fagerstrom (Anexo C). Os dados clínicos e patológicos do paciente e do tumor (regiões acometidas, estadiamento clínico, tipo histológico, presença ou ausência de comprometimento linfonodal e evolução clínica) foram obtidos do prontuário médico dos pacientes.

#### 4.4.1 Coleta das amostras

As amostras utilizadas estão armazenadas no Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA), que previamente foram coletadas nos hospitais de referência em Oncologia no Maranhão. Um dia antes da cirurgia, o mapa cirúrgico de cada hospital foi fornecido com a data e hora do procedimento. No pré-operatório imediato, na sala de espera para a cirurgia, o paciente foi convidado a participar da pesquisa, bem como lhe foi explicado sobre a pesquisa, após aceite, há a assinatura do termo de consentimento livre - TCLE (Anexo A) e a aplicação do questionário (Anexo B), logo depois o mesmo seguiu encaminhado para a sala cirúrgica.

Durante o procedimento cirúrgico, em média 3 fragmentos de tecido tumoral de aproximadamente 0,5 cm foram coletados, um deles foi colocado em um eppendorf contendo RNA later (Life Technologies®) à 4° C e após 24hs armazenado em freezer a -80°C até o uso, para posterior extração e quantificação de DNA. O outro fragmento foi coletado, acondicionado em frasco vazio e conservado a -80°C, e o outro em formol à temperatura ambiente.

#### 4.5 Extração e quantificação do DNA

O DNA genômico total das amostras congeladas foi extraído conforme descrito pelo manual de uso do kit Dneasy Blood and Tissue (QIAGEN Ltd,UK). O DNA foi eluído em tampão TE e armazenado a -20°C até sua quantificação. A pureza e a concentração do DNA foram determinadas através do espectrofotômetro Nanovue (GE, USA). As amostras que tiveram a absorbância no comprimento de onda 260/280 nm entre 1,8-2,0ml foram eluídas em tampão TE e diluída a uma concentração de ~5 ng/μl.

#### 4.6 PCR Nested

Para a identificação do DNA do HPV foi utilizada a técnica de amplificação PCR-*Nested* utilizando o termocicler Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Thermo Scientific, Califórnia, USA). Até técnica de PCR *Nested* foi realizada 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 seguir, a sequência de primers utilizados na tabela 3.

**Tabela 3** - Sequência de *primers* utilizados na reação de PCR *Nested* para detecção do vírus HPV nas lesões penianas analisadas.

	<b>Primer</b>	<b>Sequência 5' - 3'</b>
<b>PGMY11</b>	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
<b>PGMY09</b>	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
	<b>GP+5/6</b>	GP+5
GP+6		GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C
<b>β-globina Humana</b>	GH20	GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC
	PC04	CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC

Fonte: Próprio autor.

#### 4.6.1 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 é 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 5V/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).

#### 4.6.2 Purificação dos produtos de PCR

Os produtos de PCR foram purificados com Purelink Kit de Purificação de DNA Genômico de acordo com o protocolo do fabricante (Invitrogen).

#### 4.6.3 Sequenciamento pelo método de Sangers

O sequenciamento foi realizado para a genotipagem dos subtipos virais pelo método de Sangers. As reações de sequenciamento foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão localizado no Centro de Estudos Superiores de Caxias- CESC-UEMA.

O kit utilizado foi o Big Dye ® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit de acordo com protocolo do fabricante.

### 4.7 Análise da deleção dos genes *GSTT1* e *GSTM1*

A determinação da genotipagem da *GSTM1* e da *GSTT1*, foi realizada através de PCR convencional, determinado a partir de 3 primers para amplificação do fragmento 215 bp do gene *GSTM1*, 480 bp do gene *GSTT1* e 350 bp do gene *ALBUMINA* (controle positivo). As sequências utilizadas estão no quadro 7 abaixo:

**Quadro 7 – Primers utilizados na PCR convencional**

Primers	Forward	Reverse	Fragmento
GSTM1	5'- GAACTCCCTGAAAAGC TAAAGC-3';	5'- GTTGGGCTCAAATATA CGGTGG-3';	215bp
GSTT1	5'- TTCCTTACTGGTCCTCA CATCTC-3';	5'- TCACCGGATCATGGC CAGCC-3';	480bp
ALBUMINA	5'- GCCCTCTGCTAACAAG TCCTAC-3';	5'- GCCCTAAAAAGAAAAT CGCCAATC-3';	350bp

Fonte: Próprio autor

A amplificação foi conduzida com um volume final de 25 µl contendo 5µl DNA genômico, 0,5µl dNTPs, 0,4 µl de cada um dos primers de ALBUMINA, GSTM1 e GSTT1, 2,5µl do 1x reaction buffer e 0,125 de GoTaq DNA Polymerase. As condições para a termociclagem: 5min a 95°C para desnaturação inicial, seguido de 35 ciclos de 1 min a 95°C, 1 min a 56°C e 1 min a 72°C, além disso na extensão final 10min a 72°C.

Depois o produto da PCR foi separado em gel de 2,5% de agarose para a eletroforese, seguido de coloração com brometo de etídio e visualização sob luz UV, através do transiluminador.

## **5 ASPECTOS ÉTICOS**

Em conformidade com as normas para pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução CNS nº466/12), o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do HU-UFMA, com o parecer 2.668.512 (ANEXO D).

Todos os participantes foram informados dos objetivos da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE), e mantidos no Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA).

## **6 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados coletados foram armazenados num banco de dados no programa Excel e foi realizada a análise descritiva das variáveis em estudo. As variáveis categóricas foram analisadas utilizando o teste qui-quadrado de Pearson ou o teste exato de Fisher. Para a análise dos dados, a proposta é que seja realizada utilizando-se o software Statistical Package for Social Sciences, SPSS® versão 23.0. Foi considerado diferença significativamente estatística para  $p < 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

Participaram da pesquisa 55 pacientes que foram submetidos a cirurgia de penectomia nos hospitais de referência em oncologia do Maranhão, na figura 8 abaixo a demonstração em mapa das procedências das amostras.

Na figura 7 abaixo, observamos nas marcações que a maior parte dos participantes da pesquisa residem no interior do Maranhão (60%), e 65,5% dos pacientes relataram já ter fumado (ex-tabagista) ou ainda fumar (tabela 4).

**Figura 7** – Demonstração em mapa da procedência dos pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.



Para entender melhor sobre o outro risco associado ao aumento de incidência de CP, o vírus HPV, foi realizado nas amostras coletadas a PCR *Nested* para a detecção deste. E na tabela 4 abaixo, observa-se que das 55 amostras do estudo, 74,5% (41 pacientes) eram HPV positivo, e na maioria destas amostras (68,3%) o paciente também teve exposição ao tabaco, mostrando um possível aumento da incidência de câncer de pênis em pacientes onde encontramos a infecção por HPV e tabagismo em associação.

Quanto ao risco oncogênico do HPV, a maior parte dos pacientes apresentavam um HPV de alto risco (32,7%). Dentre estes, 70,6% apresentaram exposição ao tabaco, quer dizer, os pacientes declararam ter tido exposição (fumantes regulares ou ex-fumantes).

**Tabela 4 – Associação entre os hábitos tabágicos e a prevalência do HPV em 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.**

Variável	Total n (%)	Não Exposição n (%)	Expostos ao Tabaco n (%)	*p valor
<b>Prevalência do HPV</b>				
HPV Presente	41 (74,5%)	13 (31,7%)	28 (68,3%)	0,522
HPV Ausente	14 (25,5%)	6 (42,9%)	8 (57,1%)	
Total	55 (100%)	19 (34,5%)	36 (65,5%)	
<b>Risco oncogênico do HPV</b>				
Baixo Risco	12 (20%)	6 (50%)	6 (50%)	0,438
Alto Risco	17 (32,7%)	5 (29,4%)	12 (70,6%)	
Sem Informação	12 (21,8%)	-	-	
HPV Ausente	14 (25,5%)	-	-	
Total	55 (100%)	12 (21,8%)	17 (30,9%)	

\*Valor de probabilidade calculado através de Exato de Fisher ou Qui-Quadrado.

Na tabela 5, observou-se que a maioria dos pacientes com CA de pênis são idosos, 63,6%, e tiveram exposição ao tabaco e infecção por HPV (51,4%). Possuem renda familiar inferior a 1 salário mínimo (54,6%), cor não branca (74,6%), 81,8% relataram consumo de álcool, e ao estratificar observamos que dentro de cada uma destas variáveis a maior parte dos pacientes eram HPV positivos e relataram consumo de tabaco.

**Tabela 5 – Associação entre a detecção de HPV e exposição ao tabaco, com variáveis socioeconômicas e hábitos de vida de 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.**

Variável	Total n (%)	HPV Ausente		HPV Presente		Valor de p *
		Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	
<b>Idade</b>						
Até 60 anos	19 (34,5%)	2 (10,5%)	2 (10,5%)	5 (26,3%)	10 (52,6%)	>0,99
Acima 60 Anos	35 (63,6%)	4 (11,4%)	5 (14,3%)	8 (22,9%)	18 (51,4%)	

Não informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
<b>Total</b>	<b>55</b> (100%)	<b>6 (10,9%)</b>	<b>7 (12,7%)</b>	<b>13 (23,6%)</b>	<b>28 (51%)</b>	
<b>Cor</b>						
Branca	13 (23,6%)	1 (7,7%)	1 (7,7%)	3 (23,1%)	8 (61,5%)	
Não Branca	41 (74,6%)	5 (12,2%)	6 (14,6%)	10 (24,4%)	20 (48,8%)	0,961
Não informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
<b>Total</b>	<b>55</b> (100%)	<b>6 (10,9%)</b>	<b>7 (12,7%)</b>	<b>13 (23,6%)</b>	<b>28 (51%)</b>	
<b>Situação Conjugal</b>						
Com parceiro	35 (63,6%)	3 (8,6%)	6 (17,1%)	10 (28,6%)	16 (45,7%)	
Sem Parceiro	19 (34,6%)	2 (10,5%)	2 (10,5%)	3 (15,8%)	12 (63,2%)	0,594
Não informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
<b>Total</b>	<b>55</b> (100%)	<b>5 (9,1%)</b>	<b>8 (14,6%)</b>	<b>13 (23,6%)</b>	<b>28 (50,9%)</b>	
<b>Grau de instrução</b>						
Não frequentou a escola	21 (38,2%)	1 (4,8%)	1 (4,8%)	6 (28,6%)	13 (61,9%)	
Frequentou a escola	32 (58,2%)	4 (12,5%)	6 (18,8%)	7 (21,9%)	15 (46,9%)	0,404
Não informado	2 (3,6%)	-	-	-	-	
<b>Total</b>	<b>55</b> (100%)	<b>5 (9,1%)</b>	<b>7 (12,7%)</b>	<b>13 (23,6%)</b>	<b>28 (51%)</b>	
<b>Procedência</b>						
São Luís	17 (30,9%)	3 (17,6%)	2 (11,8%)	6 (35,3%)	6 (35,3%)	
Interior e outro estado	37 (67,3%)	3 (8,1%)	6 (16,2%)	7 (18,9%)	21 (56,8%)	0,330
Não Informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
<b>Total</b>	<b>55</b> (100%)	<b>6 (10,9%)</b>	<b>8 (14,6%)</b>	<b>13 (23,6%)</b>	<b>27 (49,1%)</b>	
<b>Renda familiar</b>						
Até 1 salários mínimos	30 (54,6%)	4 (13,3%)	6 (20%)	6 (20%)	14 (46,7%)	
Mais que 1 salários mínimos	18 (32,7%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)	7 (38,9%)	9 (50,9%)	0,335
Não informado	7 (12,7%)	-	-	-	-	
<b>Total</b>	<b>55</b> (100%)	<b>5 (9,1%)</b>	<b>7 (12,7%)</b>	<b>13 (23,6%)</b>	<b>23 (41,9%)</b>	
<b>Etilismo</b>						

Não	9 (16,4%)	2 (22,2%)	0 (0%)	5 (55,6%)	2 (22,2%)	
Sim	45 (81,8%)	4 (8,9%)	8 (17,8%)	7 (15,6%)	26 (57,8%)	<b>0,016**</b>
Não informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	6 (10,9%)	8 (14,6%)	12 (21,8%)	28 (50,9%)	

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

\*\*p significativo pois  $p < 0,05$

Ao aprofundar sobre o perfil de hábitos tabágicos de 36 dos pacientes (na tabela 6), observou-se que a maioria dos pacientes eram ex-fumantes, e relataram durante a aplicação questionário que deixaram de fumar a mais de 5 anos (55,6%).

**Tabela 6** – Associação entre a detecção de HPV e os hábitos tabágicos em 36 pacientes expostos ao tabaco e diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

Variável	Total n (%)	HPV Ausente n (%)	HPV Presente n (%)	*P valor
<b>Tempo de Tabagismo</b>				
Até 5 anos	1 (2,8%)	0 (0%)	1 (100%)	
Mais de 5 anos	7 (19,4%)	2 (28,6%)	5 (71,4%)	>0,99
Não Informado	28 (77,8%)	-	-	
Total de Pacientes com exposição	36 (100%)	2 (5,5%)	6 (16,7%)	
<b>Há quanto tempo parou de fumar</b>				
Até 5 anos	8 (22,2%)	2 (25%)	6 (75%)	
Mais de 5 anos	20 (55,6%)	4 (20%)	16 (80%)	>0,99
Não Informado	8 (22,2%)	-	-	
Total	36 (100%)	6 (16,7%)	22 (61,1%)	

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher ou Qui-Quadrado.

Para entender melhor a oncogenicidade do HPV encontrado dentre os participantes da pesquisa, foi realizado o sequenciamento das amostras para a genotipagem dos subtipos de HPV, informação exposta na tabela 7. Os subtipos de mais alto risco oncogênico foram mais prevalentes, 41,4% dos casos, e entre os subtipos de maior acometimento foram o HPV-11, subtipo de baixo risco, e o HPV-16,

de alto risco oncogênico.

**Tabela 7** – Associação entre a exposição ao tabaco e a prevalência dos subtipos de HPV em 41 pacientes HPV positivo diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

HPV Subtipo	Total	Não Exposto n (%)	Exposto n (%)	*P Valor
<b>Baixo Risco Oncogênico</b>	12 (29,3%)	6 (50%)	6 (50%)	
HPV 6	1 (8,3%)	0 (0%)	1 (8,3%)	>0,99
HPV 11	11 (91,7%)	6 (50%)	5 (41,7%)	
<b>Alto Risco Oncogênico</b>	17 (41,4%)	5 (29,4%)	12 (70,6%)	
HPV 16	11 (64,7%)	2 (11,8%)	9 (52,9%)	0,285
HPV 18	2 (11,8%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	
HPV 33	1 (3,4%)	-	1 (5,9%)	
HPV 45	2 (6,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	
HPV 52	1 (3,4%)	1 (5,9%)	-	
Sem informação	12 (29,3%)			
<b>Total</b>	41 (100%)	11 (26,8%)	18 (43,9%)	0,283

*\*Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.*

Para cada paciente que aceitou participar da pesquisa, foi buscado em prontuário o laudo histopatológico do material coletado durante a cirurgia de penectomia. A partir deste laudo caracterizou-se o tipo de lesão descrita, além dos seguintes estadiamentos tumorais através da: classificação de Jackson, grau de Broders e estadiamento TNM (informações contidas na Tabela 8). Parte dos laudos histopatológicos encontravam-se incompletos nos prontuários.

A lesão ulcerada foi detectada em 36,4% dos casos, sendo que os pacientes expostos ao tabaco e HPV positivos apresentam maior frequência e lesões do tipo verrucosa em 9,1% dos casos. A invasão perineural foi detectada em 14,5% dos pacientes, e a invasão angiolímfática estava presente em 20% dos casos. E o subtipo usual foi o mais prevalente com 36,4%, e 40% dos pacientes com este subtipo eram HPV positivos e haviam tido exposição ao tabaco (Tabela 8).

Quanto ao estadiamento tumoral na classificação de Jackson observou-se 12,7% dos pacientes no estágio II e III, na classificação de Broders um predomínio de Grau II e III (38,2%), sendo que a maioria dos pacientes desta graduação apresentavam HPV, e exposição ao tabaco.

Quanto ao estadiamento TNM foi observado que a maioria dos pacientes se encontravam no estadiamento II e III (61,8%), o componente T do estadiamento TNM é mais preponderante no componente T2 e T3 (49,1%).

**Tabela 8** – Associação entre detecção do HPV e exposição ao tabaco, com variáveis histopatológicas da lesão, e o estadiamento tumoral em 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

Variável	Total n (%)	HPV Ausente		HPV Presente		*Valor de p
		Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	
<b>Característica da lesão: Ulcerada</b>						
Ausente	12 (21,8%)	2 (16,7%)	1 (8,3%)	2 (16,7%)	7 (58,3%)	0,787
Presente	20 (36,4%)	1 (5%)	3 (15%)	5 (25%)	11 (55%)	
Sem informação	23 (41,8%)					
Total	55 (100%)	3 (5,5%)	4 (7,3%)	7 (12,7%)	18 (32,7%)	
<b>Característica da lesão: Verrucosa</b>						
Ausente	27 (49,1%)	2 (7,4%)	4 (14,8%)	6 (22,2%)	15 (55,6%)	0,780
Presente	5 (9,1%)	1 (20%)	0 (0%)	1 (20%)	3 (60%)	
Sem informação	23 (41,8%)					
Total	55 (100%)	3 (5,4%)	4 (7,3%)	7 (12,8%)	18 (32,7%)	
<b>Subtipo Histológico</b>						
Condilomatoso	11 (20%)	1 (9,1%)	0 (0%)	5 (45,5%)	5 (45,5%)	0,793
Verrucoso	1 (1,8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	
Usual	20 (36,4%)	2 (10%)	4 (20%)	6 (30%)	8 (40%)	

Misto	1 (1,8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	
Sem informação	22 (40%)					
Total	55 (100%)	3 (5,4%)	4 (7,3%)	11 (20%)	15 (27,3%)	

#### Invasão Perineural

Não detectada	30 (54,6%)	4 (13,3%)	3 (10%)	6 (20%)	17 (56,7%)	0,699
Detectada	8 (14,5%)	1 (12,5%)	2 (25%)	2 (25%)	3 (37,5%)	
Sem informação	17 (30,9%)					
Total	55 (100%)	5 (9,1%)	5 (9,1%)	8 (14,5%)	20 (36,4%)	

#### Invasão angiolinfática

Ausente	28 (50,9%)	4 (14,3%)	3 (10,7%)	5 (17,9%)	16 (57,1%)	0,855
Presente	11 (20%)	2 (18,2%)	1 (9,1%)	3 (27,3%)	5 (45,5%)	
Sem informação	16 (29,1%)					
Total	55 (100%)	6 (10,9%)	4 (7,3%)	8 (14,5%)	21 (38,2%)	

#### Classificação de Jackson

Estágio I	5 (9,1%)	0 (0%)	1 (20%)	1 (20%)	3 (60%)	>0,99
Estágio II e III	7 (12,7%)	1 (14,3%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	3 (42,9%)	
não informado	43 (78,2%)					
Total	55 (100%)	1 (1,8%)	3 (5,5%)	2 (3,6%)	6 (10,9%)	

#### Grau de Broders

Grau I	19 (34,5%)	2 (10,5%)	4 (21,1%)	2 (10,5%)	11 (57,9%)	0,137
Grau II e III	21 (38,2%)	3 (14,3%)	1 (4,8%)	8 (38,1%)	9 (42,9%)	
Não informado	15 (27,3%)					

Total	55 (100%)	5 (9,1%)	5 (9,1%)	10 (18,2%)	20 (36,3%)	
<b>Estadiamento de TNM</b>						
Estadiamento I	6 (10,9%)	1 (16,7%)	0 (0%)	1 (16,7%)	4 (66,7%)	
Estadiamento II e III	34 (61,8%)	5 (14,7%)	4 (11,8%)	7 (20,6%)	18 (52,9%)	>0,99
Não informado	15 (27,3%)					
Total	55 (100%)	6 (10,9%)	4 (7,3%)	8 (14,5%)	22 (40%)	
<b>Componente T</b>						
T1	13 (23,6%)	2 (15,4%)	0 (0%)	2 (15,4%)	9 (69,2%)	
T2 e T3	27 (49,1%)	4 (14,8%)	4 (14,8%)	6 (22,2%)	13 (48,1%)	0,530
Não informado	15 (27,3%)					
Total	55 (100%)	6 (10,9%)	4 (7,3%)	8 (14,5%)	22 (40%)	

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

A tabela 9 mostra a associação entre a faixa de renda, tabagismo e o estadiamento TNM, onde se observa que pacientes com renda abaixo de 1 salário mínimo e com estadiamentos II e III foram mais predominantes entre os expostos ao fumo. Além disso, não tiveram invasão perineural 35,3% dos pacientes expostos ao tabaco e com renda menor ou igual a 1 salário mínimo, e esta associação teve significância estatística ( $p=0,047$ ).

**Tabela 9** – Associação entre tabagismo, estadiamento TNM, invasão perineural, HPV e faixa de renda de pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

Variável	Faixa de renda		Total	*valor de P
	Menor ou igual a 1 salário mínimo	Mais que 1 salário mínimo		
<b>Tabagismo e Estadiamento TNM</b>				
Não exposto ao tabaco e Estadiamento I	2 (5,7%)	0 (0,0%)	2 (5,7%)	0,487
Não exposto ao tabaco e Estadiamento II e III	6 (17,1%)	5 (14,3%)	11 (31,4%)	
Exposto ao tabaco e Estadiamento I	4 (11,4%)	0 (0,0%)	4 (11,4%)	0,254
Exposto ao tabaco e Estadiamento II e III	10 (28,6%)	8 (22,9%)	18 (51,4%)	
Total	22 (62,9%)	13 (37,1%)	35 (100,0%)	0,064
<b>Tabagismo e Invasão Perineural</b>				
Não exposto ao tabaco e Invasão não detectada	7 (20,6%)	3 (8,8%)	10 (29,4%)	0,510
Não exposto ao tabaco e Invasão Detectada	1 (2,9%)	2 (5,9%)	3 (8,8%)	
Exposto ao tabaco e Invasão não detectada	12 (35,3%)	4 (11,8%)	16 (47,1%)	<b>0,047**</b>
Exposto ao tabaco e Invasão detectada	1 (2,9%)	4 (11,8%)	5 (14,7%)	
Total	21 (61,8%)	13 (38,2%)	34 (100%)	<b>0,033**</b>
<b>Tabagismo e HPV</b>				
Não exposto ao tabaco e HPV Ausente	4 (8,3%)	1 (2,1%)	5 (10,4%)	0,314
Não exposto ao tabaco e HPV Presente	6 (12,5%)	7 (14,6%)	13 (27,1%)	
Exposto ao tabaco e HPV Ausente	6 (12,5%)	1 (2,1%)	7 (14,6%)	0,372
Exposto ao tabaco e HPV Presente	14 (29,2%)	9 (18,7%)	23 (47,9%)	
Total	30 (62,5%)	18 (37,5%)	48 (100%)	0,167
<b>Tabagismo e Risco oncogênico do HPV</b>				
Não exposto ao tabaco e HPV de Baixo Risco	2 (7,7%)	4 (15,4%)	6 (23,1%)	0,567

Não exposto ao tabaco e HPV de Alto Risco	3 (11,5%)	2 (7,7%)	5 (19,2%)	0,329
Exposto ao tabaco e HPV de Baixo Risco	3 (11,5%)	3 (11,5%)	6 (23,1%)	
Exposto ao tabaco e HPV de Alto Risco	7 (26,9%)	2 (7,7%)	9 (34,6%)	
<b>Total</b>	<b>15 (57,7%)</b>	<b>11 (42,3%)</b>	<b>26 (100%)</b>	

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher ou Qui-Quadrado.

\*\*  $p < 0,05$

Na tabela 10, observa-se que 81,8% dos pacientes relataram que não tiveram câncer prévio, poucos pacientes relataram casos de CP na família (9,1%), 83,6% tiveram lesão na glândula, e destes a maioria eram HPV positivos e relataram exposição ao tabaco (54,3%).

**Tabela 10** – Associação entre Câncer prévio, local de lesão e a detecção de HPV e exposição ao tabaco de 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

Variável	Total n (%)	HPV Ausente		HPV Presente		*Valor de p
		Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	
<b>Câncer Prévio</b>						
Não	45 (81,8%)	5 (11,1%)	6 (13,3%)	11 (24,4%)	23 (51,1%)	0,676
Sim	3 (5,5%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	
Não Informado	7 (12,7%)	-	-	-	-	
<b>Total</b>	<b>55 (100%)</b>	<b>5 (9,1%)</b>	<b>6 (11%)</b>	<b>13 (23,6%)</b>	<b>24 (43,6%)</b>	
<b>Relato de câncer de pênis na família</b>						
Não	1 (1,8%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0,086
Câncer de Pênis	5 (9,1%)	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	4 (80%)	

Outro tipo de Câncer	7 (12,7%)	2 (28,6%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (71,4%)	
Não Informado	42 (76,4%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	2 (3,6%)	1 (1,8%)	1 (1,8%)	9 (16,4%)	

#### Lesão na Glândula

Não	8 (14,6%)	0 (0%)	2 (25%)	4 (50%)	2 (25%)	0,120
Sim	46 (83,6%)	6 (13%)	6 (13%)	9 (19,6%)	25 (54,3%)	
Não Informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	6 (10,9%)	8 (14,6%)	13 (23,6%)	27 (49,1%)	

#### Lesão no Prepúcio

Não	47 (85,5%)	5 (10,6%)	8 (17%)	11 (23,4%)	23 (48,9%)	0,767
Sim	7 (12,7%)	1 (14,3%)	0 (0%)	2 (28,6%)	4 (57,1%)	
Não Informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	6 (10,9%)	8 (14,6%)	13 (23,6%)	27 (49,1%)	

#### Lesão na Haste do pênis

Não	49 (89,1%)	6 (12,2%)	6 (12,2%)	12 (24,5%)	25 (51%)	0,408
Sim	5 (9,1%)	0 (0%)	2 (40%)	1 (20%)	2 (40%)	
Não Informado	1 (1,8%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	6 (10,9%)	8 (14,6%)	13 (23,6%)	27 (49,1%)	

#### Número de regiões afetadas

Apenas uma	47 (85,5%)	4 (8,5%)	6 (12,8%)	13 (27,7%)	24 (51,1%)	0,143
Duas ou mais áreas	5 (9,1%)	1 (20%)	2 (40%)	0 (0%)	2 (40%)	
Não Informado	3 (5,4%)	-	-	-	-	

Total	55 (100%)	5 (9,1%)	8 (14,6%)	13 (23,6%)	26 (47,3%)
-------	--------------	----------	--------------	---------------	---------------

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

Quanto aos hábitos sexuais (tabela 11) a maioria dos pacientes tiveram a primeira relação sexual antes dos 18 anos (61,8%), mais de 10 parceiras sexuais (32,7%), e em 65,5% dos casos possuíam parceiro fixo. A maioria não era circuncisado (72,7%) e 83,7% admitiam usar camisinha às vezes durante a relação sexual.

**Tabela 11:** Associação entre a detecção de HPV e exposição ao tabaco, e variáveis referentes aos hábitos sexuais de 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

Variável	Total n (%)	HPV Ausente		HPV Presente		*Valor de p
		Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	
<b>Idade da 1ª relação sexual</b>						
Menor de 18 anos	34 (61,8%)	2 (5,9%)	5 (14,7%)	10 (29,4%)	17 (50%)	0,893
18 anos ou mais	7 (12,7%)	0 (0%)	1 (14,3%)	1 (14,3%)	5 (71,4%)	
Sem Informação	14 (25,5%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	2 (3,6%)	6 (10,9%)	11 (20%)	22 (40%)	
<b>Número de parceiras sexuais durante a vida</b>						
Até 10 parceiros	15 (27,3%)	1 (6,7%)	3 (20%)	5 (33,3%)	6 (40%)	0,768
Mais de 10 parceiros	18 (32,7%)	1 (5,6%)	2 (11,1%)	4 (22,2%)	11 (61,1%)	
Sem Informação	22 (40%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	2 (3,6%)	5 (9,1%)	9 (16,4%)	17 (30,9%)	
<b>Parceiros sexuais fixo</b>						

Não	12 (21,8%)	1 (8,3%)	1 (8,3%)	4 (33,3%)	6 (50%)	0,953
Sim	36 (65,5%)	3 (8,3%)	5 (13,9%)	9 (25%)	19 (52,8%)	
Sem Informação	7 (12,7%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	4 (7,3%)	6 (10,9%)	13 (23,6%)	25 (45,5%)	

#### **Circuncisão**

Não	40 (72,7%)	2 (5%)	6 (15%)	12 (30%)	20 (50%)	0,198
Sim	6 (10,9%)	2 (33,3%)	0 (0%)	1 (16,7%)	3 (50%)	
Sem informação	9 (16,4%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	4 (7,2%)	6 (10,9%)	13 (23,6%)	23 (41,8%)	

#### **Uso de Preservativo**

Sempre	2 (3,6%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	1 (50%)	>0,99
As vezes	46 (83,7%)	3 (6,5%)	6 (13%)	12 (26,1%)	25 (54,3%)	
Sem informação	7 (12,7%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	3 (5,5%)	6 (10,9%)	13 (23,6%)	26 (47,3%)	

#### **Prática de Sexo anal**

Não	36 (65,5%)	3 (8,3%)	4 (11,1%)	8 (22,2%)	21 (58,3%)	>0,99
Sim	8 (14,5%)	0 (0%)	1 (12,5%)	2 (25%)	5 (62,5%)	
Sem informação	11 (20%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	3 (5,5%)	5 (9,1%)	10 (18,1%)	26 (47,3%)	

#### **Higiene após a relação sexual**

Não	10 (18,2%)	1 (10%)	2 (20%)	1 (10%)	6 (60%)	0,429
Sim	35 (63,6%)	2 (5,7%)	4 (11,4%)	12 (34,3%)	17 (48,6%)	
Sem informação	10 (18,2%)	-	-	-	-	
Total	55 (100%)	3 (5,5%)	6 (10,9%)	13 (23,6%)	26 (47,3%)	

Total	55 (100%)	3 (5,5%)	6 (10,9%)	13 (23,6%)	23 (41,8%)	
<b>Relato de IST prévia</b>						
Não	26 (47,3%)	2 (7,7%)	2 (7,7%)	7 (26,9%)	15 (57,7%)	
Sim	18 (32,7%)	1 (5,6%)	4 (22,2%)	4 (22,2%)	9 (50%)	
Sem informação	11 (20%)	-	-	-	-	0,642
Total	55 (100%)	3 (5,5%)	6 (10,9%)	11 (20%)	24 (43,6%)	

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

Na tabela 12 abaixo, observa-se que ao associar fatores de hábitos de vida, como tabagismo e consumo de álcool, com o a classificação de grau de Broders que mostra o grau de diferenciação do tumor, observa-se que pacientes que fazem consumo de álcool, expostos ao tabaco e com HPV presente possuem grau I (57,9%), quer dizer, apresentam tumores bem diferenciados.

**Tabela 12** – Associação entre etilismo, tabagismo e HPV, classificação de grau de Broders de 39 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

Consumo de bebida alcoólica, Exposição ao tabaco e HPV	Grau/Broders		Total	*P valor
	Grau I	Grau II e III		
Não consome bebida alcoólica, Não Exposto ao tabaco e HPV Ausente	1 (50%)	1 (50%)	2 (5,1%)	
Não consome bebida alcoólica, Exposto ao tabaco e HPV ausente	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Não consome bebida alcoólica, Não Exposto ao tabaco e HPV presente	1 (25%)	3 (75%)	4 (10,3%)	>0,99
Não consome bebida alcoólica, Exposto ao tabaco e HPV presente	0 (0%)	1 (100%)	1 (2,6%)	
Consumiu bebida alcoólica, Não Exposto ao tabaco e HPV Ausente	1 (33,3%)	2 (66,7%)	3 (7,7%)	
Consumiu bebida alcoólica, Exposto e HPV ausente	4 (80%)	1 (20%)	5 (12,8%)	<b>0,041**</b>

Consumiu bebida alcoólica, Não Exposto ao tabaco e HPV presente	0 (0%)	5 (100%)	5 (12,8%)	
Consumiu bebida alcoólica, exposto ao tabaco e HPV presente	11 (57,9%)	8 (42,1%)	19 (48,7%)	
<b>Total</b>	<b>18 (46,2%)</b>	<b>21 (53,8%)</b>	<b>39 (100%)</b>	<b>0,058</b>

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

\*\*  $p < 0,05$

Dos 55 pacientes que participaram da pesquisa, 10,9% tiveram metástase (dados na tabela 13), e em metade destes casos o paciente teve tanto exposição ao tabaco quanto ao vírus HPV.

**Tabela 13** – Associação entre a detecção de HPV e exposição ao tabaco, e variável Metástase dos 55 pacientes diagnosticados com câncer de pênis no Estado do Maranhão em 2017/2018.

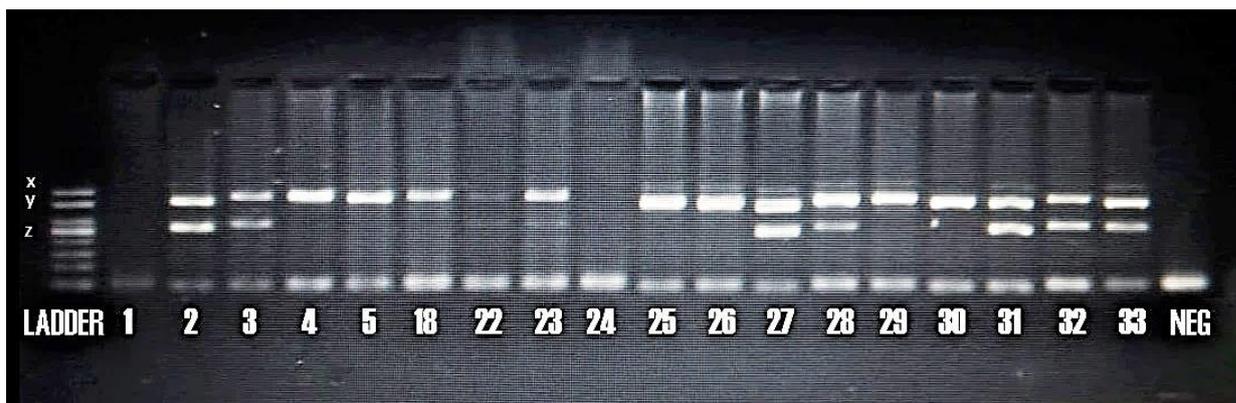
Variável	Total n (%)	HPV Ausente		HPV Presente	
		Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)	Não exposto ao Tabaco n (%)	Exposto ao Tabaco n (%)
<b>Metástase</b>	6 (10,9%)	0 (0%)	1 (16,3%)	2 (33,3%)	3 (50%)
<b>Sem informação sobre metástase</b>	49 (89,1%)	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>55 (100%)</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>1 (1,8%)</b>	<b>2 (3,6%)</b>	<b>3 (5,5%)</b>

Outro fator que pode tornar os tumores mais invasivos é a deleção em genótipos *GSTT1* e *GSTM1*, pois esta deleção no paciente pode tornar mais difícil detoxificação celular. Os genes *GSTT1* e o *GSTM1* foram evidenciados quanto em deleção, quer dizer homozigoto nulo (-/-), quando não observado à amplificação nas bandas 215bp e 480bp respectivamente. E quando os genes estavam presentes (+), a técnica empregada não distinguia entre genótipos homozigóticos (+/+) e heterozigóticos (+/-), por isso nas representações abaixo quando for tratado de genótipo +, estará sendo tratado de ambas as formas, inespecificamente.

O produto da PCR para os genes pode ser visto na figura 8 abaixo. Por

exemplo o paciente de número 27 apresentou as 3 bandas, a primeira de 215bp pertencente ao gene *GSTM1*, a segunda de 315bp *ALBUMINA* e a última *GSTT1* de 480bp. Para que a amostra seja considerada viável, quer dizer que a reação da PCR tenha sido efetiva a banda da albumina (315bp) deve aparecer na leitura.

**Figura 8** – Produto da PCR em gel de agarose 2,5% com as bandas de detecção para *GSTT1* (X), *ALBUMINA* (Y) e *GSTM1* (Z).



Legenda: Bandas formadas no gel de agarose, na primeira coluna à esquerda encontra-se o Ladder, um padrão de bandas de 50bp, em seguida os produtos das PCRs de alguns pacientes selecionados e a última coluna (à direita) o negativo. Fonte: Próprio autor

Os genes *GSTT1* e o *GSTM1* foram evidenciados quando em deleção, quer dizer homocigoto nulo, quando ao observar a amplificação nas bandas 215bp e 480bp respectivamente, foi observada ausência da banda de amplificação. E quando os genes estavam presentes, quer dizer como homocigoto ou heterocigoto, era observado a presença da banda. A presença da banda de albumina demonstrou que a PCR funcionou.

Quando observamos a associação deste fator com a exposição ao tabaco (tabela 14), a maioria dos pacientes mantém o gene para *GSTM1*(+) 56,3%. Porém ao observar os pacientes que apresentaram deleção (- / -), vê-se que 57,9% destes eram pacientes fumantes ou ex-fumantes. E para o gene *GSTT1*, verificou-se que 78,1% dos pacientes possuíam o gene.

Ao associar com a exposição ao álcool, temos que para ambos os genes a presença foi mais preponderante, para o *GSTM1*(+) 54,8% e *GSTT1*(+) 77,4%. No entanto, quando observamos a deleção, tanto para *GSTM1*(- / -) e *GSTT1* (- / -) os pacientes expostos ao álcool são maioria, 42,9% e 21,4%, respectivamente.

**Tabela 14** – Associação entre os genótipos de GSTM1 e GSTT1 em pacientes com CA de pênis e tabagismo e etilismo.

Variável	Fumante ou Ex-fumante	Não Fumante	Total	P valor	Atual ou Ex-Etilista	Não Etilista	Total	P valor
<b>GSTM1 +</b>	8 (42,1%)	10 (76,9%)	18 (56,3%)	0,075	16 (57,1%)	1 (33,3%)	17 (54,8%)	0,576
<b>GSTM1 (-/-)</b>	11 (57,9%)	3 (23,1%)	14 (43,7%)		12 (42,9%)	2 (66,7%)	14 (45,2%)	
<b>TOTAL</b>	19 (59,4%)	13 (40,6%)	32 (100%)		28 (90,3%)	3 (9,7%)	31 (100%)	
<b>GSTT1 +</b>	16 (84,2%)	9 (69,2%)	25 (78,1%)	0,401	22 (78,6%)	2 (66,7%)	24 (77,4%)	0,550
<b>GSTT1 (-/-)</b>	3 (15,8%)	4 (30,8%)	7 (21,9%)		6 (21,4%)	1 (33,3%)	7 (22,6%)	
<b>TOTAL</b>	19 (59,4%)	13 (40,6%)	32 (100%)		28 (90,3%)	3 (9,7%)	31 (100%)	

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

A combinação entre os dois genótipos pode ser observada na tabela 15 abaixo, e ambos os genes em deleção estariam associados a maior dificuldade destes pacientes em detoxificar a célula de substâncias genotóxicas como os presentes no tabaco. Ao associar essa combinação dos genes ao tabagismo, observou-se que a maioria dos pacientes do estudo (43,8%), apresentavam os dois genes presentes, quer dizer *GSTT1+* e *GSTM1+*, e em dupla deleção em apenas 9,4% dos pacientes.

No entanto, ao observar a tabela, ainda se pode notar que a maioria dos pacientes (56,2%) apresentam deleção em algum dos genes, *GSTT1* ou *GSTM1*, além disso a maioria destes são compostos por ex-fumantes ou fumantes (63,2%).

**Tabela 15** – Associação entre as combinações de Genótipos de *GSTM1* e *GSTT1* em 32 pacientes com CA de pênis e tabagismo.

GENE	Fumante ou Ex-fumante	Não Fumante	Total	P valor*
<i>GSTT1</i> (-/-)	2 (10,5%)	1 (7,7%)	3 (9,4%)	0,194
<i>GSTM1</i> (-/-)				

<i>GSTT1 +</i> <i>GSTM1 (-/-)</i>	9 (47,4%)	2 (15,4%)	11 (34,3%)
<i>GSTT1 (-/-)</i> <i>GSTM1 +</i>	1 (5,3%)	3 (23,1%)	4 (12,5%)
<i>GSTT1 +</i> <i>GSTM1 +</i>	7 (36,8%)	7 (53,8%)	14 (43,8%)
<b>Total</b>	19 (59,4%)	13 (40,6%)	32 (100%)

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

Além de observar os genes associados aos hábitos de vida, foi possível verificar associação deles com outras variáveis, demonstrado na tabela 16. Quando observamos quanto a característica da lesão, a maioria dos pacientes possuíam lesão do tipo ulcerada, e tinham a presença dos genes *GSTT1* (91,7%) e *GSTM1* (66,7%). Quanto ao estadiamento TNM, dos pacientes em estadiamento II e III, foi visto que a maioria (87,5%) tinham a presença do gene *GSTT1* e 12,5% apresentavam este em deleção (p=0,031).

**Tabela 16** – Associação entre genótipos de *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CA de pênis e variáveis características da lesão, estadiamento TNM e HPV.

		<i>GSTT1</i>			<i>GSTM1</i>			P valor*
		Nulo (-/-)	+	Total	Nulo (-/-)	+	Total	
<b>Ulcerada</b>	Ausente	3 (50%)	3 (50%)	6 (33,3%)	1 (16,7%)	5 (83,3%)	6 (33,3%)	0,083  0,615
	Presente	1 (8,3%)	11 (91,7%)	12 (66,7%)	4 (33,3%)	8 (66,7%)	12 (66,7%)	
	<b>Total</b>	4 (22,2%)	14 (77,8%)	18 (100%)	5 (27,8%)	13 (72,2%)	18 (100%)	
<b>Verrucosa</b>	Ausente	3 (17,6%)	14 (82,4%)	17 (94,4%)	5 (29,4%)	12 (70,6%)	17 (94,4%)	0,222  >0,99
	Presente	1 (100%)	0 (0%)	1 (5,6%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (5,6%)	
	<b>Total</b>	4	14	18	5	13	18	

		(22,2%)	(77,8%)	(100%)		(27,8%)	(72,2%)	(100%)	
<b>Estadiamento de TNM</b>	I	2 (100%)	0 (0%)	2 (7,7%)	<b>0,031</b>	0 (0%)	2 (100%)	2 (7,7%)	0,483
	II e III	3 (12,5%)	21 (87,5%)	24 (92,3%)	**	12 (50%)	12 (50%)	24 (92,3%)	
<b>Total</b>		5 (19,2%)	21 (80,8%)	26 (100%)		12 (46,2%)	14 (53,8%)	26 (100%)	
<b>HPV</b>	Negativo	1 (12,5%)	7 (87,5%)	8 (25%)	0,646	3 (37,5%)	5 (62,5%)	8 (25%)	>0,99
	Positivo	6 (25%)	18 (75%)	24 (75%)		11 (45,8%)	13 (54,2%)	24 (75%)	
<b>Total</b>		7 (21,9%)	25 (78,1%)	32 (100%)		14 (43,8%)	18 (56,3%)	32 (100%)	
<b>HPV Subtipo</b>	HPV 11	2 (20%)	8 (80%)	10 (50%)	0,169	4 (40%)	6 (60%)	10 (50%)	0,257
	HPV16	2 (28,6%)	5 (71,4%)	7 (35%)		5 (71,4%)	2 (28,6%)	7 (35%)	
	HPV18	2 (100%)	0 (0%)	2 (10%)		0 (0%)	2 (100%)	2 (10%)	
	HPV45	0 (0%)	1 (100%)	1 (5%)		0 (0%)	1 (100%)	1 (5%)	
<b>Total</b>	6 (30%)	14 (70%)	20 (100%)		9 (45%)	11 (55%)	20 (100%)		

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

\*\*  $p < 0,05$

Diante disto, para entender melhor o encontrado na tabela anterior sobre o estadiamento, realizou-se a combinação dos genes e observou-se as variáveis expostas anteriormente. A maioria dos pacientes possuíam estadiamento II e III apresentaram alguma deleção nos genes *GSTM1* e *GSTT1* (54,2%), com p estatisticamente significativo ( $p=0,012$ ) (tabela 17).

**Tabela 17** – Associação entre as combinações de genótipos de *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CA de pênis e variáveis características da lesão e estadiamento TNM.

		<i>GSTT1</i> (-/-)	<i>GSTT1</i> +	<i>GSTT1</i> (-/-)	<i>GSTT1</i> +	Total	*P valor
		<i>GSTM1</i> (-/-)	<i>GSTM1</i> (-/-)	<i>GSTM1</i> +	<i>GSTM1</i> +		
Ulcerada	Ausente	0 (0%)	1 (16,7%)	3 (50%)	2 (33,3%)	6 (33,3%)	0,062
	Presente	1 (8,3%)	3 (25%)	0 (0%)	8 (66,7%)	12 (66,7%)	
Total		1 (5,6%)	4 (22,2%)	3 (16,7%)	10 (55,6%)	18 (100%)	
Verrucosa	Ausente	1 (5,9%)	4 (23,5%)	2 (11,8%)	10 (58,8%)	17 (94,4%)	0,222
	Presente	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	1 (5,6%)	
Total		1 (5,6%)	4 (22,2%)	3 (16,7%)	10 (55,6%)	18 (100%)	
Estadiamento de TNM	I	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (7,7%)	<b>0,012**</b>
	II e III	2 (8,3%)	10 (41,7%)	1 (4,2%)	11 (45,8%)	24 (92,3%)	
Total		2 (7,7%)	10 (38,5%)	3 (11,5%)	11 (42,3%)	26 (100%)	

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher.

\*\*  $p < 0,05$

Na tabela 18 observa-se os genes do estudo e sua associação ao tabagismo e ao HPV, 49,9% dos pacientes eram fumantes ou ex-fumantes e tinha o vírus HPV, dentre eles era predominante (80%) pacientes que tinham o *GSTT1* presente, e para o *GSTM1* a maioria apresentou deleção deste gene (60%).

Quanto ao risco oncogênico do HPV, a maioria dos pacientes foram expostos ao tabaco e possuem HPV de alto risco, a maioria possuem o gene *GSTT1* presente (57,1%) e em deleção para o *GSTM1* (71,4%).

**Tabela 18** – Associação entre genótipos de *GSTM1* e *GSTT1* em pacientes com CA de pênis e variáveis tabagismo e relacionadas ao HPV.

Variáveis	<i>GSTT1</i>		*Valor de p	<i>GSTM1</i>		Total	*Valor de P
	Nulo (- / -)	+		Nulo (- / -)	+		
<b>Tabagismo e HPV</b>							
Não exposto ao tabaco e HPV Ausente	1 (25%)	3 (75%)		1 (25%)	3 (75%)	4 (12,5%)	
Não exposto ao tabaco e HPV Presente	3 (33,3%)	6 (66,7%)	>0,99	2 (22,2%)	7 (77,8%)	9 (25,1%)	>0,99
Exposto ao tabaco e HPV Ausente	0 (0%)	4 (100%)		2 (50%)	2 (50%)	4 (12,5%)	
Exposto ao tabaco e HPV Presente	3 (20%)	12 (80%)	>0,99	9 (60%)	6 (40%)	15 (49,9%)	>0,99
<b>Total</b>	<b>7 (21,9%)</b>	<b>25 (78,1%)</b>	<b>0,646</b>	<b>14 (43,8%)</b>	<b>18 (56,2%)</b>	<b>32 (100%)</b>	<b>&gt;0,99</b>
<b>Tabagismo e Risco oncogênico do HPV</b>							
Não Exposto ao tabaco e HPV de Baixo Risco	2 (33,3%)	4 (66,7%)		2 (33,3%)	4 (66,7%)	6 (30%)	
Não Exposto ao tabaco e HPV de Alto Risco	1 (33,3%)	2 (66,7%)	>0,99	0 (0%)	3 (100%)	3 (15%)	0,500
Exposto ao tabaco e HPV de Baixo Risco	0 (0%)	4 (100%)		2 (50%)	2 (50%)	4 (20%)	
Exposto ao tabaco e HPV de Alto Risco	3 (42,9%)	4 (57,1%)	0,236	5 (71,4%)	2 (28,6%)	7 (35%)	0,576
<b>Total</b>	<b>6 (30%)</b>	<b>14 (70%)</b>	<b>0,628</b>	<b>9 (45%)</b>	<b>11 (55%)</b>	<b>20 (100%)</b>	<b>&gt;0,99</b>

\* Valor de probabilidade calculado através de teste de Exato de Fisher ou Qui-Quadrado.

## 6 DISCUSSÃO

Os pacientes da pesquisa por sua maioria residem no interior do Maranhão, como visto na figura 7, e se deslocam para a capital em busca de tratamento por falta de centros especializados mais próximos. Segundo dados do INCA (2019), o Maranhão possui centros especializados em oncologia em São Luís e em Imperatriz. Por essa distribuição, podemos observar que a maioria dos pacientes da pesquisa são das regiões norte e central do Maranhão, pois são regiões próximas a capital, São Luís. Os pacientes da região centro-sul são geralmente encaminhados para o centro especializado de Imperatriz. Por essa polarização dos centros de oncologia no estado do Maranhão, observamos dificuldades de acesso por parte dos pacientes do interior do estado, pois há a necessidade de deslocamento por parte deles. Segundo CHAUX et al. (2010a) essa dificuldade de acesso retarda o diagnóstico, por consequência há uma variação dos estágios clínicos em que a doença é diagnosticada, e quanto mais cedo esse diagnóstico ocorre, menos drástico o tratamento e melhor o prognóstico para o paciente.

Os dados mostram que a maioria dos pacientes com CP com faixa etária entre 50 – 70 anos, entretanto não é uma doença exclusiva de idosos, e pode atingir pacientes em qualquer idade (FAVORITO et al., 2008; SICHERO; GIULIANO; VILLA, 2019). O aumento no aparecimento de cânceres em sexagenários pode estar relacionado ao envelhecimento celular, pois bases oxidativas podem se acumular junto ao DNA, causando danos, e isto foi observado em alguns tipos de cânceres, porém não há relação comprovada estatisticamente, podendo este ser um evento secundário na tumorigênese (GEHM, 2013).

No levantamento realizado pelo estudo, observou-se predomínio de participantes de cor não branca, com parceiro fixo, que relatam ganhar até um salário mínimo. Possuem baixo grau de instrução, pois parte dos pacientes é analfabeta ou não terminou o ensino fundamental. Dados semelhantes a estes foram encontrados sobre a população maranhense no estudo realizado por COELHO et al. (2018). Baixas condições econômicas assim como o baixo nível educacional, está associado ao aumento no risco de desenvolvimento de CP (DOUGLAWI; MASTERSON, 2019; TORBRAND et al., 2017). Porém, no atual estudo, ao associar estas duas variáveis, estadiamento TNM e escolaridade, não se observou associação estatística relevante.

Além disso, KRISTIANSEN et al. (2019), mostra que o baixo nível educacional associado com a baixa renda podem estar relacionados com o aumento do risco de invasibilidade do tumor peniano, e é possível observar situação semelhante nas amostras do presente estudo, pois 61,8% dos pacientes possuem tumores mais invasivos, em estadiamento TNM II e III.

Quanto aos hábitos de vida, a maioria dos pacientes do estudo era composta de fumante ou ex-fumante, e o fumo é descrito como um fator de risco para o desenvolvimento de câncer independente de outros fatores, como a fimose, e pacientes que não fumam tem risco menor de desenvolver câncer de pênis comparado a fumantes (GOTTLIEB et al., 2016). Este risco não pôde ser avaliado no presente trabalho devido à falta de um grupo controle no estudo, composto por participantes que não tiveram câncer de pênis e com relato de hábitos tabágicos.

Além disto, ao associar a renda familiar, tabagismo e invasão perineural observou-se que na maioria dos pacientes não foi detectada invasão, e estes eram fumantes e ex-fumantes e apresentavam renda familiar menor que um salário mínimo, e esta associação houve diferença estatisticamente significativa,  $p=0,047$  ( $p<0,05$ ). A combinação de invasão perineural e a graduação histológica são fatores preditivos para metástase nodal em pacientes (COELHO et al., 2018; VELAZQUEZ et al., 2008). Há uma tendência a encontrar tumores com estadiamentos mais avançados (II e III), porém sem invasão perineural, isto diminui a probabilidade de metástase nodal como visto na tabela 12 com a frequência de metástases.

É provável que os pacientes tenham chances diminuídas de reincidência e uma sobrevida aumentada, mas para confirmarmos tal situação se faz importante um acompanhamento e estudos mais aprofundados da sobrevida destes pacientes.

Ainda sobre hábitos de vida relatados pelos pacientes da pesquisa, 81,8% afirmaram beber e, houve diferença estatística significativa ( $p=0,016$ ) na associação entre o hábito de fumar, beber, a presença ou ausência de HPV e o câncer de pênis. Dentre os pacientes que afirmavam ingerir bebidas alcoólicas, em 57,8% dos casos o paciente teve contato com o tabaco (era fumante ou já havia fumado) e o HPV estava presente. Isso pode mostrar que estes pacientes têm uma maior predisposição ao desenvolvimento de câncer de pênis. O álcool e o tabaco são fatores de risco devido à genotoxicidade e ao efeito mutagênico, logo pacientes que fazem o uso de álcool e tabaco tem maior risco de apresentar efeitos sinérgicos, por exemplo, para cânceres

orais isto ocorre em 90% dos casos (MATEJCIC; GUNTER; FERRARI, 2017; RIVERA, 2015).

O tabagismo pode induzir a carcinogênese química pois ocorre um aumento nos níveis de adutos de DNA. O álcool, por sua vez, atua em sinergia com o cigarro, pode suprimir a remoção das nitrosaminas ao inibir nas várias isoformas da superfamília do citocromo P450 (CYPs), enzimas envolvidas no processo de detoxificação celular, aumentando a formação dos adutos (LEME et al., 2010; MOORE et al., 2001).

Segundo MOORE et al. (2001), as células afetadas pelo contato com componentes do cigarro, como hidrocarboneto policíclico aromático benzeno-pireno, demonstraram aumento de adutos de DNA, aumento da proliferação celular e diminuição da diferenciação terminal. Além disso, em situações onde as células já haviam sido imortalizadas devido a infecção por HPV a proliferação corresponde inversamente ao nível de p53 presente na célula, assim nas células infectadas pelo HPV a expressão é diminuída de p53, principalmente em HPV de alto risco.

Dessa forma, pacientes que conjuntamente apresentam contato com cigarro, álcool e infecção por HPV podem sofrer dos efeitos cancerígenos diretos e mecanismos prejudicados de regulação do ciclo celular e de reparo do DNA contribuindo para o desenvolvimento de malignidade (MOORE et al., 2001).

Outro fator que pode influenciar no desenvolvimento do CP é a infecção por HPV, na pesquisa o vírus está presente em 74,5% das amostras (tabela 4), e isso está em consonância com a pesquisa do COELHO et al. (2018), que também encontrou o DNA do HPV, através da técnica de PCR, em 66,9% das suas amostras em um estudo realizado no Maranhão. Porcentagem semelhante também foi encontrada em estudo realizado no Rio de Janeiro por SCHEINER et al., (2008), através da mesma técnica, onde 72% dos espécimes foram positivos.

Dentre os subtipos mais encontrados, um resultado já esperado era o da presença do HPV 16 e 18 entre as amostras, respectivamente 64,7% e 11,8% dentre os de alto risco. Na literatura estão amplamente relacionados ao desenvolvimento de cânceres (SICHERO; GIULIANO; VILLA, 2019). E como no trabalho de SCHEINER et al., (2008), na maioria dos pacientes foi detectado HPV-16.

Apesar de HPVs de baixo risco não estarem relacionados ao desenvolvimento de cânceres, devido a sua associação com proliferações benignas,

na literatura, é possível encontrar algumas malignidades geradas por este tipo de HPV, como por exemplo o HPV- 6 em carcinomas vaginais, vulvares e de pênis (SICHERO; GIULIANO; VILLA, 2019). Os HPVs de baixo risco como os de subtipo 6 e 11 são mais detectados em cânceres de pênis que em outros tipos de câncer, e podem estar ligados a lesões invasivas (ALEMANY et al., 2016). Na tabela 7, foi observado que entre os HPV de baixo risco (29,3% dos HPVs detectados), o HPV-11 possui frequência de 91,7% e o HPV-6 8,3%, são subtipos esperados para o CP, porém não apresentaram associação estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ) com outro fator de risco para o desenvolvimento de câncer, à exposição ao tabaco.

Ao associarmos o HPV e informações sobre tabagismos com as características da lesão, a ulcerada foi a mais presente, em 36,4% dos casos, e destes 55% eram de pacientes com o vírus presente e expostos ao tabaco, porém não houve significância estatística ( $p<0,05$ ). Esse tipo de lesão é comum no tipo histológico usual (CHAUX et al., 2010b), que foi o mais frequente nas amostras do estudo (36,4%).

A invasão vascular, comprometimento ganglionar e tumores mal diferenciados são considerados indicadores de mau prognóstico no câncer do pênis (SLATON et al., 2001; WANICK et al., 2011). Observando o estadiamento tumoral na classificação grau de Broders (na tabela 8), observa-se que a maioria dos tumores (36,3%) estão em grau II e III pertencentes a pacientes que tiveram exposição ao tabaco e com HPV presente, demonstrando tumores moderadamente diferenciados. Apesar dos dados estarem de acordo com as informações encontradas na literatura, não houve significância estatística ( $p>0,05$ ). Além disso, é importante destacar que vários pacientes tinham lacunas de informações nos laudos e prontuários, mostrando uma subnotificação, o que pode dificultar o acompanhamento do estado do paciente durante sua internação e, posteriormente, no seu retorno para acompanhamento.

Ao refinar esta informação e associar com a exposição álcool (tabela 12), continuamos a observar que 53,8% dos tumores são grau II e III, porém 57,9% dos expostos ao álcool, tabaco e HPV presente são Grau I, bem diferenciados, foi possível observar uma significância estatística ( $p=0,041$ ). Isto sugere que, pacientes que possuem câncer de pênis tendem a ter uma maior diferenciação das células tumorais (grau I) quando possuem o HPV e em associação exposição ao tabaco e ao álcool. Como no estudo de SOUSA et al. (2015), a maioria dos tumores penianos se encontravam moderadamente diferenciados. Porém em um outro trabalho de uma

população de São Paulo, foi visto que a maioria dos tumores era bem diferenciados (AITA et al., 2016), em ambos os trabalhos não foi realizada relação com o consumo de tabaco.

O câncer de pênis pode surgir devido a suscetibilidade genética, apesar de que raramente casos de câncer se apresentam exclusivamente por uma herança familiar, usualmente cofatores ambientais estão envolvidos (ZHANG et al., 2019). Alguns pacientes relataram já ter tido casos de CP na família (9,1%), e destes 80% haviam tido exposição ao tabaco e presença do vírus HPV, não houve relevância estatística, pois o  $p=0,086$  (tabela 10).

A partir disto, é importante entender se existiriam fatores genéticos que influenciariam na propensão a desenvolvimento de cânceres, principalmente fatores relacionados ao tabagismo. Para tal, se propôs investigar o *GSTT1* e *GSTM1*, que são genes importantes do sistema GST que realizam a desintoxicação celular de substância nocivas exógenas e endógenas, por exemplo EROs (ALLOCATI et al., 2018).

Por tanto, aborda-se a hipótese de que genótipos nulos dos genes GSTs aumentariam ao risco de câncer pela diminuição da desintoxicação de carcinógenos, mas isto também aumentaria o sucesso terapêutico pelo retardo na eliminação de substâncias quimioterápicas.

Na tabela 14, associando esses genótipos a variáveis de hábitos de vida como consumo de tabaco e álcool observou-se que 56,3% dos pacientes tinham *GSTM1* presente e 78,1% *GSTT1* presente. Porém, para o *GSTM1*, a maioria dos pacientes expostos ao tabaco (57,9%) apresentavam deleção no gene, não houve significância estatística ( $p=0,075$ ). Quanto ao etilismo a maioria dos pacientes tiveram ambos os genes presentes, e não apresentaram resultado estatístico significativo.

Apesar do *GSTM1* estar presente na população, ao observarmos pacientes que apresentam a deleção, a maior parte era composta por fumantes ou ex-fumantes. Esse dado sugere que a deleção no gene representaria um aumento no risco de desenvolvimento de CP, devido a redução do gene expresso quando na ocorrência do polimorfismo de deleção. Diante disso, o *GSTM1* mRNA não estaria disponível para tradução da proteína, e a redução dos níveis da proteína de *GSTM1* dificultaria a desintoxicação celular de carcinógenos do tabaco por esta via (KRÜGER et al., 2015). O *GSTT1* não apresentou diferença quando em deleção, sugerindo que não contribui

como um risco no desenvolvimento, semelhante ao encontrado no trabalho de câncer de próstata de BENABDELKRIM; DJEFFAL; BERREDJEM, (2018).

No entanto, é importante destacar que a metodologia empregada no estudo não é suficiente para confirmar esta hipótese, pois para mais esclarecimentos sobre essa suscetibilidade seria necessário comparar os pacientes com CP com um grupo controle sem o câncer.

Ao observar o estadiamento TNM (tabela 16), 87,5% dos pacientes em estadiamento II e III apresentaram *GSTT1+*, e 12,5% dos pacientes deleção, esta relação exibiu significância estatística ( $p=0,031$ ). Segundo ANANTHARAMAN et al. (2007), em casos de câncer oral observou que *GSTT1* em deleção se apresenta como um fator protetivo para lesões pré-cancerosas e o desenvolvimento de câncer. Os resultados encontrados podem refletir este efeito protetivo. Em pacientes com genótipo nulo, porém, por termos poucos participantes com estadiamento I, isto enfraquece o poder estatístico desta informação, sendo importante a realização de estudos futuros com o aumento do número de participantes para melhor esclarecimento.

É importante entender sobre o efeito da combinação dos genes, pois poucos estudos analisam esta interação, e em algumas combinações de genótipos podemos ter um risco aumentando de câncer por atuar em sinergismo (ANANTHARAMAN et al., 2007). Na tabela 17, realizamos esta análise, observando a combinação do *GSTT1* e *GSTM1*. Foi possível observar que o *GSTT1+* e *GSTM1+* foram mais observados entre os pacientes em estadiamento II e III (45,8%). Dentre as combinações de genótipo que apresentaram alguma deleção a *GSTT1+* e *GSTM1*nulo foi mais presente entre pacientes com estadiamento TNM II e III (41,7%). Porém, pacientes que apresentaram *GSTT1*nulo e *GSTM1+* foram os menos presentes (4,2%). Além disto, ao observar a soma das porcentagens dos que apresentaram alguma deleção no gene conseguimos detectar que são maioria entre os estadiamentos TNM II e III (somando as porcentagens 54,2%).

Segundo estudo de ANANTHARAMAN et al. (2007), um maior efeito protetor foi visto entre paciente que apresentavam a combinação genica *GSTT1*nulo e *GSTM1+* para câncer oral, sugere-se que efeito semelhante também pode ser visto no trabalho ao apresentar uma porcentagem baixa a esta combinação, junto a um  $p$  estatisticamente significativo ( $p=0,012$ ). Apesar de parte dos estudos trazerem o

GSTT1 como um fator de aumento no risco no desenvolvimento de cânceres diversos, podemos observar que nesse estudo, tivemos concordância com o que foi encontrado no trabalho, ele poderia oferecer um fator protetivo, principalmente quando nesta combinação. Resultado similar foi encontrado por D'MELLO et al., (2016), também em câncer oral, e neste reforça que estes resultados foram estatísticos quando relacionado ao tabaco mastigado.

A isto podemos relacionar as N-nitrosaminas do tabaco, por exemplo *N*-Nitrosadietilamina, que podem ser encontradas em glândulas sebáceas e outros contaminantes na urina. O acúmulo destes agentes abaixo do prepúcio pode explicar o aparecimento de lesões, e isto ocorre mesmo sem a relação direta com a fumaça do tabaco. Logo, a circuncisão também funciona como medida protetiva neste caso (BRITTERBO; LOFBERG; TJALVE, 1980; PROTZEL; SPIESS, 2013).

Baseado nesta toxicidade, estudos experimentais têm sido realizados através de modelo com ratos transgênicos K14-HPV16, animais que possuem HPV-16. Esses animais são expostos à toxina do tabaco, *N*-butil-*N*-(4-hidroxibutil)-nitrosamina (BBN), para que seja possível estudar o possível impacto do tabaco na carcinogênese peniana, e a sua interação com o HPV (OLIVEIRA et al., 2018).

Em câncer de próstata, podemos observar também que genótipo de deleção em *GSTM1* aumentava a suscetibilidade a este câncer, porém a mesma relação não foi encontrada com a deleção em *GSTT1* (BENABDELKRIM; DJEFFAL; BERREDJEM, 2018). Da mesma forma, a dupla deleção (*deep deletion*) ou isoladamente foram relacionados com o aumento do risco de desenvolvimento de câncer de bexiga (YU et al., 2017a).

Quanto ao vírus HPV (na tabela 18), não foi encontrado nenhuma associação estatisticamente significativa entre o papilomavirus e a expressão gênica dos *GSTs*, e igualmente não vista quando acrescentada a associação ao tabaco. Poucos estudos abordam a relação HPV, tabagismo e *GSTs*, porém PALMA et al. (2010) encontrou risco aumentado de lesões de câncer cervical quando diante da deleção dos genes *GSTT1* e *GSTM1*, e combinados a fatores como hábitos tabágicos e infecção por HPV.

A metodologia utilizada é qualitativa, detectando somente presença ou deleção, não há evidência se a presença do gene corresponde a homozigose ou heterozigose, se isso influenciaria na síntese e atividade da proteína, e nem se o gene

está funcional. Outras metodologias como imunohistoquímica ou PCR quantitativa são necessárias para maior aprofundamento da questão.

Nenhum dado na literatura foi encontrado relacionando as deleções dos genes *GSTT1* e *GSTM1* ao câncer de pênis, portanto mais trabalhos são necessários para trazer mais clareza aos dados encontrados no estudo.

## 7 CONCLUSÃO

O perfil dos pacientes com câncer de pênis é de homens acima de 60 anos de idade, procedentes do interior do maranhão, de baixa escolaridade, baixa renda, de fumantes e ex-fumantes, e que possuíam o vírus HPV presente. A maioria dos participantes da pesquisa possuíam lesão ulcerada, tipo histológico epidermóide e subtipo usual. Quanto ao estadiamento TNM observou-se um predomínio de estágio tumoral mais avançado, II e III.

A dificuldade de acesso a serviços de saúde especializados, bem como problemas socioeconômicos podem dificultar o diagnóstico precoce, porém fatores como a presença do HPV e alguns hábitos de vida danosos como fumar cigarro e beber bebidas alcoólicas podem aumentar a predisposição ao desenvolvimento de carcinoma peniano, com tumores bem diferenciados.

Foi observado uma alta prevalência de infecção por HPV entre as amostras de carcinoma peniano, e dentre eles, os HPVs de alto risco oncogênico como o de subtipo 16 predominaram. Além disso, pacientes que apresentavam em associação o vírus HPV e a exposição ao tabaco apresentavam estadiamentos tumorais mais avançados, estadiamento TNM em estágio II e III. Apesar de não apresentar significância estatística na associação ao tabagismo, o resultado reforça dados na literatura de que o HPV é um fator de risco para o desenvolvimento de câncer de pênis.

Para entender se existe uma predisposição do paciente a lesões no DNA por dificuldades na desintoxicação celular quando diante de agentes genotóxicos, como os contidos no tabaco, ou de substâncias geradas pelo estresse oxidativo, observou-se que pacientes com deleção do gene *GSTM1* são mais frequentes quando expostos ao tabaco e isto pode estar associado a um aumento no risco no desenvolvimento deste câncer. Os pacientes que apresentam alguma deleção, principalmente a combinação *GSTT1nulo/GSTM1+* apresentam em menor frequência em estadiamentos TNM II e III, sugerindo que esta combinação possa estar associada a uma proteção ao desenvolvimento de câncer. Não foi encontrada relação estatisticamente significativa da associação do gene ao papilomavirus.

Assim, o tabagismo pode não apenas estar associado ao câncer de pênis, mas também exercer influência no estadiamento tumoral em pacientes que em

conjunto apresentam o vírus HPV. A prevenção do câncer peniano pode estar relacionada à cessação do tabágica em pacientes infectados pelo HPV, essa associação deve receber atenção por parte do profissional de saúde para fins de diagnósticos, prognósticos e terapêuticos. Maiores estudos devem ser realizados para estreitar ainda mais esta associação, bem como, melhorar o entendimento sobre os mecanismos de interferência do tabagismo na progressão tumoral e a influência deste conjunto de genes GSTT1 e GSTM1 no comportamento tumoral.

## REFERÊNCIAS

- A. SHARMA, A. MISHRA, B.C.DAS, S. SARDANA, J. K. S. Genetic polymorphism at GSTM1 and GSTT1 gene loci and susceptibility to oral cancer. **Neoplasma**, v. 53, n. 4, p. 803–807, 2006.
- AITA, G. A. et al. Tumor histologic grade is the most important prognostic factor in patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes not submitted to regional lymphadenectomy. **International Braz J Urol**, v. 42, n. 6, p. 1136–1143, 2016.
- ALEMANY, L. et al. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. **European Urology**, v. 69, n. 5, p. 953–961, 2016.
- ALLOCATI, N. et al. Glutathione transferases: Substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. **Oncogenesis**, v. 7, n. 1, 2018.
- ALSAAD, A. M. et al. Genotoxic impact of long-term cigarette and waterpipe smoking on DNA damage and oxidative stress in healthy subjects. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, n. 2, p. 119–127, 2019.
- ANANTHARAMAN, D. et al. Susceptibility to oral cancer by genetic polymorphisms at CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 loci among Indians: Tobacco exposure as a risk modulator. **Carcinogenesis**, v. 28, n. 7, p. 1455–1462, 2007.
- BEAVERS, R. N.; RAMONDETTA, L. Human Papillomavirus Vaccine & Cancer Prevention: What you can do to protect your patients! **Journal of Continuing Education Topics & Issues**, v. 21, n. 2, p. 40–47, 2019.
- BEHERA, S. N.; XIAN, H.; BALASUBRAMANIAN, R. Human health risk associated with exposure to toxic elements in mainstream and sidestream cigarette smoke. **Science of the Total Environment**, v. 472, p. 947–956, 2014.
- BENABDELKRIM, M.; DJEFFAL, O.; BERREDJEM, H. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer: A case-control study of the Algerian Population. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 19, n. 10, p. 2853–2858, 2018.
- BENOWITZ, N. L.; HUKKANEN, J.; JACOB, P. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 192, p. 29–60, 2009.
- BLEEKER, M. C. G. . et al. Penile cancer: epidemiology, pathogenesis and

prevention. **World journal of urology**, v. 27, n. 2, p. 141–150, abr. 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. **Cadernos atenção básica Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : o cuidado da pessoa tabagista**. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2015.

BRIANTI, P.; FLAMMINEIS, E. DE; MERCURI, S. R. Review of HPV-related diseases and cancers. **New Microbiologica**, v. 40, n. 2, p. 80–85, 2017.

BRIERLEY, J.; GOSPODAROWICZ, M.; WITTERKIND, C. **TNM Classification of Malignant Tumours**. 8. ed. Oxford-UK: WILEY Blackwell, 2017. v. 7

BRITTERBO, E. B. ; LOFBERG, B. ; TJALVE, H. Sites of Metabolism of N-Nitrosodiethylamine in mice. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 209–221, 1980.

CHAUX, A. et al. Comparison of subtypes of penile squamous cell carcinoma from high and low incidence geographical regions. **International Journal of Surgical Pathology**, v. 18, n. 4, p. 268–277, 2010a.

CHAUX, A. et al. Developments in the pathology of penile squamous cell carcinomas. **Urology**, v. 76, n. SUPPL. 2, p. S7–S14, 2010b.

CHEN, Z.; ZHANG, Y.; VOUIROS, P. Recent technical and biological development in the analysis of biomarker N-deoxyguanosine-C8-4-aminobiphenyl. **Journal of Chromatography B**, v. 1087–1088, n. January, p. 49–60, 2018.

CHENG, Y. et al. Inhibition of nicotine-DNA adduct formation in mice by six dietary constituents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 7, p. 1045–1050, 2003.

CHIBA, M.; MASIRONI, R. Toxic and trace elements in tobacco and tobacco smoke. **Bulletin of The World Health Organization**, v. 70, n. 2, p. 269–275, 1992.

COELHO, R. et al. Penile cancer in Maranhão , Northeast Brazil: the highest incidence globally? **BMC Urology**, v. 18, n. 50, p. 1–7, 2018.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA. **A tragédia do tabagismo: causas, consequências e prevenção**. Brasília-DF: CFM, 2019.

CORRAL, R. et al. Comprehensive analyses of DNA repair pathways, smoking and bladder cancer risk in Los Angeles and Shanghai. **International journal of cancer**, v. 135, n. 2, p. 335–347, jul. 2014.

COUTO, T. C. DO et al. Epidemiological study of penile cancer in Pernambuco: experience of two reference centers. **IBJU**, v. 40, n. 6, p. 738–744, 2014.

CUBILLA, A. L. et al. The World Health Organisation 2016 classification of penile carcinomas: a review and update from the International Society of Urological Pathology expert-driven recommendations. **Histopathology**, v. 72, n. 6, p. 893–904, 2018.

D'MELLO, S. et al. The synergy of tobacco and alcohol and glutathione S-transferase  $\theta$  1 gene deletion and oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 20, n. 3, p. 348–353, 2016.

DALING, J. R. et al. Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. **American journal of epidemiology**, v. 135, n. 2, p. 180–189, jan. 1992.

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

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

DOUGLAWI, A.; MASTERSON, T. A. Penile cancer epidemiology and risk factors: a contemporary review. **Curr Opin Urol**, v. 2, n. 29, p. 145–149, 2019.

EDGE, S. B. et al. **7th ed 2010 AJCC Cancer Staging Manual Seventh Edition**. [s.l.] Springer International Publishing, 2010.

FAVORITO, L. A. et al. Epidemiologic study on penile cancer in Brazil. **International Braz J Urol**, v. 34, n. 5, p. 587–593, 2008.

FERRAZ, L. D. C.; SANTOS, A. B. R.; DISCACCIATI, M. G. Ciclo celular , HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical : seleção de marcadores biológicos. **J Health Sci Inst.**, v. 30, n. 2, p. 107–111, 2012.

FIGUEIRÓ, L. R.; ZIULKOSKI, A. L.; DANTAS, D. C. M. Thirdhand smoke: When the danger is more than you can see or smell. **Cadernos de Saude Publica**, v. 32, n. 11, p. 1–13, 2016.

FIRIGATO, I. et al. How many copies of GSTM1 and GSTT1 are associated with head and neck cancer risk? **Biomarkers**, p. 1–6, 2018.

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.

GATTÁS, G. J. F. et al. Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. **Brazilian Journal of Medical and**

**Biological Research**, v. 37, n. 4, p. 451–458, 2004.

GEHM, P. M. **Tratado de oncologia**. São Paulo-SP: Atheneu, 2013. v. 53

GOTTLIEB, J. et al. Smoking-related Genitourinary Cancers : Cessation. **Reviews in Urology**, v. 18, n. 4, p. 194–204, 2016.

HALTY, L. S. et al. Análise da utilização do Questionário de Tolerância de Fagerström (QTF) como instrumento de medida da dependência nicotínica. **Jornal de Pneumologia**, v. 28, n. 4, p. 180–186, 2002.

HARISH, K.; RAVI, R. The role of tobacco in penile carcinoma. **Br J Urol**, v. 75, n. 3, p. 375–377, 1995.

HELLBERG, D. et al. Penile cancer: is there an epidemiological role for smoking and sexual behaviour? **British medical journal (Clinical research ed.)**, v. 295, n. 6609, p. 1306–1308, nov. 1987.

HÖLTERS, S. et al. Challenging the prognostic impact of the new WHO and TNM classifications with special emphasis on HPV status in penile carcinoma. **Virchows Archiv**, v. 475, n. 2, p. 211–221, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CANCER. Programa Nacional de Controle do Tabagismo. **Educação E Conscientização**, 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Tabagismo Passivo**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tabagismo/tabagismo-passivo>>. Acesso em: 10 dez. 2019.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Pesquisa Especial de Tabagismo PETab: relatório Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Maranhão**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/onde-tratar-pelo-sus/maranhao>>. Acesso em: 13 dez. 2019.

JACKSON, S. M. The treatment of carcinoma of the penis. **Gazzetta internazionale di medicina e chirurgia**, v. 67, n. 1951, p. 2634–2649, 1962.

KRISTIANSEN, S. et al. Risk factors for penile intraepithelial neoplasia: A population-based register study in Sweden, 2000–2012. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 99, n. 3, p. 315–320, 2019.

KRÜGER, M. et al. The impact of GSTM1/GSTT1 polymorphism for the risk of oral cancer. **Clinical Oral Investigations**, v. 19, n. 8, p. 1791–1797, 2015.

LEME, C. V. D. et al. Análise dos genes GSTM1 e GSTT1 em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 299–303, 2010.

MADEN, C. et al. History of circumcision, medical conditions, and sexual activity and risk of penile cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 85, n. 1, p. 19–24, 1993a.

MADEN, C. et al. History of circumcision, medical conditions, and sexual activity and risk of penile cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 85, n. 1, p. 19–24, jan. 1993b.

MATEJCIC, M.; GUNTER, M. J.; FERRARI, P. Alcohol metabolism and oesophageal cancer: A systematic review of the evidence. **Carcinogenesis**, v. 38, n. 9, p. 859–872, 2017.

MEDEIROS JR, P. F. DE M. et al. Increased Risk of Penile Cancer among Men Working in Agriculture. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 19, n. 1, p. 237–241, 2017.

MENESES-GAYA, I. C. DE et al. As propriedades psicométricas do Teste de Fagerström para Dependência de Nicotina. **J Bras Pneumol**, v. 35, n. 1, p. 73–82, 2009.

MOORE, T. O. et al. Human papillomavirus, smoking, and cancer. **Journal of cutaneous medicine and surgery**, v. 5, n. 4, p. 323–328, 2001.

OLIVEIRA, P. A. et al. The N-butyl-N-4-hydroxybutyl Nitrosamine Mouse Urinary Bladder Cancer Model. In: **Urothelial Carcinoma: Methods and Protocols**. [s.l.] Springer science+business media, 2018. v. 1655p. 145–153.

PAHWA, M. et al. Penile cancer in India: a clinicoepidemiological study. **The Gulf journal of oncology**, n. 12, p. 7–10, 2012.

PALMA, S. et al. Interaction between glutathione-S-transferase polymorphisms, smoking habit, and HPV infection in cervical cancer risk. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 136, n. 7, p. 1101–1109, 2010.

PAUMGARTTEN, F. J. R.; GOMES-CARNEIRO, M. R.; OLIVEIRA, A. C. A. X. DE. O impacto dos aditivos do tabaco na toxicidade da fumaça do cigarro: Uma avaliação crítica dos estudos patrocinados pela indústria do fumo. **Cadernos de Saude Publica**, v. 33, p. 1–24, 2017.

PINHEIRO, D. **Avaliação Do Polimorfismo De Deleção De Gstm1 Na Susceptibilidade Ao Diabetes Mellitus Tipo 2**. [s.l.: s.n.].

PIZZOCARO, G. et al. EAU penile cancer guidelines 2009. **European urology**, v. 57, n. 6, p. 1002–1012, 2010.

POMPEO, A. et al. **Projeto Diretrizes Carcinoma do Pênis - Parte I**. [s.l.: s.n.].

PORTH, C. M. **Fisiopatologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2010.

POW-SANG, M. R. et al. Epidemiology and Natural History of Penile Cancer. **Urology**, v. 76, n. 2, p. S2–S6, 2010.

PRASAD, S.; GUPTA, S. C.; TYAGI, A. K. Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. **Cancer Letters**, v. 387, p. 95–105, 2017.

PROTZEL, C.; SPIESS, P. E. Molecular research in penile cancer-lessons learned from the past and bright horizons of the future? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 10, p. 19494–19505, 2013.

RAMÍREZ, N. et al. Exposure to nitrosamines in thirdhand tobacco smoke increases cancer risk in non-smokers. **Environment International**, v. 71, p. 139–147, 2014.

REIS, A. A. DA S. et al. Aspectos clínico-epidemiológicos associados ao câncer de pênis. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 1105–1111, 2010.

RIVERA, C. Essentials of oral cancer. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 8, n. 9, p. 11884–11894, 2015.

ROSEMBERG, J. **Nicotina: Droga Universal**. São Paulo: SES/CVE, 2003.

SANNER, T.; GRIMSRUD, T. K. Nicotine: Carcinogenicity and effects on response to cancer treatment - a review. **Frontiers in Oncology**, v. 5, n. Aug, p. 1–10, 2015.

SANTOS, J. D. P. DOS et al. Instrumentos para avaliação do tabagismo: Uma revisão sistemática. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 16, n. 12, p. 4707–4720, 2011.

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. 467–474, 2008.

SICHERO, L. et al. High genital prevalence of cutaneous human papillomavirus DNA on male genital skin: The HPV infection in men study. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 1–9, 2014.

SICHERO, L.; GIULIANO, A. R.; VILLA, L. L. Human Papillomavirus and Genital Disease in Men: What We Have Learned from the HIM Study. **Acta Cytologica**, v. 63, n. 2, p. 109–117, 2019.

SINGH, S. Cytoprotective and regulatory functions of glutathione S-transferases in cancer cell proliferation and cell death. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 75, n. 1, p. 1–15, 2015.

SLATON, J. W. et al. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: Independent prognosticators for inguinal lymph node

metastasis in penile squamous cancer. **Journal of Urology**, v. 165, n. 4, p. 1138–1142, 2001.

SPRIGGS, C. C.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus and the DNA damage response: Exploiting host repair pathways for viral replication. **Viruses**, v. 9, n. 8, 2017.

STRATTON, K. L.; CULKIN, D. J. A Contemporary Review of HPV and Penile Cancer. **Oncology**, v. 30, n. 3, p. 245–249, 2016.

THIELEN, A.; KLUS, H.; MÜLLER, L. Tobacco smoke: Unraveling a controversial subject. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 60, n. 2–3, p. 141–156, 2008.

TORBRAND, C. et al. Socioeconomic factors and penile cancer risk and mortality: a population-based study. **BJUI**, n. 119, p. 254–260, 2017.

TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D.; CHASE, F. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. **Oncogene**, v. 22, n. 47, p. 7369–7375, 2003.

TSEN, H. F. et al. Risk factors for penile cancer: results of a population-based case-control study in Los Angeles County (United States). **Cancer causes & control : CCC**, v. 12, n. 3, p. 267–277, abr. 2001.

VALENTE, D. et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 42, n. suppl 1, p. 1–21, 2017.

VELAZQUEZ, E. F. et al. Histologic grade and perineural invasion are more important than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 32, n. 7, p. 974–979, 2008.

WANG, H. et al. Glutathione S-Transferase Gene Polymorphisms are Associated with an Improved Treatment Response to Cisplatin-Based Chemotherapy in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Meta-Analysis. **Med Sci Monit**, v. 24, p. 7482–7492, 2018.

WANICK, F. B. F. et al. Carcinoma epidermoide do pênis: Estudo clínico-patológico de 34 casos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1082–1091, 2011.

WEN, S. et al. Prognostic factors in patients with penile cancer after surgical management. **World Journal of Urology**, v. 36, n. 3, p. 435–440, 2018.

WOODMAN, C. B. J.; COLLINS, S. I.; YOUNG, L. S. The natural history of cervical

HPV infection: Unresolved issues. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 1, p. 11–22, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO report on the global tobacco epidemic, 2015: Raising taxes on tobacco. **World Health Organization**, p. 1–103, 2015.

YU, C. et al. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms are associated with increased bladder cancer risk: Evidence from updated meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 3246–3258, 2017a.

YU, C. et al. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms are associated with increased bladder cancer risk: Evidence from updated meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 3246–3258, 2017b.

ZHANG, L. et al. Familial Clustering, Second Primary Cancers and Causes of Death in Penile, Vulvar and Vaginal Cancers. **Sci Rep**, v. 9, n. 1, p. 11804, 2019.

## **Anexo A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Banco de Tumores e DNA do Maranhão**

1

Universidade Federal do Maranhão.  
Hospital Universitário  
Banco de Tumores e DNA do Maranhão - HUUFMA

### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Você está sendo convidado (a) como voluntário (a) para o armazenamento (guarda) do seu material biológico no Biobanco de Tumores do Maranhão, que poderá ser utilizado em pesquisas futuras. O motivo de estudarmos esse assunto é que muitas pessoas sofrem por causa desta doença, por isso faz-se necessário investigar sobre os fatores que facilitam seu desenvolvimento, novas possibilidades de diagnóstico e tratamentos melhores.

Se você aceitar participar com o armazenamento de seu material biológico neste Biobanco, parte do material retirado para seus exames de diagnóstico e/ou tratamento (tais como cirurgia, biópsia, coleta de sangue, etc) serão encaminhados e guardados no Biobanco de Tumores do Maranhão para as análises necessárias. É importante ressaltar que somente será guardado o material excedente, ou seja, aquele que sobrar dos procedimentos realizados pela instituição hospitalar responsável pelo seu diagnóstico e/ou tratamento, não sendo necessário que você seja submetido a outro procedimento para coleta do material.

A pesquisa apresenta um desconforto mínimo, pelo possível constrangimento em consentir parte de seu material biológico para ser analisado, não havendo riscos adicionais, pois o Biobanco ficará responsável apenas pelo armazenamento do material já coletado. Como direito seu destacamos a possibilidade de esclarecimento de suas dúvidas de acordo com seu questionamento. Você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa. Não haverá remuneração ou ajuda de custo (ressarcimento) pela sua participação e o Biobanco não intervirá em seu tratamento atual, contudo a pesquisa realizada por meio de sua concessão beneficiará de forma significativa o crescimento científico da área estudada, contribuindo para o desenvolvimento futuro de novos tratamentos.

A sua participação é voluntária, você poderá recusar ou sair da pesquisa em qualquer momento, bastando para isso, comunicar aos responsáveis pela investigação, sem prejuízo

1

algum para você. Caso você recuse ou decida retirar-se da pesquisa, o material será descartado conforme as normas da legislação sanitária.

Todas as informações coletadas serão estritamente confidenciais e utilizadas somente para fins de estudo. Os seus dados serão identificados em um código e, não, com o nome. Apenas os membros da pesquisa terão conhecimento dos dados, assegurando assim a sua privacidade. Os resultados deste estudo podem ser publicados, mas sua identificação não será revelada. Você tem o direito de conhecer os resultados obtidos com a utilização de seu material biológico, contatando a gerente do Biobanco pelo telefone abaixo.

Se você concordar, seu material poderá ser utilizado para pesquisas futuras, caso algum pesquisador com projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário – UFMA queira utilizar esse material. Pelo contrário, caso deseje, você poderá optar pela necessidade de ser contatado a cada novo projeto de pesquisa que utilize o material armazenado para permitir ou não a sua utilização. No final desse documento você poderá escolher umas dessas opções.

Sempre que tiver dúvidas ou necessitar de esclarecimentos sobre a pesquisa, você poderá contatar a Gerente do Biobanco de Tumores do Maranhão, Profa. Luciane Maria Oliveira Brito, pelo número (98) 2109-1000, ou sobre os aspectos éticos, contatar a Coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário, situado à Barão de Itapary, nº227, Centro ou pelo telefone (98) 2109-1242. Em caso de denúncias ou questões éticas relativas à pesquisa, o CEP também deverá ser contatado.

Se concordar em participar, você deverá assinar este termo de consentimento em duas vias e rubricar em todas as páginas juntamente com o pesquisador responsável. Uma cópia fica com você e a outra com o Pesquisador.

Eu, \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos da presente pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação. Estou ciente que minha participação é isenta de despesas ou ganhos financeiros e que isto não irá interferir no meu tratamento. Ficou claro que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo neste serviço.

( ) Caso necessário, as minhas amostras armazenadas no Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão podem ser utilizadas para pesquisas futuras aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário/UFMA.

( ) Desejo ser contatado para autorizar a utilização ou descarte das amostras cada vez que seja necessário e se no futuro não tiver condições de consentir na utilização ou descarte de meu material biológico armazenado, solicito que a autorização seja fornecida por algum familiar com contato prévio.

Nome do familiar:

Endereço:

Fone:

São Luís, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

---

Assinatura do participante

---

Pesquisador Responsável

Dados da Instituição Responsável pelo Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão: Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão- HU/UFMA. Unidade Presidente Dutra. Endereço: Rua Barão de Itapary, nº 227, Centro - São Luis-MA. CEP: 65020-070. E-mail: huufma@huufma.br. Fone: (98) 2109-1000.

Gerente do Biobanco de Tumores do Maranhão: Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito  
Endereço: Rua Coelho Neto, nº311, Centro - São Luís - MA. CEP: 65020-560  
Fone: (98) 2109-1273 / E-mail: btma@ufma.br

Endereço do CEP-HUUFMA: Rua Barão de Itapary, nº 227, Centro - São Luis-MA. CEP: 65020-070, Comitê de Ética em Pesquisa do HUUFMA, 4º andar. E-mail : cep@huufma.br fone: (98) 2109-1250

Endereço do CONEP- Conselho Nacional de Ética em Pesquisa- Conselho Nacional de Saúde - Esplanada dos Ministérios, Bloco "G" - Edifício Anexo, Ala "B" - 1º andar - Sala 103B - 70058-900 - Brasília, DF.

## Anexo B – Questionário sociodemográfico

CARCINOMA PENIANO		FICHA DE REGISTRO	
N° do Prontuário:		Instituição: ( ) HU UFMA ( ) IMOAB ( ) HG	
Nome do Paciente:			
IDENTIFICAÇÃO			
Cor: ( ) branca ( ) parda ( ) preta ( ) outra Raça: _____		Data de Coleta: ___/___/___	
Naturalidade:		Data de Nascimento: ___/___/___	
Residência:		Telefone: ( )	
Endereço:			
Estado Civil: ( ) casado ( ) solteiro ( ) união consensual ( ) viúvo ( ) solteiro ( ) divorciado			
Renda Familiar		Nível de Educação:	
1ª pessoa: ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ -		( ) Analfabeto ( ) 1º grau ( ) 2º grau ( ) 3º grau	
2ª pessoa: ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ -		( ) Completo ( ) Incompleto	
3ª pessoa: ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ -		N° de cômodos na casa:	
4ª pessoa: ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ -		Água encanada na residência: ( ) sim ( ) não	
Renda Total: ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ - ___ -		Tratamento de esgoto: ( ) sim ( ) não	
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 glândula:
( ) Ex-Tabagista		( ) Ex-Etilista	( ) parcial
Há quanto tempo parou: _____		Há quanto tempo parou: _____	( ) total
( ) Passivo		Tipo: _____	
Tipo: _____		Doses/dia: _____	
Cigarros/dia: _____			
HÁBITOS SEXUAIS			
Idade da 1ª relação: ____	Atividade Sexual Atual: ( ) Sim ( ) Não	N° de parceiros durante a vida:	
Parceiros Fixos: ( ) Sim ( ) Não	Circuncisão: ( ) sim ( ) não	Idade da circuncisão:	
Orientação Sexual: ( ) Homossexual ( ) Heterossexual ( ) Bissexual ( ) Zoofilia			
Já teve relação homossexual:		Penetração Anal: ( ) Sim ( ) Não	
Frequência do uso de camisinha:	Usou camisinha na última relação vaginal: ( ) Sim ( ) Não		
( ) nunca	Usou camisinha na última relação anal: ( ) Sim ( ) Não		
( ) às vezes	Usa camisinha com a parceira fixa: ( ) Sim ( ) Não		
( ) sempre	Usa camisinha com parceiras extraconjugais: ( ) Sim ( ) Não		
Lava-se após as relações sexuais: ( ) sim ( ) não		Higiene da região genital: ( ) Sim ( ) Não	

ANTECEDENTES MÓRBIDOS PESSOAIS E FAMILIARES		
Verrugas genitais: ( ) sim ( ) não	Idade de aparecimento:	
HPV diagnosticado ( ) não ( ) sim, quando: _____	Tratamento: ( ) não ( ) sim, quando: _____	
Parceira c/ HPV diagnóst. ( ) não ( ) sim, quando _____	Tratamento: ( ) não ( ) sim, quando: _____	
DST prévia: ( ) não ( ) sim	Idade de aparecimento: _____	
Tipo de DST: ( ) cancro mole ( ) condiloma acuminado ( ) gonorréia (esquentamento) ( ) clamídia ( ) herpes ( ) linfogranuloma venéreo ( ) sífilis ( ) outras _____		
Tratamento da(s) DST(s): ( ) não ( ) sim. Qual:		
Balanite: ( ) não ( ) sim Quando:	Trauma no pênis anteriormente: ( ) não ( ) sim Quando:	
Câncer prévio: ( ) não ( ) sim, Local:		
Câncer na família: ( ) não ( ) sim, Local:		Grau de parentesco:
HISTÓRIA DA DOENÇA ATUAL		
Data do aparecimento da lesão inicial: ___/___/___	Tipo de lesão inicial: ( ) perda de pigmentação ou manchas esbranquiçadas ( ) feridas e caroços no pênis ( ) tumoração no pênis e/ou virilha ( ) inflamações de longo período com vermelhidão e coceira ( ) secreções e odor fétido	
Local do aparecimento da lesão inicial: ( ) glândula ( ) prepúcio ( ) haste do pênis ( ) base do pênis		
Auto conduta prévia: ( ) não ( ) sim, qual:	Evolução: ( ) piora ( ) melhora ( ) inalterado	
Tratamento prévio: ( ) sim ( ) não qual:	Evolução: ( ) piora ( ) melhora ( ) inalterada	
Procura ao centro de saúde: ___/___/___	Data do diagnóstico: ___/___/___	Tipo de atendimento: ( ) público ( ) privado
Estadiamento ao diagnóstico:	Grau histológico:	
Tratamento: ( ) Penectomia ( ) Quimioterapia ( ) Radioterapia ( ) Outros:		
Data do início do tratamento: ___/___/___	Depressão: ( ) sim ( ) não	
Recidiva: ( ) Não ( ) Local ( ) Regional ( ) À distância	Data da recidiva: ___/___/___	
Entrevistador: _____		

## ANEXO C – TESTE DE FAGERSTROM

1- Quanto tempo depois de acordar você fuma o primeiro cigarro?

- ( ) mais de 60 min \_\_\_\_\_ 0  
( ) entre 31 e 60 min \_\_\_\_\_ 1  
( ) entre 6 e 30 min \_\_\_\_\_ 2  
( ) menos de 6 min \_\_\_\_\_ 3

2- Você tem dificuldade de ficar sem fumar em locais proibidos?

- ( ) não \_\_\_\_\_ 0  
( ) sim \_\_\_\_\_ 1

3- O primeiro cigarro da manhã é o que traz mais satisfação?

- ( ) não \_\_\_\_\_ 0  
( ) sim \_\_\_\_\_ 1

4- Você fuma mais nas primeiras horas da manhã do que no resto do dia?

- ( ) não \_\_\_\_\_ 0  
( ) sim \_\_\_\_\_ 1

5- Você fuma mesmo quando acamado por doença?

- ( ) não \_\_\_\_\_ 0  
( ) sim \_\_\_\_\_ 1

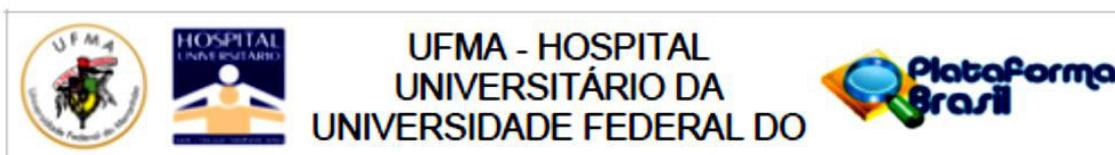
6- Quantos cigarros você fuma por dia?

- ( ) menos de 11 \_\_\_\_\_ 0  
( ) de 11 a 20 \_\_\_\_\_ 1  
( ) de 21 a 30 \_\_\_\_\_ 2  
( ) mais de 30 \_\_\_\_\_ 3

TOTAL DE PONTOS – ( )

**Grau de dependência:** 0-2 pontos- muito baixo; 3-4 pontos-baixo; 5 pontos-médio; 6-7 pontos-elevado; 8-10 pontos-muito elevado.

## Anexo D – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em pesquisa – CEP



UFMA - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** INFLUÊNCIA DO TABAGISMO NA INFECÇÃO POR HPV NO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER DE PÊNIS: ESTUDOS CLÍNICOS.

**Pesquisador:** Luciane Maria Oliveira Brito

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 73032617.4.0000.5086

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU/UFMA

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO MARANHÃO - FAPEMA

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.668.512

#### Apresentação do Projeto:

Introdução:

O câncer de pênis representa cerca de 0,3% a 0,5% dos tumores malignos do homem em países desenvolvidos (Stankiewicz et al., 2011). Por outro lado, em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos, como os da Ásia, África e América do Sul, a doença chega a representar de 10% a 20% dos tumores urogenitais masculinos (Fonseca et al., 2010). 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 papilomavírus humano (HPV) (Mosconi et al., 2005; Stankiewicz et al., 2011). O câncer peniano ocorre principalmente em homens após a sexta década de vida e está associado a um alto risco de metástase e morbidades (Stankiewicz et al., 2011; Ferrandiz-Pulido et al., 2013). É um tumor geralmente agressivo e de prognóstico ruim principalmente devido ao diagnóstico tardio. 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). 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

**Endereço:** Rua Barão de Itapary nº 227

**Bairro:** CENTRO

**CEP:** 65.020-070

**UF:** MA **Município:** SAO LUIS

**Telefone:** (98)2109-1250

**E-mail:** cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.668.512

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_955928.pdf	18/05/2018 14:40:42		Aceito
Outros	cartaresposta.pdf	18/05/2018 14:38:12	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA1.docx	18/05/2018 14:37:09	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE.pdf	18/05/2018 08:51:32	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Outros	QuestionarioBTMA.docx	18/05/2018 08:45:52	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetotabagismo.docx	18/05/2018 08:45:13	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEBTMA.doc	18/05/2018 08:44:17	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao3.pdf	18/05/2018 08:43:13	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao2.pdf	18/05/2018 08:42:42	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracao1.pdf	18/05/2018 08:42:28	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Orçamento	Orcamentotabagismo.docx	18/05/2018 08:37:25	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Comprovantedefinanciamento.pdf	18/05/2018 08:36:04	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacaogestor_.pdf	18/05/2018 08:33:07	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Declaração do Patrocinador	Fapema.pdf	27/09/2017 14:03:57	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito
Folha de Rosto	TABAGISMO.pdf	20/07/2017 09:39:50	Luciane Maria Oliveira Brito	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.668.512

SAO LUIS, 22 de Maio de 2018

---

**Assinado por:**  
**FABIO FRANÇA SILVA**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Barão de Itapary nº 227

**Bairro:** CENTRO

**CEP:** 65.020-070

**UF:** MA

**Município:** SAO LUIS

**Telefone:** (98)2109-1250

**E-mail:** cep@huufma.br

## **Anexo E – Normas da revista e Artigo de Revisão**

### **Anticancer Research**

Classificação Qualis: Medicina II B1

ANTICANCER RESEARCH (AR) will accept original high quality works and reviews on all aspects of experimental and clinical cancer research. The Editorial Policy suggests that priority will be given to papers advancing the understanding of cancer causation, and to papers applying the results of basic research to cancer diagnosis, prognosis, and therapy. AR will also accept the following for publication: (a) Abstracts and Proceedings of scientific meetings on cancer, following consideration and approval by the Editorial Board; (b) Announcements of meetings related to cancer research; (c) Short reviews (of approximately 120 words) and announcements of newly received books and journals related to cancer, and (d) Announcements of awards and prizes.

The principal aim of AR is to provide prompt publication (print and online) for original works of high quality, generally within 1-2 months from final acceptance. Manuscripts will be accepted on the understanding that they report original unpublished works in the field of cancer research that are not under consideration for publication by another journal, and that they will not be published again in the same form. All authors should sign a submission letter confirming the approval of their article contents. All material submitted to AR will be subject to peer-review, when appropriate, by two members of the Editorial Board and by one suitable outside referee. All manuscripts submitted to AR are urgently treated with absolute confidence, with access restricted to the Managing Editor, the journal's secretary, the reviewers and the printers. The Editors reserve the right to improve manuscripts on grammar and style.

The Editors and Publishers of AR accept no responsibility for the contents and opinions expressed by the contributors. Authors should warrant due diligence in the creation and issuance of their work.

### **NIH Open Access Policy**

The journal acknowledges that authors of NIH-funded research retain the right to provide a copy of the published manuscript to the NIH four months after publication in ANTICANCER RESEARCH, for public archiving in PubMed Central.

### **Copyright**

Once a manuscript has been published in ANTICANCER RESEARCH, which is a copyrighted publication, the legal ownership of all published parts of the paper has been transferred from the Author(s) to the journal. Material published in the journal may not be reproduced or published elsewhere without the written consent of the Managing Editor or Publisher.

### **Format**

Two types of papers may be submitted: (i) Full papers containing completed original work, and (ii) review articles concerning fields of recognisable progress. Papers should contain all essential data in order to make the presentation clear. Reasonable economy should be exercised with respect to the number of tables and illustrations used. Papers should be written in clear, concise English. Spelling should follow that given in the "Shorter Oxford English Dictionary".

### **Manuscripts**

Submitted manuscripts exceeding 4 printed pages will be subject to excess page charges. The 4 printed pages correspond approximately to twelve (12) document pages (~250 words per double-spaced typed page in Arial 12), including abstract, text, tables, figures, and references. All manuscripts should be divided into the following sections:

- a. First page including the title of the presented work [not exceeding fifteen (15) words], full names and full postal addresses of all Authors, name of the Author to whom proofs are to be sent, key words, an abbreviated running title, an indication “review”, “clinical”, “epidemiological”, or “experimental” study, and the date of submission. (Note: The order of the Authors is not necessarily indicative of their contribution to the work. Authors may note their individual contribution(s) in the appropriate section(s) of the presented work);
- b. Abstract not exceeding 150 words, organized according to the following headings: Background/Aim – Materials and Methods/Patients and Methods – Results – Conclusion;
- c. Introduction;
- d. Materials and Methods/Patients and Methods;
- e. Results;
- f. Discussion;
- g. Acknowledgements;
- h. References. All pages must be numbered consecutively. Footnotes should be avoided. Review articles may follow a different style according to the subject matter and the Author’s opinion. Review articles should not exceed 35 pages (approximately 250 words per double-spaced typed page) including all tables, figures, and references.

### **Figures**

All figures should appear **at the end** of the submitted document file. Once a manuscript is accepted all figures and graphs should be submitted separately in either jpg, tiff or pdf format and at a minimum resolution of 300 dpi. Graphs must be submitted as pictures made from drawings and must not require any artwork, typesetting, or size modifications. Symbols, numbering and lettering should be clearly legible. The number and top of each figure must be indicated. Pages that include color figures are subject to color charges.

### **Tables**

All tables should appear **at the end** of the submitted document file. Once a manuscript is accepted, each table should be submitted separately, typed double-spaced. Tables should be numbered with Roman numerals and should include a short title.

### **References**

Authors must assume responsibility for the accuracy of the references used. Citations for the reference sections of submitted works should follow the form below and must be numbered consecutively. In the text, references should be cited by number in parenthesis. Examples:

1 Kenyon J, Liu W and Dalgleish A: Report of objective clinical responses of cancer patients to pharmaceutical-grade synthetic cannabidiol. *Anticancer Res* 38(10): 5831-5835, 2018. PMID: 30275207. DOI: 10.21873/anticancer.12924 (PMIDs and DOIs only if applicable)

2 McGuire WL and Chamnes GC: Studies on the oestrogen receptor in breast cancer. In: *Receptors for Reproductive Hormones*. O’Malley BW, Chamnes GC (eds.). New York, Plenum Publ Corp., pp 113-136, 1973.

3 Global Health Estimates 2015: Disease Burden by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2015. Geneva, World Health Organisation, 2016. Available at [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/estimates/en/index2.html](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index2.html). Last accessed on 3rd April 2018. (The web address should link directly to the cited information and not to a generic webpage)

[Click here](#) to download our journal’s style for Endnote.

### **Nomenclature and Abbreviations**

Nomenclature should follow that given in “Chemical Abstracts”, “Index Medicus”, “Merck Index”, “IUPAC -IUB”, “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”, The CBE Manual for Authors, Editors and Publishers (6th edition, 1994), and MIAME Standard for Microarray Data. Human gene symbols may be obtained from the HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) (<http://www.gene.ucl.ac.uk/>). Approved mouse nomenclature may be obtained from <http://www.informatics.jax.org/>. Standard abbreviations are preferable. If a new abbreviation is used, it must be defined on first usage.

*Review*

## **A importância do Tabagismo no desenvolvimento do Câncer de pênis**

Ana Paula de Araújo Abreu<sup>1</sup>; Luciane Maria Oliveira Brito<sup>1</sup>; Haissa Oliveira Brito<sup>1</sup>.

1 – Universidade Federal do Maranhão, PPGSAD, São Luís – MA, Brazil.

**Abstract (Resumo).** *Introdução: O consumo de tabaco está envolvido no desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis, dentre elas alguns cânceres como os genitourinários. O câncer de pênis é uma neoplasia rara, de alta incidência em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos. Entender os fatores ligados ao desenvolvimento deste câncer é importante. Material e Métodos: O trabalho é uma revisão de literatura abordando a relação do uso do tabaco com a carcinogênese em casos de câncer de pênis. Resultados: É possível observar que o tabagismo é um fator de risco fortemente associado ao desenvolvimento de câncer de pênis. Inclusive a intensidade do consumo está ligada com um aumento deste risco. Não foram encontrados artigos associando este câncer com o polimorfismo gênico das glutathione S-Transferases (GSTs). Conclusão: Mais pesquisas são fundamentais para melhor esclarecimentos sobre os possíveis mecanismos de interferência do tabagismo no câncer de pênis.*

*Correspondence to:* Ana Paula Abreu Av. dos Portugueses n: 1966, Vila Bacanga,

São Luís – MA. E-mail: anapabr@outlook.com

*Keywords:* Penile cancer, Tobacco smoking, review.

O tabagismo é uma doença crônica caracterizada pela dependência da nicotina encontrado em derivados do tabaco, é considerada um dos maiores males evitáveis à saúde. Dados da Organização Mundial da Saúde – OMS (2015) demonstram que, apesar da diminuição na prevalência mundial de 23% em 2007 para 21% em 2013, quando observamos em números absolutos, houve um aumento no número de consumidores a nível mundial, pois apesar da diminuição da porcentagem houve um aumento da população mundial (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

Os problemas relacionados ao uso do tabaco vão além da dependência (drogadição), pois é origem de diversas doenças crônicas não transmissíveis dentre elas o câncer. Embora o tabaco seja uma possível causa ambiental de muitos cânceres genitourinários, como câncer de bexiga, próstata e pênis, a cessação precoce do tabagismo diminui o efeito no

desenvolvimento e progressão do câncer (GOTTLIEB et al., 2016).

Um desses possíveis cânceres é o câncer de pênis (CP), que ocorre com maior frequência após os 60 anos de idade, é considerada uma neoplasia rara na maioria das nações, mas que em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos exibe uma alta incidência, como por exemplo no Brasil (COELHO et al., 2018).

Esta revisão tem por objetivo trazer o conhecimento atual sobre a relação do uso do tabaco com a carcinogênese em casos de câncer de pênis.

## **Materiais e métodos**

A Metodologia trata de uma revisão de literatura envolvendo busca nos meios eletrônicos NCBI's PubMed database e BVS (Biblioteca virtual em saúde), até novembro de 2019 por estudos epidemiológicos e ensaios clínicos sobre o risco de desenvolvimento de câncer de pênis associado ao tabagismo. Os termos chaves utilizados foram "penile cancer AND smoking" ou "penile cancer AND tobacco". Foram incluídos apenas estudos em humanos.

## **Câncer de pênis**

O câncer de pênis (CP) é um câncer geniturinário agressivo e mutilante que afeta diretamente a autoestima do paciente. É considerado raro em países desenvolvidos, porém apresenta alta incidência em países em desenvolvimento como o Brasil (COELHO et al., 2018; COUTO et al., 2014; FAVORITO et al., 2008).

Há uma ampla variação mundial na incidência padronizada por idade do CP por 100 000 habitantes. Por exemplo, nos

Estados Unidos, a incidência média varia de 0,3-1,8/100 000 habitantes, uma incidência considerada baixa e comum em países desenvolvidos. Já em países em desenvolvimentos, médias mais altas são observadas. No Brasil, a incidência 1,5 - 3,7/100 000 habitantes (CHAUX et al., 2010b; POW-SANG et al., 2010). Quando diagnosticado na sua fase inicial, o CP é altamente curável. Entretanto, o maior obstáculo para que isso ocorra é a demora do paciente em procurar atendimento médico (FAVORITO et al., 2008).

Existem diversos fatores de riscos associados ao desenvolvimento de neoplasia peniana, como: tabagismo, baixas condições socio-econômicas, a não-circuncisão, fimose, balanite, obesidade, maus hábitos de higiene, doenças sexualmente transmissíveis, como o papilomavirus humano (HPV) (COUTO et al., 2014; DOUGLAWI; MASTERSON, 2019; FAVORITO et al., 2008; POW-SANG et al., 2010).

Quanto ao fator de risco tabagismo, a exposição às substâncias carcinogênicas leva ao aumento da incidência. Homens que já fumaram tem 2,4 vezes mais chance de desenvolver CP (DOUGLAWI; MASTERSON, 2019; POW-SANG et al., 2010). Como observado na tabela 1.

## **Tabaco**

O consumo do tabaco pode ser feito de formas diferentes: pelo tabaco fumado ou não fumado. O tabaco fumado é originado a partir da queima de produtos (fumaça), como : cigarro, cachimbo, charuto, narguilé, e outros, já o não fumado temos o exemplo do rapé e do tabaco mascado (SANNER; GRIMSRUD, 2015).

Os estudos divergem sobre o conceito de fumante regular: se seria o que fuma "todos os dias" ou "alguns dias". A OMS discrimina

o “uso regular” como sendo quando o paciente usa pelo menos 5 cigarros por dia há mais de 15 dias. Os diferentes conceitos sobre como é caracterizado o tabagista podem trazer confusão ao comparar dados sobre o tabagismo em diferentes populações e influenciar a interpretação de resultados encontrados na literatura (SANTOS et al., 2011).

*Tabela 1: Resumo de estudos selecionados na revisão que abordam a associação entre o fumo de tabaco com o desenvolvimento de câncer de pênis.*

<b>Autor, ANO (REF)</b>	<b>País</b>	<b>Ano da pesquisa</b>	<b>Comparação</b>	<b>Conclusão</b>
<b>DALING, 1992</b> (DALING et al., 1992)	EUA	1979-1980	Nunca fumou OR: 1,0 Fumante OR: 2,0 (IC 95%: 1,1-3,8) Ex-Fumante: 1,5 (IC95% 0,8-3,0) Fumante Frequente: OR :2,9 (IC95%: 1,4-5,7)	O fumo de cigarro tem um papel no desenvolvimento de canceres anogenitais
<b>DALING, 2005</b> (DALING et al., 2005)	EUA	Jan 1979 - Dez 1998	Ex-fumante OR: 1,4 (0,8-2,3) Fumante OR: 2.3 (1,3-4,7) Fumante frequente (current) OR 4,5 (2,0-10,1) para casos invasivos e OR: 1.5 (0,7-2,6) para casos In situ	No entanto, três fatores de risco foram mais importantes no desenvolvimento de câncer invasivo do que no câncer de pênis in situ: falta de circuncisão na infância, histórico de fimose e tabagismo. Essas observações levantam questões sobre se todos os cânceres in situ têm o potencial de progredir para doenças invasivas.
<b>FAVORITO, 2008</b> (FAVORITO et al., 2008)	Brasil	Maio de 2006- jun 2007	86,13% tumor de baixo grau e 13,86% apresentou tumor de alto grau	O fumo é um fator de risco para o desenvolvimento da neoplasia e mais de 85% dos fumantes apresentavam Câncer de pênis com tumor de baixo grau.
<b>HARISH,1995</b> (HARISH; RAVI, 1995)	India	1960-1990	Tabaco é fator de risco desenvolvimento de câncer de pênis OR:1,44. Uso de cigarro (mais de 10 cigarros/dia) OR:2,143 (IC95%-1,413 -3,210). Uso de cigarro (Mais de 30 pacotes/ano) OR: 1,868 (IC95%-1,215 -2,872). Uso de tabaco e Rapé OR:3,396 (IC95%-2,085 - 5,537)	O tabaco em qualquer forma é considerado um fator de risco no desenvolvimento de câncer de pênis. O tabaco pode exercer sua ação através de seus metabólitos, ou diretamente após a absorção sistêmica. O uso de mais de uma forma de tabaco multiplica o risco de desenvolvimento de carcinoma peniano.

<b>HELLBERG,1987</b> (HELLBERG et al., 1987)	Suécia	-		Risco associado ao fumo: Ex fumante: 1,71 (0,88 -3,30) Fumante 1,61 (1,08 - 2,41). Fumantes que usam 1-10 cigarros/dia OR: 1,18 (0,72 - 1,92) Fumantes que usam mais de 10 cigarros/dia OR: 2,22 (1,34 - 3,69)	A associação entre tabagismo e câncer de pênis foi direta, relacionada à dose e independente de outros fatores de risco conhecidos, o que sugere que o tabagismo é um fator causal genuíno. Em comparação com o colo do útero, onde altas concentrações de nicotina e cotinina foram encontradas no muco cervical, os produtos de tabaco poderiam se concentrar no esmegma, tornando-o carcinogênico, especialmente em homens com fimose.
<b>MADEIRO JR, 2017</b> (MEDEIROS JR et al., 2017)	Brasil	-		Já fumou- 59% Nunca fumou 41%	Grande número de pacientes no estado da Paraíba já fumou durante a vida
<b>MADEN, 1993</b> (MADEN et al., 1993b)	EUA/ Canadá	jan 1970 a jul 1990	a	O risco de quem fumou é de 2,8 vezes diante de quem nunca fumou (CI 95%= 1.4-5.5). Quem fuma mais de 45 cigarros/ano o risco é elevado para 3,2 vezes em comparação com quem nunca fumou (95% CI = 1.4-7.2). E o risco de câncer de pênis em homens que fumaram maconha 1,5 vezes maior do que os que nunca fumaram (95% CI = 0.7-3.2), essa associação pode estar relacionada com a chance; não há aumento do risco com o aumento da frequência de uso.	Há especulações de que os constituintes do cigarro podem resultar em transformações malignas na presença da infecção por HPV, assim como com outras infecções como as por bactéria, e é consistente com os achados do trabalho. Porém a quantidade da amostra não foi suficiente para abordar essa associação.
<b>PAHWA, 2012</b> (PAHWA et al., 2012)	India	Maio 2005 - Junho 2006	-	70% dos pacientes eram fumantes e o faziam a mais de 20 anos.	E que é considerado importante fator de risco devido porcentagem de fumantes da amostra

<b>TSEN, 2001</b> (TSEN et al., 2001)	EUA	Maio 1975 - outubro 1985	<p>A incidência de câncer de pênis em pacientes que já fumaram é 2.4 vezes a daqueles que nunca fumaram.</p> <p>A taxa foi maior em pacientes que fumantes frequentes (OR = 3.1; 95% CI = 0.93-11) do que em pacientes ex-fumantes (OR = 1.6; 95% CI = 0.44-6.9).</p>	<p>Encontraram um forte efeito do tabagismo diário, o que apoia a hipótese de que concentrações mais altas de os componentes do tabaco atingem mais facilmente as células-alvo através da corrente sanguínea e difusão do tecido. Discute que seria interessante examinar os níveis de constituintes do tabaco em secreções de esmegma ou pênis de fumantes e não fumantes.</p> <p>Há a observação de que o efeito do fumo foi mais forte em fumantes atuais do que os ex-fumantes e sugere um papel para tabagismo nas fases posteriores da carcinogênese.</p>
<b>WEN, 2018</b> (WEN et al., 2018)	China	jun 2010 - set 2016	Fator fumar versus não-fumar: HR 3.410 (p value - 0,126)	<p>Não foi encontrado associação estatística entre fumar e não-fumar. E a linfadenectomia profilática inguinal deve ser recomendada para pacientes com alto risco de metástase de linfonodos inguinais.</p>

Os cigarros modernos são sistemas de entrega de nicotina que envolvem numerosas substâncias e materiais como tabaco, papel e filtro. Os demais componentes são chamados de aditivos, que são substâncias que tem por função alterar características do produto do tabaco. São aditivos comuns flavorizantes e intensificadores, como por exemplo: cacau, alcaçuz e o mentol, umectantes como propilenoglicol, glicerina e sorbitol, e diversos açúcares e composto de amônio, estes ingredientes são chamados pela indústria de revestimentos (casing). Em uma fase posterior da produção ao cigarro são adicionadas as coberturas, que são aditivos voláteis, os flavorizantes capazes de conferir aromas diferenciados ao cigarro. Correspondem aos revestimentos, 1% - 5%; e as coberturas, 0,1% do peso final do cigarro. Ainda não se tem esclarecimentos sobre a toxicidade que a queima dos aditivos pode acarretar à saúde dos indivíduos (PAUMGARTTEN; GOMES-CARNEIRO; OLIVEIRA, 2017).

A fumaça do cigarro é composta por aproximadamente 4720 substâncias tóxicas diferentes. A fase gasosa é composta por monóxido de carbono, amônia, cetonas, formaldeído, acetaldeído, acroleína, entre outros componentes; já a fase particulada, por alcatrão e nicotina. O alcatrão é composto por mais 40 substâncias carcinogênicas, formadas a partir da sua combustão nos derivados de tabaco, dentre elas: o arsênio, níquel, benzopireno, cádmio, resíduos de agrotóxicos, substâncias radioativas, como o Polônio 210, acetona, naftalina e até fósforo P4/P6. A nicotina é responsável pela dependência, sendo considerada uma droga psicoativa (BEHERA; XIAN; BALASUBRAMANIAN, 2014).

Em geral, a fumaça do cigarro é dividida em corrente principal da fumaça, do

termo Main-stream smoke (MSS) e fumaça secundária, Side-stream smoke (SSS). A MSS é tragada diretamente pelo fumante e a SSS é emitida pela queima da ponta do cigarro. Esta última é a mais prejudicial à saúde, uma vez que possui níveis maiores de substâncias cancerígenas. Além disso, a maioria dos cigarros comerciais possui filtro, o que diminui a porcentagem de componentes tóxicos inalados da corrente principal de fumaça (BEHERA; XIAN; BALASUBRAMANIAN, 2014; CHIBA; MASIRONI, 1992).

Segundo Behera et al. (2014), devido a maiores quantidades de elementos causadores de câncer na SSS, as pessoas que convivem com fumantes, os fumantes passivos, têm um risco aumentado de terem cânceres a longo prazo. Logo, a exposição à MSS e à SSS, tanto em fumantes atuais quanto em passivos, oferecem risco a saúde quanto ao surgimento diversas Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs) relacionadas ao uso do cigarro (BEHERA; XIAN; BALASUBRAMANIAN, 2014).

Inclusive, atualmente, se discute outra forma de exposição, a Thirdhand Smoke (THS), ou “fumo de terceira mão”, termo pouco difundido em português, uma mistura de compostos voláteis e material particulado que pode ser depositada ou adsorvida em superfícies, incluindo roupas, móveis e estofados. Alguns elementos persistem, mesmo que não se visualize mais a fumaça ou o cheiro, e esse é o risco invisível do THS.

Estes poluentes do THS são capazes de se manter retidos no ambiente, podendo ser reemitidos para o ar ou serem capazes de reagir com oxidantes ou com outros compostos do ambiente para formação de poluentes secundários. Esses resíduos, caso sejam lançados de volta para o ar, podem ser inalados ou absorvidos, tanto por via oral quanto

através da pele (FIGUEIRÓ; ZIULKOSKI; DANTAS, 2016).

O risco da exposição ao THS ainda não foi completamente elucidado, porém há o risco de carcinogênese gerado pela exposição, principalmente em crianças. Segundo Ramírez et al. (2014), existe um risco da exposição a todas as nitrosaminas provenientes do THS em casas de fumantes, e isto corresponde a um caso extra de câncer a cada mil pessoas expostas (FIGUEIRÓ; ZIULKOSKI; DANTAS, 2016; RAMÍREZ et al., 2014).

### **Fatores desencadeadores de câncer de pênis a partir do tabaco**

Os diversos tipos de exposição a fumaça do tabaco, tornam tanto fumantes quanto não fumantes vulneráveis aos seus efeitos. Mais de 80% da nicotina absorvida a partir da exposição do tabaco é metabolizada pelo fígado através do CYP2A6, UDP-glucuronosyltransferase, e flavin-containing monooxygenase, gerando vários metabolitos, os principais são a cotinina (gerado de 70 a 80%) e Norcotinina (BENOWITZ; HUKKANEN; JACOB, 2009).

A nicotina apresenta alta toxicidade, tanto que é usada como inseticida contra pragas da agricultura. Não é diretamente oncogênica, mas ocorre a sua nitrosação, produzindo as N-nitrosaminas específicas do tabaco que o são. A formação das nitrosaminas ocorrem durante o processo da cura do tabaco, da queima no ato de fumar e através de formação endógena a partir de ação enzimática do fígado (mediado por citocromo P450) (BENOWITZ; HUKKANEN; JACOB, 2009; ROSEMBERG, 2003). E em uma segunda fase a metabolização pelas

enzimas das pela família das glutaminas S-Transferase (GST) (ANANTHARAMAN et al., 2007; KRÜGER et al., 2015; TOWNSEND; TEW; CHASE, 2003).

O mecanismo de ação responsável pelo efeito genotoxicidade causada pela nicotina ainda não está bem estabelecido. Porém foi relatado por CHENG et al. (2003), a formação de adutos entre o DNA e a Nicotina e/ou N-nitrosaminas específicas do tabaco (aminas aromáticas - AAs) e essa formação seria responsável pelo começo da carcinogênese (CHEN; ZHANG; VOUIROS, 2018).

A mutação causada por carcinógeno geralmente ocorre em consequência a um dos seguintes processos: modificação química de uma base do DNA, falhas nas vias de apoptose e de supressão tumoral, no reparo de lesões e na incorporação de nucleotídeos atípicos ao DNA durante a replicação celular (GEHM, 2013).

Os agentes cancerígenos reagem diretamente com o DNA ou passam por ativação metabólica de espécies eletrofílicas, como epóxidos, íons diazônio e íons de nitrênio, que se ligam ao DNA e formam os adutos de DNA. Quando essa substância se liga ao nucleotídeo do DNA, pode causar lesões na sequência de DNA, porém as células possuem um sistema de autoproteção para reparar caso isto ocorra. Entretanto, não há garantias de que todas as lesões serão reparadas. Quando não ocorrem, podem induzir a um desvio de base durante a replicação do DNA e gerar uma mutação genética, levando a um câncer. Portanto, a presença de adutos de DNA pode ser um indicador potencial para a avaliação do desenvolvimento de câncer (CHEN; ZHANG; VOUIROS, 2018; CHENG et al., 2003).

A combinação entre a nicotina e metabólitos, com receptores nicotínicos de acetilcolina (n-AChRs) estimula a rota de sinalização e reações de aumento de proliferação celular e sobrevivência celular. Alguns estudos mostram que os efeitos da nicotina são reduzidos na presença de anti-oxidantes, sugerindo que radicais oxidativos estão envolvidos, e que o dano no DNA é reduzido na presença de antagonista de n-AChR, indicando uma rota de dependência ao receptor para a indução do estresse oxidativo (SANNER; GRIMSRUD, 2015).

As espécies reativas de oxigênio (ERO's), por intermédio de danos oxidativos no DNA (quebras, e formação de adutos), estão associadas ao aparecimento de várias doenças. Portanto, espécies reativas têm importante função biológica. Porém, quando sua produção é exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio. O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes, e com consequente dano celular (VALENTE et al., 2017). Com a exposição ao tabaco, as EROs são produzidas, promovendo um desbalanço e um estresse oxidativo, o que pode gerar lesões nas estruturas e funções celulares (ALSAAD et al., 2019; PRASAD; GUPTA; TYAGI, 2017).

Diante disso, vemos o tabagismo como um fator de risco para desencadeamento de tumores malignos, destacando os geniturinários, como tumores de bexiga, próstata, rins e de pênis. Inclusive podendo impactar diretamente em um pior resultado do tratamento (GOTTLIEB et al., 2016).

Na tabela 1, observamos nos artigos encontrados nas bases de dados que no

geral houve uma consistência de que o tabagismo aumenta o risco de desenvolvimento de câncer de pênis e dependendo da quantidade e intensidade do uso haveria um aumento do risco no desenvolvimento deste câncer. Nenhum dos artigos sugere ou aborda o motivo pelo qual se tem um aumento deste risco.

Atualmente se tem abordado a possibilidade de fatores genéticos, como a deleção ou mutação em alguns genes envolvidos no processo de desintoxicação celular, este processo ocasionaria na perda ou ausência de função. Pensando nestas enzimas, discutem-se sobre as que compõe a família das citocromo P450 e principalmente as já citadas enzimas da família das GSTs, como as GSTT1 e GSTM1 (KRÜGER et al., 2015).

#### **Sistema Glutationa S-Transferase (GST)**

O uso do tabaco é um fator de risco para diversos cânceres, e o sistema Glutationa S-Transferase (GST) é importante na desintoxicação celular de uma ampla variedade de substâncias, incluindo xenobióticos tóxicos, metabólitos e produtos reativos de processos intracelulares. As GSTs participam de uma família multigene de enzimas de fase II, que participam do sistema de defesa celular contra o estresse oxidativo e, diferentemente de outras enzimas antioxidantes, se destacam pela destoxicação de produtos intermediários citotóxicos originados pelas EROs (A. SHARMA, A. MISHRA, B.C.DAS, S. SARDANA, 2006; PINHEIRO, 2013; YU et al., 2017b).

As GSTs formam uma família multigênica, altamente expressa em mamíferos, classificadas com base em seu ponto isoelétrico, na similaridade da sequência de aminoácidos e

especificidade por substrato. Até o momento são conhecidas oito classes de GSTs citosólicas humanas: Alpha, Kappa, Mu, Omega, Pi, Sigma, Theta e Zeta. Destacando-se o GSTT1 e GSTM1, sobretudo em razão da grande quantidade de estudos realizados sobre a associação do polimorfismo de deleção destes dois genes com a susceptibilidade a diferentes tipos de câncer (FIRIGATO et al., 2018; GATTÁS et al., 2004; YU et al., 2017b).

A GSTM1 e GSTT1 conjugam glutathione reduzida a substratos eletrofílicos, o que torna os produtos glutathione-conjugados menos reativos e mais hidrossolúveis, facilitando sua excreção. São os principais sistema de enzimas desintoxicantes envolvidas nas reações de biotransformação de fase II (reações de conjugação (KRÜGER et al., 2015; LEME et al., 2010).

Dois grupos de enzimas estão envolvidos no processo de biometabolização dos compostos químicos do álcool e do cigarro, as enzimas do metabolismo de oxidativo de Fase I e as enzimas conjugadoras de Fase II. A detoxificação celular pode ser dividida em 3 passos: após a difusão do agente tóxico no citosol, na Fase I, há a conversão de agentes lipofílicos em hidrofílicos e menos tóxicos, principalmente pelas superfamílias de enzimas P450 (CYPs) que o realizam através do consumo de oxigênio para um epóxi. Além disso, as epoxidatases formam dióis, que são inativados na chamada desintoxicação de Fase II, pelo sistema p450 ou por conjugação com glutathione (GSH), ácido UDP-glucurônico ou glicina. A conjugação de GSH e a redução dos hidroperóxidos formados na fase I são transmitidas pelo GST, quer dizer, as enzimas conjugadora de Fase II atuam inativando o produto da Fase I, tornando

os metabolitos mais hidrofílicos e passíveis de excreção. Na Fase III, os conjugados hidrofílicos são transportados ativamente através da membrana plasmática via bomba de membrana GS-X, com consumo de ATP (KRÜGER et al., 2015; LEME et al., 2010).

Além de sua função na desintoxicação celular, o GST também regula o mecanismo de quinase da via mitogênico ativado (MAP), que regula a sobrevivência e apoptose das células. Isso ocorre por uma interação proteína-proteína direta de GST- $\pi$  e GST- $\mu$  com a c-Jun N-terminal quinase 1 (JNK1). As interações da GST quinase são influenciadas pelo estresse oxidativo, porque espécies reativas de oxigênio levam à dissociação de GSTM1 e ASK1 (Apoptosis signal-regulating kinase 1) (KRÜGER et al., 2015; SINGH, 2015).

Inclusive quanto à terapia do câncer, as GSTs podem contribuir no mecanismo de resistência ao medicamento para alguns tipos de câncer, mas isto pode variar de acordo com o tecido, com o perfil do medicamento e expressão dos transportadores, incluindo as bombas GS-X. Essa resistência pode ocorrer por meio de sua atividade catalítica, de modo que os inibidores de GST permanecem como uma ferramenta terapêutica potencial na modulação da eficácia de medicamentos (SINGH, 2015).

A deleção polimórfica destes genes está presente em 50% da população européia e 27% na população africana (KRÜGER et al., 2015). Tanto GSTT1 quanto GSTM1 apresentam polimorfismo genético caracterizado por deleção total do gene, resultando no genótipo homozigoto nulo (GSTT1nulo e GSTM1nulo), podem alterar a expressão ou função das mesmas e resultar em ativação ou desintoxicação de compostos carcinogênicos. Estão envolvidas na

biossíntese e metabolização de muitos carcinógenos químicos exógenos, tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, que são encontrados no cigarro (LEME et al., 2010).

Dessa forma, a ausência de uma ou mais formas de GST pode tornar a célula mais susceptível ao estresse químico e oxidativo, os quais podem levar à disfunção celular, tornando de grande relevância a caracterização da influência do polimorfismo de deleção de GSTT1 e GSTM1 no risco de doenças (CORRAL et al., 2014; WANG et al., 2018; YU et al., 2017b).

Inclusive há associações relatadas na literatura entre a deleção de GSTM1 e/ou GSTT1 com câncer de bexiga, pulmão e colorretal, bem como carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (GATTÁS et al., 2004; KRÜGER et al., 2015; LEME et al., 2010; YU et al., 2017b). Indivíduos homozigóticos nessa deleção correm um risco aumentado de malignidade como consequência de uma capacidade reduzida de desintoxicar a célula de carcinógenos (SINGH, 2015).

Não foram encontrados artigos ao procurar nas bases de dados informações sobre a associação destes genes envolvidos na desintoxicação celular com o câncer de pênis.

### Conclusão

É possível observar que o tabagismo é um fator de risco fortemente associado ao desenvolvimento de câncer de pênis. Inclusive a intensidade do consumo está ligada com um aumento deste risco. É importante que o profissional da área da saúde realize o rastreio de pacientes fumantes para avaliar quanto a suscetibilidade para este câncer, durante a anamnese.

Fatores como a suscetibilidade gênica ainda precisam ser esclarecidos no desenvolvimento de câncer de pênis. O tabaco apresenta substâncias genotóxicas, e representa um fator ambiental envolvido nesta carcinogênese. Porém, não há mecanismo esclarecido e a associação entre o processo de desintoxicação celular e a relação com este câncer ainda não foram elucidadas.

Mais pesquisas são fundamentais para melhor esclarecimentos sobre os possíveis mecanismos de interferência do tabagismo no câncer de pênis.

### Conflito de interesses:

O autor declara não haver conflito de interesses neste estudo.

### References

- A. SHARMA, A. MISHRA, B.C.DAS, S. SARDANA, J. K. S. Genetic polymorphism at GSTM1 and GSTT1 gene loci and susceptibility to oral cancer. **Neoplasma**, v. 53, n. 4, p. 803–807, 2006.
- AITA, G. A. et al. Tumor histologic grade is the most important prognostic factor in patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes not submitted to regional lymphadenectomy. **International Braz J Urol**, v. 42, n. 6, p. 1136–1143, 2016.
- ALEMANY, L. et al. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. **European Urology**, v. 69, n. 5, p. 953–961, 2016.
- ALLOCATI, N. et al. Glutathione transferases: Substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases.

**Oncogenesis**, v. 7, n. 1, 2018.

ALSAAD, A. M. et al. Genotoxic impact of long-term cigarette and waterpipe smoking on DNA damage and oxidative stress in healthy subjects. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 29, n. 2, p. 119–127, 2019.

ANANTHARAMAN, D. et al. Susceptibility to oral cancer by genetic polymorphisms at CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 loci among Indians: Tobacco exposure as a risk modulator.

**Carcinogenesis**, v. 28, n. 7, p. 1455–1462, 2007.

BEAVERS, R. N.; RAMONDETTA, L. Human Papillomavirus Vaccine & Cancer Prevention: What you can do to protect your patients! **Journal of Continuing Education Topics & Issues**, v. 21, n. 2, p. 40–47, 2019.

BEHERA, S. N.; XIAN, H.; BALASUBRAMANIAN, R. Human health risk associated with exposure to toxic elements in mainstream and sidestream cigarette smoke. **Science of the Total Environment**, v. 472, p. 947–956, 2014.

BENABDELKRIM, M.; DJEFFAL, O.; BERREDJEM, H. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer: A case-control study of the Algerian Population. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 19, n. 10, p. 2853–2858, 2018.

BENOWITZ, N. L.; HUKKANEN, J.; JACOB, P. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 192, p. 29–60, 2009.

BLEEKER, M. C. G. et al. Penile cancer: epidemiology, pathogenesis and prevention. **World journal of urology**, v. 27, n. 2, p. 141–150, abr. 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE.

SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. **Cadernos atenção básica Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : o cuidado da pessoa tabagista**. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2015.

BRIANTI, P.; FLAMMINEIS, E. DE; MERCURI, S. R. Review of HPV-related diseases and cancers. **New Microbiologica**, v. 40, n. 2, p. 80–85, 2017.

BRIERLEY, J.; GOSPODAROWICZ, M.; WITTERKIND, C. **TNM Classification of Malignant Tumours**. 8. ed. Oxford-UK: WILEY Blackwell, 2017. v. 7

BRITTERBO, E. B. ; LOFBERG, B. ; TJALVE, H. Sites of Metabolism of N-Nitrosodiethylamine in mice. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 209–221, 1980.

CHAUX, A. et al. Comparison of subtypes of penile squamous cell carcinoma from high and low incidence geographical regions. **International Journal of Surgical Pathology**, v. 18, n. 4, p. 268–277, 2010a.

CHAUX, A. et al. Developments in the pathology of penile squamous cell carcinomas. **Urology**, v. 76, n. SUPPL. 2, p. S7–S14, 2010b.

CHEN, Z.; ZHANG, Y.; VOUIROS, P. Recent technical and biological development in the analysis of biomarker N-deoxyguanosine-C8-4-aminobiphenyl. **Journal of Chromatography B**, v. 1087–1088, n. January, p. 49–60, 2018.

CHENG, Y. et al. Inhibition of nicotine-DNA adduct formation in mice by six dietary constituents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 7, p. 1045–1050, 2003.

CHIBA, M.; MASIRONI, R. Toxic and

- trace elements in tobacco and tobacco smoke. **Bulletin of The World Health Organization**, v. 70, n. 2, p. 269–275, 1992.
- COELHO, R. et al. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally? **BMC Urology**, v. 18, n. 50, p. 1–7, 2018.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA. **A tragédia do tabagismo: causas, consequências e prevenção**. Brasília-DF: CFM, 2019.
- CORRAL, R. et al. Comprehensive analyses of DNA repair pathways, smoking and bladder cancer risk in Los Angeles and Shanghai. **International journal of cancer**, v. 135, n. 2, p. 335–347, jul. 2014.
- COUTO, T. C. DO et al. Epidemiological study of penile cancer in Pernambuco: experience of two reference centers. **IBJU**, v. 40, n. 6, p. 738–744, 2014.
- CUBILLA, A. L. et al. The World Health Organisation 2016 classification of penile carcinomas: a review and update from the International Society of Urological Pathology expert-driven recommendations. **Histopathology**, v. 72, n. 6, p. 893–904, 2018.
- D'MELLO, S. et al. The synergy of tobacco and alcohol and glutathione S-transferase  $\theta$  1 gene deletion and oral squamous cell carcinoma. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 20, n. 3, p. 348–353, 2016.
- DALING, J. R. et al. Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. **American journal of epidemiology**, v. 135, n. 2, p. 180–189, jan. 1992.
- DALING, J. R. et al. Penile cancer: importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in in situ and invasive disease. **Int J Cancer**, v. 116, n. 4, p. 606–616, 2005.
- DE SOUSA, I. D. B. et al. Prevalence of human papillomavirus in penile malignant tumors: Viral genotyping and clinical aspects. **BMC Urology**, v. 15, n. 1, p. 1–6, 2015.
- DOUGLAWI, A.; MASTERSON, T. A. Penile cancer epidemiology and risk factors: a contemporary review. **Curr Opin Urol**, v. 2, n. 29, p. 145–149, 2019.
- EDGE, S. B. et al. **7th ed 2010 AJCC Cancer Staging Manual Seventh Edition**. [s.l.] Springer International Publishing, 2010.
- FAVORITO, L. A. et al. Epidemiologic study on penile cancer in Brazil. **International Braz J Urol**, v. 34, n. 5, p. 587–593, 2008.
- FERRAZ, L. D. C.; SANTOS, A. B. R.; DISCACCIATI, M. G. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. **J Health Sci Inst.**, v. 30, n. 2, p. 107–111, 2012.
- FIGUEIRÓ, L. R.; ZIULKOSKI, A. L.; DANTAS, D. C. M. Thirdhand smoke: When the danger is more than you can see or smell. **Cadernos de Saude Publica**, v. 32, n. 11, p. 1–13, 2016.
- FIRIGATO, I. et al. How many copies of GSTM1 and GSTT1 are associated with head and neck cancer risk? **Biomarkers**, p. 1–6, 2018.
- 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.
- GATTÁS, G. J. F. et al. Ethnicity and glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) polymorphisms in a Brazilian population. **Brazilian Journal**

- of **Medical and Biological Research**, v. 37, n. 4, p. 451–458, 2004.
- GEHM, P. M. **Tratado de oncologia**. São Paulo-SP: Atheneu, 2013. v. 53
- GOTTLIEB, J. et al. Smoking-related Genitourinary Cancers : Cessation. **Reviews in Urology**, v. 18, n. 4, p. 194–204, 2016.
- HALTY, L. S. et al. Análise da utilização do Questionário de Tolerância de Fagerström (QTF) como instrumento de medida da dependência nicotínica. **Jornal de Pneumologia**, v. 28, n. 4, p. 180–186, 2002.
- HARISH, K.; RAVI, R. The role of tobacco in penile carcinoma. **Br J Urol**, v. 75, n. 3, p. 375–377, 1995.
- HELLBERG, D. et al. Penile cancer: is there an epidemiological role for smoking and sexual behaviour? **British medical journal (Clinical research ed.)**, v. 295, n. 6609, p. 1306–1308, nov. 1987.
- HÖLTERS, S. et al. Challenging the prognostic impact of the new WHO and TNM classifications with special emphasis on HPV status in penile carcinoma. **Virchows Archiv**, v. 475, n. 2, p. 211–221, 2019.
- INSTITUTO NACIONAL DE CANCER. Programa Nacional de Controle do Tabagismo. **Educacao E Concientizacao**, 2018.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Tabagismo Passivo**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tabagismo/tabagismo-passivo>>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Pesquisa Especial de Tabagismo PETab: relatório Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Maranhão**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/onde-tratar-pelo-sus/maranhao>>. Acesso em: 13 dez. 2019.
- JACKSON, S. M. The treatment of carcinoma of the penis. **Gazzetta internazionale di medicina e chirurgia**, v. 67, n. 1951, p. 2634–2649, 1962.
- KRISTIANSEN, S. et al. Risk factors for penile intraepithelial neoplasia: A population-based register study in Sweden, 2000–2012. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 99, n. 3, p. 315–320, 2019.
- KRÜGER, M. et al. The impact of GSTM1/GSTT1 polymorphism for the risk of oral cancer. **Clinical Oral Investigations**, v. 19, n. 8, p. 1791–1797, 2015.
- LEME, C. V. D. et al. Análise dos genes GSTM1 e GSTT1 em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. **Revista da Associacao Medica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 299–303, 2010.
- MADEN, C. et al. History of circumcision, medical conditions, and sexual activity and risk of penile cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 85, n. 1, p. 19–24, 1993a.
- MADEN, C. et al. History of circumcision, medical conditions, and sexual activity and risk of penile cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 85, n. 1, p. 19–24, jan. 1993b.
- MATEJCIC, M.; GUNTER, M. J.; FERRARI, P. Alcohol metabolism and oesophageal cancer: A systematic review of the evidence. **Carcinogenesis**, v. 38, n. 9, p. 859–872, 2017.
- MEDEIROS JR, P. F. DE M. et al. Increased Risk of Penile Cancer among Men Working in Agriculture. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 19, n. 1, p. 237–241,

2017.

MENESES-GAYA, I. C. DE et al. As propriedades psicométricas do Teste de Fagerström para Dependência de Nicotina. **J Bras Pneumol**, v. 35, n. 1, p. 73–82, 2009.

MOORE, T. O. et al. Human papillomavirus, smoking, and cancer. **Journal of cutaneous medicine and surgery**, v. 5, n. 4, p. 323–328, 2001.

OLIVEIRA, P. A. et al. The N-butyl-N-4-hydroxybutyl Nitrosamine Mouse Urinary Bladder Cancer Model. In: **Urothelial Carcinoma: Methods and Protocols**. [s.l.] Springer science+business media, 2018. v. 1655p. 145–153.

PAHWA, M. et al. Penile cancer in India: a clinicoepidemiological study. **The Gulf journal of oncology**, n. 12, p. 7–10, 2012.

PALMA, S. et al. Interaction between glutathione-S-transferase polymorphisms, smoking habit, and HPV infection in cervical cancer risk. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 136, n. 7, p. 1101–1109, 2010.

PAUMGARTTEN, F. J. R.; GOMES-CARNEIRO, M. R.; OLIVEIRA, A. C. A. X. DE. O impacto dos aditivos do tabaco na toxicidade da fumaça do cigarro: Uma avaliação crítica dos estudos patrocinados pela indústria do fumo. **Cadernos de Saude Publica**, v. 33, p. 1–24, 2017.

PINHEIRO, D. **Avaliação Do Polimorfismo De Deleção De Gstm1 Na Susceptibilidade Ao Diabetes Mellitus Tipo 2**. [s.l.: s.n.].

PIZZOCARO, G. et al. EAU penile cancer guidelines 2009. **European urology**, v. 57, n. 6, p. 1002–1012, 2010.

POMPEO, A. et al. **Projeto Diretrizes Carcinoma do Pênis - Parte I**. [s.l.: s.n.].

PORTH, C. M. **Fisiopatologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2010.

POW-SANG, M. R. et al. Epidemiology and Natural History of Penile Cancer. **Urology**, v. 76, n. 2, p. S2–S6, 2010.

PRASAD, S.; GUPTA, S. C.; TYAGI, A. K. Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. **Cancer Letters**, v. 387, p. 95–105, 2017.

PROTZEL, C.; SPIESS, P. E. Molecular research in penile cancer-lessons learned from the past and bright horizons of the future? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 10, p. 19494–19505, 2013.

RAMÍREZ, N. et al. Exposure to nitrosamines in thirdhand tobacco smoke increases cancer risk in non-smokers. **Environment International**, v. 71, p. 139–147, 2014.

REIS, A. A. DA S. et al. Aspectos clínico-epidemiológicos associados ao câncer de pênis. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 15, n. SUPPL. 1, p. 1105–1111, 2010.

RIVERA, C. Essentials of oral cancer. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 8, n. 9, p. 11884–11894, 2015.

ROSEMBERG, J. **Nicotina: Droga Universal**. São Paulo: SES/CVE, 2003.

SANNER, T.; GRIMSRUD, T. K. Nicotine: Carcinogenicity and effects on response to cancer treatment - a review. **Frontiers in Oncology**, v. 5, n. Aug, p. 1–10, 2015.

SANTOS, J. D. P. DOS et al. Instrumentos para avaliação do tabagismo: Uma revisão sistemática. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 16, n. 12,

p. 4707–4720, 2011.

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. 467–474, 2008.

SICHERO, L. et al. High genital prevalence of cutaneous human papillomavirus DNA on male genital skin: The HPV infection in men study. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 1–9, 2014.

SICHERO, L.; GIULIANO, A. R.; VILLA, L. L. Human Papillomavirus and Genital Disease in Men: What We Have Learned from the HIM Study. **Acta Cytologica**, v. 63, n. 2, p. 109–117, 2019.

SINGH, S. Cytoprotective and regulatory functions of glutathione S-transferases in cancer cell proliferation and cell death. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 75, n. 1, p. 1–15, 2015.

SLATON, J. W. et al. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: Independent prognosticators for inguinal lymph node metastasis in penile squamous cancer. **Journal of Urology**, v. 165, n. 4, p. 1138–1142, 2001.

SPRIGGS, C. C.; LAIMINS, L. A. Human papillomavirus and the DNA damage response: Exploiting host repair pathways for viral replication. **Viruses**, v. 9, n. 8, 2017.

STRATTON, K. L.; CULKIN, D. J. A Contemporary Review of HPV and Penile Cancer. **Oncology**, v. 30, n. 3, p. 245–249, 2016.

THIELEN, A.; KLUS, H.; MÜLLER, L. Tobacco smoke: Unraveling a controversial subject. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 60, n. 2–3, p.

141–156, 2008.

TORBRAND, C. et al. Socioeconomic factors and penile cancer risk and mortality: a population-based study. **BJUI**, n. 119, p. 254–260, 2017.

TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D.; CHASE, F. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. **Oncogene**, v. 22, n. 47, p. 7369–7375, 2003.

TSEN, H. F. et al. Risk factors for penile cancer: results of a population-based case-control study in Los Angeles County (United States). **Cancer causes & control : CCC**, v. 12, n. 3, p. 267–277, abr. 2001.

VALENTE, D. et al. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 42, n. suppl 1, p. 1–21, 2017.

VELAZQUEZ, E. F. et al. Histologic grade and perineural invasion are more important than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 32, n. 7, p. 974–979, 2008.

WANG, H. et al. Glutathione S-Transferase Gene Polymorphisms are Associated with an Improved Treatment Response to Cisplatin-Based Chemotherapy in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Meta-Analysis. **Med Sci Monit**, v. 24, p. 7482–7492, 2018.

WANICK, F. B. F. et al. Carcinoma epidermoide do pênis: Estudo clínico-patológico de 34 casos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n.

6, p. 1082–1091, 2011.

WEN, S. et al. Prognostic factors in patients with penile cancer after surgical management. **World Journal of Urology**, v. 36, n. 3, p. 435–440, 2018.

WOODMAN, C. B. J.; COLLINS, S. I.; YOUNG, L. S. The natural history of cervical HPV infection: Unresolved issues. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 1, p. 11–22, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO report on the global tobacco epidemic, 2015: Raising taxes on tobacco. **World Health Organization**, p. 1–103, 2015.

YU, C. et al. GSTM1 and GSTT1

polymorphisms are associated with increased bladder cancer risk: Evidence from updated meta-analysis.

**Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 3246–3258, 2017a.

YU, C. et al. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms are associated with increased bladder cancer risk: Evidence from updated meta-analysis.

**Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 3246–3258, 2017b.

ZHANG, L. et al. Familial Clustering, Second Primary Cancers and Causes of Death in Penile, Vulvar and Vaginal Cancers. **Sci Rep**, v. 9, n. 1, p. 11804, 2019.