



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO**



**ASSOCIAÇÃO DO PERFIL INFLAMATÓRIO INFILTRADO NO CÂNCER PENIANO
COM FATORES DE RISCO: POTENCIAL COMO MARCADOR DE PROGNÓSTICO**

BIANCA LIMA DUARTE

**SÃO LUÍS
2024**

BIANCA LIMA DUARTE

**ASSOCIAÇÃO DO PERFIL INFLAMATÓRIO INFILTRADO NO CÂNCER PENIANO
COM FATORES DE RISCO: POTENCIAL COMO MARCADOR DE PROGNÓSTICO**

Caderno de dissertação apresentado ao Programa de Mestrado em Ciências da Saúde pela Universidade Federal do Maranhão.

Orientador (a): Prof. Dr. Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos

Coorientador (es): Dr. André Alvares Marques Vale e Dr. Rui Miguel Gil Costa Oliveira

SÃO LUÍS
2024

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

Lima Duarte, Bianca.

Associação do Perfil Inflamatório Infiltrado No Câncer Peniano Com Fatores de Risco: Potencial Como Marcador de Prognóstico / Bianca Lima Duarte. - 2024.

70 p.

Coorientador(a) 1: André Alvares Marques Vale.

Coorientador(a) 2: Rui Miguel Gil Costa Oliveira.

Orientador(a): Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2024.

1. Inflamação. 2. Infiltrado Tumoral. 3. Papilomavírus Humano. 4. Câncer Geniturinário. 5. . I. Alvares Marques Vale, André. II. Gil Costa Oliveira, Rui Miguel. III. Silva de Azevedo dos Santos, Ana Paula. IV.

BIANCA LIMA DUARTE

**ASSOCIAÇÃO DO PERFIL INFLAMATÓRIO INFILTRADO NO CÂNCER PENIANO
COM FATORES DE RISCO: POTENCIAL COMO MARCADOR DE PROGNÓSTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal do
Maranhão, como requisito à obtenção do título de
Mestre.

A Banca Examinadora da Defesa de Mestrado apresentada em sessão pública
considerou a candidata aprovada em: 23/ 05/ 2024.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos (Orientadora)
Doutorado em Imunologia - USP
Universidade Federal do Maranhão

Prof^a. Dr^a. Haissa Oliveira Brito (1^o Examinador)
Doutorado em Farmacologia – UFPR
Universidade Federal do Maranhão

Prof^a. Dr^a. Melaine Mont’Alverne Lawall Silva (2^o Examinador)
Doutorado em Patologia Bucal – USP
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Paulo Vitor Soeiro Pereira (3^o Examinador)
Doutorado em Ciências (Imunologia) – USP
Universidade Federal do Maranhão

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me sustentado durante todo esse período, por ter me dado saúde, e ter colocado pessoas incríveis durante todo o meu caminhar, graças a ele pude manter a serenidade durante momentos de aflições e incertezas.

Aos meus pais, que me apoiaram na medida do possível, obrigada pelas palavras e por sempre acreditarem no meu potencial e fazer o que estava ao alcance de vocês para me ajudar. Aos meus irmãos, Bruno, Fran e Amanda que sempre acreditaram em mim e no quão capaz eu era e me deram uma palavra de amor em momentos de aflições, ao meu namorado Janeson que sempre me incentivou em tudo, sempre teve a certeza que eu conseguiria e daria o meu melhor em tudo que eu decidisse fazer, sendo o meu maior incentivador. E também aos meus cunhados Yeshua, Yasmin e Bruno por todo o incentivo e parceria, obrigada família amo vocês mais que tudo.

À minha orientadora querida, pela paciência, oportunidade, e muitas vezes tirar do seu tempo precioso para trazer algum ensinamento importante, agradeço a Deus pela vida dela e por fazer se tornar essa educadora e líder de excelência, tenho muito orgulho e carinho em dizer que fui sua orientanda. Obrigada por sempre pegar na minha mão quando não conseguia fazer algo e por me mostrar como trabalhar com responsabilidade, caráter e respeito com quem nos rodeia.

Ao meu co-orientador André, que esteve comigo em todos os momentos dessa minha curta caminhada da pesquisa científica, você sempre acreditou em mim e obrigada por isso. Obrigada por muitas vezes ter separado um tempo pra me ajudar e me ensinar mesmo nos finais de semana, obrigada até pelas ameaças de jogar bolinha de papel em mim, sei que só queria que eu mesma visse o meu potencial, que muitas vezes achava que só você via. Agradeço pelas trocas de conhecimento e como fazer ciência, você é incrível, muito da minha serenidade aprendi com você, obrigadão.

Ao meu segundo co-orientador Rui, que sempre se dispôs a me ensinar algo e meu maior incentivador também, mesmo fazendo parte desse grande time na reta final, já no último ano de mestrado, sem o senhor, não daria tão certo como deu, obrigada pelo seu conhecimento e paciência comigo. Por disponibilizar o seu laboratório para fazer uma parte dos meus experimentos e por muitas vezes acender uma luz no fim do túnel.

Aos meus amigos e colegas de profissão do LIAC que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho. Gratidão eterna a Sulayne e Mirtes que muitas vezes estenderam a mão, para me ensinar o funcionamento do laboratório e dos experimentos. Por serem também grandes amigas, me ensinaram tudo que precisava saber antes de cada uma seguir o seu caminho profissional, vocês sempre estarão guardadas no meu coração estando em São Luís ou não serei eternamente grata.

Agradecer a Marta que na reta final me ajudou bastante a completar alguns dados importantes da pesquisa, você foi uma grande dádiva e alegria pra mim nessa reta final, obrigada por me oferecer e compartilhar com tanto carinho o seu conhecimento.

Aos meus queridos alunos de iniciação científica Sofia, Gabriel, Gustavo e Sarah, obrigada pela caminhada vocês tornaram as minhas quartas mais felizes desejo muito sucesso a vocês e obrigada a todos os meus colegas de laboratório.

Aos meus colegas de turma do programa que dividiram comigo momentos de descobertas, medos e questionamentos, em especial a Aninha (Ana Luiza), que além de colega de turma e laboratório, se tornou uma grande amiga e irmã, muito obrigada pela caminhada, por me ensinar tanto, por me apresentar a sua mãe incrível (tia Ana a senhora também faz muita parte disso, lhe amo muito), obrigada por me ensinar ser ufmista, pelas caronas, até por me ensinar como ir almoçar no (RU) sem você não sei se conseguiria chegar até o final, você deixou a minha caminhada um pouco mais leve. Obrigada por muitas vezes ser minha psicóloga e por estar lá em meus momentos vulneráveis. Nunca vou esquecer o que fez por mim, te admiro e te acho uma pessoa, profissional e cientista incrível.

As minhas amigas, Ana Selma, Vivi, Leticia, Yasmin, Gabi, Kyky e Daiane que tanto me apoiaram, encorajaram, separaram um tempo pra me dizer uma palavra de conforto, um abraço caloroso, alguns momentos de descontração e se importaram comigo. Nos meus momentos mais difíceis, ansiosos, desesperadores e vulneráveis vocês me deram a força e o apoio que eu precisava para continuar, não podendo esquecer o Doramelizando, Ester amiga obrigada pela ideia e por me fazer encontrar as pessoas que me ajudariam tanto como nunca antes. Obrigada por tudo, eu amo muito vocês meninas.

A todos os professores e colaboradores do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFMA, agradeço os ensinamentos e sugestões que permitiram que este projeto fosse executado. À todos os servidores em especial dona Sônia pela companhia e bom humor, dona Dica por me alimentar algumas vezes e por sempre me receber com tanto carinho e amor, seu Josuel por sempre ter uma palavra positiva, por ser sempre prestativo e sempre ser nosso maior incentivador e também aos alunos do Prédio de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde da UFMA, por todo o comprometimento, amizade e dedicação.

Aos laboratórios LABGEM, BIOANÁLISES, LPI, LEFISIO pela infraestrutura, mantimentos, companheirismo e aprendizado. Também a minha grande amiga Dr^a Amanda Jordão e o Dr^o Valden Monteles por todo o acolhimento, boa vontade de ensinar e por me fazer sentir sempre bem vinda, ao centro cirúrgico do Hospital Aldenora Bello ao acompanhar as suas cirurgias e se dispuserem sempre a ajudar na pesquisa científica do estado. E a Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA, pelo auxílio financeiro durante todo o período do mestrado.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Câncer: Aspectos Gerais	14
2.2 Epidemiologia.....	15
2.3 Paradoxo Da Inflamação No Câncer: Fisiologia Versus Patologia	17
2.4 Câncer De Pênis (Ccep).....	19
2.4.2 Inflamação No Câncer De Pênis	20
2.4.3 Fatores De Risco Para Ccep.....	21
2.4.4 Retrospectiva Da Classificação Clínica	23
2.4.5 Anatomia E Subtipo Histológico Do Câncer Peniano	26
2.4.6 Prognóstico E Diagnóstico Do Ccep.....	27
2.4.7 Tratamento Do Ccep	28
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3.2.1 Levantar Os Aspectos Sociodemográficos Dos Pacientes Arrolados No Estudo	29
3.2.2 Descrever O Perfil Clínico E Histológico Dos Pacientes Com CCEP	29
3.2.3 Determinar Os Tipos Leucocitários Infiltrados No Tecido Tumoral De CCEP.	29
3.2.4 Correlacionar Dados Clínicos Com Os Tipos De Infiltrados Leucocitários Presentes.....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Amostra	30
4.2 Desenho Experimental	31
4.3 Preparação Histopatológica.....	31
4.3.1 Produção Dos Blocos De Parafina	31
4.3.2 Produção Das Lâminas E Coloração Hematoxilina-Eosina.....	32
4.4 Análise Do Escore E Obtenção De Imagens.....	32
4.5 Forma De Análise Dos Dados.....	33
a) Categorização E Correlação De Spearman	33
b) Agrupamento De Variáveis.....	33
c) Análise Da Área Do Infiltrado Estromal.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Aspectos Sociodemográficos Dos Pacientes Com Câncer Peniano.....	35
5.2 Aspectos Histológicos Das Amostras Tumorais	40
5.3 Correlações Dos Parâmetros Histológicos E Clínicos	44
6 CONCLUSÃO.....	51
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
8 ANEXOS	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AJCC	Comitê Junta Americano no Câncer traduzido do inglês <i>American Joint Committee on Cancer</i>
APCs	Células Apresentadoras de Antígenos traduzido do inglês <i>Antigen Presenting Cells</i>
CCEP	Carcinoma de Células Escamosas de Penis
COX	Ciclooxigenase
N/L	Neutrófilos por Leucócitos
DAMPS	Padrão Molecular Associado ao Dano
DNA	Ácido Desoxirribonucleico traduzido do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EUA	Estados Unidos da América
HPV	Papiloma Vírus Humano traduzido do inglês <i>Human Papiloma Vírus</i>
IARC	Agência Internacional de Pesquisas do Câncer
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IFN- γ	Interferons (Glicoproteínas Naturais De Sinalização Celular)
IHQ	Imunohistoquímica
ISTs	Infecções Sexualmente Transmissíveis
MAT	Microambiente Tumoral
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade traduzido do inglês <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MNP-9	Enzimas Manganês Peroxidase traduzido do inglês <i>Manganese Peroxidase Enzymes</i>
MO-DCs	Células Dendríticas derivadas de Monócitos traduzido do inglês <i>Monocyte- Dendritic Cells</i>
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B Traduzido do inglês <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NK	Células Assassinas Naturais traduzido do inglês <i>Natural Killer</i>
NLR	Taxa de neutrófilos por linfócitos traduzido do inglês <i>neutrophil lymphocyte ratio</i>
OMS	Organização Mundial Da Saúde
PAMPs	Padrão Molecular Associado ao Patógeno
STAT3	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 traduzido do inglês <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF-β	Fator de Transformação do Crescimento Beta traduzido do inglês <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TLN	Tampão de Lise Nuclear
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa traduzido do inglês <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNM	Tumor - Nódulo - Metástase
Tregs	Linfócitos T Regulatórios
UICC	União Internacional de Controle de Câncer traduzido do inglês <i>Union for International Cancer Control</i>
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular traduzido do inglês <i>Vascular endothelial growth factor</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sistema de estadiamento TNM – Carcinoma Epidermoide de Pênis.....	24
Tabela 2. Características e dados sociodemográficas dos pacientes diagnosticados com carcinoma peniano.....	35
Tabela 3. Localização demográfica de pacientes com carcinoma de penis inclusos no estudo da região metropolitana da Grande São Luís e baixada Maranhense.....	36
Tabela 4. Perfil clínico e histológico de pacientes com carcinoma de células escamosas (CCEP) do pênis.....	37

LISTA DE FIGURAS

Figure 1. Fases da carcinogênese: o estágio inicial, promoção, progressão e metástase..	14
Figure 2. Estimativa global de casos incidentes de câncer no mundo, com foco na população masculina de todas as idades (excluindo câncer de pele não melanoma). Fonte: International Agency for Research on Cancer (IARC), 2024.....	16
Figure 3. Classificação de Jackson.....	23
Figure 4. Classificação de Gleason em pacientes com câncer de pênis. Fonte: Instituto Próstata.....	25
Figure 5. Fluxograma do carcinoma de células escamosas, com os subtipos mais frequentes e suas características morfológicas (SHANKAR et al., 2016; CHAUX et al., 2010).....	27
Figure 6. Fluxograma com o passo a passo do desenvolvimento dos experimentos.....	31
Figure 7. Infiltrado inflamatório em carcinoma escamoso de penis - aumento 40x, coloração H&E. (A) Apresenta coilocitose e células tumorais, (B) coilocitos e perolas corneas características de carcinomas.....	40
Figure 8. Lamina objetiva de 400x, coloração H&E. Apresenta intenso infiltrado leucocitário, células tumorais com núcleos aberrantes, irrigação sanguínea.	41
Figure 9. Valor médio da contagem diferencial de leucócitos/campo de cada amostra de tecido tumoral de câncer peniano	42
Figure 10. Numero de células da contagem diferencial de leucócitos/campo de cada amostra de tecido tumoral de câncer peniano.	43
Figure 11. A tabela apresenta os coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas.....	44
Figure 12. A tabela apresenta os valores de p associados aos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas.....	45
Figure 13. A figura apresenta os valores de r e p associados aos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas. a.	46
Figure 14. A figura apresenta os valores de r e p associados aos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas.....	47
Figure 15. As variáveis numéricas foram agrupadas com base em sua associação com diferentes variáveis categóricas ou em relação a variáveis transformadas.....	48
Figure 16. Gráficos referentes aos dados do infiltrado estromal dos tumores analisados de 7 pacientes.....	49

Figure 17. Esquema ilustrativo da relação dos fatores de risco na modulação inflamatória para um infiltrado de células da imunidade inata, aumentando a presença de neutrófilos em relação aos linfócitos, favorecendo o microambiente tumoral. Fonte: Próprio autor com auxílio do software BioRender.....50

RESUMO

O câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, manifestando-se de forma rara no contexto do câncer peniano em países desenvolvidos, mas apresentando elevada incidência em países em desenvolvimento, incluindo o Brasil. No território brasileiro o câncer peniano também apresenta uma distribuição polarizada, com maiores incidências nas regiões norte e nordeste, destacando o estado do Maranhão. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar o perfil de células imunes infiltradas no carcinoma peniano como um possível marcador de diagnóstico e/ou prognóstico em pacientes atendidos no hospital de referência do Maranhão. Para tal, foram coletados os dados sócio-demográficos e clínicos do prontuário e um fragmento da peça anatomopatológica fixado em formol tamponado, para processamento histológico, os scores foram feitos em contagem diferencial de três campos aleatórios analisados, para as análises de dados e foram aplicados os testes one-way ANOVA, tendo o valor de $p < 0,05$ sendo considerado estatisticamente significativo. Os resultados sócio-demográficos mostraram um perfil de pacientes residentes principalmente na mesorregião norte maranhense, apontando os fatores de risco como baixa condição socioeconômica, baixa escolaridade, presença de fimose e infecção pelo HPV. Nas análises histopatológicas, 87,5% das amostras apresentaram infiltrados leucocitários, caracterizando o câncer peniano como inflamatório, foi observada 68,7% de alterações celulares característica do HPV (Coilocitose). As análises de correlação associaram os subtipos histológicos, alguns fatores de risco como a presença de fimose, idade, tabagismo, etilismo, e estadiamento mais avançado da doença. Alteração celular sugestivas da infecção pelo HPV está associada à carcinogênese e à formação do infiltrado leucocitário, que sugere uma modulação da resposta imune no microambiente, tendo um pior prognóstico. Desta forma, o presente trabalho mostra que o perfil dos pacientes diagnosticados com câncer peniano no Maranhão converge com dados descritos na literatura sobre as características clínicas e sociodemográficas da doença, correlaciona os fatores de risco como a idade mais avançada, a presença de fimose nesses pacientes, um contato prévio com o HPV com pior estadiamento da doença, sugerindo a indução de um processo inflamatório favorável do microambiente tumoral.

PALAVRAS-CHAVE: Inflamação; Infiltrado tumoral; Papilomavírus Humano; Câncer geniturinário.

ABSTRACT

Cancer is the second leading cause of death in the world, rarely occurring in the context of penile cancer in developed countries, but with a high incidence in developing countries, including Brazil. In Brazil, penile cancer also has a polarized distribution, with higher incidences in the north and northeast regions, especially in the state of Maranhão. The objective of this study was to characterize the profile of immune cells infiltrated in penile carcinoma as a possible marker of diagnosis and/or prognosis in patients treated at the referral hospital in Maranhão. To this end, sociodemographic and clinical data were collected from medical records and a fragment of the anatomopathological specimen fixed in buffered formalin for histological processing. Scores were calculated by differential counting of three random fields analyzed for data analysis and one-way ANOVA tests were applied, with a p-value <0.05 being considered statistically significant. The sociodemographic results showed a profile of patients residing mainly in the northern mesoregion of Maranhão, indicating risk factors such as low socioeconomic status, low education, presence of phimosis and HPV infection. In the histopathological analyses, 87.5% of the samples presented leukocyte infiltrates, characterizing penile cancer as inflammatory, and 68.7% of cellular alterations characteristic of HPV (koilocytosis) were observed. The correlation analyses associated the histological subtypes, some risk factors such as the presence of phimosis, age, smoking, alcoholism, and more advanced staging of the disease. Cellular alterations suggestive of HPV infection are associated with carcinogenesis and the formation of leukocyte infiltrate, which suggests a modulation of the immune response in the microenvironment, having a worse prognosis. Thus, the present study shows that the profile of patients diagnosed with penile cancer in Maranhão converges with data described in the literature on the clinical and sociodemographic characteristics of the disease, correlating risk factors such as older age, the presence of phimosis in these patients, and previous contact with HPV with worse staging of the disease, suggesting the induction of a favorable inflammatory process in the tumor microenvironment.

KEYWORDS: Inflammation; Tumor infiltrate; Human papillomavirus; Genitourinary cancer.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais causas de morbi-mortalidade global, com milhões de novos casos e óbitos registrados anualmente. A incidência mundial aponta para cerca de 20 milhões de novos casos e 9,9 milhões de mortes em 2020, sendo notável que 70% delas ocorrem em países de baixa e média renda (OMS, 2020; FERLAY, 2020). Dentre os diversos tipos de câncer, o carcinoma de células escamosas de pênis (CCEP) é uma neoplasia rara em países desenvolvidos, com maior incidência em países subdesenvolvidos (TORBRAND *et al.*, 2017). Embora afete principalmente homens com mais de 50 anos, também pode ocorrer em indivíduos mais jovens (MACEDO *et al.*, 2020). No Brasil, o CCEP representa 2% de todos os cânceres que acometem os homens, sendo mais frequente nas regiões Norte e Nordeste (INCA, 2021).

Os fatores de risco associados ao CCEP incluem baixas condições socioeconômicas e de instrução, má higiene íntima, estreitamento do prepúcio e a não realização da circuncisão (HAKENBERG *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2020). Além disso, a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) também está relacionada ao desenvolvimento dessa doença (MORRIS; KRIEGER, 2017).

Trabalhos desenvolvidos pelo grupo de pesquisa de câncer de penis, mostraram que alterações genéticas em amostras de câncer peniano estão relacionadas a maior expressão de genes associados à inflamação, como o PTG52 que codificam a enzima ciclococigenase-2 encontrado em altas concentrações nas inflamações em sítios de integração do HPV (MENDES *et al.*, 2017) e também que ao abordar o sequenciamento completo do exoma do carcinoma espinocelular do pênis, associando e mostrando as vias moleculares do HPV, estão diretamente ligadas com o impacto substancial na iniciação, desenvolvimento e resposta ao tratamento do câncer de penis (CANTO LM *et al.*, 2022).

Estudos investigaram os padrões imunológicos em tumores de CCEP, uma vez que a resposta imune desempenha um papel crucial na carcinogênese desencadeada por processos que incluem: 1) o reconhecimento contínuo de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) e patógenos (PAMPs); 2) a produção persistente de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que causam danos ao DNA; 3) a liberação contínua de mediadores inflamatórios como prostaglandinas e leucotrienos, e a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, desregulando a resposta imune efetiva (HUYNH *et al.*, 2019). E para o prognóstico desses pacientes, alguns componentes da resposta imune podem promover informações importantes

para a compreensão de mecanismos celulares envolvidos no microambiente tumoral (CZAJKOWSKI *et al.*, 2023).

No contexto mencionado, nossa pesquisa teve como objetivo investigar o perfil imunológico presente no infiltrado em amostras de CCEP em pacientes do estado do Maranhão. A hipótese subjacente (implícita) é que o tipo de infiltrado de células imunes no câncer peniano influencia o desenvolvimento da doença sendo um parâmetro para diagnóstico e prognóstico.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CÂNCER: ASPECTOS GERAIS

O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado e anormal de células no corpo (WHO, 2022). Estas células cancerosas têm a capacidade de invadir tecidos saudáveis circundantes e, em estágios avançados, podem se espalhar para outras partes do corpo através do processo de metástase. Sendo esse processo uma das principais causas de morte associada às neoplasias malignas (FARES *et al.*, 2020).

O câncer pode surgir em praticamente qualquer tecido ou órgão do corpo humano e é frequentemente impulsionado por mutações genéticas que afetam o ciclo celular normal (MATTHEWS; BERTOLI; DE BRUIN, 2022). Os processos mutacionais são o primeiro passo para a carcinogênese, ou processo de formação do câncer. A carcinogênese é um processo complexo dividido em três etapas distintas (Figura 1): iniciação, promoção e progressão (KULESZ-MARTIN *et al.*, 2018).

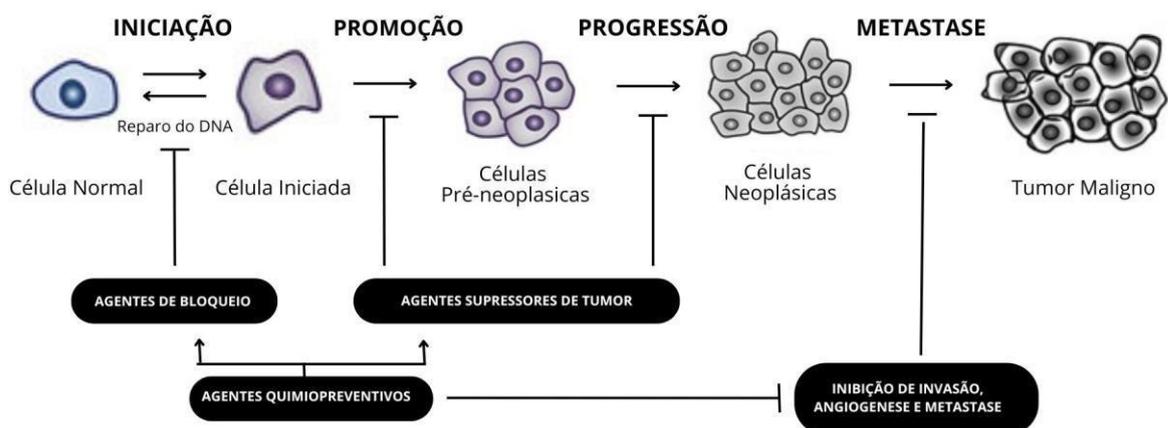


Figura 1. Fases da carcinogênese: o estágio inicial, promoção, progressão e metástase. (A) A iniciação envolve a alteração, mudança, ou mutação de genes que surge espontaneamente ou induzida pela exposição a um agente cancerígeno. (B) A fase de promoção é considerada um processo relativamente demorado e reversível no qual proliferam ativamente células pré-neoplásicas. (C) A progressão é o estágio final da transformação neoplásica, onde ocorrem alterações genéticas e fenotípicas e proliferação celular. (D) A metástase envolve a disseminação de células cancerígenas do local primário para outras partes do corpo através da corrente sanguínea ou do sistema linfático (Modificado do SMITH *et al.*, 2021).

Na iniciação, uma célula normal adquire mutações genéticas, transformando-se em uma célula pré-cancerígena (BARNES *et al.*, 2018). Nesta fase, os principais genes que desempenham papéis cruciais são proto-oncogenes e genes supressores de tumor (KONTOMANOLIS *et al.*, 2020). Os proto-oncogenes são genes normais que regulam o crescimento celular e a diferenciação. Quando mutações de ganho de função ocorrem nesses genes, transformam-se em oncogenes, estimulando de maneira descontrolada o crescimento celular e inibindo a morte celular programada, denominada apoptose (BATRA *et al.*, 2021).

Por outro lado, os genes supressores de tumor normalmente funcionam como inibidores do crescimento celular, impedindo a divisão celular descontrolada e ativando genes de reparo do DNA. Mutações nesses genes podem desativar esses mecanismos de controle, permitindo que as células se dividam sem restrições, levando à formação de tumores cancerígenos (WANG *et al.*, 2019).

Durante a fase de promoção, fatores como hormônios ou substâncias químicas estimulam o crescimento dessas células, levando à formação de tumores iniciais (NEAGU *et al.*, 2016). Na etapa de progressão, as células neoplásicas ganham a capacidade de invadir tecidos circundantes e se espalhar para outras partes do corpo, formando metástases (HYNDMAN, 2016).

Assim, o processo de transformação maligna permite a aquisição de características únicas das células transformadas ao longo de um processo de seleção (GREAVES, 2015). Essas características adquiridas ao longo do processo foram coletivamente denominadas de “*hallmark*” do câncer, e corresponde às características fundamentais que são comuns na maioria dos tipos de câncer (WEINBERG *et al.*, 2000). Estas características incluem: resistência à morte celular programada (apoptose), capacidade de estimular o crescimento de vasos sanguíneos (angiogênese), evasão do sistema imunológico, ativação de sinais de crescimento constantes (sustentabilidade de sinais de crescimento), capacidade de replicação indefinida (imortalidade), resistência a sinais antiproliferativos, reprogramação do metabolismo celular e invasão e metástase a tecidos distantes (HANAHAN; WEINBERG, 2011; HANAHAN, 2022). Compreender essas características é fundamental para a pesquisa e desenvolvimento de terapias eficazes contra o câncer, visando interromper esses processos e combater a progressão da doença.

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Em 2020, foram registrados 19 milhões de novos casos e 9 milhões de mortes globalmente, indicando um aumento significativo em relação a 2018, quando houve 17

milhões de novos casos (OMS, 2020). Notavelmente, 58% desses casos e óbitos ocorreram na Ásia (GLOBOCAN, 2023). Entre a variedade de tumores existentes, os mais prevalentes globalmente incluem câncer de mama, próstata, pulmão, colorretal, cérvix uterino, estômago, fígado, corpo uterino, ovário e tireóide (IARC, 2023).

Especificamente na população masculina, os tumores de pulmão, próstata, colorretal, estômago, fígado e bexiga como demonstra na Figura 2 foram os mais prevalentes na população masculina no ano de 2022 segundo dados da Organização mundial da Saúde (GLOBOCAN, 2024). Em 1999 e 2015, os gastos com tratamento de câncer no Brasil aumentaram de R\$470 milhões para R\$3,3 bilhões (KORKES *et al.*, 2020). Estima-se que o país enfrentará aproximadamente 704 mil novos casos de câncer a cada ano durante o triênio 2023/2025 relacionado a essa alta incidência tem um elevado custo para o manejo dessa doença (INCA, 2024). Nos Estados Unidos, estima-se que os gastos diretos com câncer atingiram 80,2 bilhões de dólares em 2015, aumentando proporcionalmente com a progressão da doença, a duração do tratamento e a tecnologia terapêutica aplicada (AHRQ, 2015).

Taxa bruta por 100.000 habitantes, incidência, homens, em 2022

Países (15 principais locais de câncer)

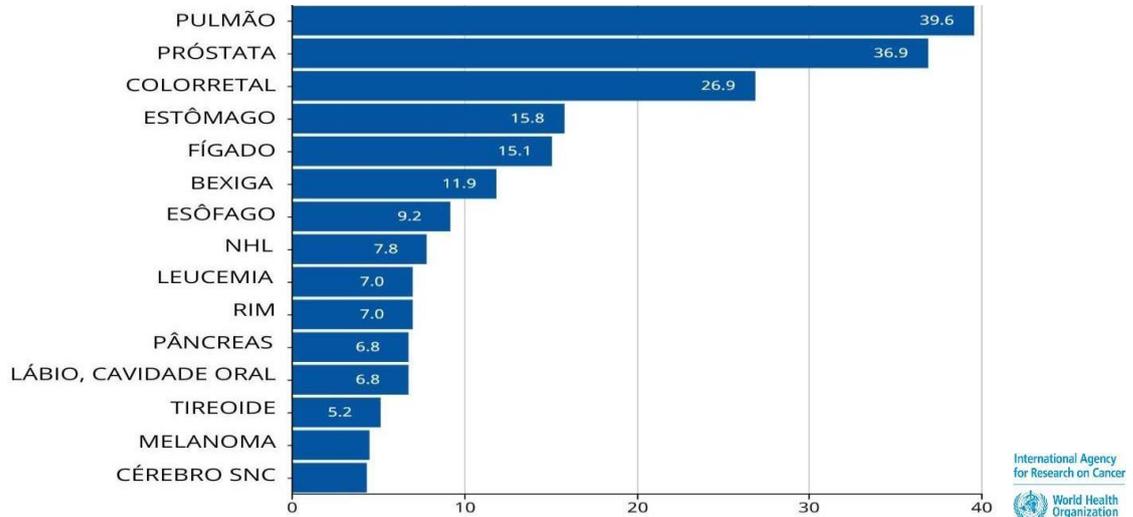


Figura 2. Estimativa global de casos incidentes de câncer no mundo, com foco na população masculina de todas as idades (excluindo câncer de pele não melanoma). Fonte: International Agency for Research on Cancer (IARC), 2024.

No Brasil, o aumento da expectativa de vida está levando a uma modificação no perfil epidemiológico. No entanto, o diagnóstico tardio e a falta de prevenção resultam em um elevado número de casos detectados em estágios avançados, dificultando o tratamento eficaz (KORKES *et al.*, 2020).

Em se tratando de neoplasias, nos sistemas reprodutores observa-se a maior incidência na população feminina devido a lesões no colo do uterino, seguido de corpo uterino e ovário. Entretanto existe uma tendência a queda na incidência dessas lesões devido à implantação de medidas preventivas, detecção precoce por meio de técnicas mais avançadas de rastreio (ROSA LM, *et al.*, 2021). Para a população masculina o câncer de próstata tem sua maior incidência no sudeste do Brasil, tendo como justificativa dessa alta taxa a evolução dos métodos diagnósticos e também o acesso a esse recurso, seguindo do câncer de pênis tendo uma maior frequência no norte e nordeste do país (GONÇALVES, *et al.*, 2008).

Em países em desenvolvimento, onde existem grandes disparidades socioeconômicas na população, fatores externos como infecções virais, especialmente HPV e hepatites B/C, exercem uma forte influência sobre a epidemiologia do câncer (FIDLER; BRAY; SOERJOMATARAM, 2018). Quando combinados com comportamentos prejudiciais à saúde, como tabagismo, obesidade, sedentarismo e consumo excessivo de álcool, esses elementos desempenham um papel significativo na ocorrência das neoplasias (LEWANDOWSKA *et al.*, 2018).

2.3 PARADOXO DA INFLAMAÇÃO NO CÂNCER: FISIOLOGIA VERSUS PATOLOGIA

A associação entre inflamação e câncer não é uma descoberta recente. Em 1863, o patologista alemão Rudolf Carl Virchow (1821-1902), levantou a hipótese de que as células que fugissem da anormalidade (células neoplásicas) poderiam se originar de locais de inflamação crônica, com base na hipótese de que a inflamação potencializa a proliferação celular, aumentando assim o risco de desenvolvimento de tumores (FIGUEIREDO, 2019). A fisiologia sendo uma conjunção de uma funcionalidade do organismo de forma normal, correlacionando a patologia que já é um desvio dessa normalidade, observa-se que a inflamação tem um papel crucial nesse desvio de normalidade, como exemplo a resposta à lesão tecidual que envolve uma complexa rede de sinais químicos que inicia e sustenta a resposta do hospedeiro, visando à cicatrização do tecido afetado, por meio da ativação da imunidade inata e adaptativa (COUSSENS *et al.*, 2002).

A inflamação é caracterizada pela resposta de um organismo lesado ao agente agressor por estímulos e condições nocivas com o objetivo de eliminar a lesão e restaurar a região ao seu estado original. A visão padrão da inflamação como uma reação a uma infecção ou lesão independentemente da causa, a inflamação presumivelmente (DE PAULO *et al.*, 2010). Em uma visão geral, a resposta inflamatória aguda começa logo após a agressão, levando minutos

ou horas e participam do mecanismo de resposta inata, que ativa a adquirida, já a resposta inflamatória crônica ocorre por um período maior levando dias ou até meses, enquanto a agressão não foi eliminada, os mecanismos da imunidade inata estão presentes mas é a resposta adquirida que mantém o processo ao longo do tempo e com isso acaba causando dano ao tecido (GONZÁLEZ-COSTA *et al.*, 2019)

A variedade de células imunes infiltradas no microambiente tumoral vai variar tanto para certos tipos de cânceres, quanto para diferentes pacientes (MONTEIRO *et al.*, 2023). Na imunidade inata, por exemplo, os neutrófilos é o primeiro efetor recrutado da resposta inflamatória aguda, os neutrófilos tem uma capacidade fagocítica que é estimulada pela ligação de seus receptores para opsoninas é um ponto positivo, estudos mostram que os neutrófilos também podem gerar armadilhas extracelulares neutrofílicas (CRUVINEL, *et al.*, 2010). Outro exemplo é monócito que se diferencia em macrófagos nos tecidos, uma vez ativado são a principal fonte de fatores de crescimento e citocinas que afetam algumas células no ambiente tumoral, outra célula imune importante na liberação de mediadores inflamatórios é o mastócito que contém grânulos mediadores de inflamação no seu citoplasma, quando é ativado libera esse fator, com outros de natureza lipídica que serão sintetizados novamente, os mastócitos podem ser detectados em quase todos os tecidos, localizando-se principalmente próximo de vasos sanguíneos onde os mediadores agirão uma vez que forem liberados (COUSSENS *et al.*, 2002).

A imunidade adaptativa é dividida em duas a imunidade humoral, onde vai haver a produção de células B entre elas está o plasmócito e a imunidade mediada por células T, essas células T podem impactar o crescimento do tumor através da estimulação de outras células encontradas no microambiente tumoral (MACHADO, *et al.*, 2004) e delas são formadas os linfócitos T CD4 auxiliares (Helper) que liberam citocinas que ativam grande parte do sistema imunológico adaptativo e não adaptativo durante a infecção e as linfócitos T CD8 que são células T citotóxicas que destroem as células infectadas, liberando enzimas que rompem as membranas celulares e ambos podem ser ativadas por células apresentadoras de antígenos (MESQUITA, *et al.*, 210).

Um marcador inflamatório de grande relevância é a citocina pró-inflamatória fator de necrose tumoral (TNF) podendo agir como promotor de vasodilatação nas células endoteliais, quando liberado em baixas concentrações e secretam um grupo de citocinas (denominada quimiocinas) que tem ação quimiotática em relação aos leucócitos, possibilitando o combate a quadros infecciosos, promovendo o processo inflamatório local (VITALE *et al.*, 2007). Assim como o fator de transformação do crescimento beta 1 (TGF) que vai influenciar de forma positiva e negativa no processo de inflamação, no crescimento celular, sobrevivência,

diferenciação, migração e apoptose (FIGUEIREDO, 2019). Outro exemplo de marcador inflamatório é a proteína C reativa (PCR) que tem sua participação na defesa em infecções por diversos microrganismos, na reabsorção de material necrótico e na regulação de processos inflamatórios (COLLARES *et al.*, 2006).

Em 2009, Camus *et al.* estabeleceram as três características imunológicas primárias do câncer: “quente, variável e resfriado” que são mais evidentes em cânceres colorretais primários. Levando esta descoberta a um sistema de classificação baseado no equilíbrio entre a evasão tumoral e a coordenação imunológica (CAMUS *et al.*, 2009). Essa classificação facilita o estabelecimento de novas terapias para o tratamento do câncer tendo como exemplo a imunoterapia fazendo com que essa abordagem tenha uma eficácia melhorada, uma vez que as abordagens iniciais para os tratamentos são diferentes para cada tipo de tumor (WANG *et al.*, 2023).

Os cânceres denominados quentes e frios têm características distintas, tumores quentes obtêm uma alta presença de infiltrado leucocitário, incluindo células T CD8. Um ponto importante para esses tumores que expressam células T CD8+ que são específicos para aquele tumor, o mecanismo de ação dos bloqueadores PD-1/PD-L1 é baseado na amplificação de células T CD8+ já preexistentes (GALON *et al.* 2019). Já os tumores variáveis são tumores que estão variando entre quente e frio e os tumores frios (não infiltrados) por outro lado apresentam pouca presença por células T CD8+ e a expressão de PD-L1 é secundária à ativação oncogênica, apresentando baixa carga mutacional na maioria das vezes. Tendo como diferença os tumores quentes e frios se baseado no status das células T citotóxicas dentro dos tumores (DE GUILLEBON *et al.*, 2020).

2.4 CÂNCER DE PÊNIS (CCEP)

2.4.1 EPIDEMIOLOGIA

Embora geralmente afete homens a partir dos 40 anos, há uma tendência crescente de casos em homens mais jovens (MACEDO *et al.*, 2020). O carcinoma de células escamosas de pênis (CCEP) é uma neoplasia agressiva mais prevalente em países em desenvolvimento do que em países desenvolvidos (TORBRAND *et al.*, 2017). A incidência de CCEP é notavelmente alta em países da Ásia, África e América do Sul, contrastando com as taxas mais baixas observadas no Nordeste Europeu e América do Norte (MONTES CARDONA, GARCIA-PERDOMO, 2017).

Na América do Norte, países como Canadá e Estados Unidos exibem taxas de incidência relativamente baixas, registrando 0,57 e 0,50 novos casos de câncer de pênis por

100.000 homens, respectivamente. Em contraste, na América do Sul, países como Santa Lúcia e Paraguai apresentam estimativas mais elevadas, com 3,9 e 3,4 novos casos por 100.000 homens, respectivamente, enquanto o Brasil demonstra uma incidência intermediária, com 1,3 novos casos por 100.000 homens (GLOBOCAN, 2022).

Ao analisar os dados fornecidos pela Agência Internacional de Pesquisas do Câncer (IARC), vinculada à Organização Mundial de Saúde (OMS), observamos que o número estimado de novos casos e mortalidade de CCEP atingiram níveis alarmantes, superando 1500 casos, principalmente na Índia, China e Brasil (GLOBOCAN, 2022). No caso particular do Brasil, a epidemiologia do CCEP ainda não está bem estabelecida. O relatório mais recente faz uma estimativa que varia entre 122,51 a 378,88 novos casos por 100.000 homens de neoplasias, excluindo o câncer de pele não melanoma. Dessas ocorrências, 4.200 novos casos foram registrados somente no Estado do Maranhão (INCA, 2020).

Dados do Sistema de Informação de Mortalidade, no período entre 2009 e 2014, revelaram que mais de 2 mil mortes e aproximadamente 3 mil amputações foram atribuídas ao CCEP no Brasil (GUIMARÃES, 2022). A prevalência desse câncer nas regiões Norte e Nordeste representa 53% do total de casos no país. Além disso, as taxas de incidência variam de 2,1 a 6,1 novos casos a cada 100 mil homens, conforme destacado por estudos anteriores (COUTO *et al.*, 2014). Apenas no estado do Maranhão, a incidência do câncer de pênis foi de 6,15 casos por 100.000 homens. Esses dados colocam o Maranhão como a região com a mais alta incidência no Brasil e possivelmente no mundo (COELHO *et al.*, 2018).

2.4.2 INFLAMAÇÃO NO CÂNCER DE PÊNIS

Para a formação de tumores em diferentes partes do corpo, as estruturas celulares precisam ser perturbadas, enfrentando desafios na própria organização dos tecidos (SALMON *et al.*, 2019). No contexto do câncer peniano, o epitélio queratinizado da glândula e as secreções da uretra atuam como barreiras contra vírus e bactérias, graças ao sistema imune residente, que produz imunoglobulinas A (IgA), IgG, IgM, mucinas, peptídeos antimicrobianos e citocinas como o IFN-gama (LE TORTOREC *et al.*, 2020).

Além disso, os tecidos penianos contêm diversas populações de células imunes, incluindo células B e T, células natural killer (NK), macrófagos residentes e células dendríticas, capazes de produzir citocinas pró e anti-inflamatórias, como IL-17 e IL-22, para regular a resposta tecidual frente a agentes agressores (SENNEPIN *et al.*, 2017).

Quando ocorre um processo inflamatório no pênis, como nas infecções sexualmente transmissíveis (ISTs), as células imunes residentes são ativadas, desencadeando sintomas

como o líquen escleroso, um processo inflamatório inicialmente benigno que pode evoluir para placas escleróticas. Esse fenômeno é associado à carcinogênese peniana, predispondo o tecido à presença de esmegma e infecções crônicas (KULKARNI *et al.*, 2009). Em pacientes com CCEP, esse sintoma foi relatado em 45% dos casos, comparado ao grupo controle (MINHAS *et al.*, 2010).

A relação entre CCEP e inflamação é constante: quando um estímulo desencadeador, como um vírus, é detectado, ocorre a ativação das células e a liberação de citocinas pela imunidade inata, seguida pela ativação da resposta adaptativa. Geralmente, esse processo é suficiente para eliminar o agente perturbador e restaurar a homeostase do tecido. No entanto, se o estímulo persistir por muito tempo, como em infecções crônicas, a resposta imune deixa de ser resolutive, levando a processos que podem promover a carcinogênese (MORRIS; KRIEGER, 2017).

No desenvolvimento do CCEP, a inflamação crônica desempenha um papel crucial. O excesso de ativação do transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (STAT3), importante para a resposta imune, leva à inativação de células natural killer (NK) e linfócitos CD8+, além da diminuição na produção de IL-12 (LEE *et al.*, 2019). A hiperativação do Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B) está relacionada à inativação do perfil Th1 e serve como um fator de sobrevivência para células tumorais (PARK; HONG, 2016). Esses fatores estão diretamente ligados à produção de citocinas como IL-1A, IL-1B, IL-6, INF- γ e TGF- β , bem como à ativação da Ciclooxygenase-2 (COX-2), perpetuando um ciclo inflamatório contínuo (CZAJKOWSKI *et al.*, 2023; HASHEMI GORADEL *et al.*, 2019). Esse padrão imune pode explicar parte do fenótipo de células observado no microambiente do CCEP, onde linfócitos CD8+ são concentrados no estroma junto a uma população significativa de células Treg, sugerindo uma resposta antitumoral diminuída devido à ativação alternativa do sistema imune (DE VRIES *et al.*, 2019).

2.4.3 FATORES DE RISCO PARA CCEP

No câncer de pênis (CCEP), vários fatores de risco são bem conhecidos, alguns deles compartilhados com outros tipos de câncer, enquanto outros são específicos desta neoplasia. Entre esses fatores, destacam-se os mais comuns a idade avançada, o tabagismo, o consumo excessivo de álcool e os fatores de riscos específicos são as infecções por HPV, o envolvimento com múltiplos parceiros sexuais, a presença de fimose e a falta de higiene íntima adequada (HAKENBERG *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2020).

O envelhecimento é um fator crucial, já que o câncer está fortemente relacionado à idade, com a incidência aumentando significativamente em idosos (LECOT *et al.*, 2016). Esse aumento não está apenas ligado a uma menor eficiência nos mecanismos de reparo do DNA, mas também a um ambiente mais permissivo que favorece mutações e progressão maligna (YOUSEFZADEH, 2021).

A inflamação relacionada ao envelhecimento, conhecida como "*inflammaging*", é um fator de risco importante para o câncer, estando associada à presença elevada de estímulos pró-inflamatória e pode explicar a forte associação entre câncer e idosos (LASRY; BEN-NERIAH, 2015). Apesar de o mecanismo não estar totalmente esclarecido, o CCEP é um tumor cuja apresentação está relacionada à idade (SIRITHANAPHOL *et al.*, 2020; MARTINS *et al.*, 2020).

A infecção por HPV é um importante fator desencadeante do processo inflamatório no CCEP (MOLINA, 2009). Estudos sistemáticos mostraram que o risco combinado de infecção por HPV em CCEP é de 51,0% (IC de 95%: 43,0% a 60,0%) (BRUNO, *et al.*, 2014). Os subtipos mais prevalentes são HPV 16 (28,5%), HPV 18 (2,3%) e HPV 6 (2,3%). Embora o vírus esteja significativamente associado aos carcinomas basalóide (85,5%, IC de 95%: 77,2% a 93,8%) e verrucoso (50,0%, IC de 95%: 35,2% a 64,8%), a invasividade desse tipo de tumor não foi diretamente correlacionada à infecção (YU *et al.*, 2019). Para comparação, o câncer cervical tem uma associação de até 99,7% com a infecção por HPV (OKUNADE, 2020).

O tabagismo e o consumo de álcool exercem efeitos diretos na carcinogênese, principalmente devido a metabólitos mutagênicos como benzo[a]pireno no fumo e acetaldeído no álcool (KATZKE; KAAKS; KÜHN, 2015). Além disso, tanto o tabagismo quanto o uso de álcool podem desencadear um processo inflamatório crônico, perturbando a imunidade, incluindo liberação de citocinas e o comportamento celular (GOLEMIS *et al.*, 2018; RATNA; MANDREKAR, 2017).

No contexto do CCEP, o etilismo e o tabagismo parecem aumentar a probabilidade de infecção por HPV, possivelmente devido à tendência desses comportamentos estarem associados a uma vida sexual mais ativa (HEBNES *et al.*, 2021). Um mecanismo biológico mais específico está relacionado ao aumento das infecções ativas pelo HPV devido ao impacto desses comportamentos na imunidade (KJAER *et al.*, 2005; NIELSON *et al.*, 2007).

Outros estudos também indicam que a circuncisão pode funcionar como um fator protetor contra a infecção por HPV, seja reduzindo a probabilidade da infecção, aumentando a remoção do vírus ou diminuindo a inflamação associada (MORRIS; KRIEGER, 2017; SMITH *et al.*, 2021).

Além disso, a falta de higiene íntima, muitas vezes causada por desconhecimento ou impossibilidade material de realizá-la, é fortemente associada ao CCEP (THOMAS *et al.*, 2021). Esse comportamento está fortemente ligado a cenários econômicos desfavoráveis (EZZATI *et al.*, 2018). O mecanismo direto da má higiene íntima no CCEP está associado a um processo inflamatório persistente e contínuo (DOUGLAWI; MASTERSON, 2019; FU *et al.*, 2022).

2.4.4 RETROSPECTIVA DA CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA

Para avaliação histopatológica de tecidos biopsiados, são empregados dois sistemas de estadiamento: o sistema de classificação de Jackson (Figura 3) e o sistema de classificação TNM, sendo este último o mais abrangente (PANER *et al.*, 2018; BERTERO *et al.*, 2018).

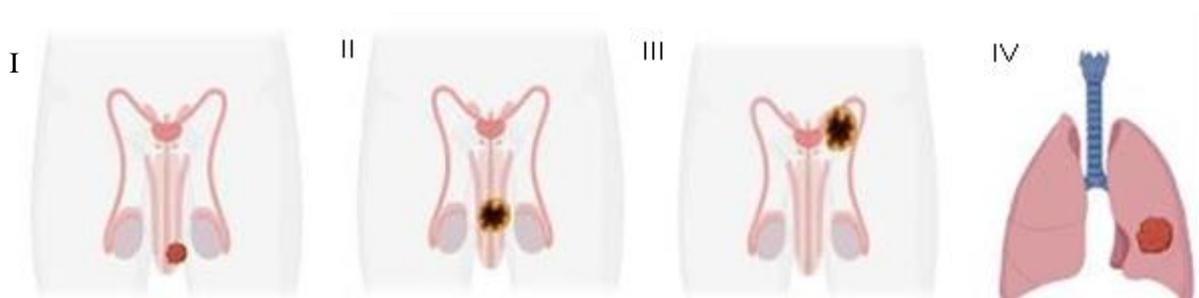


Figura 3. Classificação de Jackson. Estádio I: Tumor limitado à glândula e/ou ao prepúcio; Estádio II: Tumor invade corpo cavernoso; Estádio III: Tumor com metástase (s) para linfonodo (s) inguinal (is); Estádio IV: Tumor invade estrutura adjacente ou presença de linfonodos inoperáveis ou metástase (s) à distância. Autor: (GUIMARÃES, 2022).

A taxa de sobrevida em 5 anos para o CCEP é de 65%, variando conforme vários fatores. Para casos não invasivos, a taxa é de aproximadamente 80%, caindo para 50% em casos com invasão em tecidos ou linfonodos regionais. Se houver disseminação para partes distantes do corpo, a taxa de sobrevida em 5 anos é de apenas 9% (ACS, 2021).

O sistema de estadiamento tumor-nódulo-metástase (TNM), baseia-se nas características (Figura 4): tumor, linfonodos regionais e em sítios potencialmente metastáticos. Cada um dos descritores (T, N e M) são divididos em categorias com base no manual de estadiamento da American Joint Commission on Cancer (AJCC) e da Union Internationale Contre le Cancer (UICC) (MOEREIRA *et al.*, 2010).

Tabela 1. Sistema de estadiamento TNM – Carcinoma Epidermoide de Pênis.

TN	Descrição	N	Linfonodos regionais
M			
T	Tumor primário	NX	Linfonodos não avaliados
TX	Tumor primário não avaliado	N0	Sem metástase em linfonodos
T0	Sem evidências de tumor	N1	Metástase única em linfonodo inguinal superficial
Tis	Carcinoma in situ	N2	Metástases múltiplas ou bilaterais em linfonodos inguinais superficiais
Ta	Tumor verrugoso não invasivo	N3	Metástase (s) em linfonodo(s) inguinal (is) profundo(s) ou pélvico(s)
T1	Tumor invade o tecido conectivo subepitelial	M	Metástases a distância
T2	Tumor invade o corpo cavernoso ou esponjoso	MX	Metástase não avaliada
T3	Tumor invade a uretra ou próstata	M O	Sem metástase a distância
T4	Tumor invade outras estruturas adjacentes	M0	Ausência de metástases
		M1	Metástases presentes

A Organização Mundial da Saúde (OMS) introduziu uma nova classificação para o CCEP, considerando sua associação com o HPV. Os tumores são divididos em subtipos não relacionados e relacionados ao HPV. Entre os não relacionados, o carcinoma de células escamosas penianas usual e papilar são comuns, enquanto o sarcomatóide é o mais raro apresenta o pior prognóstico. Já entre os subtipos relacionados ao HPV, estão o basalóide, verrucoso ou condilomatoso, verrucoso basalóide e os raros basalóides papilares (MOCH *et al.*, 2016).

Dentro do cenário do carcinoma de células escamosas, identificam-se três subtipos distintos, cada um representando diferentes graus de diferenciação celular, como demonstrado na figura 4, denominado de escore de Gleason (COMPÉRAT, 2017). O carcinoma de células escamosas bem diferenciadas é caracterizado por células cancerosas que preservam notáveis

semelhanças com as células normais, evidenciando uma diferenciação mais pronunciada e a capacidade de realizar funções normais. Já o Carcinoma de células escamosas moderadamente diferenciadas exibe células com características intermédias entre os subtipos bem e pouco diferenciados, indicando uma perda gradual das características normais. Por fim, o Carcinoma de células escamosas pouco diferenciadas é notável pela presença de células cancerosas altamente agressivas, que perderam significativamente suas características normais, estando associadas a uma maior capacidade de invasão e disseminação do câncer. Essa classificação, baseada na diferenciação celular, é crucial para compreender a natureza e a progressão do câncer peniano (Cambruzzi, *et al* 2010).

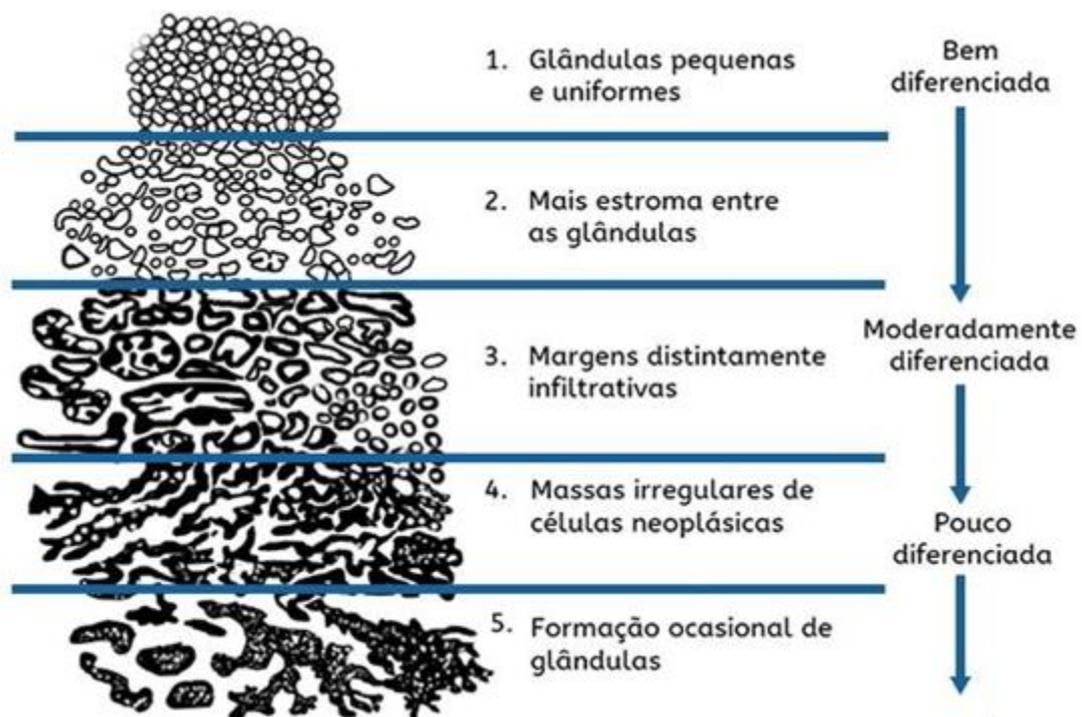


Figura 4. Classificação de Gleason em pacientes com câncer de pênis. Fonte: Instituto Próstata.

Em estágios avançados, o tratamento envolve modalidades como imunoterapia, quimioterapia e radioterapia. Não são incomuns tumores com resistência ligada a fatores genéticos e moleculares, incluindo a resistência à cisplatina (DENIS *et al.*, 2021; IBILIBOR *et al.*, 2022). Diante dessa resistência, estudos se concentram na identificação de marcadores moleculares para orientar novas estratégias terapêuticas (MACEDO *et al.*, 2020; KUASNE *et al.*, 2021).

As lesões precursoras e o CCEP são morfologicamente variáveis e podem ser caracterizadas por análises imuno-histoquímicas (IHQ) e, ocasionalmente, por análises moleculares. Apesar dos avanços cirúrgicos e dos estudos sobre alvos moleculares, uma

preocupação significativa permanece nos países subdesenvolvidos, onde muitos casos são diagnosticados em estágios avançados, complicando o tratamento, especialmente quando há presença de metástases (PINHO, 2020; VIEIRA *et al.*, 2020).

2.4.5 ANATOMIA E SUBTIPO HISTOLÓGICO DO CÂNCER PENIANO

Dentro do contexto anatômico, o pênis é um órgão composto por três cilindros de tecido erétil: dois corpos cavernosos, localizados na parte superior do pênis, e um corpo esponjoso, localizado na parte inferior e envolvendo a uretra. A glândula, está localizada na extremidade distal e é coberta por uma dobra de pele chamada prepúcio. A uretra passa pelo corpo esponjoso, permitindo a passagem de urina e espermatozoides. A vascularização é fundamental para o funcionamento do pênis, sendo a artéria dorsal do pênis responsável por fornecer sangue para os corpos cavernosos (HADDAD, *et al* 2021).

No contexto das neoplasias malignas, o subtipo histológico mais comum é o carcinoma de células escamosas, presente em aproximadamente 95% dos casos caracterizados por células queratinizadas e atividade mitótica variável (REIS *et al.*, 2010). Entre os subtipos histológicos encontrados o usual apresenta (48-65%) dos casos, condilomatoso (17%), verrucoso (8%), papilar (7-10%) e basalóide (5 - 15%) (CUBILLA *et al.*, 2010; CHAUX *et al.*, 2010).

No câncer de pênis, há alguns tipos histológicos que são considerados raros, podem ser classificados como melanomas, sarcomas, adenocarcinomas, carcinomas basocelulares e o tipo mais comum que é o carcinoma espinocelular, podendo ser chamado também de escamoso mostrado melhor no fluxograma da (figura 5). Os subtipos histológicos do CCEP são classificados de acordo com a sua associação com o HPV ou não, compreende como não associado o subtipo usual, papilar, sarcomatoide, hiperplásico, verrucoso, condilomatoso, basalóide e verrucoso basalóide (REGO *et al.*,2023).

Dentre os mais frequentes, o Carcinoma condilomatoso tem como característica morfológica as Papilas com núcleos fibrovasculares e um epitélio acantótico com paraqueratose e alterações coilocitóticas pleomórficas, o Carcinoma papilar com Papilomatose com padrão recortado na base, ninhos invasivos queratinizados são vistos nos tecidos subjacentes e papilas acantóticas compostas por células bem diferenciadas sem características coilocitóticas, o Carcinoma verrucoso apresenta características condilomatosas típicas, papilas com núcleos fibrovasculares e epitélio acantótico com paraqueratose e alterações coilocitóticas pleomórficas. Carcinoma habitual tendo características ninhos de

células escamosas bem diferenciadas, a maioria apresentando centros queratinizados, ninhos irregulares moderadamente diferenciados (CHAUX *et al.*, 2010).

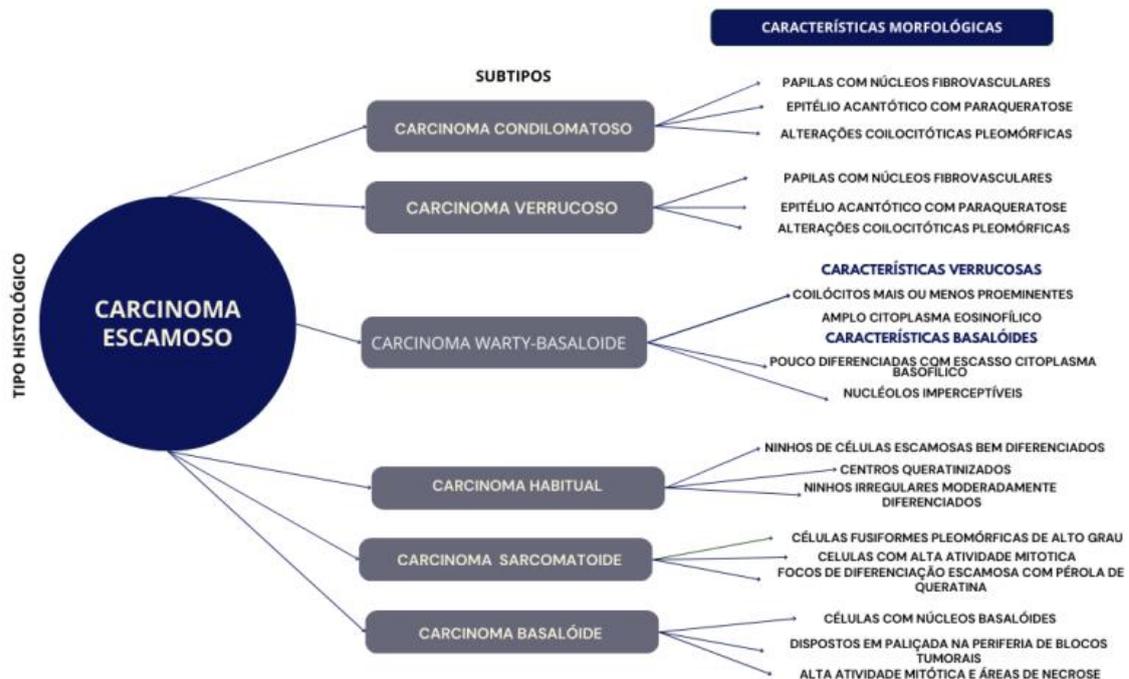


Figura 5. Fluxograma do carcinoma de células escamosas, com os subtipos mais frequentes e suas características morfológicas (SHANKAR *et al.*, 2016; CHAUX *et al.*, 2010).

O carcinoma basalóide tem como característica morfológica a substituição de toda a espessura da camada epitelial por pequenas células monótonas, um padrão de aninhamento infiltrante cada ninho é sólido ou necrótico centralmente. Já o *warty*-basalóide apresenta paraqueratose atípica, pleomorfismo celular, coilócitos e mitose são comuns. Essas lesões são típicas de lesões causadas por HPV, porém ainda não se sabe até que ponto elas evoluem para um carcinoma infiltrante (COMPERAT, 2017).

2.4.6 PROGNÓSTICO E DIAGNÓSTICO DO CCEP

Os pacientes com CCEP frequentemente manifestam sintomas diversos, como lesões penianas, dor, prurido, hemorragias, massas na virilha e sintomas urinários (ASCO, 2023). A neoplasia ocorre principalmente na glândula (em mais de 50% dos casos), estendendo-se para o prepúcio, haste peniana e escroto em casos mais avançados, indicando um quadro mais grave (LETENDRE *et al.*, 2011).

O diagnóstico do CCEP é confirmado por meio de biópsia da lesão primária, permitindo a estratificação do risco e a avaliação do comprometimento linfonodal. Apesar de

menos invasivos, os exames de imagem possuem baixa especificidade e sensibilidade para detectar tumores primários e metástases linfonodais (HEYNS *et al.*, 2010).

O CCEP apresenta padrões previsíveis de metástase local e regional, sendo a metástase linfonodal um indicador crucial de sobrevida (CHIPOLLINI *et al.*, 2017). As taxas de sobrevida específicas da doença variam conforme o estadiamento, seguindo um padrão inversamente proporcional: quanto mais avançado o estágio, menor a taxa de sobrevida (DJAJADININGRAT *et al.*, 2014). O diagnóstico do CCEP é confirmado por meio de biópsia da lesão primária, permitindo a estratificação do risco e a avaliação do comprometimento linfonodal. Apesar de menos invasivos, os exames de imagem possuem baixa especificidade e sensibilidade para detectar tumores primários e metástases linfonodais (HEYNS *et al.*, 2010).

2.4.7 TRATAMENTO DO CCEP

O tratamento do câncer peniano é multifacetado e altamente dependente do estágio da doença. A cirurgia, incluindo a penectomia, é uma abordagem comum para controle, envolvendo a ressecção do tumor primário e, em alguns casos, a linfadenectomia inguinal ou ínguido ilíaca bilateral (LOPES *et al.* 1996).

Avanços recentes permitiram cirurgias mais conservadoras, reduzindo a necessidade de penectomia total e melhorando a sobrevida, algo especialmente benéfico dado os profundos impactos psicossociais enfrentados pelos pacientes (AUDENET; SFAKIANOS, 2017).

Para lesões menores, são consideradas opções como radioterapia, laserterapia ou ressecções locais, embora sejam menos eficazes em pacientes obesos, diabéticos ou imunossuprimidos (YUVARAJA *et al.* 2017). A linfadenectomia preventiva é uma questão controversa devido à morbidade associada, mas sua ausência pode resultar em metástases não tratáveis (HAKENBERG *et al.* 2015; WEN *et al.*, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o perfil do infiltrado leucocitário no câncer peniano e associar aos fatores de risco para determinação do seu potencial como marcador clínico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 3.2.1 Levantar os aspectos sociodemográficos dos pacientes arrolados no estudo
- 3.2.2 Descrever o perfil clínico e histológico dos pacientes com CCEP
- 3.2.3 Determinar os tipos leucocitários infiltrados no tecido tumoral de CCEP.
- 3.2.4 Correlacionar dados clínicos com os tipos de infiltrados leucocitários presentes no tecido tumoral de CCEP.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRA

Este estudo foi conduzido com amostras de conveniência compostas por pacientes do sexo masculino com diagnóstico de câncer peniano. Os critérios de inclusão foram pacientes candidatos à penectomia total ou parcial, com idades entre 28 e 95 anos, atendidos no hospital de referência em oncologia no estado do Maranhão, o Hospital Aldenora Belo do ano de 2018 a 2022.

Foram excluídos os pacientes que já haviam iniciado algum tipo de tratamento para o câncer. Sob os aspectos éticos, os indivíduos que concordaram em participar da pesquisa leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após essa etapa, ocorreu a coleta de materiais biológicos e informações sociodemográficas dos pacientes presentes nos prontuários. Esta dissertação de mestrado fez parte de um projeto maior que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão (CEP-UFMA) e foi registrado na Plataforma Brasil com o número CAAE: 46371515.5.0000.5087

O tecido do tumor fresco foi obtido da peça anatomopatológica retirada após a cirurgia de penectomia total ou parcial, por um patologista. A peça obtida foi dividida em dois fragmentos menores e direcionada ao laboratório em formol para início do processamento do material. Os fragmentos do tecido tumoral foram fixados em formaldeído tamponado a 10% diluído com água destilada antes do início dos processamentos histológicos. Das 30 amostras coletadas, 16 foram analisadas por apresentarem viabilidade técnica e 14 amostras foram excluídas por ter material exíguo ou inviável.

4.2 DESENHO EXPERIMENTAL

De forma geral, o experimento foi desenvolvido conforme o fluxograma onde após a coleta das amostras, elas foram fixadas e processadas, após isso foi feita a produção dos blocos de parafina e produção das laminas, foi feita a análise de scores e imagens das laminas seguindo abaixo:

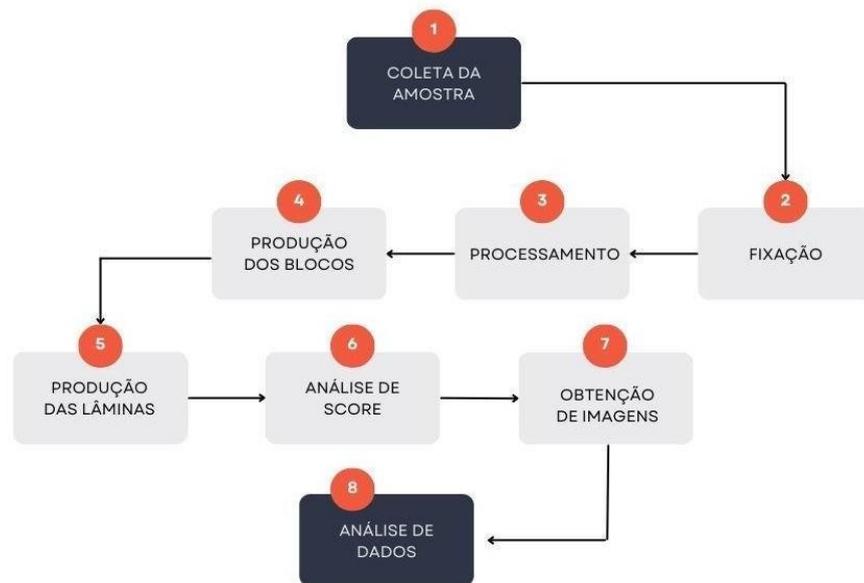


Figura 6. Fluxograma com o passo a passo do desenvolvimento dos experimentos.

4.3 PREPARAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

4.3.1 Produção dos Blocos de Parafina

A peça foi fixada em formaldeído tamponado a 10% por um, período de 2 a 48 horas, dependendo do tamanho. Em seguida, a amostra foi submetida a um banho de etanol a 70% por uma hora, seguido por um banho de etanol a 90% por uma hora, dois banhos de etanol a 100% por duas horas e dois banhos de xilol por uma hora. O segundo banho de xilol garantiu a remoção completa da água da amostra, e o processo foi finalizado com dois banhos de parafina a 60 °C, cada um por uma hora.

Após 2 horas, as amostras foram retiradas dos cassetes, e a parafina foi reaquecida no aparelho de inclusão (TEC2900 EMBEDDING CENTER- HISTO-LINE LABORATORIES). Após o derretimento da parafina, o tecido foi alocado em moldes metálicos. Os moldes foram preenchidos com parafina líquida aquecida e cobertos com o cassete identificado. As peças foram resfriadas em pedra de gelo até a solidificação da parafina. Posteriormente, o molde metálico foi retirado, e o bloco foi armazenado (NUNES, 2016).

4.3.2 Produção das Lâminas e Coloração Hematoxilina-Eosina

Os blocos de parafina foram cortados no micrótomo (HISTO-LINE LABORATORIES ARM 3600) com uma espessura de 1 a 5 micrômetros. Após identificação das lâminas, os cortes histológicos foram imersos em água aquecida, posteriormente foram transferidos para lâminas de vidro e em seguida deixados para secar por 30 minutos em temperatura ambiente.

A bateria de coloração consistiu nos seguintes passos: dois banhos de xilol por 5 minutos cada, seguidos de etanol 100% por 5 minutos, etanol 90% por 5 minutos, etanol 70% por 5 minutos, etanol 50% por 5 min e finalizado com 1 mergulho na água destilada, após esse processamento pré coloração as lâminas foram coradas hematoxilina por 3 minutos, e retirou-se o excesso de corante em água corrente com 5 mergulhos, eosina (nova) com apenas 3 mergulhos, novamente retirou-se o excesso em água corrente com 5 mergulhos, para finalizar as laminas foram mergulhadas no etanol 100% por 5 minutos e um banho de xilol por 5 minutos. Após a conclusão da coloração, as lâminas foram montadas com entellan (CAZARI *et al*, 2013).

4.4 ANÁLISE DO ESCORE E OBTENÇÃO DE IMAGENS

A avaliação histopatológica foi feita analisando inicialmente a presença de necrose onde os escores 0, 1 (+), 2 (++) e 3 (+++) foram atribuídos da seguinte forma: escore 0, sem necrose; escore 1, necrose leve; escore 2, necrose moderada, escore 3, necrose avançada. Logo após foia presença e ausência de coilocitose que são células pré-malignas mais comuns em carcinomas, representativas de HPV, alterações histológicas, componentes inflamatórios e células imunes. Com presença de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, plasmócitos, macrofragos, mastócitos em menor número, coilócitos, células aberrantes. Foram avaliados três campos distintos e aptos para uma melhor análise escolhidos aleatoriamente, onde houvesse células com a morfologia visíveis de serem avaliadas, com ótima coloração e sem o tecido estar ressecado, em aumento de 400x. Os achados específicos, como as pérolas córneas, foram analisadas com base na sua morfologia, relacionando núcleo, citoplasma e também avaliando o aspecto do tecido e coloração presente (WANCNIK *et al*, 2011).

As células foram analisadas através de um microscópio óptico (BIOPTIKA B20+) em aumento de 400x, e dele retirado as imagens com o auxílio do programa (MOSAIC V2 2.2.0

– RESOLUTIVE COMPUTATIONAL IMAGING SOFTWARE) para uma melhor qualidade e avaliação das células.

4.5 FORMA DE ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram apresentados como média ou média \pm desvio padrão. A distribuição dos dados foi avaliada pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para a análise estatística, foram aplicados os testes one-way ANOVA para dados com distribuição normal ou Kruskal-Wallis para dados não gaussianos. Para análise de correlação, as variáveis qualitativas foram transformadas para scores numéricos e o teste de Spearman foi utilizado. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 8 (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, Califórnia). O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

a) Categorização e correlação de Spearman

A avaliação da associação entre diferentes variáveis foi realizada de forma exploratória através do coeficiente de correlação de Spearman, devido à natureza não paramétrica da maioria dos dados (BISHARA; HITTNER, 2012). Para aumentar o poder exploratório da análise, variáveis categóricas foram transformadas em variáveis numéricas por meio de codificação ordinal. Essa estratégia converte variáveis em categorias que possuem uma ordem natural, atribuindo números ordinais a elas. Para as variáveis em que não foi possível fazer essa transformação, foi utilizada a Codificação One-Hot (Dummy), na qual variáveis categóricas sem ordem natural foram transformadas em variáveis dummy para permitir a exploração de correlações adjacentes (EKBOTE; DHANSHETTI; SAKHREKAR, 2023). Para melhorar a visualização, foi realizada uma regressão linear para determinar o melhor ajuste aos dados. Além disso, os intervalos de confiança (95%) da regressão foram calculados para observação da dispersão das variáveis analisadas.

b) Agrupamento de variáveis

Variáveis numéricas foram agrupadas com base em sua associação com diferentes variáveis categóricas ou em relação a variáveis transformadas. Essa abordagem foi adotada como estratégia exploratória para uma compreensão mais aprofundada de como determinados parâmetros podem influenciar e serem influenciados (HERNANDEZ, 2021). A normalidade dos dados foi acessada através do teste de Shapiro-Wilk e posteriormente, dependendo do

resultado, através do emprego da análise de variância (ANOVA) one-way seguida do Teste Tukey- Kramer ou Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunns e o Two-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. Em todas as análises foram consideradas como significante $p < 0,05$.

c) Análise da área do infiltrado estromal

Com o objetivo de compreender as relações entre os parâmetros imunológicos e as características do tumor, as lâminas histológicas de 7 tumores foram avaliadas quanto à área do infiltrado estromal e à natureza do infiltrado (classificada como inato, adaptativo ou misto). Para isso, foram capturadas 4 imagens de cada lâmina na objetiva de 40x de um microscópio invertido Nikon, modelo Eclipse Ti-U, acoplado a um fotodocumentador. As micrografias foram analisadas por um histologista e posteriormente processadas utilizando o software ImageJ (Wayne Rasband, National Institutes of Health, MA) (PAPADOPULOS *et al.*, 2007).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ASPECTOS SOCIODEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM CÂNCER PENIANO

O perfil dos pacientes mostrou que a principal ocupação laboral era agricultura, residindo principalmente no interior do Estado do Maranhão e com baixa escolaridade. Uma frequência maior de pacientes relatou serem casados (50%) ou solteiros (28,57%) e se auto denominaram de cor parda (64,28%). A metade dos pacientes relatou não consumir álcool ou terem hábito de fumar (Tabela 2).

Tabela 2. Características e dados sociodemográficas dos pacientes diagnosticados com carcinoma peniano.

DADOS	Total n= 14	(%)	DADOS	Total n=14	(%)
OCUPAÇÃO			ETNIA		
Agricultor	13	92,55%	Preta	2	14,28%
Pescador	1	6,25%	Parda	9	64,28%
MESOREGIÃO			Branca	3	21,42%
Região Metropolitana	6	42,85%	TABAGISMO		
Interior	8	57,14%	Sim	7	50%
ESCOLARIDADE			Não	7	50%
Nenhuma	6	42,85%	ETILISMO		
Primário	8	57,14%	Sim	5	35,71%
ESTADO CIVIL			Não	6	42,85%
Solteiro	4	28,57%	Não Informado	3	21,42%
Casado	7	50%			
Viúvo	2	14,28%			
Divorciado	1	7,14%			
Não informado	0	0%			

A distribuição de câncer peniano no mundo está associada ao desenvolvimento, com uma prevalência de 0,1-1 caso por 100.000 homens em países mais ricos, enquanto que em

países da África, Ásia e América do Sul a doença pode representar 10% das malignidades diagnosticadas em homens (THOMAS *et al*, 2021). Um estudo realizado sobre o perfil dos pacientes com câncer peniano no Maranhão relatou a baixa condição socioeconômica como um fator de risco, além da infecção por HPV e fimose (VIEIRA, 2020).

Pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) o estado do Maranhão é dividido em cinco mesorregiões (SILVA *et al*, 2021) e os dados mostraram que os pacientes que participaram do estudo são dos municípios pertencentes a mesorregião norte maranhense (Tabela 3). Nesta mesorregião, São Luís representa o município de maior IDH (0,768) e infraestrutura urbana, comparado com os demais municípios citados no estudo, entretanto é importante contextualizar que o estado do Maranhão apresenta um dos piores IDHs do Brasil (SILVA *et al*, 2021). Assim, os dados encontrados concordam com a literatura que associa a maior incidência e prevalência do câncer peniano em regiões mais pobres. Por outro lado, devido à localização central e a importância econômica, política e social da capital maranhense, os dados sugerem que São Luís representa o local de referência para atendimento à saúde principalmente nos municípios que compõem a mesorregião norte maranhense.

Tabela 3. Localização demográfica de pacientes com carcinoma de penis incluídos no estudo da região metropolitana da Grande São Luís e baixada Maranhense.

MESOREGIÃO NORTE	Total n = 14	(%)
Turialva	1	
Viana	2	28,56%
Mirinzal	1	
São Luís	2	
São José de Ribamar	1	28,56%
Paço do Lumiar	1	
Morros	1	
Icatu	1	21,43%
Tutóia	1	
Itapecuru Mirim	1	
Santa Luzia	1	21,43%
Arari	1	
Não Informado	0	0 %

Seguindo para os dados clínicos, os pacientes apresentaram uma idade média 63,2

anos, com a idade mínima de 45 anos e máxima de 92 anos (n=14). Foi identificada a presença de fimose em 64,28% dos pacientes, 21,42% apresentavam diagnóstico positivo para HPV no prontuário, entretanto uma parte (57,14%) não possuía esta informação. Os dados sobre o tumor também foram subnotificados, (50%) dos pacientes apresentavam tumores de Grau III que é o estágio mais avançado da doença, e (21,42%) dos pacientes apresentavam Grau histológico I e II (leve e moderado) da doença e o subtipo histológico mais frequente nos prontuários foi o warty-basalóide apontando (28,57%), condilomatoso (21,42%), usual (14,28%), misto (7,14%), verrucoso (7,14%) e os que não haviam dado era (21,42%). Quanto ao tamanho do tumor, a maioria (92,85%) apresentou tumores de menor tamanho (0,7-5,4 cm) e a localização anatômica na glândula, com seis casos descritos (42,85%) foi observado também que (35,71%) estavam localizados em múltiplas áreas. No estadiamento foram encontrados 28,57% dos pacientes com classificação pT1, pT2 e pT3 e no estadiamento pTis foi encontrado (7,14%). A tabela 2 apresenta os dados clínicos coletados nos prontuários.

Tabela 4. Perfil clínico e histológico de pacientes com carcinoma de células escamosas (CCEP) do pênis.

Características Clínicas	Total n=14	(%)
Média de idade no diagnóstico de CCEP	63,25(ano)	---
Status do HPV		
HPV+	3	21,42%
HPV-	3	21,42%
Não informado	8	57,14%
Presença de Fimose		
Sim	9	64,28%
Não	3	21,42%
Não informado	2	14,28%
Subtipo histológico		
Usual	2	14,28%
Misto	1	7,14%
Warty-Basalóide	4	28,57%
Verrucoso	1	7,14%
Condilomatoso	3	21,42%
Não informado	3	21,42%
Tamanho do tumor (cm)		

0,7-5,4	13	92,85%
5,4-10,1	0	0%
14,8-19,5	0	0%
Não informado	1	7,14%
Local do tumor		
Glande	6	42,85%
Prepúcio	1	7,14%
Corpo	1	7,14%
Múltiplas áreas	5	35,71%
Não informado	1	7,14%
Grau do tumor		
I	3	21,42%
II	3	21,42%
III	7	50%
Não informado	1	7,14%
Estadiamento do tumor		
pT1	4	28,57%
pT2	4	28,57%
pT3	4	28,57%
pTis	1	7,14%
Não informado	1	7,14%

Dentre os fatores de risco associados ao câncer peniano a fimose se caracteriza pela incapacidade de retrair o prepúcio causando o acúmulo de esmegma e dificuldade de higienização sob a pele prepucial (MISRA *et al*, 2017). Existe uma discussão quanto a relevância da fimose na carcinogênese, Van Howe e Hodges (2006) revisaram na literatura estudos clínicos e pré-clínicos e não encontraram evidências que suportem a afirmativa que o esmegma tem função carcinogênica (VAN HOWE *et al*, 2006). Entretanto, a inflamação causada pela fimose pode estar relacionada ao câncer (REDDY *et al*, 2017) e dados epidemiológicos apontam que homens circuncidados têm menor risco de desenvolver câncer peniano (LARKE *et al*, 2011). Vieira et al. (2020) realizaram um estudo com 110

pacientes de câncer peniano em dois hospitais de São Luís-MA e os dados mostram que 66% deles foram diagnosticados com fimose, sendo considerada alta taxa pelos autores (VIERA *et al.*, 2020). Neste trabalho, mesmo havendo uma subnotificação, a maioria dos pacientes apresentou o diagnóstico de fimose, sugerindo que este fator de risco, somado aos hábitos de vida, está relacionado ao desenvolvimento do câncer peniano.

Outro fator de risco relatado no câncer peniano é a infecção pelo HPV, no estudo de revisão que trata das implicações da infecção pelo HPV no câncer peniano foram observados que a infecção não só desempenha um papel importante na carcinogênese, como também é apontado com um importante alvo para a prevenção através da vacinação em populações masculinas de alto risco (FLAHERTY *et al.*, 2014). O estudo da metanálise realizada por Olesen *et al.* (2019) mostrou que a infecção por HPV estava presente em 98,6% das lesões intraepiteliais neoplásicas de grau I e II, e 80,5% em grau 3 (OLESEN *et al.*, 2019).

A exposição persistente e/ou recorrente do tecido peniano ao HPV leva à integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro e à eventual transformação da célula hospedeira num fenótipo maligno, com expressão das oncoproteínas virais E6 e E7 que induzem a desregulação do ciclo celular e a instabilidade genômica através da interação com p53 e pRb, respectivamente, determinando a carcinogênese (FERREUX *et al.*, 2003) (THOMAS *et al.*, 2021). O estudo de Macedo *et al.* (2020) com pacientes maranhenses mostrou que a frequência de HPV foi positiva em 96,4% dos casos de câncer peniano e as alterações no número de cópias do genoma estavam localizadas nos locais de integração do vírus e associada a genes das vias inflamatórias (MACEDO *et al.*, 2020). Neste estudo, apesar de haver uma subnotificação sobre a pesquisa de HPV nos pacientes, os dados sugerem que este fator de risco é relevante para determinar as causas moleculares que induzem o processo de transformação maligna de células epiteliais, somado aos demais fatores, observados nesta amostra.

O câncer peniano é definido por alterações das células escamosas, principalmente, apresentando um amplo espectro de subtipos histológicos, a maioria originado na superfície da mucosa, orifício prepucial até ao meato uretral (CUBILLA *et al.*, 2004), sendo que os tumores da glândula são mais comuns (MILLES *et al.*, 2009). O subtipo usual foi o mais frequente, concordando com a literatura, sendo a classificação baseada nas características histológicas da lesão intraepitelial em carcinomas usuais, papilares, pseudo-hiperplásicos, verrucosos e sarcomatóides (VELÁZQUEZ *et al.*, 2012). O carcinoma usual está relacionado com fatores patológicos como o tamanho, o grau histológico, a profundidade de infiltração e a invasão vascular e perineural. O tamanho médio dos tumores é de cerca de 4,5 cm nas áreas

de alto risco, enquanto que nas regiões de baixa incidência a média é de 2,0 cm, refletindo a variabilidade do estágio clínico (SANCHEZ *et al*, 2015). Os dados obtidos neste trabalho concordam com a literatura, mas a carência de dados no prontuário dificulta uma análise mais precisa das amostras estudadas.

A idade média também é um dado que concorda com a literatura que relata o pico etário na sexta e sétima idade, sendo pouco frequente em pessoas com menos de 20 anos (GOODMAN *et al*, 2010).

5.2 ASPECTOS HISTOLÓGICOS DAS AMOSTRAS TUMORAIS

A análise histológica mostrou que a necrose foi ausente na maior parte dos tecidos tumorais (75%). A presença de alterações celulares sugestivas de infecção por HPV (coilocitos) foi observada em 68,7% das amostras analisadas. A presença de infiltrado leucocitário foi frequente em 87,5% das amostras (Figura 8, A e B).

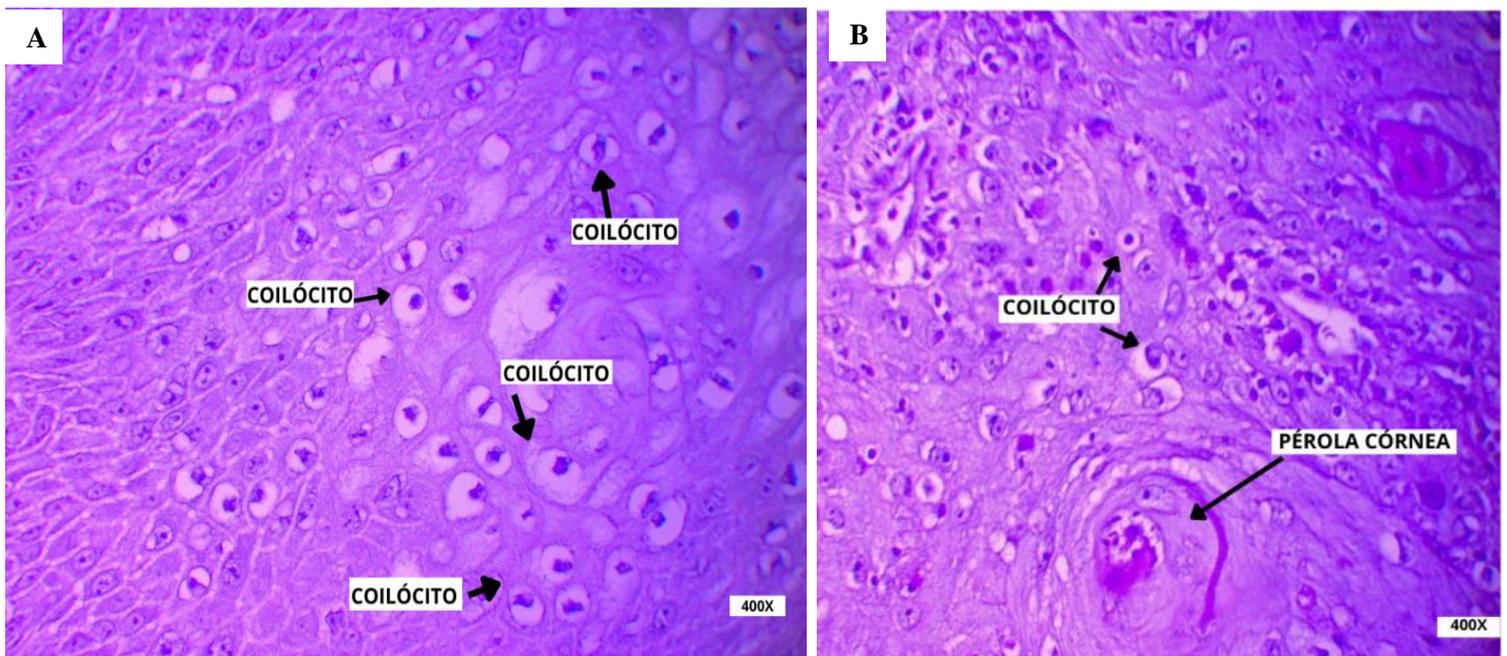


Figura 7. Infiltrado inflamatório em carcinoma escamoso de penis - aumento 400x, coloração H&E. (A) Apresenta coilocitose e células tumorais, (B) coilocitos e perolas corneas características de carcinomas.

A coilocitose é identificada por um grande halo à volta dos núcleos celulares e sua associação com a infecção por HPV, de qualquer tipo, varia de cerca de 30% a 60% (DE PAULA *et al*, 2007). As modificações celulares que definem a coilocitose são indicativas e específicas da infecção pelo HPV (LAWSON *et al*, 2022). No câncer peniano, taxas mais elevadas de coilocitose são observadas em tumores primários de grau I e II (DE PAULA *et al*,

2007). Por outro lado, a ausência de coilocitose pode prever metástases nos gânglios linfáticos (NASCIMENTO *et al*, 2020). Apesar dos dados de prontuário identificarem dois pacientes com teste positivo para HPV, nos achados histológicos 68,7% das amostras de tumor apresentaram a coilocitose, sugerindo a existência da infecção viral, sendo discutido seu valor prognóstico.

A maioria dos tumores penianos HPV-positivos se enquadra nas categorias de carcinomas verrucosos ou basalóide, frequentemente os quais apresentam um intenso infiltrado inflamatório composto por leucócitos mononucleares e polimorfonucleares, que pode ser facilmente confundida com carcinomas de células escamosas usuais de alto grau (CHAUX *et al*, 2012). Os dados histológicos apontam para uma possível relação entre o infiltrado leucocitário e a infecção viral, considerando que a maioria das amostras apresentaram essas alterações. Por outro lado, o câncer peniano é multifatorial e pode ser definido como relacionado com o HPV ou não relacionados (VELAZQUEZ *et al*, 2012), podendo ser atribuído a outros fatores de risco a inflamação com a presença do infiltrado leucocitário.

A reação inflamatória é considerada uma resposta fisiológica protetora contra danos ou infecção tecidual, mas uma nova percepção tem surgido quanto o seu papel no câncer a partir da inflamação crônica, mediada pela expressão de genes como MMP-9, VEGF e COX-2 associado a ativação de vias constitutivamente ativas na maioria dos tumores e compondo o microambiente tumoral (AGGARWAL *et al*, 2021). Os dados deste trabalho corroboram com a característica inflamatória do câncer peniano, tendo no infiltrado leucocitário um parâmetro histológico relevante (BLEEKER *et al*, 2009).

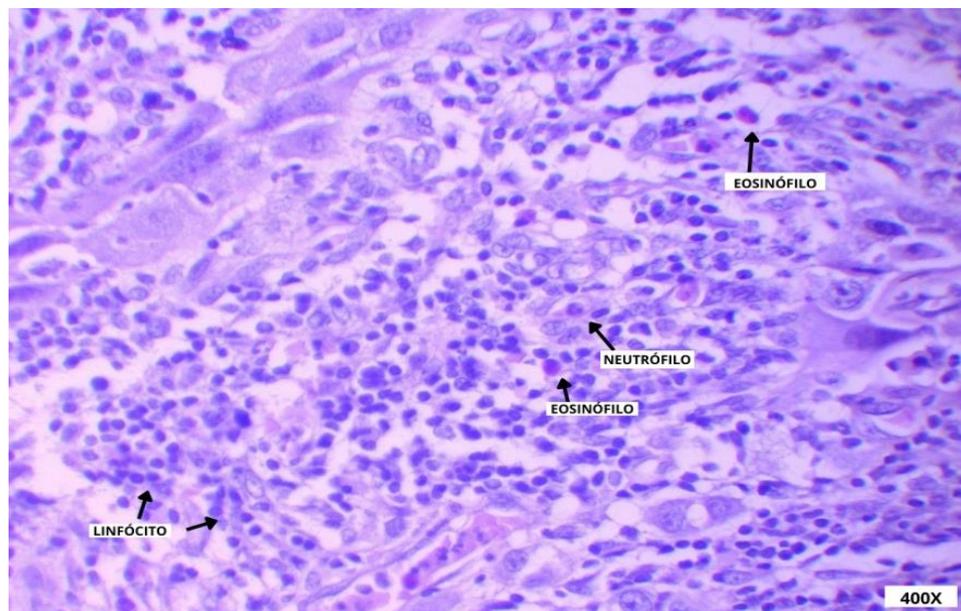


Figura 8. Lamina objetiva de 400x, coloração H&E. Apresenta intenso infiltrado leucocitário, células tumorais com núcleos aberrantes, irrigação sanguínea.

Na análise das laminas, treze laminas apresentaram células infiltradas, em média foram observadas 99,49 células/campo, variando entre amostras que não apresentaram infiltrado (n=1) e, por outro lado, uma amostra apresentou como valor máximo de 220 células/campo. Neutrófilos, plasmócitos, macrófagos e linfócitos foram os tipos leucocitários observados no infiltrado presente nas amostras. Neutrófilos e plasmócitos apresentaram frequência mais baixa que a média (23,1% e 12%, respectivamente) na maioria dos pacientes. Por outro lado, a distribuição de macrófagos ficou próxima à média de 27,3%, mostrando uma homogeneidade entre as amostras. Enquanto os linfócitos apresentaram uma distribuição com dois padrões bem definidos tendo 43,7% das amostras frequência acima da média (33%) e 56,3% das amostras com frequência de leucócitos abaixo da média (Figura 10).

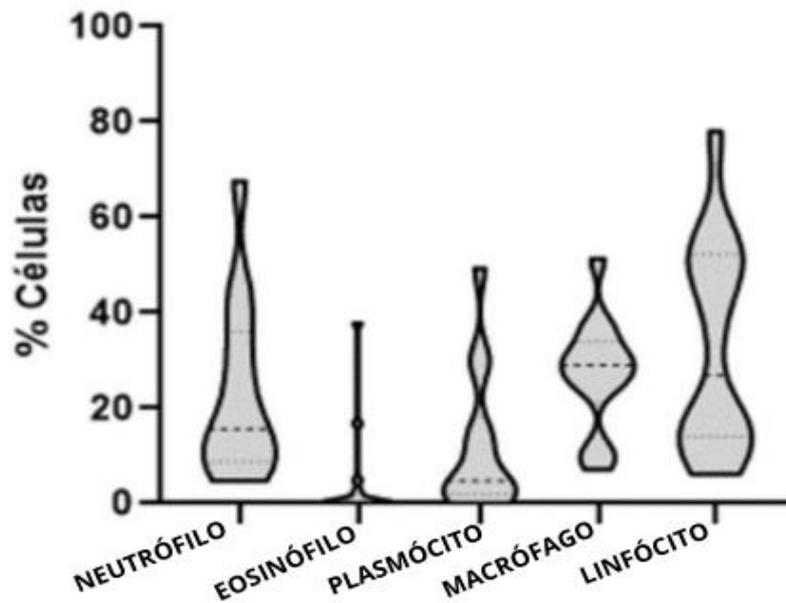


Figura 9. Valor médio da contagem diferencial de leucócitos/campo de cada amostra de tecido tumoral de câncer peniano

A partir da infiltração de células imunitárias, os tumores podem ser divididos em três tipos: os ausentes de infiltrado; os estromais, quando o infiltrado se localiza no estroma; e os tumorais, quando há infiltrado intimamente associado ao tumor (DE VRIES *et al*, 2019). No câncer de pênis foi relatada uma maior infiltração de linfócitos T CD8+ e T reguladoras FOXP3+ (Tregs) no compartimento estromal, do que no compartimento tumoral (OTTENHOF *et al*, 2018). Mesmo não sendo feito o fenótipo das células presentes no infiltrado, os dados morfológicos mostram uma maior frequência média de linfócitos e macrófagos na área tumoral das amostras estudadas.

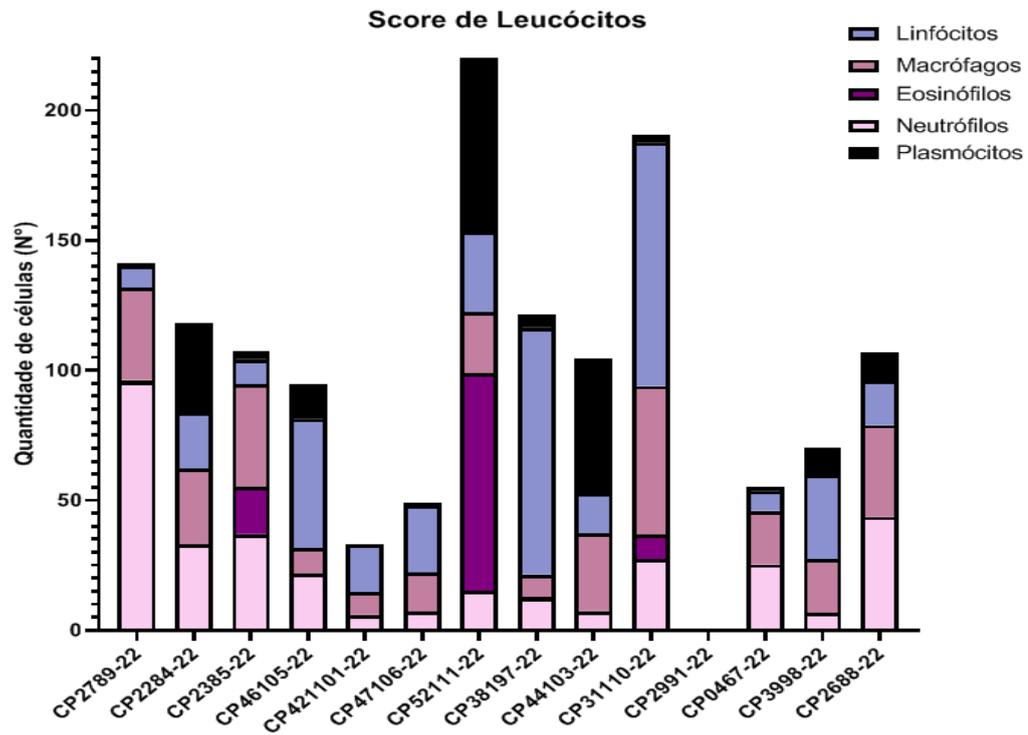


Figura 10. Numero de células da contagem diferencial de leucócitos/campo de cada amostra de tecido tumoral de câncer peniano.

Analisando a característica do infiltrado por pacientes, foi observado uma distribuição heterogênea dos tipos celulares e da quantidade de células observadas por campo (Figura 11). Ottenhorf e colaboradores avaliaram o papel prognóstico de células imunes infiltradas em linfonodos metastáticos de pacientes com câncer peniano com a presença de macrófagos M2 e infiltração de Treg, indicando um perfil tolerogênico com pior sobrevida dos pacientes (OTTENHOF *et al*, 2018). Por outro lado, estudo realizado Hladek *et al* (2022) mostrou que a densidade do infiltrado intratumoral em amostras de tecido de câncer peniano foi significativamente associado a um estadiamento tumoral de menor progressão quanto maior a presença de linfócitos T, mas não teve associação com a sobrevivência global dos pacientes (HLADEK *et al*, 2022). A presença de infiltrado imune no câncer peniano tem se mostrado relevante para alguns autores na aplicação de um bom prognóstico, podendo promover informações importantes para a compreensão de mecanismos celulares envolvidos no microambiente tumoral (MILFONT, 2020). Entretanto, os aspectos multifatoriais do câncer peniano, a participação ou não da infecção pelo HPV, mediadores inflamatórios e microambiente tumoral têm sido levantados como desafios na definição do papel do infiltrado imune na evolução da doença (VIEIRA *et al*, 2020).

5.3 CORRELAÇÕES DOS PARÂMETROS HISTOLÓGICOS E CLÍNICOS

a) Matriz de correlação de Spearman

A partir da avaliação da correlação dos dados clínicos e imunológicos, Figura 11 e 12, temos como destaque as correlações negativas mais fortes da variável, o estadiamento por idade quanto mais avançada a doença, menor a idade, relação dos coilócitos e os leucócitos podendo estar diretamente ligada a frequência da resposta imune e o estadiamento com os neutrófilos e macrófagos deixando claro a resposta inata mais ativa. Fica evidente o comportamento imunológico no CCEP, também quando avaliamos a correlação positiva nas variáveis, correlacionando o macrófago com o estadiamento, leucócitos e o tabagismo que são estatisticamente significativas com $p < 0,05$. Sabendo que alguns leucócitos são responsáveis pela imunidade antitumoral, mas que também a alta infiltração leucocitária podendo estar ligada a um pior prognóstico.

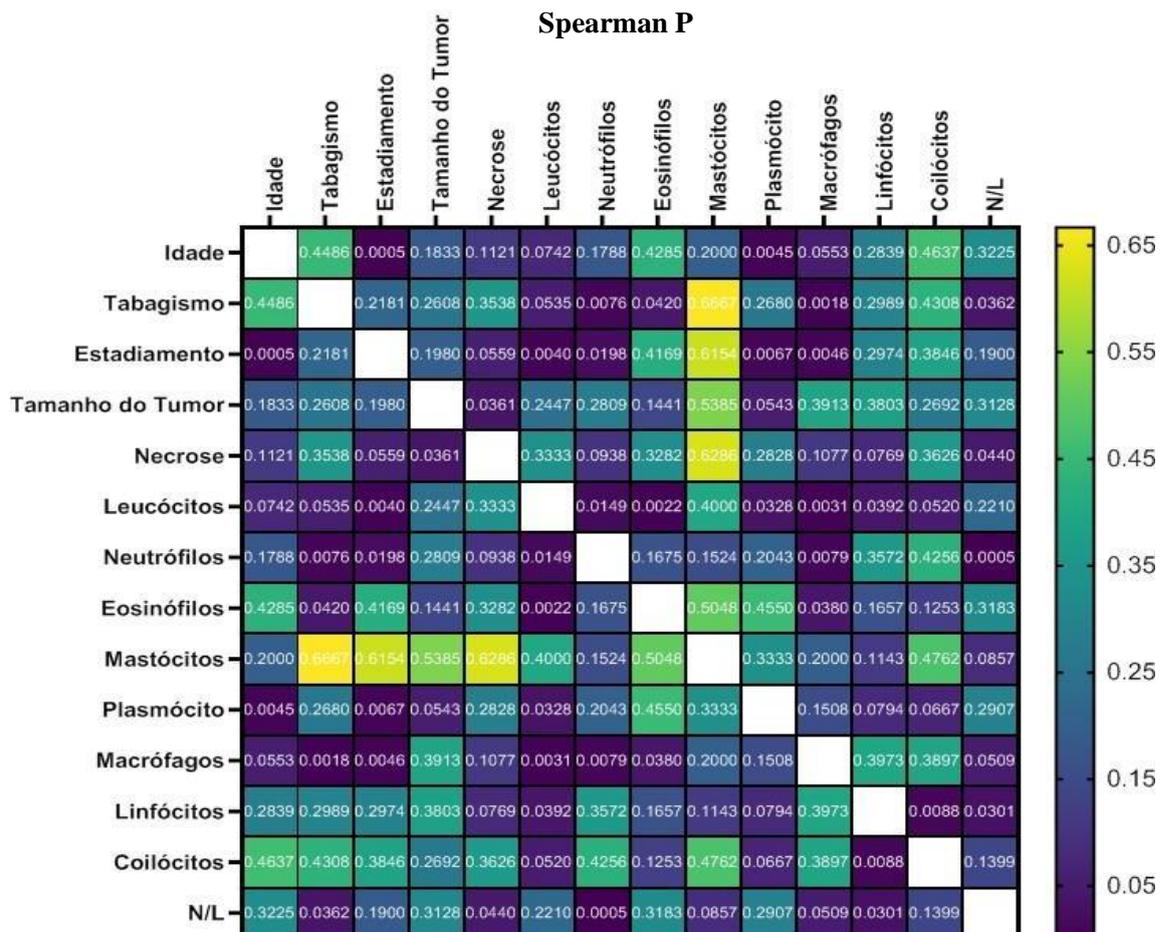


Figura 11. A tabela apresenta os coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas. Os valores variam de -1 a 1, onde -1 representa uma correlação negativa perfeita, 0 indica ausência de correlação e 1 indica uma correlação positiva perfeita. A análise foi realizada com base em 15 amostras e 21 parâmetros. Foi utilizada uma matriz de correlação de Spearman de duas caudas.

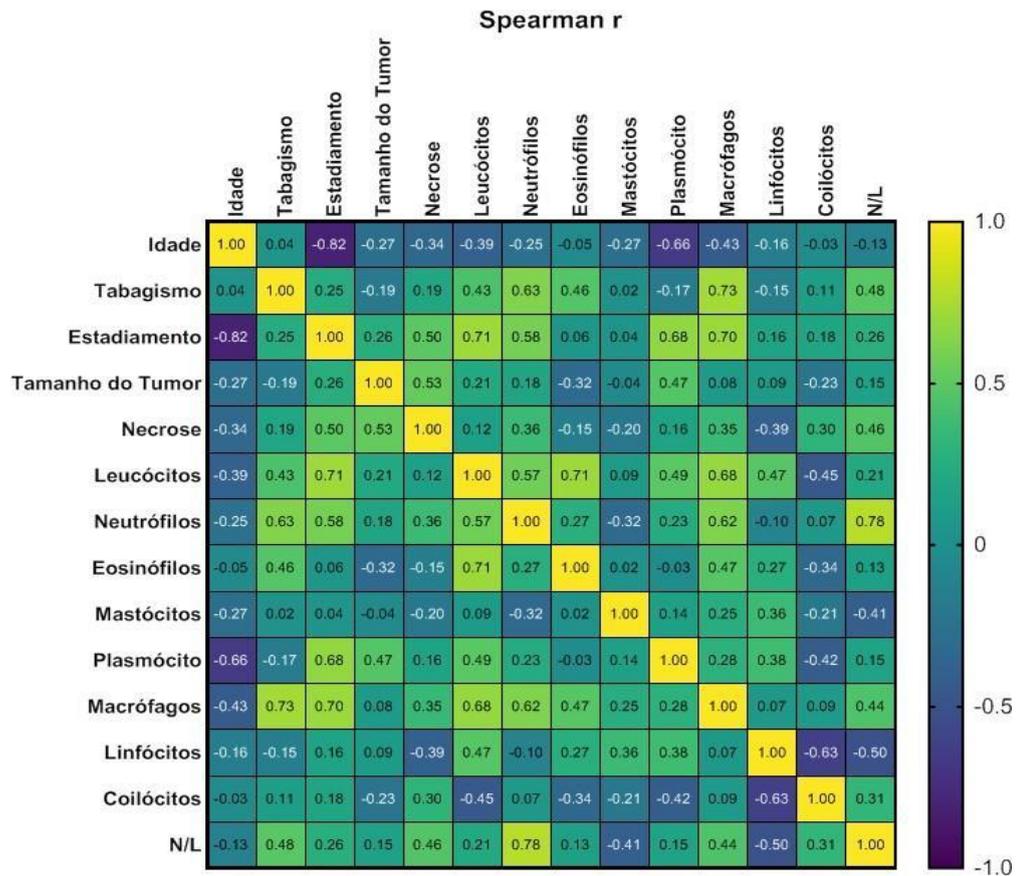


Figura 12. A tabela apresenta os valores de p associados aos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas. Um valor de p menor que um nível de significância igual a 0,05 sugere que a correlação observada é estatisticamente significativa. A análise foi realizada com base em 15 amostras e 21 parâmetros. Foi utilizada uma matriz de correlação de Spearman de duas caudas. Na matriz, cores mais frias (roxo) representam valores de p menores que 0,05, indicando significância estatística, enquanto que cores mais quente (verde/amarelo) representam valores de p maiores que 0,05 indicando falta de significância estatística.

b) Regressões Lineares

Nas Figuras 13 e 14, foram realizadas regressões lineares em conjunto com a correlação de Spearman em uma parte do conjunto de dados. Como principais resultados, observou-se que a idade dos pacientes está inversamente relacionada ao estadiamento do tumor ($r = -0,819$, $p = 0,001$, $R^2 = 0,591$) e que a quantidade de leucócitos no tumor aumenta conforme o estadiamento ($r = 0,713$, $p = 0,007$, $R^2 = 0,460$). Uma parte significativa desses leucócitos observados na contagem diferencial parece ser representativa da resposta imune adaptativa sendo correlacionada com o estadiamento estabelecido na (Figura 13, C e D).

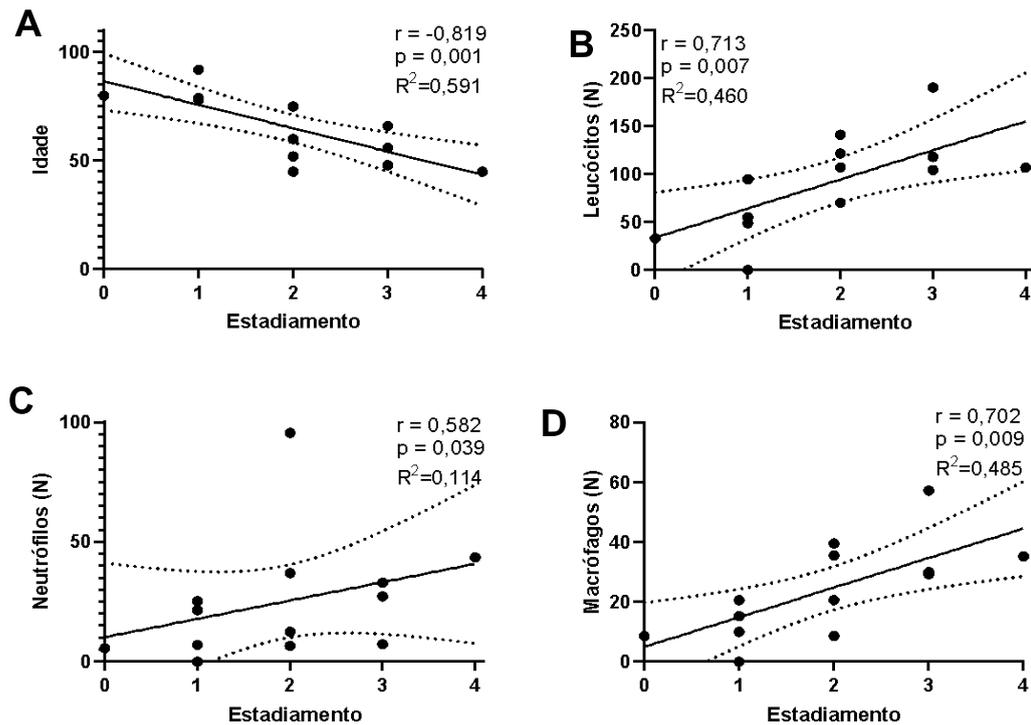


Figura 13. A figura apresenta os valores de r e p associados aos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas. Para melhorar a visualização dos dados, foi realizada uma regressão linear para determinar o melhor ajuste aos dados. As linhas tracejadas representam os intervalos de confiança (95%) da regressão realizada.

Na Figura 14, observa-se a correlação de um fator de risco com os parâmetros imunológicos, em particular da imunidade inata, como neutrófilos e macrófagos ($r = 0,627$; $p = 0,01$; $R^2 = 0,292$ e $r = 0,728$; $p = 0,003$; $R^2 = 0,428$, respectivamente) estando diretamente ligado a sua maior frequência em pacientes tabagistas. Além disso, a relação de neutrófilos por leucócitos presentes no tumor (N/L) demonstrou um bom ajuste na regressão linear em relação à quantidade de neutrófilos ($R^2 = 0,878$), demonstrando sua robustez como parâmetro de análise, podendo ser um bom marcador clínico. Também foi encontrada uma relação inversa entre a presença de coilócitos e a quantidade de linfócitos ($r = -0,628$; $p = 0,017$; $R^2 = 0,323$).

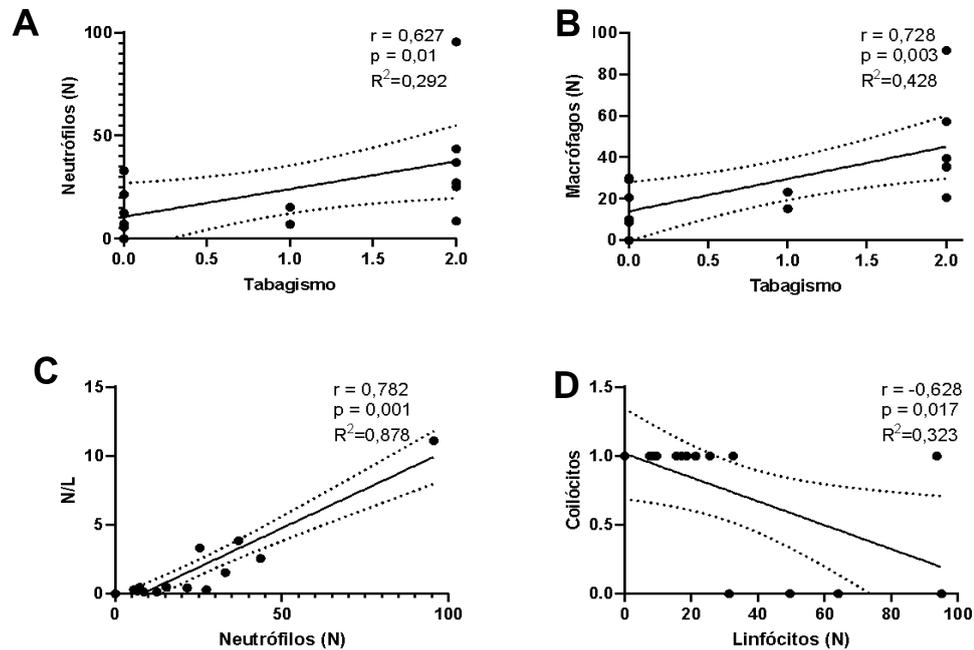


Figura 14. A figura apresenta os valores de r e p associados aos coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis estudadas. Para melhorar a visualização dos dados, foi realizada uma regressão linear para determinar o melhor ajuste aos dados. As linhas tracejadas representam os intervalos de confiança (95%) da regressão realizada.

c) Agrupamento de variáveis numéricas por variáveis categóricas

A figura 15 representa as variáveis numéricas agrupadas de acordo com sua associação com diferentes variáveis categóricas. Observou-se uma tendência ($p: 0,4667$) de aumento da média da relação N/L (\bar{x} : 0,2177; 1,396; 2,057, respectivamente) nos diferentes graus de estadiamento, ou seja, a uma presença maior de neutrófilos quanto maior o estadiamento (Figura 15, A). Uma situação semelhante foi encontrada quando o parâmetro N/L foi agrupado com o tabagismo ($p: 0,0626$; média: 0,3860; 2,757, respectivamente), quando o paciente é tabagista há um aumento de neutrófilos (MITTELMANN, *et al.*, 2020) Ao analisar a compartimentação pela presença de coilocitos, observou-se que esse parâmetro tem uma tendência a se relacionar com um maior N/L (\bar{x} : 0,2381; 2,177) e com uma menor presença de linfócitos (\bar{x} : 47,98; 22,74) podendo estar relacionado a modulação da resposta adaptativa quando há uma presença do HPV.

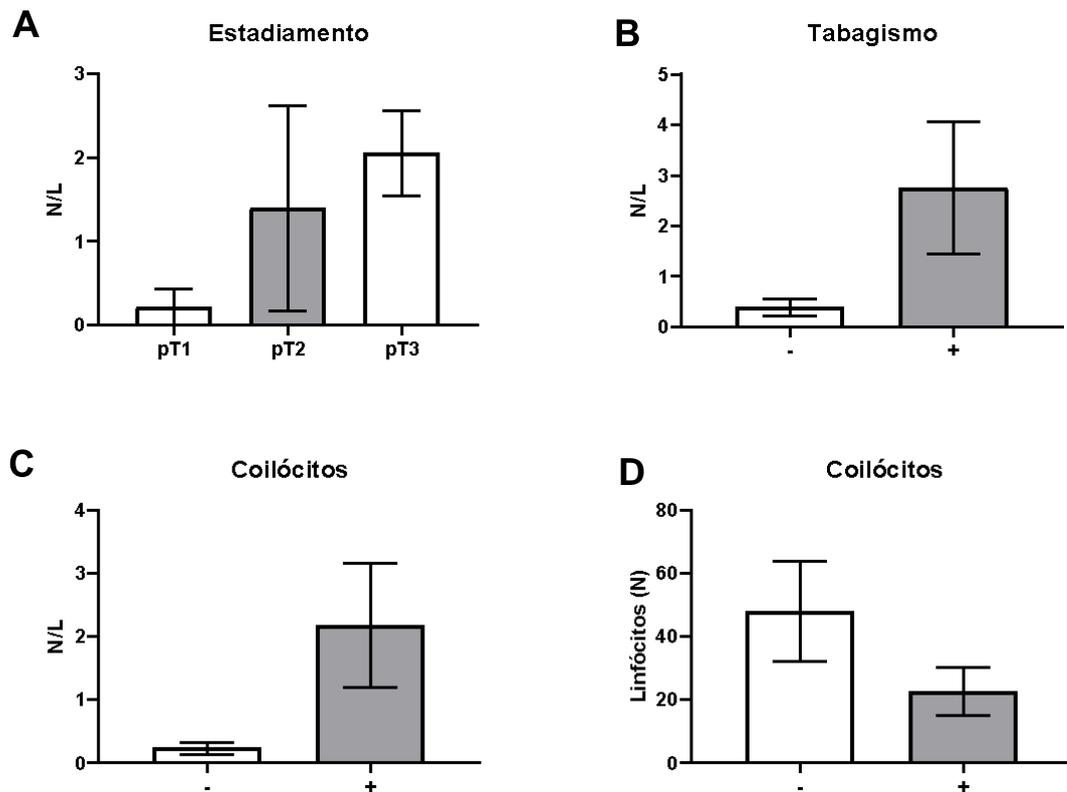


Figura 15. As variáveis numéricas foram agrupadas com base em sua associação com diferentes variáveis categóricas ou em relação a variáveis transformadas. Foram utilizados dados de sete pacientes/lâminas e são apresentados como média \pm desvio padrão da média.

d) Análise dos parâmetros do infiltrado inflamatório estromal

Os dados da área do infiltrado em relação ao tumor (Área (%)) e à área total (Área (μm^2)) desse infiltrado inflamatório, quando confrontados com as outras variáveis previamente analisadas, não apresentaram nenhuma correlação estatisticamente relevante ($p > 0,05$). Uma segunda análise foi realizada utilizando as porcentagens das áreas do infiltrado subdivididas pela maior presença de componentes imunes (Inato, adaptativo e misto), cuja distribuição pode ser vista na Figura 15 (A e B). Essa segunda análise de correlação demonstrou uma relação inversamente proporcional entre a área do infiltrado inato e o tabagismo (Figura 16, C). Além disso, o agrupamento da área do infiltrado adaptativo demonstrou uma tendência em ser maior na região estromal no grupo de fumantes ($p: 0,2381$; Média: 7444; 42574).

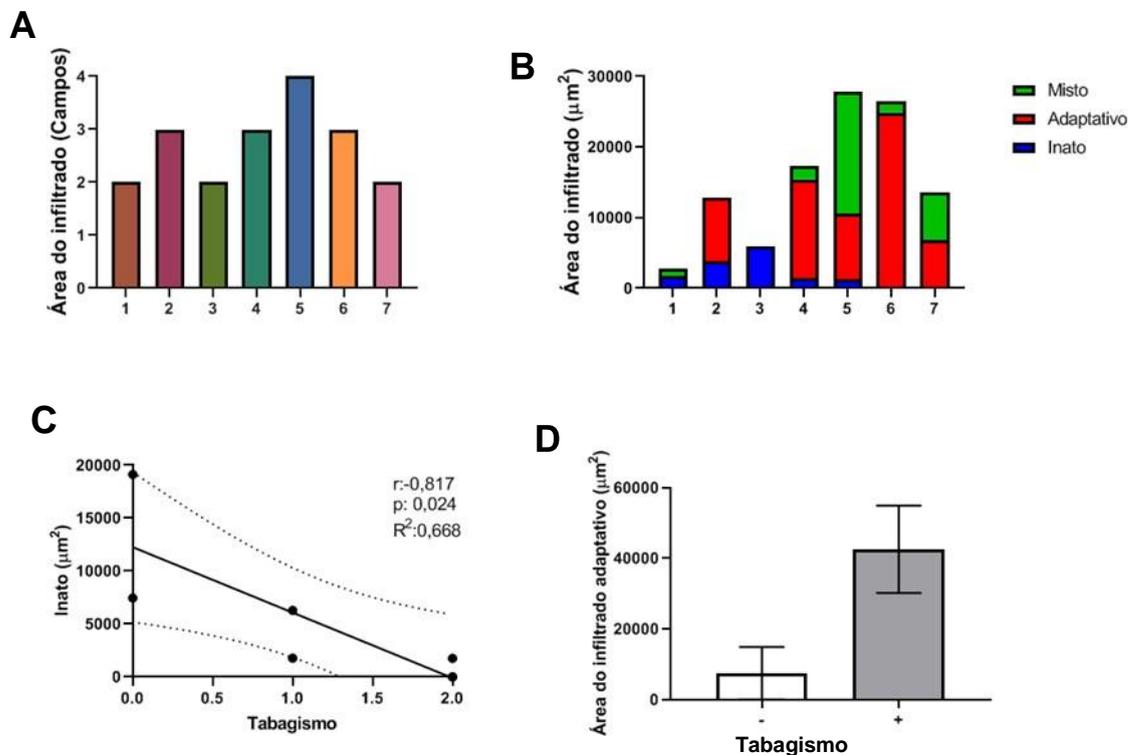


Figura 16. Gráficos referentes aos dados do infiltrado estromal dos tumores analisados de 7 pacientes. (A) Representação dos campos analisados com a presença de infiltrados. (B) Distribuição das áreas do infiltrado subdivididas pela presença de componentes imunes (Inato, adaptativo e misto). (C) Análise de correlação demonstrando uma relação inversamente proporcional entre a área do infiltrado inato e o tabagismo. (D) Agrupamento da área do infiltrado adaptativo pelo parâmetro tabagismo ($p: 0,2381$; Média: 7444; 42574).

Estudos epidemiológicos mostram dados de correlação entre os fatores de risco como idade avançada, infecção por HPV, falta de higiene e fumo com o câncer peniano (GIONA *et al*, 2022). Como mostrado anteriormente, o perfil dos pacientes estudados corrobora com o que é descrito na literatura. Entretanto, para análise de correlação, a ausência de informações no prontuário dificultou uma análise mais robusta.

Estudos direcionados a marcadores imunológicos e a evolução dos pacientes com câncer peniano têm se mostrado relevantes para o prognóstico de determinação de novas terapias em conjunto com a análise do perfil imune presente naquele microambiente tumoral podendo levar a um segmento mais certo. Estudos têm evidenciado a expressão de PD-L1 em cânceres penianos, sugerindo a imunoterapia de *check-point*, anti-CTLA-4 e anti-PD1, como promissoras (AHMED *et al*, 2020).

O vírus do HPV tem mostrado níveis diferenciados de prevalência em associação com diferentes tipos de câncer peniano, atuando como um gatilho para a doença através dos seus

oncogenes (KAYES, 2007). Em estudos sobre microRNAs regulatórios (miR), a sub expressão do miR-145 pode ser desencadeada pela ação do HPV, diminuindo a expressão proteica do p53, sendo correlacionada com a invasão perineural, apontando um potencial papel na carcinogênese peniana, com pior prognóstico (PINHO, 2021). Assim, os dados apresentados reforçam a importância da infecção do HPV nos pacientes estudados, mesmo com limitações nos dados coletados.

A taxa de neutrófilos/linfócitos (NL) está correlacionado a um marcador simples de resposta inflamatória sistêmica em pacientes em estado mais críticos da doença Kasuga *et al.* (2016) analisaram a taxa NLR em pacientes com câncer peniano e mostrou que o aumento dessa taxa, está relacionado ao pior prognóstico da doença tendo uma baixa sobrevida dos pacientes, sugerindo a NLR como marcador de prognóstico (KASUGA, 2016). Os dados apresentados neste trabalho podem sugerir a modulação da resposta imune no câncer peniano mediada por fatores de risco como tabagismo e HPV, como demonstrado na (figura 18) redirecionando a resposta para um perfil mais inato, podendo ser associado a protelação do quadro inflamatório e menor atividade específica dos linfócitos (MACHADO, *et al.*, 2004).

Entretanto destacamos que os dados convergem com outros trabalhos que indicam a importância do HPV na carcinogênese peniana e o papel do sistema imune na composição do microambiente tumoral, sendo aspectos relevantes para estratégias terapêuticas, tanto no âmbito preventivo, como a vacinação contra HPV, como no âmbito terapêutico, como a imunoterapia antitumoral (STONE, 2013).

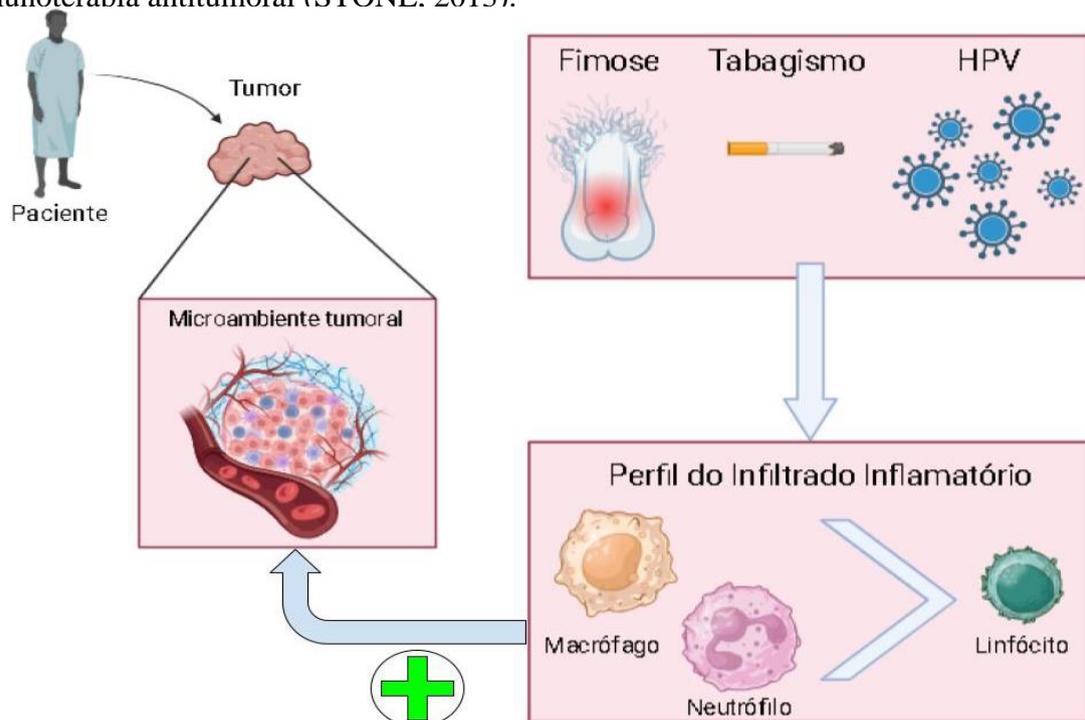


Figura 17. Esquema ilustrativo da relação dos fatores de risco na modulação inflamatória para um infiltrado de células da imunidade inata, aumentando a presença de neutrófilos em relação aos linfócitos, favorecendo o microambiente tumoral. Fonte: Próprio autor com auxílio do software BioRender.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho analisou dados clínico, sócio-demográfico e histológico de pacientes com câncer peniano atendidos em hospital de referência da capital maranhense. Os dados apresentam um perfil de pacientes residentes principalmente na mesorregião norte maranhense, que concordam com dados já relatados na literatura, apontando os fatores de risco como baixa condição socioeconômica, baixa escolaridade, presença de fimose e infecção pelo HPV com promotores da doença. Os achados histológicos mostraram a importância do infiltrado leucocitário nos tumores estudados, caracterizando o câncer peniano nessas amostras como inflamatório e a alta frequência de coilocitose característica do HPV. Os dados de correlação ratificaram a relação das células imunológicas e fatores de risco como o tabagismo estão associados ao pior estadiamento da doença. As correlações com HPV reforçam seu papel na carcinogênese do câncer peniano e na formação do infiltrado leucocitário, que sugere modular a resposta imune no microambiente a favor do tumor. Assim, os dados indicam que a análise histopatológica do infiltrado leucocitário pode ser usada como um marcador de prognóstico, entretanto estudos com maior amostragem e diversidade de pacientes se faz necessária.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGARWAL, B. B. *et al.* Inflammation and cancer: How hot is the link? **Biochemical Pharmacology**, v. 72, n. 11, p. 1605–1621, nov. 2006.
- AHMED, M. E. *et al.* The Immune Microenvironment in Penile Cancer and Rationale for Immunotherapy. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 3334, 17 out. 2020.
- AHMED, M. E. *et al.* Progress on Management of Penile Cancer in 2020. **Current Treatment Options in Oncology**, v. 22, n. 1, p. 4, jan. 2021.
- AUDENET, F.; SFAKIANOS, J. P. Psychosocial impact of penile carcinoma. **Translational Andrology and Urology**, v. 6, n. 5, p. 874–878, out. 2017.
- BARNES, J. L. *et al.* Carcinogens and DNA damage. **Biochemical Society Transactions**, v. 46, n. 5, p. 1213–1224, 19 out. 2018.
- BÅSKA, P.; NORBURY, L. J. The Role of Nuclear Factor Kappa B (NF-κB) in the Immune Response against Parasites. **Pathogens**, v. 11, n. 3, p. 310, 2 mar. 2022.
- BATRA, N. *et al.* Reviewing Oncogenes and Proto-Oncogenes. **International Journal of Scientific Research in Science and Technology**, p. 458–479, 31 maio 2021.
- BERTERO, L. *et al.* Eighth Edition of the UICC Classification of Malignant Tumours: an overview of the changes in the pathological TNM classification criteria—What has changed and why? **Virchows Archiv**, v. 472, n. 4, p. 519–531, abr. 2018.
- BLEEKER, M. C. G. *et al.* Penile cancer: epidemiology, pathogenesis and prevention. **World Journal of Urology**, v. 27, n. 2, p. 141, abr. 2009.
- BORRONI, E. M.; GRIZZI, F. Cancer Immunoediting and beyond in 2021. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 13275, 10 dez. 2021.
- BRETSCHER, P. On Analyzing How the Th1/Th2 Phenotype of an Immune Response Is Determined: Classical Observations Must Not Be Ignored. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1234, 5 jun. 2019.
- BUTCHER, M. J.; ZHU, J. Recent advances in understanding the Th1/Th2 effector choice. **Faculty Reviews**, v. 10, 15 mar. 2021.
- BISHARA, Anthony J.; HITTNER, James B. Testing the significance of a correlation with nonnormal data: comparison of Pearson, Spearman, transformation, and resampling approaches. **Psychological methods**, v. 17, n. 3, p. 399, 2012.
- CARBONE, A. Cancer Classification at the Crossroads. **Cancers**, v. 12, n. 4, p. 980, 15 abr. 2020.
- CAZARI, V. R. D. R. *et al.* REDUÇÃO DO USO DO XILOL NA TÉCNICA DE COLORAÇÃO HEMATOXILINA E EOSINA. **Colloquium Vitae**, v. 5, n. 2, p. 135–148, 19 dez. 2013.
- CAMUS M, Tosolini M, Mlecnik B, Pagès F, Kirilovsky A, Berger A, Costes A, Bindea G, Charoentong P, Bruneval P, Trajanoski Z, Fridman WH, Galon J. Coordination of intratumoral immune reaction and human colorectal cancer recurrence. **Cancer Res.** 2009 Mar

15;69(6):2685-93. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2654. Epub 2009 Mar 3. PMID: 19258510.

CANFO LM, da Silva JM, Castelo-Bianco PV, da Silva IM, Nogueira L, Fonseca-Alves CE, Khayat A, Bı́bı́aiı́ A, Peı́eı́ı́a SR. Mutational Signatuı́e and Integı́ative Genomic Analysis of Human Papillomaviı́us-Associated Penile Squamous Cell Caı́cinomas fı́om Latin Ameı́ican Patients. *Canceı́s* (Basel). 2022 Jul 20;14(14):3514. doi: 10.3390/canceı́s14143514. PMID: 35884575; PMCID: PMC9316960.

CHAUX, A. *et al.* Warty-basaloid carcinoma: clinicopathological features of a distinctive penile neoplasm. Report of 45 cases. **Modern Pathology**, v. 23, n. 6, p. 896-904, jun. 2010.

CHAUX, A. *et al.* Epidemiologic profile, sexual history, pathologic features, and human papillomavirus status of 103 patients with penile carcinoma. **World Journal of Urology**, v. 31, n. 4, p. 861-867, ago. 2013.

CAMBRUZZI, E., Zettler, C. G., Pegas, K. L., & Teixeira, S. L.. (2010). Relaçãõ entre escore de Gleason e fatores prognóı́sticos no adenocarcinoma acinar de próstata. **jornal Brasileiro JDe Patologia E Medicina Laboratorial**, 46(1), 61-68. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442010000100011>

CHAUX, A.; CUBILLA, A. L. The role of human papillomavirus infection in the pathogenesis of penile squamous cell carcinomas. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 29, n. 2, p. 67-71, maio 2012.

CHIPOLLINI, J. *et al.* Patterns of Regional Lymphadenectomy for Clinically Node-negative Patients With Penile Carcinoma: Analysis From the National Cancer Database From 1998 to 2012. **Clinical Genitourinary Cancer**, v. 15, n. 6, p. 670- 677.e1, dez. 2017.

CHRAA, D. *et al.* T lymphocyte subsets in cancer immunity: Friends or foes. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 105, n. 2, p. 243-255, 31 jan. 2019.

CHRISTODOULIDOU, M. *et al.* Epidemiology of penile cancer. **Current Problems in Cancer**, v. 39, n. 3, p. 126-136, maio 2015.

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

COUSSENS LM, Werb Z. Inflammation and cancer. **Nature**. 2002 Dec 19-26;420(6917):860- 7. doi: 10.1038/nature01322. PMID: 12490959; PMCID: PMC2803035.

Compérat, Eva (2017). Pathology of Penile Cancer. **European Urology Supplements**, (), S1569905617313994-. doi:10.1016/j.eursup.2017.08.005

COLLIN, M.; BIGLEY, V. Human dendritic cell subsets: an update. **Immunology**, v. 154, n. 1, p. 3-20, maio 2018.

COLLARES, Guilherme Birchal; PAULINO, Urquiza Helena Meira. Aplicações clínicas atuais da proteína C reativa. **Rev Med Minas Gerais**, v. 16, n. 4, p. 227-233, 2006.

CORNEL, A. M.; MIMPEN, I. L.; NIERKENS, S. MHC Class I Downregulation in Cancer: Underlying Mechanisms and Potential Targets for Cancer Immunotherapy. **Cancers**, v. 12, n. 7, p. 1760, 2 jul. 2020.

CRUVINEL, W. de M., Mesquita Júnior, D., Araújo, J. A. P., Catelan, T. T. T., Souza, A. W. S. de ., Silva, N. P. da ., & Andrade, L. E. C.. (2010). Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta

inflamatória. **Revista Brasileira De Reumatologia**, 50(4), 434–447. <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000400008>

COUTO, T. C. D. *et al.* Epidemiological study of penile cancer in Pernambuco: experience of two reference centers. **International braz j urol**, v. 40, n. 6, p. 738–744, dez. 2014.

CZAJKOWSKI, M. *et al.* Pro-Inflammatory Cytokine Gene Expression in Penile Cancer: Preliminary Studies. **Medicina**, v. 59, n. 9, p. 1623, 8 set. 2023.

Cubilla AL, Lloveras B, Alemany L, Alejo M, Vidal A, Kasamatsu E, Clavero O, Alvarado-Cabrero I, Lynch C, Velasco-Alonso J, Ferrera A, Chaux A, Klaustermeier J, Quint W, de Sanjosé S, Muñoz N, Bosch FX. Basaloid squamous cell carcinoma of the penis with papillary features: a clinicopathologic study of 12 cases. **Am J Surg Pathol**. 2012 Jun;36(6):869-75. doi: 10.1097/PAS.0b013e318249c6f3. PMID: 22367299.

DALLAVALLE, S. *et al* Improvement of conventional anti-cancer drugs as new tools against multidrug resistant tumors. **Drug Resistance Updates**, v. 50, p. 100682, maio 2020.

DE MARTEL, C. *et al.* Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. **The Lancet Global Health**, v. 8, n. 2, p. e180–e190, fev. 2020.

DE PAULA, A. A. P. *et al.* Penile Carcinoma: The Role of Koilocytosis in Groin Metastasis and the Association With Disease Specific Survival. **Journal of Urology**, v. 177, n. 4, p. 1339–1343, abr. 2007.

DE VRIES, H.-M. *et al.* Defining the Tumor Microenvironment of Penile Cancer by Means of the Cancer Immunogram. **European Urology Focus**, v. 5, n. 5, p. 718–721, set. 2019.

De Guillebon E, Dardenne A, Saldmann A, Séguier S, Tran T, Paolini L, Lebbe C, Tartour E. Beyond the concept of cold and hot tumors for the development of novel predictive biomarkers and the rational design of immunotherapy combination. **Int J Cancer**. 2020 Sep 15;147(6):1509-1518. doi: 10.1002/ijc.32889. Epub 2020 Feb 18. PMID: 31997345.

DEMARIA, O. *et al.* Harnessing innate immunity in cancer therapy. **Nature**, v. 574, n. 7776, p. 45–56, 3 out. 2019.

DENIS, C. *et al.* Cemiplimab for Cisplatin Resistant Metastatic Penile Cancer. **Case Reports in Oncology**, v. 14, n. 2, p. 972–976, 21 jun. 2021.

De Paulo L. F., Antunes A. *et al.*, Inflamação: História, Tipos e Causas. **UNINGÁ Review**. 2010 Jan. No01. p. 56-63

DILLNER, J. *et al.* Etiology of Squamous Cell Carcinoma of the Penis. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology**, v. 34, n. 205, p. 189–193, 1 jan. 2000.

DJAJADININGRAT, R. S. *et al.* Contemporary Management of Regional Nodes in Penile Cancer—Improvement of Survival? **Journal of Urology**, v. 191, n. 1, p. 68–73, jan. 2014.

DONG, C. Cytokine Regulation and Function in T Cells. **Annual Review of Immunology**, v. 39, n. 1, p. 51–76, 26 abr. 2021.

DOUGLAWI, A.; MASTERSON, T. A. Updates on the epidemiology and risk factors for penile cancer. **Translational Andrology and Urology**, v. 6, n. 5, p. 785–790, out. 2017.

DOUGLAWI, A.; MASTERSON, T. A. Penile cancer epidemiology and risk factors: a contemporary review. **Current Opinion in Urology**, v. 29, n. 2, p. 145–149, mar. 2019.

DU, Y. *et al.* PD-1 inhibitor treatment in a penile cancer patient with MMR/MSI status heterogeneity: A case report. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 18, n. 6, p. 2121122, 30 nov. 2022.

DUPAGE, M. *et al.* Expression of tumour-specific antigens underlies cancer immunoediting. **Nature**, v. 482, n. 7385, p. 405–409, fev. 2012.

ESFAHANI, K. *et al.* A Review of Cancer Immunotherapy: From the Past, to the Present, to the Future. **Current Oncology**, v. 27, n. 12, p. 87–97, 1 abr. 2020.

EZZATI, M. *et al.* Acting on non-communicable diseases in low- and middle-income tropical countries. **Nature**, v. 559, n. 7715, p. 507–516, jul. 2018.

EKBOTE, Nivedita; DHANSHETTI, Prapti; SAKHREKAR, Shalaka. TECHNIQUES OF EXPLORATORY DATA ANALYSIS. **Madhya Pradesh Journal of Social Sciences**, 2023.

FARES, J. *et al.* Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 1, p. 28, 12 mar. 2020.

FIDLER, M. M.; BRAY, F.; SOERJOMATARAM, I. The global cancer burden and human development: A review. **Scandinavian Journal of Public Health**, v. 46, n. 1, p. 27–36, fev. 2018.

Figueiredo C.R.L.V., O intrigante paradoxo da inflamação associada ao câncer: uma atualização. **J Bras Patol Med Lab**. 2019; 55(3): 321-332.doi: 10.5935/1676-2444.20190029

FISHBEIN, A. *et al.* Carcinogenesis: Failure of resolution of inflammation? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 218, p. 107670, fev. 2021.

Ferrandiz-Pulido C, de Torres I, Garcia-Patos V. Carcinoma escamoso de pene. **Actas Dermosifiliogr**. 2012; 103:478-487. DOI: 10.1016/j.adengl.2012.07.007

FRANCESCHI, C. *et al.* The Continuum of Aging and Age-Related Diseases: Common Mechanisms but Different Rates. **Frontiers in Medicine**, v. 5, p. 61, 12 mar. 2018.

FU, L. *et al.* Global Pattern and Trends in Penile Cancer Incidence: Population-Based Study. **JMIR Public Health and Surveillance**, v. 8, n. 7, p. e34874, 6 jul. 2022.

GAJEWSKI, T. F.; SCHREIBER, H.; FU, Y.-X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. **Nature Immunology**, v. 14, n. 10, p. 1014–1022, out. 2013.

Galon J, Bruni D. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumours with combination immunotherapies. **Nat Rev Drug Discov**. 2019 Mar;18(3):197-218. doi: 10.1038/s41573-018- 0007-y. PMID: 30610226.

GOLEMIS, E. A. *et al.* Molecular mechanisms of the preventable causes of cancer in the United States. **Genes & Development**, v. 32, n. 13–14, p. 868–902, 1 jul. 2018.

GONZALEZ, H.; HAGERLING, C.; WERB, Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. **Genes & Development**, v. 32, n. 19–20, p. 1267–1284, 1 out. 2018.

GONZÁLEZ-COSTA, Maricarmen; GONZÁLEZ, Alexander Ariel Padrón. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. **Revista Habanera de Ciencias Médicas**, v. 18, n. 1, p. 30-44, 2019.

Gonçalves, I. R., Padovani, C., & Popim, R. C.. (2008). Caracterização epidemiológica e demográfica de homens com câncer de próstata. **Ciência & Saúde Coletiva**, 13(4), 1337–1342. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232008000400031>

GOODMAN, M. T.; HERNANDEZ, B. Y.; SHVETSOV, Y. B. Demographic and Pathologic Differences in the Incidence of Invasive Penile Cancer in the United States, 1995-2003. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 16, n. 9, p. 1833–1839, 1 set. 2007.

GRAHAM, S. V. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. **Clinical Science**, v. 131, n. 17, p. 2201–2221, 1 set. 2017a.

GRAHAM, S. V. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. **Clinical Science**, v. 131, n. 17, p. 2201–2221, 1 set. 2017b.

GREAVES, M. Evolutionary Determinants of Cancer. **Cancer Discovery**, v. 5, n. 8, p. 806–820, 1 ago. 2015.

GRIVENNIKOV, S. I.; GRETEN, F. R.; KARIN, M. Immunity, Inflammation, and Cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883–899, mar. 2010.

GUBIN, M. M.; VESELY, M. D. Cancer Immunoediting in the Era of Immuno-oncology. **Clinical Cancer Research**, v. 28, n. 18, p. 3917–3928, 15 set. 2022.

GUÉRY, L.; HUGUES, S. Th17 Cell Plasticity and Functions in Cancer Immunity. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–11, 2015.

GUIMARÃES, G. C. *et al.* Penile Squamous Cell Carcinoma Clinicopathological Features, Nodal Metastasis and Outcome in 333 Cases. **Journal of Urology**, v. 182, n. 2, p. 528–534, ago. 2009.

HAKENBERG, O. W. *et al.* The Diagnosis and Treatment of Penile Cancer. **Deutsches Ärzteblatt international**, 28 set. 2018.

HANAHAHAN, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, 1 jan. 2022.

HADDAD Hamiltom, Visconti Maria. Anatomia e Fisiologia do Sistema Reprodutor Masculino. Licenciatura em Ciências – **USP/UNESP**. Módulo 4. .2021. site: https://midia.atp.usp.br/plc/plc0024/impressos/plc0024_01.pdf

HANAHAHAN, D.; COUSSENS, L. M. Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment. **Cancer Cell**, v. 21, n. 3, p. 309–322, mar. 2012.

HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, jan. 2000.

HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, mar. 2011.

HANSEN, B. T. *et al.* Trends in incidence, mortality and survival of penile squamous cell carcinoma in Norway 1956–2015. **International Journal of Cancer**, v. 142, n. 8, p. 1586–1593, 15 abr. 2018.

HERNANDEZ, Hugo. Quantitative analysis of categorical variables. **ForsChem Research Reports**, v. 6, p. 2021-04, 2021.

HANSEN, M.; ANDERSEN, M. H. The role of dendritic cells in cancer. **Seminars in Immunopathology**, v. 39, n. 3, p. 307–316, abr. 2017.

HASHEMI GORADEL, N. *et al.* Cyclooxygenase-2 in cancer: A review. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 5, p. 5683–5699, maio 2019.

HEBNES, J. B. *et al.* The role of circumcision, tobacco, and alcohol use in genital human papillomavirus infection among men from Denmark. **International Journal of STD & AIDS**, v. 32, n. 11, p. 1028–1035, out. 2021.

HEYNS, C. F.; MENDOZA-VALDÉS, A.; POMPEO, A. C. L. Diagnosis and Staging of Penile Cancer. **Urology**, v. 76, n. 2, p. S15–S23, ago. 2010.

HIPPELAINEN, M. I. *et al.* Diagnosis of genital human papillomavirus (HPV) lesions in the male: correlation of peniscopy, histology and in situ hybridisation. **Sexually Transmitted Infections**, v. 69, n. 5, p. 346–351, 1 out. 1993.

HLADEK, L. *et al.* Tumor-associated immune cell infiltrate density in penile squamous cell carcinomas. **Virchows Archiv**, v. 480, n. 6, p. 1159–1169, jun. 2022.

HU, H.-G.; LI, Y.-M. Emerging Adjuvants for Cancer Immunotherapy. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, p. 601, 30 jul. 2020.

HUYNH, J. *et al.* Therapeutically exploiting STAT3 activity in cancer — using tissue repair as a road map. **Nature Reviews Cancer**, v. 19, n. 2, p. 82–96, fev. 2019.

HYNDMAN, I. J. Review: the Contribution of both Nature and Nurture to Carcinogenesis and Progression in Solid Tumours. **Cancer Microenvironment**, v. 9, n. 1, p. 63–69, abr. 2016.

IBILIBOR, C. *et al.* RNA sequencing in a penile cancer cohort: an investigation of biomarkers of cisplatin resistance and potential therapeutic drug targets. **Clinical Genitourinary Cancer**, v. 20, n. 3, p. 219–226, jun. 2022.

KASUGA, J. *et al.* Increased neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with disease-specific mortality in patients with penile cancer. **BMC Cancer**, v. 16, n. 1, p. 396, dez. 2016.

KATZKE, V. A.; KAAKS, R.; KÜHN, T. Lifestyle and Cancer Risk. **The Cancer Journal**, v. 21, n. 2, p. 104–110, mar. 2015.

KAYES, O. *et al.* Molecular and genetic pathways in penile cancer. **The Lancet Oncology**, v. 8, n. 5, p. 420–429, maio 2007.

KIDD, L. C. *et al.* Relationship between human papillomavirus and penile cancer—implications for prevention and treatment. **Translational Andrology and Urology**, v. 6, n. 5, p. 791–802, out. 2017.

KJAER, S. K. *et al.* Acquisition and Persistence of Human Papillomavirus Infection in Younger Men: A Prospective Follow-up Study among Danish Soldiers. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 14, n. 6, p. 1528–1533, 1 jun. 2005.

KOCH, J. *et al.* Activating natural cytotoxicity receptors of natural killer cells in cancer and infection. **Trends in Immunology**, v. 34, n. 4, p. 182–191, abr. 2013.

KÖNIG, J. *et al.* Radiotherapy effects on early breast cancer survival in observational and randomized studies: a systematic analysis of advantages, disadvantages and differences between the two study types. **Breast Cancer**, v. 23, n. 3, p. 415–424, maio 2016.

KONTOMANOLIS, E. N. *et al.* Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. **Anticancer Research**, v. 40, n. 11, p. 6009–6015, nov. 2020.

KORKES, F. *et al.* Penile cancer trends and economic burden in the Brazilian public health system. **Einstein (São Paulo)**, v. 18, p. eAO5577, 29 out. 2020.

KUASNE, H. *et al.* Integrative miRNA and mRNA analysis in penile carcinomas reveals markers and pathways with potential clinical impact. **Oncotarget**, v. 8, n. 9, p. 15294–15306, 28 fev. 2017.

KULKARNI, S. *et al.* Lichen Sclerosus of the Male Genitalia and Urethra: Surgical Options and Results in a Multicenter International Experience with 215 Patients. **European Urology**, v. 55, n. 4, p. 945–956, abr. 2009.

LABANI-MOTLAGH, A.; ASHJA-MAHDAVI, M.; LOSKOG, A. The Tumor Microenvironment: A Milieu Hindering and Obstructing Antitumor Immune Responses. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 940, 15 maio 2020.

LARKE, N. L. *et al.* Male circumcision and penile cancer: a systematic review and meta-analysis. **Cancer Causes & Control**, v. 22, n. 8, p. 1097–1110, ago. 2011.

LASRY, A.; BEN-NERIAH, Y. Senescence-associated inflammatory responses: aging and cancer perspectives. **Trends in Immunology**, v. 36, n. 4, p. 217–228, abr. 2015.

LAWSON, J. S. *et al.* Koilocytes indicate a role for human papilloma virus in breast cancer. **British Journal of Cancer**, v. 101, n. 8, p. 1351–1356, out. 2009.

LE TORTOREC, A. *et al.* From Ancient to Emerging Infections: The Odyssey of Viruses in the Male Genital Tract. **Physiological Reviews**, v. 100, n. 3, p. 1349–1414, 1 jul. 2020.

LECOT, P. *et al.* Context-dependent effects of cellular senescence in cancer development. **British Journal of Cancer**, v. 114, n. 11, p. 1180–1184, maio 2016.

LEE, H.; JEONG, A. J.; YE, S.-K. Highlighted STAT3 as a potential drug target for cancer therapy. **BMB Reports**, v. 52, n. 7, p. 415–423, 31 jul. 2019.

LEONE, A. *et al.* Contemporary management of patients with penile cancer and lymph node metastasis. **Nature Reviews Urology**, v. 14, n. 6, p. 335–347, jun. 2017.

LETENDRE, J.; SAAD, F.; LATTOUF, J.-B. Penile cancer: what's new? **Current Opinion in Supportive & Palliative Care**, v. 5, n. 3, p. 185–191, set. 2011.

LEWANDOWSKA, A. *et al.* Environmental risk factors for cancer – review paper. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 26, n. 1, p. 1–7, 22 mar. 2019.

LI, M. O. *et al.* Innate immune cells in the tumor microenvironment. **Cancer Cell**, v. 39, n. 6, p. 725–729, jun. 2021.

Lianjie Wang, Hui Geng, Yujie Liu, Lei Liu, Yanhua Chen, Fanchen Wu, Zhiyi Liu, Shiliang Ling, Yan Wang, Lihong Zhou. Hot and cold tumors: Immunological features and the therapeutic strategies. **MedCom**. 2023;4:e343. <https://doi.org/10.1002/mco2.343>

LI, T. *et al.* The outstanding antitumor capacity of CD4+ T helper lymphocytes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1874, n. 2, p. 188439, dez. 2020.

LIU, C.-Y. *et al.* M2-polarized tumor-associated macrophages promoted epithelial–mesenchymal transition in pancreatic cancer cells, partially through TLR4/IL-10 signaling pathway. **Laboratory Investigation**, v. 93, n. 7, p. 844–854, jul. 2013.

LOPES, A. *et al.* Prognostic Factors in Carcinoma of the Penis: Multivariate Analysis of 145 Patients Treated with Amputation and Lymphadenectomy. **Journal of Urology**, v. 156, n. 5, p. 1637–1642, nov. 1996.

M KULESZ-MARTIN, J. R. G.; Y LIU. **Multistage Carcinogenesis: Cell and Animal Models**. [s.l.] Oregon Health & Science University, 2010.

MACEDO, J. *et al.* Genomic profiling reveals the pivotal role of hrHPV driving copy number and gene expression alterations, including mRNA downregulation of *TP53* and *RBI* in penile cancer. **Molecular Carcinogenesis**, v. 59, n. 6, p. 604–617, jun. 2020.

MARTÍNEZ-JIMÉNEZ, F. *et al.* A compendium of mutational cancer driver genes. **Nature Reviews Cancer**, v. 20, n. 10, p. 555–572, out. 2020.

MARTINEZ-ZAPIEN, D. *et al.* Structure of the E6/E6AP/p53 complex required for HPV-mediated degradation of p53. **Nature**, v. 529, n. 7587, p. 541–545, 28 jan. 2016.

MATTHEWS, H. K.; BERTOLI, C.; DE BRUIN, R. A. M. Cell cycle control in cancer. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 1, p. 74–88, jan. 2022.

MENDES, Juliana Melo Macedo *et al.* Subexpressão dos genes Rb, P53 e MYC mediada pelo HPV e Superexpressão de genes envolvidos no processo inflamatório COX2, PGE2 e EGFR com importância terapêutica em câncer peniano. 2017. **Universidade Federal do Maranhão**.
MACHADO, P. R. L., Araújo, M. I. A. S., Carvalho, L., & Carvalho, E. M. (2004). Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, 79(6), 647– 662. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962004000600002>

MCBRIDE, A. A.; WARBURTON, A. The role of integration in oncogenic progression of HPV-associated cancers. **PLOS Pathogens**, v. 13, n. 4, p. e1006211, 6 abr. 2017.

MCLANE, L. M.; ABDEL-HAKEEM, M. S.; WHERRY, E. J. CD8 T Cell Exhaustion During Chronic Viral Infection and Cancer. **Annual Review of Immunology**, v. 37, n. 1, p. 457–495, 26 abr. 2019.

Medzhitov, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature** **454**, 428–435 (2008). <https://doi.org/10.1038/nature07201>

MCNALLY, E. J.; LUNCSFORD, P. J.; ARMANIOS, M. Long telomeres and cancer risk: the price of cellular immortality. **Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 9, p. 3474–3481, 5 ago. 2019.

MIGGELBRINK, A. M. *et al.* CD4 T-Cell Exhaustion: Does It Exist and What Are Its Roles in Cancer? **Clinical Cancer Research**, v. 27, n. 21, p. 5742–5752, 1 nov. 2021.

MILFONT, Flávia Lopes de Lima Resposta inflamatória primária associada ao tumor no carcinoma invasivo da vulva. Flávia Lopes de Lima Milfont – São Paulo, 2020. Tese (Doutorado)-**Fundação Antônio Prudente**. 87p.

MINHAS, S. *et al.* Penile Cancer—Prevention and Premalignant Conditions. **Urology**, v. 76, n. 2, p. S24–S35, ago. 2010.

MIRABELLO, L. *et al.* HPV16 E7 Genetic Conservation Is Critical to Carcinogenesis. **Cell**, v. 170, n. 6, p. 1164–1174.e6, set. 2017.

MISRA, S.; CHATURVEDI, A.; MISRA, N. C. Penile carcinoma: a challenge for the developing World. **The Lancet Oncology**, v. 5, n. 4, p. 240–247, abr. 2004.

MOCH, H. *et al.* The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. **European Urology**, v. 70, n. 1, p. 93–105, jul. 2016.

MONTES CARDONA, C. E.; GARCÍA-PERDOMO, H. A. Incidence of penile cancer worldwide: systematic review and meta-analysis. **Revista Panamericana de Salud Pública**, p. 1–10, 2017.

Monteiro AC, Lepique AP, Bonamino M, Fuertes MB. Editorial: Tumor microenvironment immunophenotypes and disease progression. **Front Immunol**. 2023 Jan 24;14:1141084. doi: 10.3389/fimmu.2023.1141084. PMID: 36761722; PMCID: PMC9903056.

MORGAN, J.; FULLERTON, R.; BEDI, C. Treatment of locally recurrent and advanced breast cancer. **Surgery (Oxford)**, v. 40, n. 2, p. 147–151, fev. 2022.

MORRIS, B.; KRIEGER, J. Penile inflammatory skin disorders and the preventive role of circumcision. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 8, n. 1, p. 32, 2017.

MORTEZAEE, K. Immune escape: A critical hallmark in solid tumors. **Life Sciences**, v. 258, p. 118110, out. 2020.

MITTELMANN, Tamíres Hillesheim; MATSCHINSKI, Gabriela Nogueira. Avaliação da atividade de enzimas antioxidantes e da mieloperoxidase em pacientes com adenocarcinoma colorretal esporádico. 2020.

MORVAN, M. G.; LANIER, L. L. NK cells and cancer: you can teach innate cells new tricks. **Nature Reviews Cancer**, v. 16, n. 1, p. 7–19, jan. 2016.

NEAGU, M. *et al.* Chemically induced skin carcinogenesis: Updates in experimental models (Review). **Oncology Reports**, v. 35, n. 5, p. 2516–2528, maio 2016.

NIELSON, C. M. *et al.* Risk Factors for Anogenital Human Papillomavirus Infection in Men. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. 8, p. 1137–1145, 15 out. 2007.

OKUNADE, K. S. Human papillomavirus and cervical cancer. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 40, n. 5, p. 602–608, 3 jul. 2020.

O'NEILL, S. *et al.* The role of penectomy in penile cancer—evolving paradigms. **Translational Andrology and Urology**, v. 9, n. 6, p. 3191–3194, dez. 2020.

OSTROUMOV, D. *et al.* CD4 and CD8 T lymphocyte interplay in controlling tumor growth. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 75, n. 4, p. 689–713, fev. 2018.

OTTENHOF, S. R. *et al.* The Prognostic Value of Immune Factors in the Tumor Microenvironment of Penile Squamous Cell Carcinoma. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1253, 11 jun. 2018.

PANER, G. P. *et al.* Updates in the Eighth Edition of the Tumor-Node-Metastasis Staging Classification for Urologic Cancers. **European Urology**, v. 73, n. 4, p. 560–569, abr. 2018.

PARK, M.; HONG, J. Roles of NF- κ B in Cancer and Inflammatory Diseases and Their Therapeutic Approaches. **Cells**, v. 5, n. 2, p. 15, 29 mar. 2016.

PHILIP, M.; SCHIETINGER, A. Heterogeneity and fate choice: T cell exhaustion in cancer and chronic infections. **Current Opinion in Immunology**, v. 58, p. 98–103, jun. 2019.

PINHO, J. D. *et al.* MIR-107, MIR-223-3P and MIR-21-5P Reveals Potential Biomarkers in Penile Cancer. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 21, n. 2, p. 391–397, 1 fev. 2020.

PAPADOPULOS, FRANCESCA *et al.* Common Tasks in Microscopic and Ultrastructural Image Analysis Using ImageJ. **ULTRASTRUCTURAL PATHOLOGY**, v. 31, n. 6, p. 401–407, 2007.

PINHO, J. D. *et al.* Downregulation of miR-145 is associated with perineural invasion in penile carcinoma. **Translational Andrology and Urology**, v. 10, n. 5, p. 2019–2026, maio 2021.

PLUMMER, M. *et al.* Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. **The Lancet Global Health**, v. 4, n. 9, p. e609–e616, set. 2016.

RATNA, A.; MANDREKAR, P. Alcohol and Cancer: Mechanisms and Therapies. **Biomolecules**, v. 7, n. 4, p. 61, 14 ago. 2017.

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

REGO, C. E. M., Ramos R. S., Carneiro M. A. dos S., Martins B. C. T., Alves L. G., Paula A. A. P. de, & Saddi V. A. (2023). Aspectos clínicos, histopatológicos e prognósticos do câncer de pênis em pacientes de uma instituição pública de tratamento, em Goiânia, Goiás. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, 23(9), e13764. <https://doi.org/10.25248/reas.e13764.2023>

REUTER, S. *et al.* Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603–1616, dez. 2010.

ROY, P.; SAIKIA, B. Cancer and cure: A critical analysis. **Indian Journal of Cancer**, v. 53, n. 3, p. 441, 2016.

Rosa LM, Hames ME, Dias M, Miranda GM, Bagio CB, Santos MJ, *et al.* Epidemiological profile of women with gynecological cancer in brachytherapy: a cross-sectional study. **Rev Bras Enferm**. 2021;74(5):e20200695. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2020-0695>

SALMON, H. *et al.* Host tissue determinants of tumour immunity. **Nature Reviews Cancer**, 12 mar. 2019.

SANCHEZ, D. F. *et al.* Pathological factors, behavior, and histological prognostic risk groups in subtypes of penile squamous cell carcinomas (SCC). **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 32, n. 3, p. 222–231, maio 2015.

SANTOS, A. P.; BANDEIRA, M. B.; SIQUEIRA, L. O. Comparação entre diversos métodos de contagem diferencial de leucócitos em pacientes leucopênicos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 3, 2009.

SENNEPIN, A. *et al.* The Human Penis Is a Genuine Immunological Effector Site. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 1732, 14 dez. 2017.

SENOVILLA, L. *et al.* Immunosurveillance as a regulator of tissue homeostasis. **Trends in Immunology**, v. 34, n. 10, p. 471–481, out. 2013.

SHALAPOUR, S.; KARIN, M. Immunity, inflammation, and cancer: an eternal fight between good and evil. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 9, p. 3347–3355, 1 set. 2015.

SHANKAR K, Kumar MV, Srinivas C, Nayak S, Suma MN. Sarcomatoid Carcinoma of the Penis. **Indian J Surg Oncol**. 2017 Mar;8(1):85-87. doi: 10.1007/s13193-016-0531-3. Epub 2016 Jun 6. PMID: 28127189; PMCID: PMC5236015.

S'ONE, Simone Caídozo. **Imunomodulação pói tumoíes associados ao papilomavíius humano**. 2013. Dissertação (Mestfado) – Univeísidade de São Paulo, São Paulo, 2013. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42133/tde-17062013-110129/>. Acesso em: 04 maio 2024.

SIDDIQUI, I. A. *et al.* Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1348, n. 1, p. 20–31, ago. 2015.

SILVA, Í. C. Neutrophils: classical aspects, plasticity and new immunoregulatory functions. **Rev Interd Estudos Exp**, v. 7, p. 35-46, 2015.

SMITH, J. S. *et al.* Male Circumcision Reduces Penile HPV Incidence and Persistence: A Randomized Controlled Trial in Kenya. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 30, n. 6, p. 1139–1148, 1 jun. 2021.

SMITH, S.; PREWETT, S. Principles of chemotherapy and radiotherapy. **Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine**, v. 30, n. 3, p. 72–78, mar. 2020.

SOARES, A. *et al.* Penile cancer: a Brazilian consensus statement for low- and middle-income countries. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 146, n. 12, p. 3281–3296, dez. 2020.

STEINESTEL, J. *et al.* The role of histologic subtype, p16INK4a expression, and presence of human papillomavirus DNA in penile squamous cell carcinoma. **BMC Cancer**, v. 15, n. 1, p. 220, dez. 2015.

SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.

SZYMONOWICZ, K. A.; CHEN, J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. **Cancer Biology & Medicine**, v. 17, n. 4, p. 864–878, 15 nov. 2020.

THOMAS, A. *et al.* Penile cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 11, 11 fev. 2021.

TOHME, S.; SIMMONS, R. L.; TSUNG, A. Surgery for Cancer: A Trigger for Metastases. **Cancer Research**, v. 77, n. 7, p. 1548–1552, 1 abr. 2017.

TOMAIĆ, V. Functional Roles of E6 and E7 Oncoproteins in HPV-Induced Malignancies at Diverse Anatomical Sites. **Cancers**, v. 8, n. 10, p. 95, 19 out. 2016.

TORBRAND, C. *et al.* Socioeconomic factors and penile cancer risk and mortality; a population-based study. **BJU International**, v. 119, n. 2, p. 254–260, fev. 2017.

UENO, A. *et al.* Th17 plasticity and its relevance to inflammatory bowel disease. **Journal of Autoimmunity**, v. 87, p. 38–49, fev. 2018.

VAN HOWE, R.; HODGES, F. The carcinogenicity of smegma: debunking a myth. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 20, n. 9, p. 1046–1054, out. 2006.

- VEGLIA, F.; GABRILOVICH, D. I. Dendritic cells in cancer: the role revisited. **Current Opinion in Immunology**, v. 45, p. 43–51, abr. 2017.
- VELAZQUEZ BERUMEN, A. *et al.* Defining priority medical devices for cancer management: a WHO initiative. **The Lancet Oncology**, v. 19, n. 12, p. e709–e719, dez. 2018.
- VELAZQUEZ, E. F.; CHAUX, A.; CUBILLA, A. L. Histologic classification of penile intraepithelial neoplasia. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 29, n. 2, p. 96–102, maio 2012.
- VIEIRA, C. B. *et al.* Profile of patients with penile cancer in the region with the highest worldwide incidence. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 2965, 19 fev. 2020a.
- VITALE, R. F., & Ribeiro, F. de A. Q.. (2007). O papel do Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-alfa) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. **Revista Brasileira De Otorrinolaringologia**, 73(1), 123–127. <https://doi.org/10.1590/S0034-72992007000100020>
- WANG, L.-H. *et al.* Loss of Tumor Suppressor Gene Function in Human Cancer: An Overview. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 51, n. 6, p. 2647–2693, 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, dez. 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, mar. 2018.
- WHITESIDE, T. L. What are regulatory T cells (Treg) regulating in cancer and why? **Seminars in Cancer Biology**, v. 22, n. 4, p. 327–334, ago. 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Assessing national capacity for the prevention and control of noncommunicable diseases: report of the 2019 global survey**. Geneva: World Health Organization, 2020.
- WU, S. *et al.* Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 3490, 28 ago. 2018.
- WU, X.; TIAN, J.; WANG, S. Insight Into Non-Pathogenic Th17 Cells in Autoimmune Diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1112, 28 maio 2018.
- YAO, Y. *et al.* Antigen-specific CD8+ T cell feedback activates NLRP3 inflammasome in antigen-presenting cells through perforin. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 15402, 24 maio 2017.
- YOUSEFZADEH, M. *et al.* DNA damage—how and why we age? **eLife**, v. 10, p. e62852, 29 jan. 2021.
- YU, Y.-B. *et al.* The relationship between human papillomavirus and penile cancer over the past decade: a systematic review and meta-analysis. **Asian Journal of Andrology**, v. 21, n. 4, p. 375, 2019.
- YUVARAJA, T. B. *et al.* Organ Preservation Surgery for Carcinoma Penis. **Indian Journal of Surgical Oncology**, v. 8, n. 1, p. 59–63, mar. 2017.
- ZHANG, J. *et al.* Microparticles produced by human papillomavirus type 16 E7-expressing cells impair antigen presenting cell function and the cytotoxic T cell response. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 2373, 5 fev. 2018.

ZITVOGEL, L. *et al.* Mechanism of Action of Conventional and Targeted Anticancer Therapies: Reinstating Immunosurveillance. **Immunity**, v. 39, n. 1, p. 74–88, jul. 2013.

8 ANEXOS

ANEXO I

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO INFORMAÇÕES PARA OS PACIENTES, RESPONSÁVEIS E FAMILIARES

Você está sendo convidado a participar voluntariamente do projeto de pesquisa “**ANÁLISE DE ALTERAÇÕES GENÔMICAS E NA EXPRESSÃO GÊNICA e PROTEICA EM CÂNCER PENIANO**”.

Leia atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento. No caso de não entender bem peça mais esclarecimento e só assine após ter certeza de ter esclarecido todas as suas dúvidas.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO ESTUDO

O aparecimento de tumor no pênis é um fato não muito raro no Estado do Maranhão. Isso pode acontecer por diferentes motivos. Esta pesquisa tem como principal objetivo estudar as possíveis causas para o surgimento dessa doença, principalmente os aspectos relacionados com a presença do papilomavírus (conhecido como HPV) e alterações no DNA (material responsável por toda informação necessária para o bom funcionamento do corpo).

Como será feita esta pesquisa?

As pessoas serão convidadas a participar da pesquisa. Receberão uma cópia deste documento que deverá ser lido, entendido e assinado. Os participantes serão atendidos pelo médico que fará algumas perguntas, examinará o paciente e, se necessário, poderá solicitar alguns exames complementares para auxiliar no diagnóstico.

Quais os riscos e limites que podem ser encontrados quando for feita a coleta de material biológico?

Os riscos são mínimos, pois a análise dos fragmentos de tumor não implicará em riscos adicionais na sua cirurgia e, nem tampouco, em aumento no tempo de operação ou extensão da mesma, ou terá qualquer influência no resultado do seu tratamento, de modo que você é livre para escolher entre participar ou não da pesquisa.

Todos os dados do paciente são absolutamente confidenciais e, portanto, serão comunicados somente à pessoa ou responsável e ao profissional médico que acompanha o paciente.

Quais os benefícios e malefícios deste estudo?

Não haverá nenhuma vantagem direta, tal como remuneração financeira, com a participação neste estudo, porém, os resultados poderão ajudar no entendimento do estabelecimento da doença e poderá contribuir para a melhoria do diagnóstico e tratamento dessa patologia.

Os pacientes terão acompanhamento e assistência médica no hospital onde realizam tratamento médico, mesmo que não participem desta pesquisa ou que a pesquisa seja interrompida.

O que vai ser feito com o material e os dados coletados de cada paciente?

Rotineiramente, o material biológico retirado é destinado para exames clínicos laboratoriais necessários para um diagnóstico. O restante do material retirado é armazenado e pode ser usado para novos exames, caso seja necessário. Caso contrário, é descartado, conforme regulamenta a legislação sanitária no Brasil.

Neste estudo, estamos solicitando sua permissão para utilizar o resto de tecidos e/ou fluídos retirados de você que não são mais necessários para o seu diagnóstico. As amostras serão registradas por números, para evitar identificação dos pacientes.

A eventual inclusão dos resultados da pesquisa em publicação científica será sempre feita de modo a manter seu anonimato.

O paciente ou seu responsável legal poderá escolher entre ser informado ou não dos resultados da pesquisa. Aqueles que se interessarem em saber sobre os resultados obtidos com o presente estudo serão orientados pela coordenadora geral do Projeto, Dra. Silma Regina Ferreira Pereira (professora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão), podendo ser contactada no Laboratório de Genética e Biologia Molecular, no endereço: Av. dos Portugueses, 1966, cidade universitária do Campus do Bacanga, São Luís, Maranhão, telefone 32728543.

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMA está situado na Avenida dos Portugueses número 1966, Cidade Universitária do Bacanga, Prédio do CEB Velho, PPPG, Bloco C Sala 07. E-mail cepufma@ufma.br, telefone (98)3272-8708. Este comitê tem, como uma de suas atribuições, garantir a manutenção dos aspectos éticos da pesquisa, bem como a obtenção do consentimento livre e esclarecido dos indivíduos ou grupos para a sua participação.

Os pacientes que não concordarem em participar da pesquisa não terão nenhum prejuízo sobre seu tratamento.

Declaro que fui devidamente esclarecido sobre a pesquisa da qual estou sendo convidado a participar, e que CONCORDO, voluntariamente, em participar do referido trabalho.

São Luís, _____ de _____ de 20 _____

NOME POR EXTENSO / RG

ASSINATURA

ANEXO II**QUESTIONÁRIO DO PACIENTE**

NOME DO PACIENTE:

IDADE:_____. CIDADE:_____.

DATA DE NASCIMENTO: __/__/____

ESTADO CIVIL: () solteiro () casado () viúvo () união estável () outros.

FILHOS:_____.

ESCOLARIDADE:

TRABALHO:

FUMANTE: () SIM () NÃO

CONSUME BEBIDA ALCOLICA: () SIM () NÃO

DIABETICO: () SIM () NÃO

HIPERTENSO: () SIM () NÃO / QUAL MEDICAMENTO?

OUTRA COMORBIDADE:

HISTORICO DE CÂNCER: () SIM () NÃO / QUAL?

OBSERVAÇÕES:

Continuação do Parecer: 1.300.275

de expressão gênica apresenta grande potencial para a identificação de marcadores moleculares e vêm contribuindo para o desenvolvimento de novas terapias em uma série de cânceres humanos. Neste sentido, propomos, por meio de análises de array-CGH, alteração no número de cópias (CNA), miRNAs, a análise da expressão gênica e proteína, a identificação de marcadores moleculares em tumores penianos de pacientes provenientes do Estado do Maranhão, normalmente diagnosticados em estágios clínicos avançados, onde o risco de recorrência tumoral é elevado. Os perfis genômicos observados serão validados através de análises gênicas específicas e funcionais, incluindo as principais vias de sinalização celular identificadas. Estas análises podem, futuramente, contribuir para a redução da taxa de mortalidade por estes tumores, pela produção do prognóstico em uma fase inicial do atendimento clínico, bem como pela escolha adequada do tratamento, propiciando uma resposta terapêutica satisfatória.

Objetivo da Pesquisa:

- Objetivo Primário:
- Identificar alterações genômicas e na expressão gênica e proteica em câncer de pênis, buscando a identificação de marcadores moleculares para este tipo de tumor
- Objetivo Secundário:
- Caracterizar os portadores de carcinomas penianos do Estado do Maranhão para o desenvolvimento de um registro epidemiológico específico para os homens do estado, a fim de identificar os principais fatores de risco a promover a inativação de ações preventivas
 - Identificar a presença de papilomavírus humano (HPV) e genotipar os subtipos virais.
 - Identificar o perfil de alterações genômicas através do método de array-CGH.
 - Identificar o perfil de expressão de miRNAs.
 - Identificar alterações no número de cópias gênicas (CNA) por meio de qPCR.
 - Integrear os dados de alterações de número de cópias de DNA com os de expressão de miRNA nas mesmas amostras tumorais.
 - Avaliar alterações na expressão de genes específicos por meio de RT-PCR.
 - Identificar, por citometria de fluxo e imunohistoquímica, variações na expressão de proteínas relacionadas às alterações genéticas detectadas nas células tumorais.
 - Correlacionar as alterações observadas com parâmetros clínicos patológicos dos pacientes (tipo histológico, grau de estadiamento, tamanho do tumor), incluindo dados de seguimento clínico (tempo livre da doença, recorrência tumoral, sobrevida, entre outros).

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C-Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.060-040
UF: MA **Município:** SÃO LUÍS
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepuma@ufma.br

Página 02 de 05

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DE ALTERAÇÕES GENÔMICAS E NA EXPRESSÃO GÊNICA E PROTEICA EM CÂNCER PENIANO

Pesquisador: SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 463/1515.5.0000.50.87

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE PESQUISA AO DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO DO MARANHÃO - FAPEMA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.300.275

Apresentação do Projeto:

O câncer de pênis (CP) é uma neoplasia rara em países desenvolvidos. No entanto, sua incidência é mais elevada em países em desenvolvimento, como o Brasil, sendo mais prevalente nas regiões Norte e Nordeste. Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA) esse tipo de tumor representa 2% de todos os tipos de câncer que atingem o homem, tendo sido registrados 363 iniciais no ano de 2010. De acordo com a SBU em 2007, o Maranhão teve 10,7% dos casos de câncer de pênis notificados no Brasil, estando entre os cinco estados onde há maior prevalência, sendo superior até mesmo que o câncer de próstata. No entanto, faz-se necessário a realização de um estudo epidemiológico mais robusto e atualizado para que seja conhecida a realidade sobre a ocorrência dessa patologia no Estado. A etiologia é heterogênea, mas estudos mostram uma relação com baixas condições socioeconômicas e de instrução, a má higiene íntima e a homens que não se submeteram a circuncisão. Apesar da alta prevalência de câncer peniano no Brasil, dados epidemiológicos, análise do background genético, parâmetros clínicos, evolução da doença e resposta aos tratamentos, ainda são incipientes, o que dificulta o diagnóstico, prognóstico e tratamento da doença e, conseqüentemente, resulta em altos índices de diagnóstico em estágios avançados e mortalidade. A caracterização de alterações genômicas e

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C-Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.060-040
UF: MA **Município:** SÃO LUÍS
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepuma@ufma.br

Página 01 de 05

Avaliação dos Riscos e Benefícios:**Riscos:**

Este projeto confere riscos mínimos aos pacientes uma vez não será realizada nenhuma intervenção direta ou indireta para fins exclusivos desta pesquisa, mas somente aquelas previstas para o diagnóstico e tratamento dos sujeitos da pesquisa. As amostras biológicas a serem utilizadas serão provenientes de procedimentos cirúrgicos prescritos para os casos com diagnóstico clínico e anatomopatológico de câncer de pênis. A coleta dos fragmentos de tumor não implicará em riscos adicionais no tratamento ou na cirurgia, e nem tampouco em aumento no tempo de operação ou extensão da mesma. Sob o aspecto emocional, os pacientes serão informados pela equipe médica que sua participação na pesquisa não terá nenhuma influência sobre seu tratamento, de modo que eles devem se sentir livres para escolher entre participar ou não da pesquisa. Assim, é garantida a continuidade do acompanhamento, tratamento, assistência integral e orientação aos pacientes independentemente destes concordarem ou não em participar da pesquisa.

F. garantia da manutenção do sigilo e da privacidade dos participantes da pesquisa durante todas as fases da pesquisa. Todos os dados da paciente são absolutamente confidenciais e, portanto, serão comunicados somente à paciente ou ao médico que a acompanha. As amostras biológicas, bem como as informações clínico-laboratoriais serão codificadas para registro em programa computacional específico, cuja acesso somente é possível através de senha de identificação única. Os resultados das análises genéticas para fins de divulgação científica sempre serão feitos considerando-se o grupo amostral, e não individualmente. Esses procedimentos garantem a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos participantes da pesquisa, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de auto estima, de prestígio e/ou de aspectos econômico financeiros, conforme previsto na resolução nº468, de 12 de dezembro de 2012.

Benefícios:

O material biológico será processado para análise de alterações moleculares e este trabalho deverá produzir resultados que não beneficiarão diretamente o sujeito da pesquisa, mas contribuirá para produção de conhecimento sobre a patologia para futuras investigações sobre possíveis marcadores genéticos moleculares diagnósticos e prognósticos. Os resultados obtidos nesta pesquisa serão comparados aos já existentes na

literatura científica e serão tomados públicos, sejam eles favoráveis ou não.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C,Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.060-040
UF: MA **Município:** SÃO LUÍS **E-mail:** cepuma@ufma.br
Telefone: (98)3272-6705 **Fax:** (98)3272-6708

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está muito bem elaborada com um forte referencial teórico bem objetivos excelentes materiais e métodos, e demais elementos necessários ao bom andamento do projeto de pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados e estão de acordo com a resolução 468/12 do CNS.

Recomendações:

Todas as recomendações foram acatadas e corrigidas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram acatadas ou esclarecidas e corrigidas pela pesquisadora e estão de acordo com a resolução 468/12 do CNS.

Considerações Finais a critério do CEP:**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P RJETO_246615.pdf	28/10/2015 15:48:44		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTALIME.pdf	28/10/2015 15:46:25	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTAGYLEANES.pdf	28/10/2015 15:46:04	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTALABGEM.pdf	28/10/2015 12:37:35	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTALabmunofisiologia.pdf	28/10/2015 12:31:36	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTAAnaPaula.pdf	28/10/2015 12:29:12	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CartaMartaBelfort.pdf	28/10/2015 12:23:47	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTALEUDIVAN.pdf	28/10/2015 12:23:15	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Outros	RESPOSTAOPARECERcapeniano.pdf	28/10/2015 19:20:31	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Outros	FichaSujeitodapesquisa.pdf	28/10/2015 18:57:15	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e	Anuenciainstitucional.pdf	28/10/2015 18:56:25	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C,Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.060-040
UF: MA **Município:** SÃO LUÍS **E-mail:** cepuma@ufma.br
Telefone: (98)3272-6703 **Fax:** (98)3272-6708