



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR

**PAPILOMA VÍRUS HUMANO: PREVALÊNCIA, DISTRIBUIÇÃO
E IMPORTÂNCIA COMO FATOR PREDITIVO PARA METÁSTASES
LINFONODAIS EM CARCINOMA DO PÊNIS**

ALUIZIO GONÇALVES DA FONSECA

Belém - Pará
2013

ALUIZIO GONÇALVES DA FONSECA

**PAPILOMA VÍRUS HUMANO: PREVALÊNCIA, DISTRIBUIÇÃO
E IMPORTÂNCIA COMO FATOR PREDITIVO PARA METÁSTASES
LINFONODAIS EM CARCINOMA DO PÊNIS**

Tese de Doutorado apresentado ao Curso de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará, para obtenção do grau de Doutor em biologia celular.

Área de concentração: Biologia celular.

Orientador: Prof. Dr. Rommel Mario Rodriguez Burbano.

Belém - Pará
2013

da Fonseca, Aluizio Gonçalves.

Papilloma vírus humano: prevalência, distribuição e importância como fator preditivo para metástases linfonodais em carcinoma do pênis./ Aluizio Gonçalves da Fonseca; Renan Kleber Costa Teixeira – Belém (PA), 2013.

xii, 70 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Pará. Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular.

Orientador: Rommel Mario Rodriguez Burbano.

Papilloma human virus: prevalence, distribution and importance as a predictive factor for lymphonodal metástasis in carcinoma of the penis

1.Neoplasias penianas 2.Papiloma vírus humano 3. Prevalência
4.Metástases linfáticas 5.Marcadores virais.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Rommel Mario Rodriguez Burbano, meu orientador, pela paciência e sábias críticas que me permitiram a realização desta tese, além de contribuir decisivamente com meu crescimento científico.

Ao Prof. Dr. Fernando Augusto Soares pela inestimável ajuda, incentivo e por ter realizado todas as análises histológicas em seu centro de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Vellasco Silvestre, pela análise do material no laboratório de virologia do Instituto Evandro Chagas.

Aos meus colegas urologistas do Instituto Ophir Loyola, e aos residentes da urologia do Hospital Ophir Loyola, pela compreensão e ajuda, me substituindo nos momentos da ausência, sem o que não seria possível a realização deste trabalho.

À Dra. Maria Vanda Catão Arnaud, médica patologista do Hospital Ophir Loyola, por ter cedido o material para exames histológicos em outra instituição.

Aos pacientes, que mesmo anônimos, contribuíram imensamente na elaboração deste projeto.

RESUMO

A etiologia do carcinoma epidermóide do pênis (CEP) está relacionada a múltiplos fatores de risco como a presença de prepúcio, pobre higiene, dermatites crônicas e tabagismo. Entretanto, o fator de risco mais extensivamente estudado, é a infecção pelo papiloma vírus humano (HPV). Está bem estabelecido que este exerce um importante papel etiológico em neoplasias da cérvix uterina; entretanto, sua associação com CEP tem sido foco de debates, demonstrando-se presença viral variando entre 15% a 80% dos casos, sugerindo que apenas um subgrupo desses tumores seja causado pelo HPV. O prognóstico da doença é influenciado negativamente principalmente pela presença de metástases em linfonodos inguinais. Desta forma, a abordagem cirúrgica destes, assume importância decisiva na cura da doença. Por outro lado, os métodos disponíveis para o estadiamento desses linfonodos são imprecisos e as linfadenectomias são acompanhadas de morbidade significativa. A descrição de outros marcadores histológicos é escassa, devido a raridade desses tumores. O objetivo do presente trabalho é avaliar a prevalência, distribuição e associação do HPV com parâmetros histológicos de pior prognóstico, no sentido de determinar seu possível valor preditivo para metástases inguinais, assim como avaliar os fatores prognósticos já descritos. Espécimes tumorais em parafina de 82 pacientes portadores de carcinoma epidermóide do pênis, foram testados para prevalência e distribuição do genótipo do HPV por PCR. O estado do HPV foi correlacionado com fatores histopatológicos e ocorrência de metástases inguinais. Foi também avaliada a influência de diversas características histológicas tumorais, na sobrevida livre de doença inguinal em 5 anos. O seguimento variou entre 1 e 71 meses (média 20 meses). O DNA do HPV foi identificado em 60,9% da amostra, tendo maior prevalência dos tipos virais 11 e 6 (64% e 32%, respectivamente). Não houve correlação independente significativa das variáveis histológicas de pior prognóstico com o estado do HPV. A probabilidade de sobrevida

livre de doença inguinal em 5 anos, também não foi influenciada pelo HPV (log Rank teste=0,45). Os únicos fatores patológicos independentes para metástases inguinais foram estadiamento $T \geq T1b-T4$ ($p=0,02$), invasão linfovascular ($p=0,04$) e frente de invasão infiltrativa ($p=0,03$). O estado e a distribuição do HPV não mostrou correlação com fatores histológicos de pior prognóstico, nem mostrou importância na predição de metástases linfonodais em CEP.

Palavras-chave: Neoplasias penianas, Papiloma vírus humano, Prevalência, Metástases linfáticas, Marcadores virais.

ABSTRACT

The etiology of squamous cell carcinoma of the penis (CEP) is related to multiple risk factors such as the presence of foreskin, poor hygiene, chronic dermatitis and smoking. However, the risk factor most extensively studied, is infection by human papilloma virus (HPV). It is well established that this plays an important etiologic role in cancers of the uterine cervix, however, its association with CEP has been the focus of debate, demonstrating viral presence ranging from 15% to 80% of cases, suggesting that only a subset of these tumors is caused by HPV. The prognosis is negatively influenced mainly by the presence of metastases in inguinal lymph nodes. Thus, the surgical approach of them, is of vital importance in curing the disease. On the other hand, the available methods for staging these nodes are imprecise and lymphadenectomy are accompanied by significant morbidity. A description of other histological markers is scarce because of the rarity of these tumors. The objective of this study is to evaluate the prevalence, distribution and association between HPV and histological parameters of poor prognosis, in order to determine their possible predictive value for inguinal metastases, as well as prognostic factors already described. Paraffin tumor specimens from 82 patients with squamous cell carcinoma of the penis were tested for prevalence and genotype distribution of HPV by PCR. The HPV status was correlated with histopathological factors and metastatic inguinal. It was also evaluated the influence of various histological tumor factors, in lymphonodal disease free survival at 5 years. Follow-up ranged from 1 to 71 months (mean 20 months). HPV DNA was detected in 60.9% of the sample having the most prevalent viral type 11 and 6 (64% and 32%, respectively). There was no significant correlation independent of the histological variables of poor prognosis with HPV status. The probability of lymphonodal disease free survival at 5 years, was not affected by HPV (log rank test = 0.45). The only independent factors for pathological inguinal metastases were T

stage \geq T1b-T4 ($p = 0.02$), lymphovascular invasion ($p = 0.04$) and infiltrative invasive front ($p=0, 03$). The status and distribution of HPV showed no correlation with histological factors of poor prognosis, nor showed significance in predicting lymph node metastases in CEP.

Keywords: PenileNeoplasms, Human papillomavirus, Prevalence, metastasis, viralmarkers.

SUMÁRIO

	RESUMO	V
	ABSTRACT	vi
	LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS	ix
	LISTA DE FIGURAS	x
1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.2.	EPIDEMIOLOGIA	2
1.3.	ETIOPATOGENIA	5
1.3.1.	Fatores relacionados à fimose	5
1.3.2.	Infecção por HPV	7
1.3.3.	Carcinoma “in situ”	10
1.3.4.	Patogênese molecular do CEP	13
1.4.	APRESENTAÇÃO CLÍNICA, HISTÓRIA NATURAL E DIAGNÓSTICO	14
1.4.1.	Apresentação clínica	14
1.4.2.	História natural	16
1.4.3.	Diagnóstico	16
1.5.	PATOLOGIA	17
1.5.1.	Graduação histológica	17
1.5.1.1.	Tumores bem diferenciados ou grau I	17
1.5.1.2.	Tumores moderadamente diferenciados ou grau II	18
1.5.1.3.	Tumores pouco diferenciados ou grau III	19
1.5.2.	Classificação histológica	20
1.5.2.1.	Carcinoma epidermóide usual	20
1.5.2.2.	Carcinoma verrucoso	20
1.5.2.3.	Carcinoma papilífero	21
1.5.2.4.	Carcinoma basalóide	22
1.5.2.5.	Carcinoma sarcomatóide	23
1.6.	ESTADIAMENTO	24
1.6.1.	Estadiamento clínico da lesão primária	26
1.6.2.	Estadiamento clínico dos linfonodos regionais	27
1.6.3.	Fatores preditivos de metástases linfonodais em CEP	28

1.6.3.1.	Nomogramas preditivos	28
1.7.	FATORES PATOLÓGICOS PREDITIVOS DE METÁSTASES LINFONODAIS	30
1.7.1.	Profundidade de invasão ou espessura tumoral	30
1.7.2.	Grau	31
1.7.3.	Invasão linfovascular	31
1.7.4.	Invasão perineural	32
1.7.5.	Fronte de invasão	33
1.7.6.	Subtipos histológicos	33
1.8.	METÁSTASES À DISTÂNCIA	34
2.0.	OBJETIVOS	35
2.1.	OBJETIVO GERAL	35
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
3.0.	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1.	PACIENTES	36
3.2.	PROTOCOLO DE TRATAMENTO	36
3.3.	ANÁLISE HISTOLÓGICA	37
3.4.	ANÁLISE DO HPV	38
3.5.	SEGUIMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
4.0.	RESULTADOS	40
4.1.	Presença do DNA do HPV	40
4.2.	Características histopatológicas entre os subgrupos do HPV positivo (HPV _{var} , HPV _{br} e HPV _{mult}) e negativo	41
4.3.	Sobrevida livre de metástases inguinais em 5 anos e taxa de risco de acordo com a presença do HPV e variáveis histopatológicas	42
5.	DISCUSSÃO	45
6.	CONCLUSÕES	49
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
8.	Anexo I	60

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1-	Incidência de câncer de pênis em vários países	2
Tabela 2-	Definições do sistema de estadiamento TNM	26
Gráfico 1-	Distribuição dos tipos virais na amostra.	40
Gráfico 2-	Distribuição dos subgrupos de HPV positivo.	41
Tabela 3-	<i>Características</i> histopatológicas de 82 pacientes portadores de câncer de pênis, divididos nos grupos hpv positivo (n=50) ou negativo (n=32), hpvar (n=12), hpvbr (n=25) e hpvmult (n=25).	42
Gráfico 3-	Sobrevida livre de metástases inguinais após tratamento do tumor primário, não apresentou diferença significativa, comparando tumores hpv positivo (N = 50/82) ou negativo.	43
Tabela 4-	Índice de sobrevida livre de metástase inguinal em 5 anos e taxa de risco de acordo com as variáveis clínico e patológicas – análise univariada.	44
Tabela 5-	Índice de sobrevida livre de metástase inguinal em 5 anos e taxa de risco e acordo com as variáveis clínico e patológicas – análise multivariada.	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Coeficientes de incidência no estado do Pará, segundo suas mesorregiões	3
Figura 2-	Câncer de pênis associado à fimose	5
Figura 3-	Etiopatogenia do câncer de pênis	11
Figura 4-	Relação da histologia com HPV	13
Figura 5-	Patogêneses molecular do câncer de pênis	14
Figura 6-	Carcinoma de células escamosas bem diferenciado Grau I	18
Figura 7-	Carcinoma de células escamosas invasivo moderadamente diferenciado Grau II	19
Figura 8-	Carcinoma de células escamosas invasivo moderadamente diferenciado Grau III	19
Figura 9-	Carcinoma Epidermóide do subtipo histológico Usual	20
Figura 10-	Carcinoma epidermóide do subtipo histológico verrucoso	21
Figura 11-	Carcinoma epidermóide do subtipo histológico papilífero	21
Figura 12-	Carcinoma epidermóide do subtipo histológico condilomatoso (Warty)	22
Figura 13-	Carcinoma epidermóide do subtipo histológico condilomatoso (Warty)	23
Figura 14-	Carcinoma epidermóide do subtipo histológico sarcomatóide	23
Figura 15-	Ta: Carcinoma verrucoso não invasivo restrito ao epitélio.	24
Figura 16-	T1: Tumor invadindo tecido conectivo subepitelial; T1a: ausência de invasão vascular ou tumor indiferenciado; T1b: invasão vascular ou tumor indiferenciado	24
Figura 17-	T2:Tumor invadindo corpo esponjosa ou cavernoso	25
Figura 18-	T3: Tumor invadindo uretral.	25
Figura 19-	T4:Tumor invadindo estruturas adjacentes, incluindo próstata	25
Figura 20-	Nomograma preditivo de metástases linfonodais em CEP	29
Figura 21-	Representação esquemática dos métodos de medida da espessura tumoral	30
Figura 22-	Invasão Linfovascular. Células neoplásicas no interior de vasos	31

- Figura 23-** Invasão perineural. Três ramos de nervos periféricos envolvidos com carcinomas de células escamosas indiferenciado 32
- Figura 24-** Invasão infiltrativa e invasão compressiva 33

1. INTRODUÇÃO

1.1. EPIDEMIOLOGIA

O CEP apresenta distribuição geográfica heterogênea ao longo do mundo. Este tumor é relativamente raro em países desenvolvidos e mais freqüente em regiões subdesenvolvidas (Reddy *et al.*, 1975; Persky, 1977; Rajuet *et al.*, 1985; Srougi, 1990).

Nos EUA, contribui com 0,3% a 0,5% dos tumores malignos em homens, o mesmo ocorrendo na maioria dos países europeus (Jensen, 1977; Persky, 1977). Por outro lado, em algumas regiões da Ásia, África e América do Sul, sua incidência é bastante significativa, variando entre 10% a 20% dos tumores masculinos, constituindo um verdadeiro problema de saúde pública. As maiores incidências mundiais são encontradas em Porto Rico, Birmânia, China, Índia, Nigéria, Uganda e México (Riveros; Lebron, 1963; Bhana; Kyalwazy, 1972; Persky, 1977; Rajuet *et al.*, 1985; Nathet *et al.*, 1992). A tabela 1 demonstra a incidência do CEP em diversos países do mundo.

Tabela 1. Incidência de câncer de pênis em vários países.

Países	Incidência
Brasil/Recife	6,8/100000
Leste da África	6,6/100000
Jamaica	6,4/100000
Brasil/Pará	5,7/100000
Porto Rico	4,6/100000
Brasil/São Paulo	2,9/100000
Colômbia/Cali	2,0/100000
Panamá	1,9/100000
Índia/Bombay	1,9/100000
EUA	0,8/100000
Suécia	0,8/100000
Reino Unido	0,8/100000
Noruega	0,6/100000
Japão	0,5/100000
Israel	0,1/100000

(Fonte: Modificado De Reeves WC, *et al.*, 1982).

O clima e variações geográficas têm pouca importância na incidência desses tumores, fato este comprovado pelas diferenças marcantes encontradas em países vizinhos e até mesmo, entre regiões de um mesmo país. Assumindo maior relevância as condições sócio-econômicas, de higiene e também a realização de circuncisões na infância (Dodge; Linsell, 1963; Paymaster; Gangadharan, 1967; Thomas; Small, 1968; Reddy *et al.*, 1975).

Comprovando a eficácia da circuncisão na profilaxia do CEP, Dodge e Linsell (1963) demonstraram a maior incidência desta doença em Uganda que em relação ao Kênia, que são países vizinhos; fato que pode ser explicado pela realização de circuncisões neonatais, na maioria das tribos deste país.

Embora esses tumores possam ocorrer em vários grupos etários, sua incidência em jovens é baixa, havendo predominância expressiva após a quinta década de vida (Thomas; Small, 1968; Bhana; Kyalwazi, 1972; Nathet *et al.*, 1992; Fonseca *et al.*, 2000).

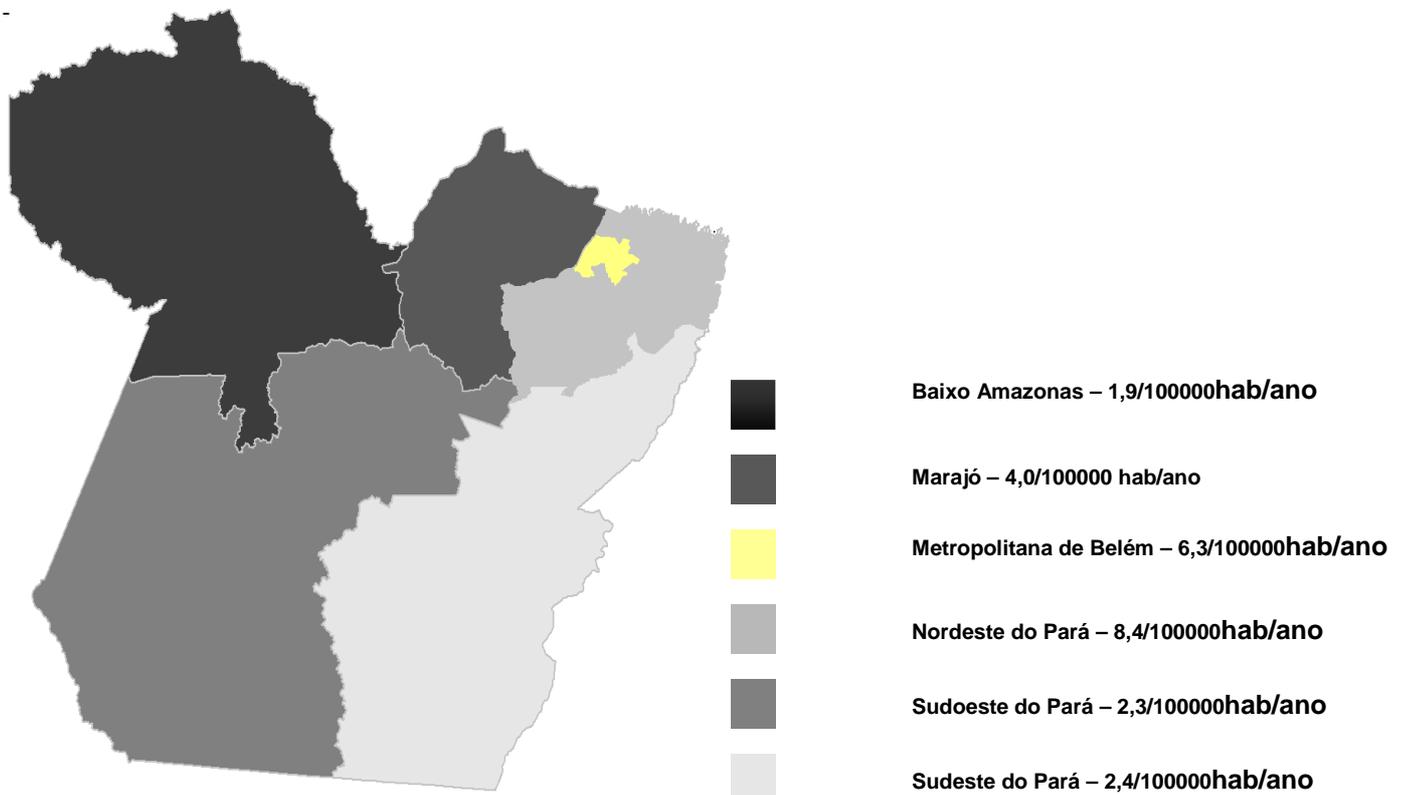
Nos Estados Unidos da América (EAU), Hernandez *et al.* (2008), registraram 4967 casos de CEP no período entre 1998 e 2003, demonstrando índice de incidência de 0,81/100000 habitantes, representando 0,1% dos tumores malignos do sexo masculino. Estes autores relataram uma prevalência 72% maior em hispânicos, quando comparado com outras raças. Neste estudo houve maior mortalidade e diagnóstico em idades mais precoces em negros, em relação aos indivíduos brancos. Estes achados sugerem que fatores raciais possam estar implicados na epidemiologia da doença.

A distribuição geográfica dessa neoplasia no Brasil é pouco conhecida, existindo poucos trabalhos epidemiológicos a respeito. Segundo Brunini, (1982) esses tumores correspondem a 2% das neoplasias malignas do homem, sendo cinco vezes maior nas regiões norte e nordeste (5,3% e 5,7%) em comparação com as regiões centro-oeste (3,8%) e regiões sul e sudeste (2%).

Em estudo epidemiológico recente, Favorito *et al.* (2008), demonstram alta incidência da doença no Brasil, acometendo predominantemente indivíduos de baixo nível sócio-econômico, caucasianos, não circuncidados e, com maior prevalência nas regiões norte e nordeste do país (53,02%).

Em estudo epidemiológico do CEP no estado do Pará, Fonseca *et al.* (2010) registraram 346 pacientes, no período entre 1996 e 2006, com diagnóstico histológico de câncer de pênis, tratados no serviço de urologia do Hospital Ofir Loyola, Belém/Pará. A incidência da doença no estado, no período estudado foi de 5,7/100000 habitantes/ano. A distribuição das incidências relacionadas a cada mesorregião do estado estão demonstradas na Figura 1. A prevalência desses tumores na instituição foi de 3,5%, representando a oitava neoplasia maligna mais freqüente no sexo masculino e 15,7% entre os tumores urogenitais, sendo o segundo tumor urológico mais freqüente.

Figura 1. Coeficientes de Incidência no Estado do Pará, segundo suas Mesorregiões.



(Fonte: Fonseca *et al.* 2010).

1.2. ETIOPATOGENIA

A etiologia do CEP permanece pouco clara. Fatores raciais, doenças sexualmente transmissíveis e trauma, que no passado eram considerados importantes na gênese da doença, na atualidade não são considerados como tendo um papel relevante na etiopatogenia desses tumores (Jensen, 1977; Persky, 1977; Narayana *et al.*, 1982; Frisch *et al.*, 1996).

Maior importância tem sido atribuída a presença de fimose, infecção pelo papilomavírus humano (HPV), além do carcinoma “in situ” e outras dermatoses relacionadas a essa doença (Holly; Palefsky, 1993; Madenet *et al.*, 1993; Micaliet *et al.*, 1996; Gil, 1999).

Outros fatores como radiação ultravioleta, agentes químicos e tabagismo são ocasionalmente implicados na doença, porém com menor significância (Madenet *et al.*, 1993; Micaliet *et al.*, 1996).

1.2.1. Fatores relacionados à fimose.

O papel da fimose na etiologia do CEP, parece estar associado principalmente ao acúmulo do esmegma, o que predispõe à irritação e infecções crônicas. A higiene genital deficiente, quando associada a este fator, torna este efeito mais pronunciado (Narayana *et al.*, 1982; Reddy *et al.*, 1984; Micaliet *et al.*, 1996; Fonseca *et al.*, 2000) (Figura 2).



Figura 2. Câncer de pênis associado à fimose. (Fonte: Acervo pessoal)

O esmegma começa a ser produzido durante os primeiros dias de vida, originando-se da descamação de células epiteliais da cavidade prepucial, onde o "*Mycobacterium smegmatis*" converte os esteróis (colesterol) em componentes carcinogênicos (Micaliet *al.*, 1996). Esta hipótese é substantiada pela indução laboratorial de carcinoma cervical em ratas, com a inoculação de esmegma humano (Reddy *et al.*, 1984; Micaliet *al.*, 1996).

É bem conhecido o fato do CEP ser raro em indivíduos circuncidados ao nascimento, como ocorre entre os judeus, onde sua incidência é próxima de zero (0,1%) (Melmed; Pyne, 1967; Dagher *et al.*, 1973; Kochen; Mccurdy, 1980; Frisch *et al.*, 1995). Em 1967, Melmed e Pyne relatam em seu artigo, que existiam apenas quatro casos de CEP em judeus circuncidados na infância, até aquele ano. Observação semelhante foi feita por Micaliet *al.* (1996), demonstrando que nos últimos 55 anos, de um total de aproximadamente 55.000 casos de CEP nos EUA, apenas 11 pacientes (7 judeus e 4 não judeus), haviam sido circuncidados na infância, o que corrobora os trabalhos citados anteriormente.

Em outras populações, que similarmente apresentam baixa incidência da doença, também destaca-se a realização de circuncisões em períodos precoces de vida. Em mulçumanos que praticam este ritual entre as idades de 4 a 9 anos, o CEP ocorre raramente (Narayana *et al.*, 1982; Onuigbo, 1985; Micaliet *al.*, 1996). Fato semelhante ocorre entre os ibos (tribo da Nigéria), que têm o hábito da circuncisão no oitavo dia após o nascimento (Nathet *al.*, 1992).

Onuigbo (1985) em estudo epidemiológico comparou duas populações na Índia e evidenciou que a incidência de CEP foi de 0,02% em mulçumanos quando comparados aos hindus, pelo mesmo fato citado anteriormente. Sanderman (1990) constatou um aumento significativo da doença durante a última década, na Austrália, cuja explicação mais plausível estaria associada à redução no número de circuncisões neonatais.

A idade de realização da circuncisão tem importância significativa, pois as observações feitas mostram que quanto mais precoce, maior a proteção contra a doença. Quando esse procedimento é realizado em recém-nascidos, oferece proteção de quase 100%; por outro lado se realizado mais tardiamente, na adolescência ou na vida adulta, não parece exercer efeito protetor satisfatório (Dagher *et al.*, 1973; Kochen; Maccurdy, 1980; Reddy *et al.*, 1984).

Reddy *et al.* (1984), sugerem que a fimose, favorecendo o acúmulo de esmegma associada à falta de higiene, facilitaria ainda mais os efeitos carcinogênicos já citados.

A ausência de água corrente em países subdesenvolvidos, prejudica a higiene adequada, inclusive obrigando às populações desses países ao costume do banho público, que dificulta a limpeza dos genitais por pudor (Persky, 1977; Reddy *et al.*, 1984).

Em estudo epidemiológico realizado no estado do Pará, que possui vasta rede fluvial, chamou atenção a não observação de CEP na população indígena. Apesar de não realizarem o ritual da circuncisão, o hábito de utilizarem banho de imersão para o higiene, parece atuar como fator de proteção (Fonseca *et al.*, 2000).

1.2.2. Infecção por HPV.

A infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV) é umas das doenças sexualmente transmissíveis (DST) de maior incidência e prevalência no mundo, representando um importante problema de saúde pública. O HPV, em suas diversas famílias, infecta a pele e as mucosas, podendo induzir a formação de neoplasias epiteliais benignas e malignas (Bleeker *et al.*, 2009). A infecção ocorre quando o vírus penetra em novo hospedeiro através de micro-traumatismos; a progressão da incubação viral para a expressão ativa depende de três fatores: permissividade celular, tipo de vírus e condição imunológica do hospedeiro (Gross *et al.*, 2004).

O vírus do papiloma humano pertence a uma grande família de vírus, os papovaviridae; são pequenos, epiteliotrópicos e têm cerca de 55nm de diâmetro. Apresentam um genoma composto de 7200 a 8000 pares de base com peso molecular de 5.2×10^6 daltons. É formado por um capsídeo que possui 72 capsômeros de estrutura helicoidal, sem envelope lipoprotéico em uma única molécula circular dupla de DNA (Cox, 2009).

A expressão das proteínas virais é fortemente regulada e dependente da diferenciação celular. Os HPV's que infectam mucosas são divididos nos tipos de risco "alto", "intermediário" e "baixo" dependendo da lesão com a qual estão associados. Tipos de alto risco são predominantemente associados ao câncer cervical às lesões malignas e são compostos por tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 54, 56, 58, 66, 68, 69. Os de baixo risco são encontrados em lesões benignas e suas proteínas possuem baixo potencial de transformação, que são o HPV 6, 11, 26, 34, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 57, 61, 70, 71; os de risco médio possuem características intermediárias entre as duas outras classes e são vírus com menor potencial de transformação como os 31, 33, 35, 51 e 52 (Munoz *et al.*, 2003; Gross *et al.*, 2004).

A manifestação clínica mais comum da infecção do HPV são as verrugas genitais (condiloma acuminado), sendo os sítios mais comumente acometidos, o prepúcio e a glande peniana. As verrugas genitais derivam de subtipos virais de baixo risco (6 e 11) em 90% dos casos, enquanto que infecção com vírus de alto risco, pode ocorrer em 19% a 44% dos pacientes (Gross *et al.*, 2004). Enquanto uma grande proporção de infecções pelo HPV regride espontaneamente, um número de pacientes persistem com a infecção, mantendo risco de desenvolver Neoplasia intra-epitelial do pênis (PIN) e, ocasionalmente carcinoma invasivo (Crispen *et al.*, 2010).

O condiloma acuminado caracteriza-se por proliferações fibro-epiteliais exofíticas benignas, envolvendo a mucosa e a superfície cutânea das áreas ano-genitais

(Griffiths; Mellon, 1999). Estas áreas constituem reservatórios para todos os tipos de HPV, exceto os tipos 13 e 32 que são encontrados exclusivamente na cavidade oral (Crispen; Mydlo, 2010). A alta frequência desta doença na atualidade e sua possível relação na etiologia do CEP, tornam este tópico de grande importância.

A prevalência da infecção do HPV associada ao CEP varia entre 15% e 100%. Esta larga variação atribui-se ao método de detecção viral. O tipo viral mais comumente associado ao CEP é o HPV 16, identificado em 65% dos CEPs associados ao HPV (Bleeker *et al.*, 2009).

A associação do HPV com CEP também varia de acordo com o subtipo histológico. Enquanto o HPV é comumente identificado nos tumores basalóides e condilomatosos em 80-100%; essa associação, é muito menos comum nos subtipos queratinizantes e verrucosos (0%-35%) (Obalek *et al.*, 1986).

Apesar do HPV ser encontrado em íntima associação com o câncer de cérvix uterina (CCU) e outras lesões anogenitais, o seu papel na etiologia do CEP ainda não é totalmente esclarecido (Martínez, 1969; Rogan; Milne, 1983; Barraso *et al.*, 1987; Hellberg; Nilsson, 1989; Gajalakshmi; Shanta, 1993). Vários trabalhos na literatura tentam fortalecer esta hipótese.

As esposas de homens com CEP têm um risco aumentado de CCU, segundo vários autores (Martínez, 1969; Barraso *et al.*, 1987; Gajalakshmi; Shanta, 1993; Wattleworth, 2011), apesar da falta de estudos duplo cegos com grupo controle dificultar a análise destes resultados.

Barraso *et al.* (1987) demonstraram que em mulheres portadoras de carcinoma “in situ” cervical (NIC III), a presença de lesões pré-malígnas do pênis (PIN I, II, III), associadas com HPV, estavam presentes em 32,8% de seus parceiros sexuais.

Demeter *et al.* (1993) constataram a presença de tipos de HPV associados a outras neoplasias anogenitais, em lesões penianas pré-malígnas e malígnas. Tornesello *et al.* (1992) e

Demeter *et al.* (1993) encontraram grande frequência dos tipos 16 e 18 do HPV, em lesões “in situ” e invasivas do pênis. Micaliet *al.* (1996) destacam a presença de sequências de DNA do vírus HPV em locais de metástases distantes do CEP. Bleeker *et al.* (2005) encontraram concordância entre os tipos de HPV encontrados em casais infectados.

Todas essas evidências sugerem um papel importante desta doença sexualmente transmissível na etiopatogenia do CEP, assim como uma relação direta entre CCU e CEP. Entretanto vários outros estudos não reproduziram esses resultados (Rogan; Milne, 1983; Hellberg; Nilsson, 1989).

Hellberg e Nilsson (1989) demonstraram uma incidência de CEP na Suécia de 1,3/100000 habitantes/ano, enquanto que a incidência de CCU foi de 13,2/100000 habitantes/ano. Smith *et al.* (1980) não encontraram semelhanças na distribuição geográfica dessas duas doenças em vários países.

As controvérsias sobre o tema, fortalecem-se ainda mais, pelo fato do HPV (16 e 18) ser encontrado em mais de 90% dos CCU e apenas em aproximadamente 50% dos CEP (Tornesello *et al.*, 1992; Gil, 1998), o que sugere a existência de dois tipos distintos de CEP quanto a sua etiologia; um tipo de causa viral em adultos jovens e com possível transmissão sexual; outro de causa não totalmente esclarecida, que afeta pacientes idosos, sem qualquer correlação com o CCU em suas parceiras sexuais (Micaliet *al.*, 1996; Wattleworth, 2011).

1.2.3. Carcinoma “in situ”.

A transformação maligna do epitélio de revestimento do pênis segue evolutivamente por fases, até romper a membrana basal e invadir o estroma. Progressivamente essas fases são, o PIN I, II e III (neoplasia intra-epitelial), todas consideradas lesões pré-malígnas do epitélio. O PIN III representa o carcinoma “in situ” estabelecido (Grossman, 1992; Lucia; Miller, 1992).

Os principais representantes clínicos do carcinoma “in situ” são: Doença de Bowen (DB), eritroplasia de Queirat (EQ) e a papuloseBowenóide (PB) (Grossman, 1992; Lucia; Miller, 1992). A mais frequentemente associada com CEP é a EQ, que sofre degeneração maligna entre 10 a 33% dos casos (Gerber, 1994; Micaliet *al.*, 1996).

Outras dermatoses como a balanitexerótica obliterante (BXO), leucoplasia, balanopostites crônicas e calo peniano, são também relacionadas com o CEP. Entretanto o verdadeiro papel das mesmas, carece de dados homogêneos e confiáveis. A associação destas lesões com o CEP, varia segundo a literatura entre 7 e 40% (Grossman, 1992; Lucia; Miller, 1992; Lynch; Schellhammer, 1998).

A associação de HPV com as lesões precursoras do CEP (DB, EQ e PB) varia na literatura entre 48-100%, entretanto, a evolução para carcinoma invasivo ocorre em cerca de 5% a 30% dos casos de EQ e DB e raramente na PB (Bleekeret *al.*, 2008).

O conhecimento atual da etiopatogenia do CEP especula que existam duas vias diferentes que podem levar ao carcinoma peniano invasivo, com uma via levando a tumores basalóides e condilomatosos, mediado pelo HPV e; outra, levando a tumores queratinizantes e verrucosos, mediada por outros fatores de risco (Lontet *al.*, 2006).(Figura 3).

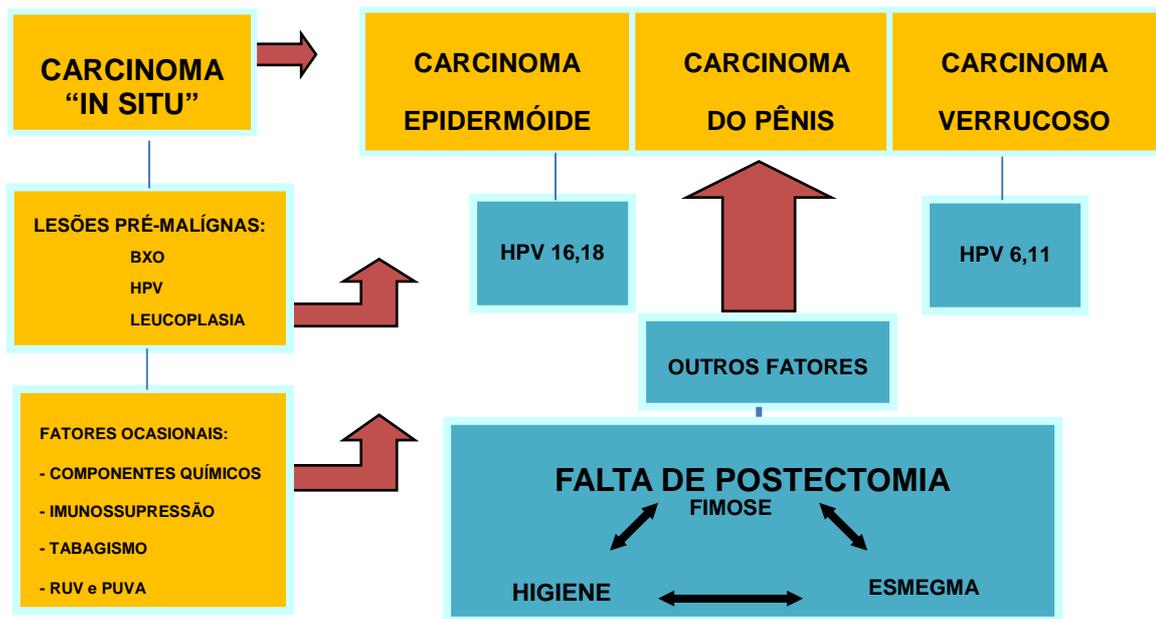


Figura 3. Etiopatogenia do Câncer de Pênis. (Fonte: MICALI *et al.*, 1996).

Cubilla *et al.*, (2004), correlacionaram 288 CEPs com lesões associadas e, encontraram a presença de hiperplasia escamosa, PIN de baixo e alto grau em 83%, 59% e 44%, respectivamente. Neste estudo houve associação mais comum entre hiperplasia escamosa e CEP dos subtipos usual, papilífero e verrucoso em comparação com os subtipos condilomatoso e basalóide. Por outro lado, PIN de alto grau estava presente em dois terços dos subtipos condilomatoso, basalóide e mistos (condilomatoso-basalóide); e em metade dos subtipos usual e, ausente nos tumores papilíferos e verrucosos.

Apesar de haver diferenças claras entre os subtipos histológicos de CEP e suas lesões precursoras, em relação a fatores histopatológicos e presença do HPV; a distinção clínica e os mecanismos moleculares envolvidos na progressão para CEP invasivo, não é clara e merece investigações futuras (Bleeker *et al.*, 2008). A relação entre diferentes lesões precursoras, presença do HPV, fenótipo clínico e a probabilidade de transformação maligna, estão ilustradas na figura 4.

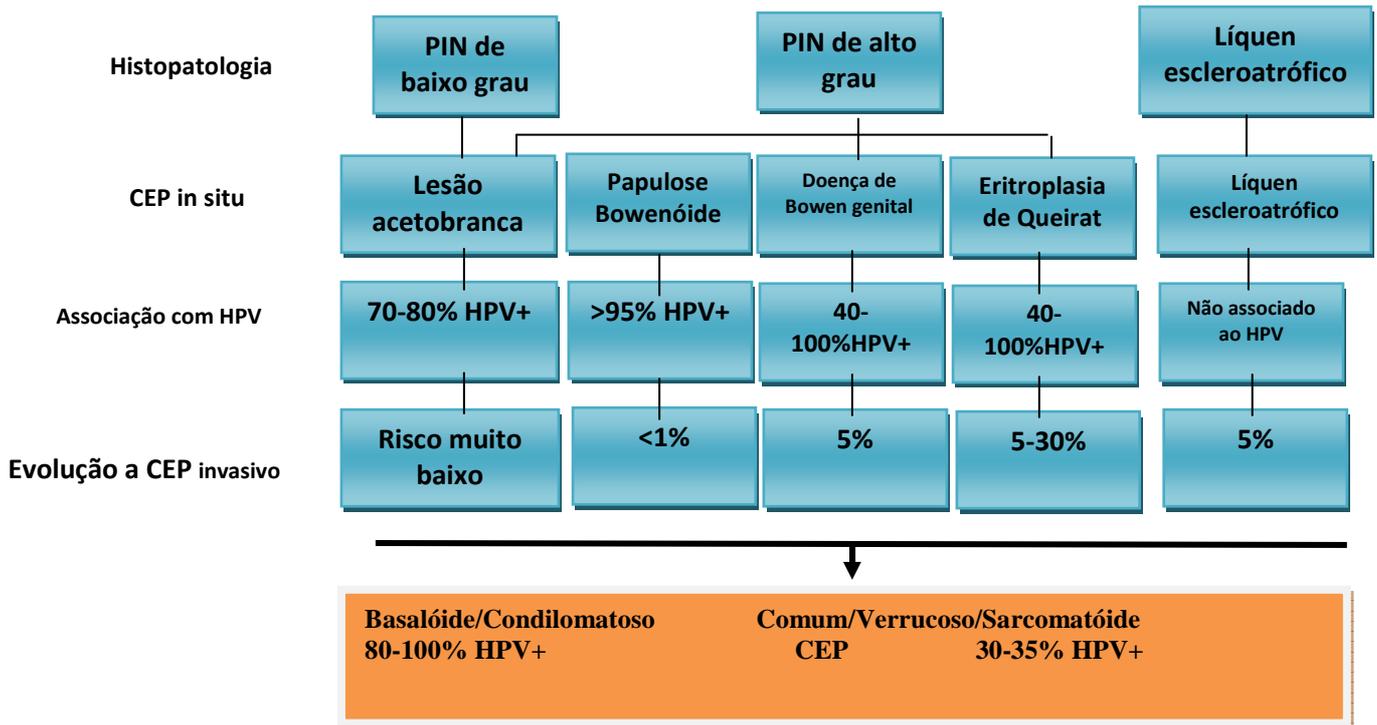


Figura 4. Relação da histologia com HPV. (Fonte: Bleeker et al, 2009).

1.2.4. PATOGÊNESE MOLECULAR DO CEP.

A presença no genoma viral de genes transformadores, localizados nas regiões E₆ e E₇, são responsáveis pelo potencial oncogênico dos mesmos. Esses genes incorporando-se ao DNA da célula receptora, codificam oncoproteínas que exercem efeito regulatório negativo, antagonizando as proteínas supressoras de tumor (p53 e pRB). Esta alteração provoca desequilíbrio celular, induzindo proliferação e imortalização dos queratinócitos (Tornesello et al., 1992; Crispen; Mydlo, 2010).

Embora a atuação desses vírus pareça exercer papel significativo na indução de mutações, nos genes supressores de tumor, outros fatores também são responsabilizados, o que sugere origem multifatorial para esses tumores (Griffiths; Mellon, 1992; Tornesello et al., 1992; Micaliet al., 1996).

A tumorigênese do CEP mostra-se dependente da presença ou ausência da infecção pelo HPV. Apesar dos eventos moleculares e estágios na patogênese do CEP parecerem similares

nas duas situações, os eventos moleculares iniciais parecem ser deflagrados de forma diferente (Kayes *et al.*, 2007) (Figura 5).

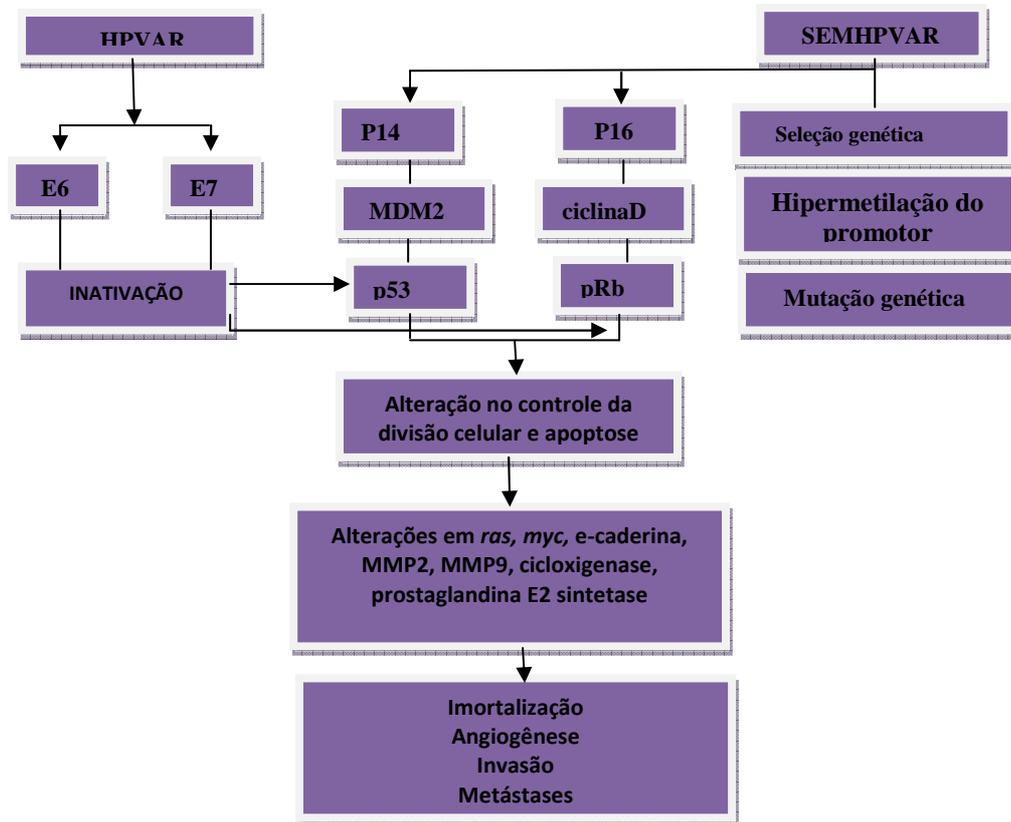


Figura 5. Patogênese molecular do câncer de pênis (Fonte: Bleeker *et al.*, 2009).

As diferenças chave parecem estar relacionados ao mecanismo pelo qual as vias dos genes p53 e pRb são alteradas (Bleeker *et al.*, 2009). Nos tumores associados ao HPV acredita-se que as oncoproteínas virais E6 e E7, liguem-se aos genes supressores de tumores (p53 e pRb), inativando-os, levando a alterações no controle da divisão celular e apoptose. Nos tumores não associados com o HPV, os genes supressores citados também são envolvidos, no entanto, os mecanismos moleculares são diferentes, com hipermetilação do gene P16 e superexpressão do gene BMI-1, alterando a via do pRb e, mutações somáticas,

superexpressão do gene MDM2, mutações somáticas do p14, sendo responsáveis pelas alterações na via do p53 (Muneeret *al.*, 2009).

1.3. APRESENTAÇÃO CLÍNICA, HISTÓRIA NATURAL E DIAGNÓSTICO.

1.3.1. APRESENTAÇÃO CLÍNICA.

Aproximadamente dois terços dos pacientes com CEP apresentam-se com doença localizada. Na maioria dos casos identifica-se lesão visível ou palpável no pênis (Barocas; Chang, 2010). A aparência macroscópica varia de uma úlcera com bordos elevados à área de endureção; ou de área eritematosa à aspecto condilomatoso e exofítico. A lesão pode estar encoberta pelo prepúcio, sobretudo em pacientes com fimose, a qual está presente em cerca de 60% dos pacientes (Favorito *et al.*, 2008).

Os sinais e sintomas mais frequentes são: dor peniana, secreção, sangramento ou odor fétido (Barocas; Chang, 2010). As localizações mais frequentes ocorrem na glândula, prepúcio e sulco coronal. A pele da haste peniana apresenta acometimento mais raro (Barocas; Chang, 2010).

Os pacientes também podem se apresentar com massas em regiões inguinais, que podem representar sequelas de infecções e inflamações ou, metástases linfonodais. Nota-se claramente um retardo na procura de atendimento médico, de pelo menos um ano, após o início dos sintomas, em parcela significativa dos pacientes. Isto ocorre principalmente pelo estigma social e negação envolvidos com a doença (Narayana *et al.*, 1982).

1.3.2. HISTÓRIA NATURAL.

Estes tumores tendem a evoluir de maneira lenta, inicialmente superficial, invadindo a seguir o córion, o tecido esponjoso da glândula e os corpos cavernosos. A infiltração da uretra é

incomum e em geral ocorre apenas nas fases avançadas da evolução da doença (Pompeo; Billis, 2003).

A disseminação metastática em geral se faz por via linfática e, raramente, mesmo nos casos com infiltração dos corpos cavernosos, por via hematogênica. O comportamento biológico desses tumores tende a ser uniforme, com disseminação para linfonodos inguinais, linfonodos pélvicos, periaórticos e raramente apresentam comprometimento visceral (Pow-Sanget *al.*, 2002).

Os pacientes não tratados ou cujo tratamento foi ineficaz em geral morrem por complicações secundárias às metástases inguinais, ou seja, hemorragias por lesões tumorais de grandes vasos ou processos sépticos (Pompeo; Billis, 2003). A disseminação tumoral tem relação com as características histopatológicas da lesão primária. É fato reconhecido que lesões de grandes dimensões e com histologia desfavorável têm tendência a maior disseminação (Horenblas, 2001).

O conhecimento desses aspectos histopatológicos tem importância fundamental no planejamento terapêutico, assim como no prognóstico dos pacientes. Conclui-se, portanto, que a padronização do exame anatomopatológico, assim como sua interpretação são indispensáveis para os médicos oncologistas (Pettaway; Horenblas, 2009)

1.3.3. DIAGNÓSTICO.

Deve-se ter um alto grau de suspeita para CEP quando existirem lesões cutâneas no pênis, de difícil cicatrização, principalmente em homens com fatores de risco. Recentemente, como proposto pelos consensos da “European Association of Urology” (EAU), “American Joint Committee on Cancer” (AJCC) e “International Union Against Cancer” (UICC), deve-se realizar biópsia para diagnóstico histopatológico, de preferência incisional, profunda e da porção central da lesão, e também para estadiamento adequado (Solsona *et al.*, 2004).

1.4. PATOLOGIA.

O laudo patológico deve conter, de maneira pormenorizada, todas as características do carcinoma epidermóide: grau, classificação histológica, estadiamento e fatores histológicos preditivos do prognóstico, informações estas de grande importância no planejamento terapêutico dos pacientes (Pompeo; Billis, 2003).

1.4.1. GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA.

Microscopicamente o CEP é constituído de células escamosas formando tumorações exofíticas ou lesões ulceradas que infiltram em diferentes graus os tecidos mais profundos. A graduação histológica do carcinoma epidermóide é feita de acordo com o grau de atipia celular, do número relativo de mitoses e da presença ou ausência de “pérolas” córneas, “pontes” intercelulares e necrose tecidual (Cubilla, 2009).

1.4.1.1. TUMORES BEM DIFERENCIADOS OU GRAU I.

Têm pequeno grau de atipia celular poucas figuras de mitose, freqüentes “pérolas” córneas e “pontes” intercelulares facilmente identificáveis (Figura 7a). O citoplasma celular freqüentemente é abundante e adquire uma coloração violeta. Esses tumores tendem a formar lesões papilomatosas exofíticas que infiltram os planos mais profundos com projeções delicadas em forma digital (Cubilla, 2009) (Figura 6).



Figura 6. Carcinoma de células escamosas invasivo bem diferenciado Grau I (HeE X100). (Fonte: Cubilla 2009).

1.4.1.2. TUMORES MODERADAMENTE DIFERENCIADOS OU GRAU II.

Têm características intermediárias aos extremos apresentados. Assim a atividade mitótica e a atipia celular são menos evidentes que no grau III, as “pontes” intercelulares e as “pérolas” córneas podem estar presentes, porém em menor frequência que no grau I (Pompeo; Billis, 2003). Como os limites de graduação não são bem definidos, por vezes pode haver discordância diagnóstica entre patologistas (Cubilla, 2009). É importante destacar a agressividade biológica crescente conforme as células tumorais tornem-se mais indiferenciadas. Assim, a probabilidade de metástases linfonodais ocorre em aproximadamente 25% dos pacientes com tumores bem diferenciados, 50% dos moderadamente diferenciados e 80% dos indiferenciados (Cubilla, 2009). (Figura 7).

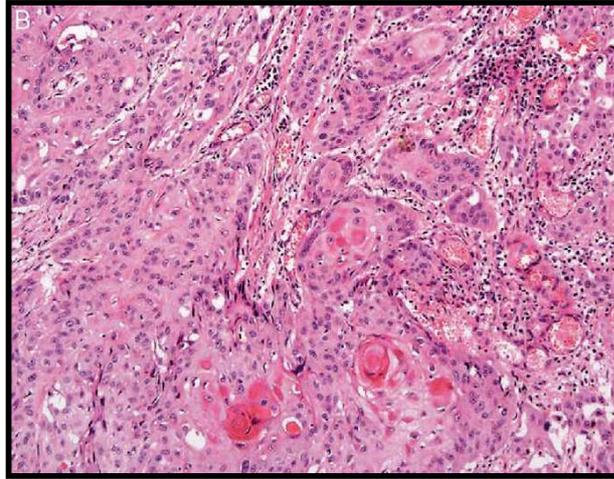


Figura 7. Carcinoma de células escamosas invasivo moderadamente diferenciado Grau II(HeE X100).

(Fonte: Cubilla 2009).

1.4.1.3. TUMORES POUCO DIFERENCIADOS OU GRAU III.

Caracterizam-se pelo número abundante de mitoses, ausência de “pontes intercelulares” e de “pérolas” córneas, além de pronunciada atipia nuclear. Necrose pode estar presente (Cubilla, 2009).(Figura 8).

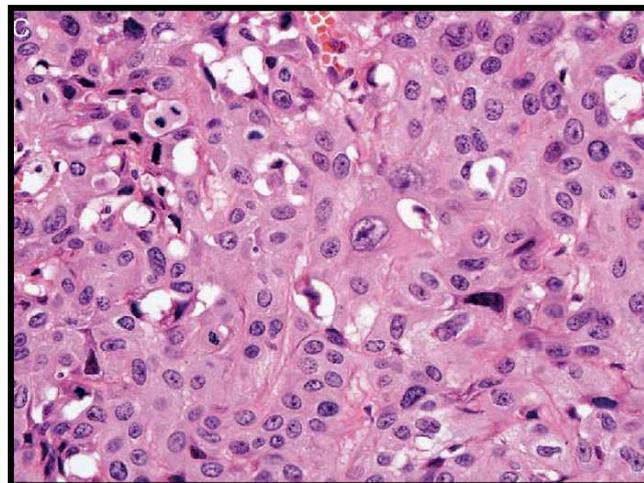


Figura 8. Carcinoma de células escamosas invasivo pouco diferenciado Grau III (HeE X100). (Fonte: Cubilla 2009).

1.4.2. CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA.

Histologicamente, a grande maioria dos carcinomas epidermóides (ou escamosos) do pênis, são semelhantes às neoplasias epidermóides de outros órgãos. A semelhança maior

ocorre com carcinomas epidermóides da mucosa oral e vulva. Cerca de 70% dos carcinomas epidermóides do pênis são do tipo usual. Os 30% restantes apresentam aspectos histológicos diferentes sendo classificados como do tipo basalóide, verrucoso, papilífero e sarcomatóide (Pompeo; Billis, 2003, Cubilla, 2009). Figura 9.

1.4.2.1. CARCINOMA EPIDERMÓIDE USUAL.

Em geral é bem ou moderadamente diferenciado, infiltra o estroma de forma digitiforme com reação desmoplásica e presença de infiltrado inflamatório crônico é comum (Pompeo; Billis, 2003). (Figura 9).

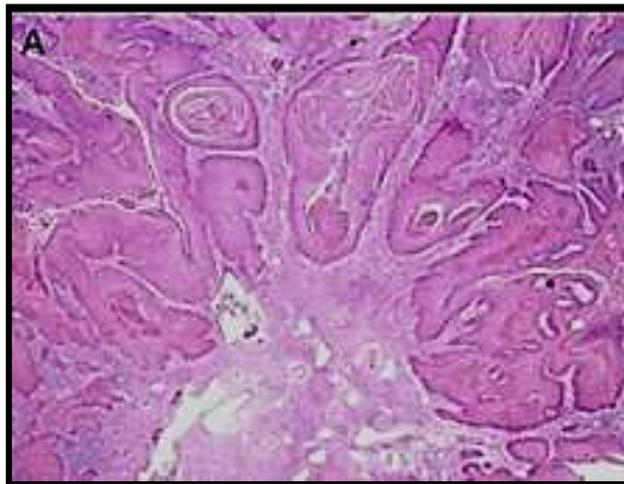


Figura 9. Carcinoma Epidermóide do subtipo histológico Usual(HeE X100).(Fonte: arquivo pessoal).

1.4.2.2. CARCINOMA VERRUCOSO.

É pouco freqüente, de crescimento lento, características exofíticas e, em geral, volumoso por ocasião do diagnóstico. Mostra papilomatose, hiperqueratose e acantose proeminentes. Geralmente as papilas não mostram um córion fibrovascular central. É neoplasia bem diferenciada mostrando atipias mínimas. Na base do tumor notam-se margens rombas ao contrário do carcinoma epidermóide usual cujas margens são pontiagudas. Esta neoplasia não dá metástases, porém os índices de recorrência local são significativos, em cerca de 30% (Pompeo; Billis, 2003).(Figura 10).

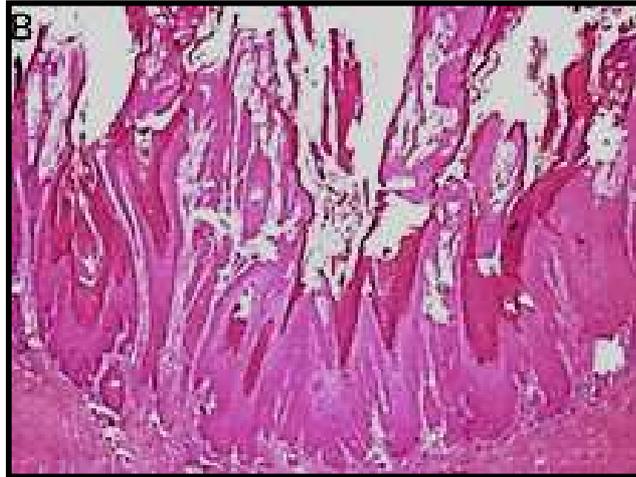


Figura 10. Carcinoma epidermóide do subtipo histológico verrucoso (HeE X100).(Fonte: arquivo pessoal).

1.4.2.3. CARCINOMA PAPILÍFERO.

Corresponde a um carcinoma epidermóide bem ou moderadamente diferenciado com projeções papilíferas as quais mostra acantose e hiperqueratosete. As metástases ocorrem raramente e a sobrevivida média de 5 anos é de aproximadamente 90% (Pompeo, Billis, 2003).(Figura 11).



Figura 11. Carcinoma epidermóide do subtipo histológico papilífero(HeE X100).(Fonte: arquivo pessoal).

1.4.2.4. CARCINOMA CONDILOMATOSO (WARTY).

Representa um tumor com padrão exofítico de crescimento, demonstrando pápulas condilomatosas com núcleos fibrovasculares proeminentes. Esse subtipo apresenta baixa probabilidade de metástases (Cubilla, 2009).(Figura 12).

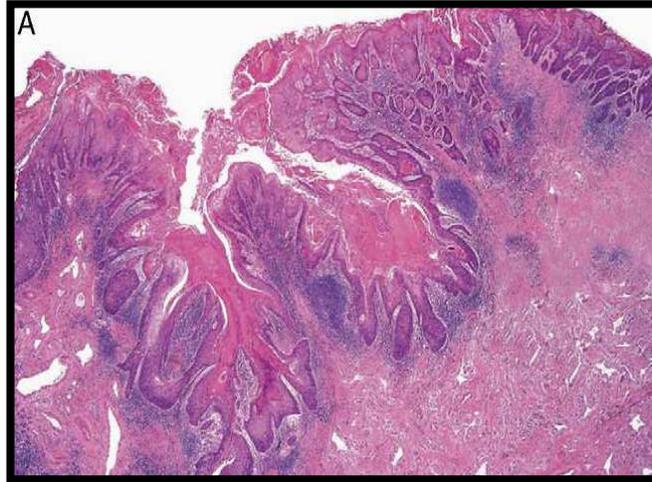


Figura 12. Carcinoma epidermóide do subtipo histológico condilomatoso(Warty) (HeE X100).(Fonte: Chaux *et al*, 2010).

1.4.2.5. CARCINOMA BASALÓIDE.

É um tumor agressivo e representa aproximadamente 10% dos carcinomas epidermóides. Consiste de ninhos de pequenas células com citoplasma escasso e figuras mitóticas abundantes. Necrose é comum. Tipicamente infiltra profundamente os planos subjacentes e mais da metade dos casos apresenta linfonodos inguiniais acometidos no diagnóstico inicial (Cubilla, 2009).(Figura 13).

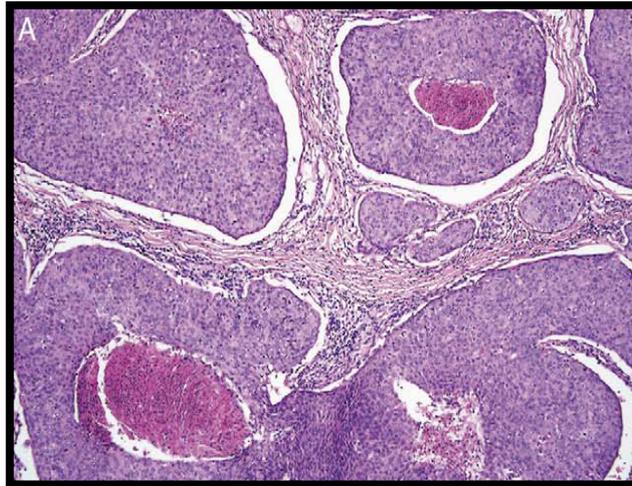


Figura 13. Carcinoma epidermóide do subtipo histológico Basalóide(HeE X100).(Fonte: Cubilla *et al.*, 2010).

1.4.2.6. CARCINOMA SARCOMATÓIDE.

É variante rara (< 1%), porém tem grande agressividade biológica. Em geral, adquire grandes dimensões e invade profundamente as estruturas teciduais adjacentes. Microscopicamente, consiste de células fusiformes entremeadas por células bizarras ou gigantes. Componentes sarcomatosos (condrossarcoma, osteossarcoma) são eventualmente encontrados (Cubilla, 2009). Hoje, a tendência é interpretar estes componentes como sendo de natureza metaplásica (Pompeo; Billis, 2003).(Figura 14).

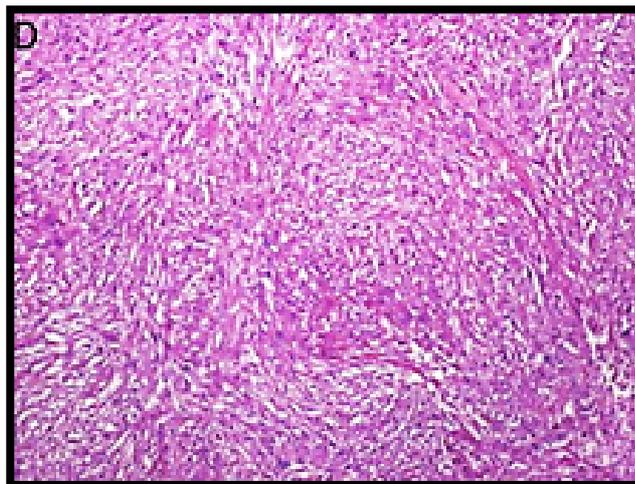


Figura 14. Carcinoma epidermóide do subtipo histológico sarcomatóide(HeE X100).(Fonte: Pompeo; Billis, 2003).

1.5. ESTADIAMENTO.

Após a confirmação do diagnóstico, deve-se proceder o estadiamento clínico, que consiste na avaliação da lesão primária, dos linfonodos regionais e metástases à distância. Este tempo da propedêutica é estabelecido por informações obtidas com criterioso exame clínico e auxílio de exames laboratoriais de imagem.

O principal objetivo do estadiamento patológico é obter informação padronizada para o paciente, para o clínico e pesquisadores, a cerca da frequência de recorrência, progressão e óbito pela doença.

Na atualidade, tem sido mais utilizada a classificação da UICC, que propôs o sistema de estadiamento TNM (Tumor primário, Linfonodos regionais e Metástases sistêmicas) para o CEP, tendo como revisão mais recente a de 2010 (SOBIN *et al*, 2009) (Figuras 15-19 e Tabela 2).

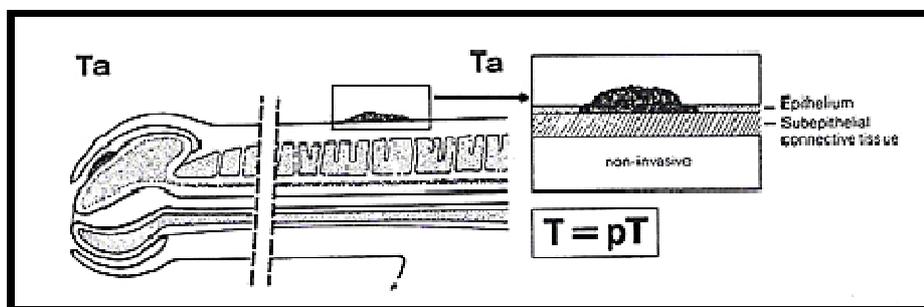


Figura 15. Ta: Carcinoma verrucoso não invasivo restrito ao epitélio. (Fonte: SOBIN *et al.*, 2009).

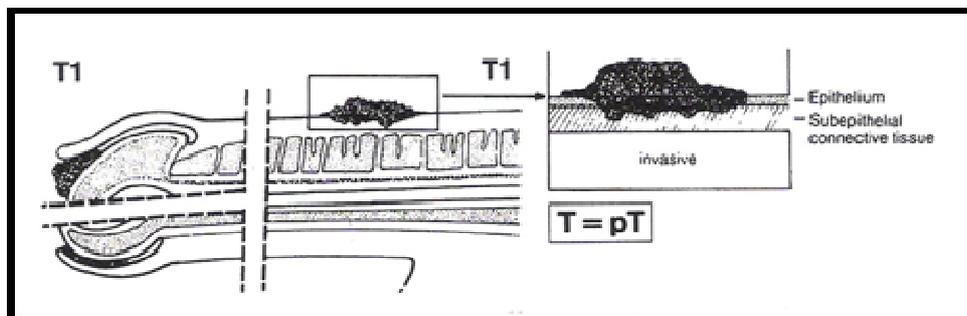


Figura 16. T1: Tumor invadindo tecido conectivo subepitelial; T1a: ausência de invasão vascular ou tumor indiferenciado; T1b: invasão vascular ou tumor indiferenciado. (Fonte: SOBIN *et al.*, 2009).

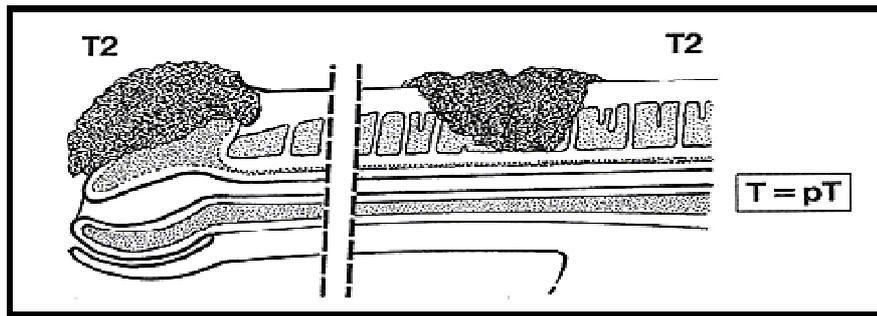


Figura 17. T2: Tumor invadindo corpo esponjosa ou cavernoso. (Fonte: SOBIN *et al.*, 2009).

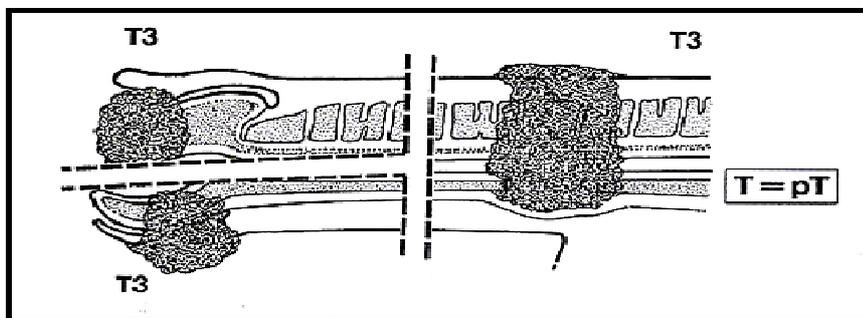


Figura 18. T3: Tumor invadindo uretral. (Fonte: SOBIN *et al.*, 2009).

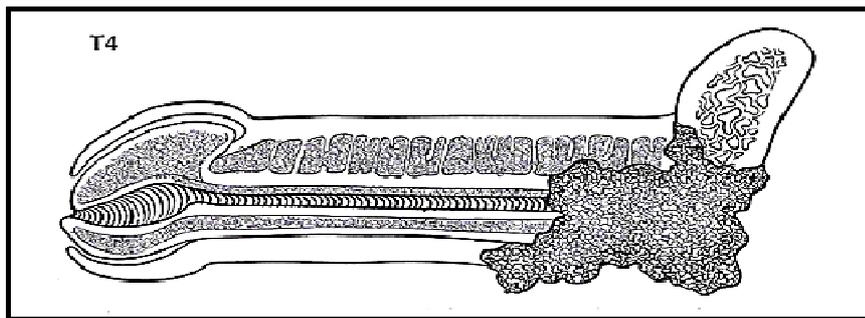


Figura 19. T4: Tumor invadindo estruturas adjacentes, incluindo próstata. (Fonte: SOBIN *et al.*, 2009).

Tumor primário (T)		
Tx	Tumor primário não pode ser identificado	
T0	Sem evidência de tumor primário	
Tis	Carcinoma in situ	
Ta	Carcinoma verrucoso não invasivo	
T1a	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial sem ILV ou tumor indiferenciado (G3-G4)	
T1b	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial com ILV ou presença de tumor indiferenciado (G3-G4)	
T2	Tumor invade corpo esponjoso ou cavernoso	
T3	Tumor invade uretra	
T4	Tumor invade estruturas adjacentes	
Linfonodos regionais (N)		
	Definição do estadiamento clínico	Definição do estadiamento patológico
Nx	Linfonodos regionais não podem ser identificados	Linfonodos regionais não podem ser identificados
N0	Ausência de linfonodos inguinais palpáveis ou visíveis	Ausência de metástases linfonodais
N1	Linfonodo inguinal palpável e móvel unilateral	Metástase em um único linfonodo regional
N2	Linfonodos inguinais múltiplos ou bilaterais	Metástases múltiplas ou bilateral em linfonodos regionais
N3	Massa inguinal palpável e fixa ou linfadenopatia pélvica uni ou bilateral	Metástase linfonodal com extensão extranodal ou linfonodos pélvicos uni ou bilateral
Metástases à distância(M)		
M0	Ausência de metástases à distância	
M1	Presença de metástases à distância	

Tabela 2. Definições do sistema de estadiamento TNM. (Fonte: Modificado de SOBIN *et al.*, 2009). Abreviaturas: ILV, invasão linfovascular.

1.5.1. ESTADIAMENTO CLÍNICO DA LESÃO PRIMÁRIA.

Na avaliação da lesão primária, os critérios utilizados, segundo a classificação TNM são: tamanho, localização, fixação e profundidade da infiltração tumoral, principalmente ao que se refere aos corpos cavernosos e esponjoso (Sobinet *al.*, 2009).

Os métodos propedêuticos disponíveis para a avaliação desses parâmetros são o exame físico, ultrasonografia (USG), ressonância nuclear magnética (RNM) e cavernosografia (CVG) (Sobinet *al.*, 2009). A classificação de 1997 (Sobi; Wittekind, 1997), acrescentou a uretroscopia entre os exames complementares.

O exame físico da lesão primária, nem sempre apresenta boa especificidade, em decorrência do processo inflamatório local. Horenblas *et al.* (1992), demonstraram 25% de falhas com este método, o que fortalece a utilização de métodos de imagem.

A USG é um exame de fácil acesso, que pode ser realizada pelo próprio urologista. Apresenta grande utilidade na identificação de invasão do tecido erétil, além de fornecer dados sobre os limites das amputações penianas (Yamashita; Ogawa, 1989).

O uso da RNM pode conseguir excelente visualização das estruturas do pênis, além de demonstrar invasão de corpos cavernosos com bastante acurácia, apesar da experiência com o método ser pobre no CEP. Este método é superior à tomografia computadorizada na diferenciação dos diversos tecidos do pênis, tendo como principal desvantagem seu custo elevado e a inexistência de aparelhos em centros de pequeno porte (Vapnek *et al.*, 1992).

A CVG usada há muito tempo pode ser útil na avaliação de invasão do tecido erétil (Stewart *et al.*, 2010), todavia o grande número de informações falso negativas e falso-positivas, além de sua invasibilidade, limitam seu emprego rotineiro.

Apesar dos diversos métodos disponíveis, nem um deles substitui o exame patológico da lesão, após o tratamento cirúrgico.

1.5.2. ESTADIAMENTO CLÍNICO DOS LINFONODOS REGIONAIS.

O envolvimento dos linfonodos regionais é um componente crítico no planejamento terapêutico e no prognóstico do CEP. Na apresentação, até 58% dos pacientes têm linfonodos

cl clinicamente palpáveis, enquanto que menos da metade estão acometidos por metástase após exame patológico, o restante está relacionado a infecção e ou inflamação na lesão primária. Por outro lado, 15% a 20% dos pacientes com linfonodos não palpáveis, apresentam metástases microscópicas. A avaliação dos linfonodos regionais é feita pelo exame físico e tomografia computadorizada, em pacientes obesos ou, com cirurgia inguinal prévia (Barocas; Chang, 2010).

Devido a inacurácia do estadiamento clínico dos linfonodos inguinais, alguns autores, preconizam a utilização de exames de imagem. O papel da ultrasonografia, CT, RNM e do PET, têm sido investigados (Hughes *et al.*, 2009).

Outros autores têm investigado a aspiração com agulha fina (FNA), porém este método tem acurácia limitada, na avaliação de linfadenopatias em pacientes com baixo risco de metástases e sem indicação para linfadenectomias (Barocas; Chang, 2010). O mapeamento dinâmico do linfonodo sentinela tem-se mostrado útil, entretanto seus resultados não têm sido reproduzidos em outros centros (Kroon *et al.*, 2004).

1.5.3. FATORES PREDITIVOS DE METÁSTASES LINFONODAIS EM CEP.

O tratamento dos pacientes com linfonodos clinicamente suspeitos está bem estabelecido e, conciste nas linfadenectomias inguinais bilaterais, com extensão aos linfonodos pélvicos em algumas situações (Hughes *et al.*, 2009).

Em pacientes com linfonodos clinicamente negativos na apresentação, a realização sistemática de linfadenectomias em todos os pacientes, esbarra na grande morbidade relacionada com estes procedimentos (Hughes *et al.*, 2009). Desta forma, muitos investigadores têm focado na identificação de fatores preditivos de metástases linfonodais em CEP, com o

objetivo de identificar metástases subclínicas e, evitar a morbidade das linfadenectomias, em homens com baixo risco de metástases.

1.5.3.1. NOMOGRAMAS PREDITIVOS.

Em 2006, Ficarra *et al.*, criaram um nomograma, combinando vários fatores preditivos clínicos e patológicos, para prever a presença de metástases linfonodais. As variáveis preditivas foram: espessura tumoral >5mm, crescimento superficial, alto grau, embolização linfática, invasão de corpo cavernoso, esponjoso, uretra e linfonodos clinicamente positivos. Este modelo alcançou acurácia de 87%, porém esse resultado necessita de validação com outros grupos de pacientes. Outro nomograma descrito alcançou acurácia de 74% (Bhagat *et al.*, 2010).(Figura 20).

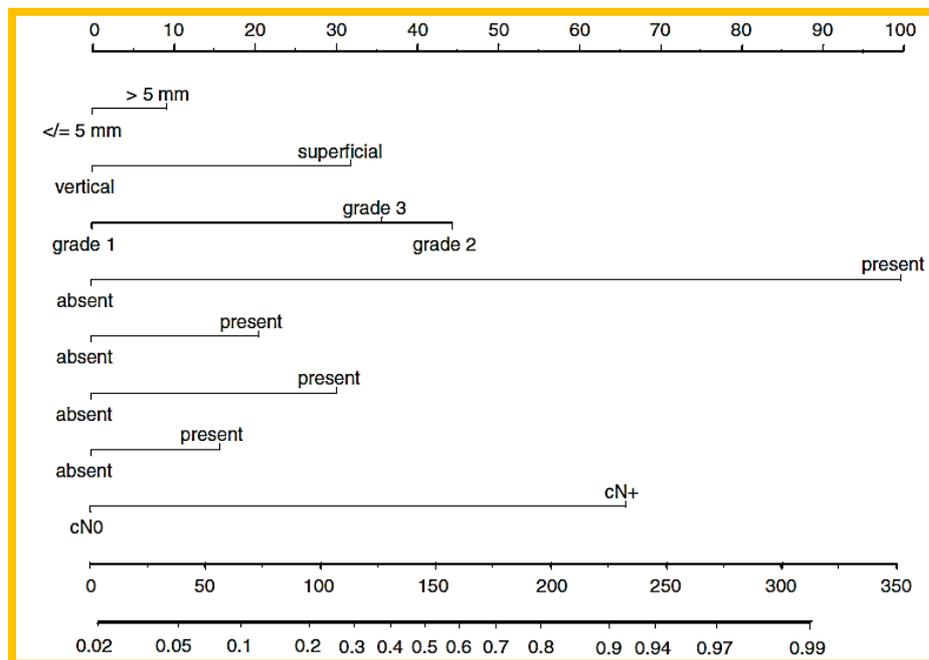


Figura 20. Nomograma preditivo de metástases linfonodais em CEP. (Fonte: Ficarra *et al.*, 2006).

Um modelo preditivo alternativo, descrito por Solsona *et al.*, 2001, divide os pacientes em grupos de risco, baseado no estágio e grau tumoral. A divisão consistia em baixo risco

(Tis ou T1, G1), risco intermediário (T1G2 ou T2G1) e alto risco (T2G2 ou T2-3G3). A EAU em seu consenço, adotou esquema de estratificação similar, como: baixo risco (Tis, TaG1-2 ou T1G1), risco intermediário (T1G2) ou alto risco (\geq T2 ou G3) (Solsona *et al.*, 2004). Avaliando e comparando esses modelos, Novara *et al.*, 2008, observaram acurácia de 69% e 63%, respectivamente, mostrando que apesar de equivalentes, não apresentaram alta acurácia na predição de linfonodos inguinais.

1.6. FATORES PATOLÓGICOS PREDITIVOS DE METÁSTASES LINFONODAIS.

1.6.1. PROFUNDIDADE DE INVASÃO OU ESPESSURA TUMORAL.

A profundidade de invasão é melhor obtida por secção perpendicular ao longo do eixo central do tumor. Para tumores grandes, localizados na glândula, prefere-se seccionar o espécime longitudinalmente, em duas bandas, com secções paralelas adicionais em cada banda, utilizando como eixo, a porção central e ventral da uretra peniana (Cubilla, 2009).

A medida deve ser realizada da camada de células basais do epitélio adjacente ao ponto mais profundo de invasão. Em grandes tumores, especialmente os verruciformes, a medida é feita do epitélio glandular ao ponto mais profundo de invasão tumoral (Cubilla, 2009). (Figura 21).

Existe alta incidência de metástases linfonodais (cerca de 80%) em tumores invadindo mais que 10mm. Em estudo recente a profundidade de invasão entre 5mm e 10mm, não se mostrou útil como preditor de metástases regionais (Velazquez *et al.*, 2008).

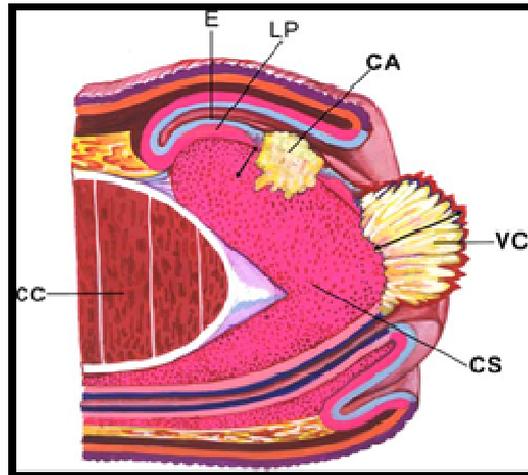


Figura 21. Representação esquemática dos métodos de medida da espessura tumoral. CA. Medida da membrana basal do epitélio glandular ao ponto tumoral mais profundo. VC. Medida do epitélio glandular ao ponto mais profundo. E. Epitélio; LP. Lâmina própria; CC. Corpo cavernoso. CS. Corpo esponjoso. (Fonte: Cubilla, 2009).

1.6.2. GRAU.

Devido as dificuldades de reprodutibilidade, a avaliação do grau histológico, como fator prognóstico, tem sido difícil em outros tumores. Nos vários estudos faltam critérios homogêneos de avaliação, além do que, raramente é levado em consideração a heterogeneidade dos tumores (mais de um grau em um único tumor) (Cubilla, 2009).

Alguns autores classificam o grau tumoral de 1 a 3 e, outros de 1 a 4, além de não existir trabalhos comparando as diversas formas de classificação. Mesmo com essas limitações, o grau tumoral é considerado um dos fatores preditivos de metástases linfonodais, mais importantes (Fraley *et al.*, 1989; Horenblaset *et al.*, 1994; Lopes *et al.*, 1996; Ficarra *et al.*, 2002).

1.6.3. INVASÃO LINFOVASCULAR.

Invasão vascular, linfática ou venosa, afeta negativamente o prognóstico do CEP (Slatonet *et al.*, 2001; Ficarra *et al.*, 2005). (Figura 22).

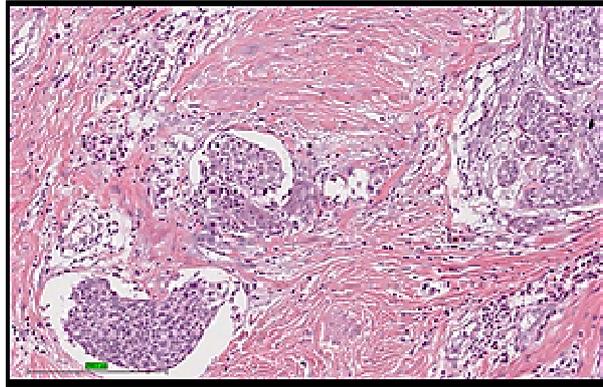


Figura 22. Invasão Linfovascular. Células neoplásicas no interior de vasos.(HeEX100). (Fonte: Arquivo pessoal).

Em estudo avaliando 375 pacientes, ILV mostrou ser fator preditivo independente para metástases linfonodais (Velazquez *et al.*, 2008).

Uma limitação em muitos estudos é a falta de critérios na diferenciação entre invasão linfática e vascular. Um estudo separando embolização linfática de vascular, ambos os fatores mostraram-se preditores significativos independentes para metástases inguinais (Ficarra *et al.*, 2005).

Outra limitação é a diferenciação patológica entre veias, artérias e linfáticos. Colorações por imunohistoquímica, agora disponíveis, podem auxiliar nesta distinção (Cubilla *et al.*, 2009).

1.6.4. INVASÃO PERINEURAL.

Pequenos ramos de nervos periféricos são frequentemente identificados no corpo esponjoso, dartos prepucial e fáscia de Buck. Invasão perineural está presente em cerca de metade dos pacientes com CEP . Em estudo de 35 pacientes, foi encontrado IPN em 18 (51%) casos, dos quais 10 (56%) apresentaram metástases linfonodais (Caballero *et al.*, 1991). Em análise de regressão univariada e multivariada de 375 pacientes tratados, avaliando vários

fatores prognósticos patológicos, demonstrou que IPN foi o fator independente mais significativo para mortalidade (Velazquez *et al.*, 2008).(Figura 23).

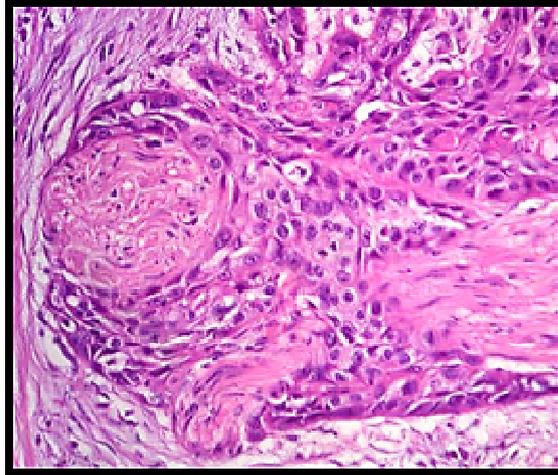


Figura 23. Invasão perineural. Três ramos de nervos periféricos envolvidos com carcinomas de células escamosas indiferenciado.(HeE X100). (Fonte: Arquivo pessoal).

1.6.5. FRONTE DE INVASÃO.

O padrão microscópico da frente de invasão foi definido, juntamente com ILV e estágio clínico, como fator de risco independente para metástases linfonodais em CEP (Guimarães *et al.*, 2006). Os dois padrões descritos foram infiltrativo (invasão em blocos de pequenos filetes sólidos de células tumorais infiltrando o estroma) e pushing (blocos largos de células com interface bem definida entre tumor e hospedeiro). (Figura 24).

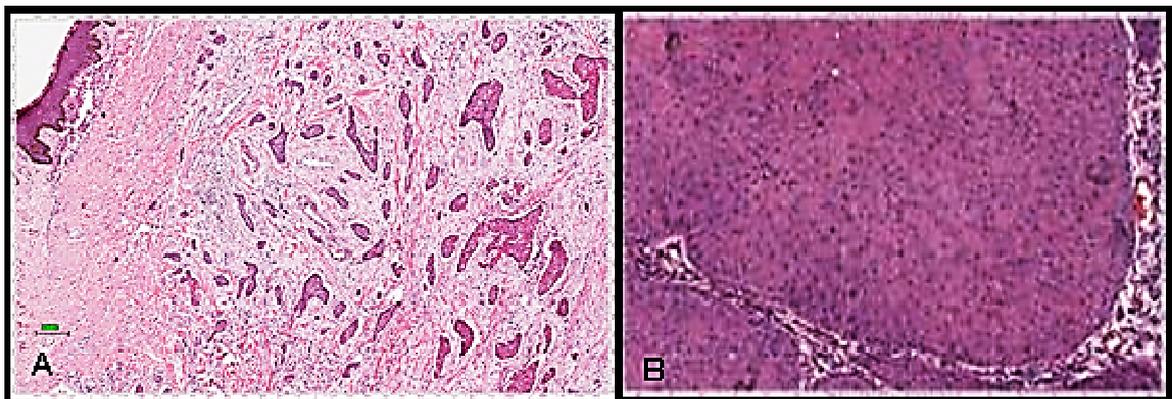


Figura 24. A. Invasão infiltrativa. B. Invasão compressiva.(HeE X100). (Fonte: Arquivo pessoal).

1.6.6. SUBTIPOS HISTOLÓGICOS.

A maioria dos tumores do pênis são carcinomas de células escamosas. O tipo usual corresponde a cerca de 50% a 60% dos tumores. Existem outros tumores mostrando fatores morfológicos e evolução distintas. Muitos são incluídos na classificação atual da WHO, a qual necessita ser atualizada (Cubilla, 2009).

A experiência clínica demonstra correlação entre o subtipo histológico e índices de disseminação regional e sistêmica, apesar deste fator mostrar menor importância que outros fatores patológicos prognósticos (Cubilla, 2009).

Os subtipos histológicos do CEP podem ser agrupados em três grupos, segundo o prognóstico. O grupo de baixo risco inclui os tumores verruciformes, tais como o verrucoso, papilar e condilomatoso (Cubilla *et al.*, 2000). A categoria de alto risco compreende o subtipo basalóide, sarcomatóide, adenoescamoso e carcinomas escamosos indiferenciados (Cubilla *et al.*, 1998; Velazquez *et al.*, 2005). A categoria de risco intermetidiário é representada pelo subtipo usual, neoplasias mistas e variantes pleomórficas dos tumores condilomatosos (Cubilla, 2009).

1.7. METÁSTASES À DISTÂNCIA.

Disseminação sistêmica deve ser excluída com radiografia de tórax e CT de abdome e pelve, em pacientes com fatores de risco para envolvimento linfonodal ou pacientes com linfonodos clinicamente palpáveis. Cintilografia óssea é realizada em situações como dor óssea ou elevação da fosfatase alcalina ou cálcio séricos (SOLSONA *et al.*, 2004).

A grande incidência desta neoplasia, principalmente nos estados do norte e nordeste do Brasil, motivou a realização deste trabalho, que tem como objetivo avaliar a prevalência, distribuição e associação do HPV com parâmetros histológicos de pior prognóstico, no

sentido de determinar seu possível valor preditivo para metástases inguinais, assim como avaliar os fatores prognósticos já descritos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL.

- Avaliar a prevalência, distribuição e importância do HPV como fator preditivo de metástases linfonodais em carcinoma do pênis, em uma população do Estado do Pará, Norte do Brasil.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Realizar estudo histopatológico nas amostras de carcinoma de pênis para proceder estadiamento, classificação histológica dos tumores, além de identificar fatores patológicos como: invasão perineural, invasão linfovascular, frente de invasão e subtipo histológico.
- Avaliar a infecção pelo HPV nestas neoplasias pela técnica do PCR.
- Correlacionar a presença do HPV com fatores patológicos preditivos de metástases linfonodais.
- Avaliar a importância prognóstica do HPV como fator preditivo de metástases linfonodais em carcinoma do pênis.

3.0. MATERIAL E MÉTODOS.

3.1. PACIENTES

Foram selecionados 82 pacientes com diagnóstico de CEP, tratados no Hospital Ophir Loyola, Belém, Pará, no período de 2001 à 2008. Todos foram submetidos a amputações penianas, sendo a abordagem dos linfonodos inguinais baseada em protocolo do departamento de urologia do hospital. A idade dos pacientes variou entre 22 e 91 anos (média, 58 anos). Todos os pacientes foram avaliados prospectivamente por meio de consultas de seguimento, prontuários do arquivo médico ou contato telefônico com familiares. Foram incluídos no estudo, apenas pacientes que apresentavam dados de prontuários completos, como descrição cirúrgica, exame histopatológico e registros de seguimento.

O presente projeto fez uso de amostras parafinadas de pacientes portadores de CEP atendidos no Hospital Ophir Loyola, Belém, Pará, no período de 2001 à 2008. Como os referidos blocos foram mantidos sobre a guarda desse Hospital há mais de cinco anos, o parecer do Conselho Federal de Medicina Nº 27/94, de 29 de setembro 1994, permite que tanto as peças anatômicas fixadas como as lâminas de citologia, histopatologia e os blocos de parafina possam ser destruídos. Desta forma não haveria impedimento ético de se realizar a presente pesquisa. De todas as formas, foi solicitada uma emenda ao Comitê de ética em Pesquisa do Hospital Ophir Loyola, por meio da Plataforma Brasil, para a utilização das amostras parafinadas.

3.2. PROTOCOLO DE TRATAMENTO.

Linfadenectomias inguinais radicais foram realizadas nos pacientes com linfonodos suspeitos. Quando unilateral, eram ressecados os linfonodos superficiais contralateral com extensão aos profundos, nos casos de congelação positiva.

Nos pacientes que se apresentavam com linfonodos clinicamente negativos, foram realizadas linfadenectomias superficiais, baseando-se nos fatores preditivos após obtenção de exame patológico da lesão primária. O grupo de baixo risco para metástases (pTis, pTa, pT1G1-2) era submetido a observação; o de risco intermediário (pT1G3 ou ILV+) e alto risco (\geq pT2) foram submetidos a linfadenectomias superficiais com exame de congelação.

3.3. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E CONTRUÇÃO DOS *TISSUE MYCROARRAYS (TMAs)*.

As análises dos TMAs foram realizadas no laboratório de patologia do Hospital A. C. Camargo, localizado na cidade de São Paulo, São Paulo. A organização do bloco de TMA seguiu os passos tradicionalmente descritos na literatura. Brevemente, a partir do corte do espécime original corado por H&E, as áreas de tumor viável são selecionadas e marcadas com caneta. Estas áreas devem ter equivalência no bloco de parafina original, identificado como bloco doador. A partir deste ponto, as áreas selecionadas serão transferidas para o bloco receptor através do uso do *tissuemicroarrayer* (BeecherInstruments, Silver Spring, MD, USA). Serão confeccionados blocos de TMA com cilindros 1,0mm e quantos blocos de TMA quantos necessários para abrigar as amostras selecionadas. Cada bloco receptor aceita cerca de 300 amostras de 1,0mm de diâmetro.

A partir destes blocos serão preparados 82 cortes histológicos seriados em lâminas de vidro, cortadas através de microtomia mecânica na espessura de 4 μ m. Cada corte é previamente colocado em uma película aderente especial e transferido para a lâmina de vidro, que passará por um banho de luz UV para que o tecido seja aderido a lâmina de vidro (InstrumedicsInc ®, Hackensack, NJ). As lâminas são mergulhadas em banho de parafina, para evitar oxidação dos tecidos e armazenadas a -20°C. Para controle da representatividade

do material, serão confeccionadas lâminas coradas por H&E nos níveis 1, 25, 50, 75 e 100 (Simon; Sauter, 2003).

Todas as amostras da lesão primária foram revistas por um único patologista (F.A.S), de forma às cegas. Os tumores foram estadiados (pT) retrospectivamente de acordo com o sistema TNM de 2009, da União Internacional contra o Câncer e patologicamente graduado de acordo com Broders, como grau I, bem diferenciado; grau II, moderadamente diferenciado; ou grau III, indiferenciado (GI, GII e GIII). Invasão linfo-vascular (ILV) foi definida como a presença de células tumorais, no interior de vasos linfáticos, veias ou artérias. Invasão Perineural (IPN) foi caracterizada pela presença de tecido tumoral em contato com ramos de nervos periféricos. A frente de invasão foi classificada em infiltrativo (Infiltrating), quando existia a presença de feixes de células malignas infiltrando o estroma ou, margem regular (Pushing), quando havia interface definida entre tumor e células do hospedeiro. Os sub-tipos histológicos foram classificados como usual, condilomatoso, verrucoso, basalóide, papilífero, sarcomatóide e acantolítico.

3.4. ANÁLISE DO HPV

As amostras foram avaliadas através da reação em cadeia da polimerase PCR, inicialmente através da Beta globina humana G73 – 5'GAA GAG GGA AGG ACA GGT AC 3' e G74 – 5' CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC 3'(PCR).

A reação específica para o gene viral utilizou os iniciadores GP5⁺ - 5' TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC 3' e GP6⁺ - 5' GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C 3', capazes de amplificar um fragmento de 150pb do gene L1 que corresponde a uma região bem conservada do genoma viral. Essa parte da metodologia foi desenvolvida no laboratório de Papilomavírus do Instituto Evandro Chagas, referência para diagnóstico dos papilomavírus no Ministério da Saúde do Brasil.

Os blocos de parafina foram submetidos a cortes seriados em micrótomo, os quais foram usados na obtenção do DNA para detecção viral. O tecido presente nos cortes foi inicialmente submetido à desparafinização em xilol e posteriormente digerido em uma solução de 20µg/ml de Proteinase K, 10% SDS (dodecil sulfato de sódio) em 10 mM Tris-HCl; 0,5mM EDTA (TE).

Após a digestão completa do tecido, a purificação do DNA foi feita utilizando uma solução de fenol/clorofórmio/álcool isoamílico na proporção de 25:24:1 seguida de precipitação com acetato de amônio 7.5M em álcool.

Após A PCR a identificação do tipo viral foi feita através de sequenciamento direto do produto da PCR, em sequenciador de capilar ABI 3130 *Geneticanalyser*, Hitachi.

3.5. SEGUIMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA.

O seguimento variou entre 1 e 71 meses (média 20 meses). Foi considerado como desfecho a presença de metástases em linfonodos inguinais, por meio de comprovação histológica, nos pacientes submetidos a linfedectomias; ou, naqueles que desenvolveram metástases irresecáveis durante o seguimento. A presença ou ausência HPV, assim como o genótipo, dividido em grupo de alto risco (apenas HPV_{var}, infecção simples ou múltipla), baixo risco (apenas HPV_{br}, infecção simples ou múltipla) e infecção múltipla (mais de um tipo viral, HPV_{mult}) foram correlacionados com as variáveis clinicopatológicas analisadas, utilizando o método Chi-quadrado ou teste exato de Fisher.

A presença de metástases inguinais foi correlacionada com as seguintes variáveis: pT, G, ILV, IPN, frente de invasão infiltrativa ou compressiva, subtipo histológico e estado do HPV (positivo ou negativo), utilizando-se análise univariada e multivariada feita pelo método de risco proporcional de Cox. Na análise da sobrevida livre de doença inguinal (SLDI) em

5anos, utilizou-se o método de Kaplan-Meier e teste de log Rank. O SPSS® 13.0 foi utilizado para todas as análises, sendo considerado significativo valor de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS.

4.1. Presença do DNA do HPV

O DNA do HPV foi detectado em 60,9% (50 de 82) dos espécimes fixados em parafina. A distribuição viral no total da amostra foi: HPV11 (64%), HPV6 (32%), HPV16 (30%), HPV53 (18%), HPV33 (4%) e os tipos 18, 68, 45, 51, 52 e 58 (2%). Gráfico 1.

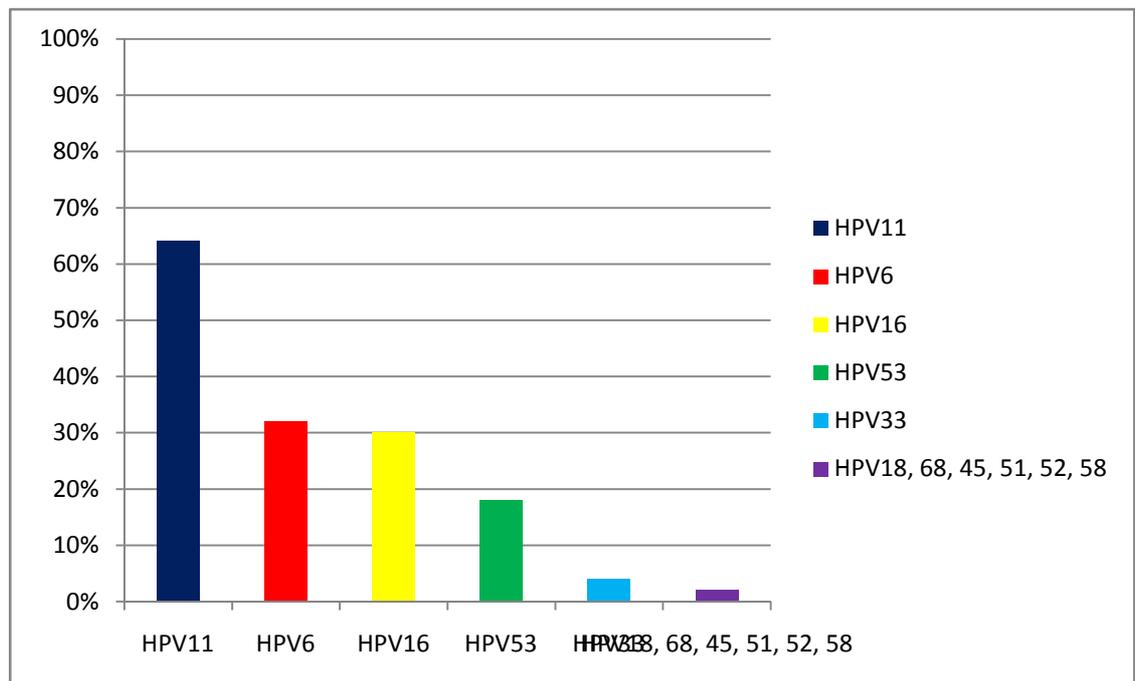


Gráfico 1. Distribuição dos tipos virais na amostra.

Os grupos HPVvar, HPVbr e HPVmult foram identificados em 12/50 (24%), 25/50 (50%) e 25/50 (50%) respectivamente. Os tipos virais predominantes em cada grupo foram 16, 11 e 11. Gráfico 2.

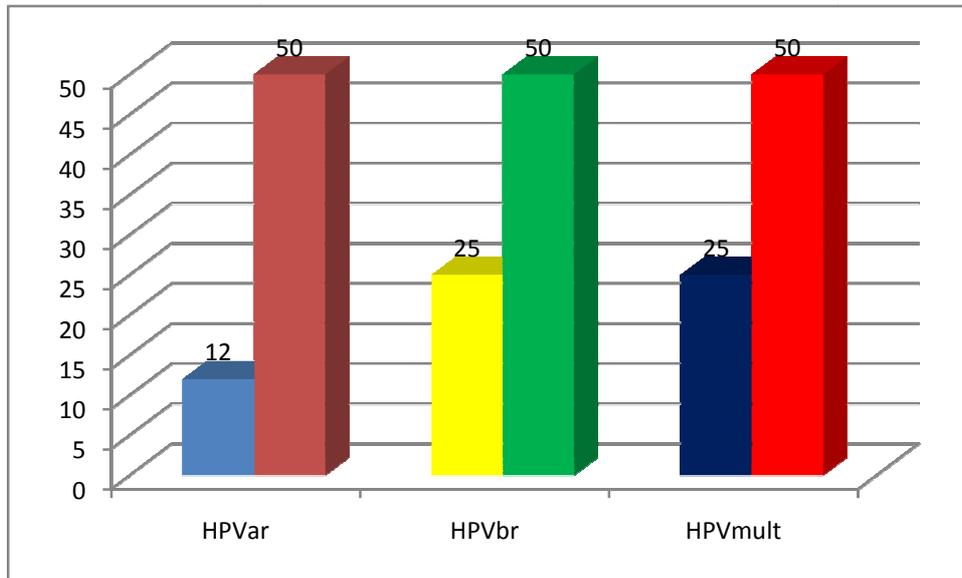


Gráfico 2. Distribuição dos subgrupos de HPV positivo.

4.2. Características histopatológicas entre os subgrupos do HPV positivo (HPVvar, HPVbr e HPVmult) e negativo.

Os pacientes HPV negativo demonstraram frente de invasão predominante do tipo infiltrativa e, o grupo HPV positivo correlacionou-se com tumores mais diferenciados. O grupo HPVvar mostrou associação positiva com o subtipo basalóide e negativa com os tumores do tipo usual, além de demonstrar que a ausência de HPVvar estava associada com tumores de maior estágio. No subtipo usual a grande maioria apresentou infecção por HPVbr. Nos tumores que apresentaram infecção múltipla predominou o subtipo condilomatoso. (Tabela 3). Análise por regressão logística múltipla não demonstrou qualquer variável histológica independente relacionada ao estado ou subgrupo do HPV.

TABELA 3. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DE 82 PACIENTES PORTADORES DE CÂNCER DE PÊNIS, DIVIDIDOS NOS GRUPOS HPV POSITIVO (n=50) OU NEGATIVO (n=32), HPV_{var} (n=12), HPV_{br} (n=25) E HPV_{mult} (n=25).

	DNA-HPV								
	HPV+	HPV-	p	HPVAR	p	HPVBR	p	HPVMLT	p
TOTAL	50(60,9)	32(39)		12(50)		25(50)		25(50)	
T1a	14(28)	8(72)		7(58)		5(22)		6(22)	
T1b-T4	36(72)	24(75)	0,73 ¹	5(42)	0,01²	2(7)	0,35 ¹	1(7)	0,70 ²
Grau 1 e 2	36(72)	15(46)		7(58)		18(72)		19(76)	
Grau 3	14(28)	17(53)	0,02¹	5(41)	0,75 ¹	7(28)	0,22 ¹	7(28)	0,08 ¹
ILV	8(16)	3(9)	0,39 ¹	3(11)	0,20 ¹	3(11)	0,80 ¹	3(11)	0,80 ¹
IPN	11(22)	7(21)	0,98 ¹	1(18)	0,21 ¹	6(18)	0,76 ¹	5(18)	0,77 ¹
Invasão									
Infiltrativa	24(48)	23(71)	0,03²	4(47)	0,06 ¹	12(47)	0,25 ¹	13(47)	0,51 ¹
Compressiva	26(52)	9(28)		8(35)		13(35)		12(35)	
Subtipo									
Usual	37(74)	23(71)	0,83 ¹	5(60)	0,000²	23(60)	0,01¹	18(60)	0,87 ¹
Condilomatoso	3(6)	1(3)	0,55 ¹	1(4)	0,54 ²	0(4)	0,17 ¹	3(4)	0,04²
Verrucoso	1(20)	2(6)	0,31 ¹	1(3)	0,35 ¹	0(3)	0,24 ¹	0(3)	0,24 ¹
Basalóide	4(8)	0(0)	0,10 ¹	3(4)	0,009²	1(4)	0,80 ¹	1(4)	0,80 ¹
Papilífero	2(4)	3(9)	0,32 ¹	2(5)	0,15 ¹	0(5)	0,12 ²	1(5)	0,59 ¹
Sarcomatóide	2(4)	3(9)	0,32 ¹	0(5)	0,33 ¹	0(5)	0,12 ¹	2(5)	0,63 ¹
Acantolítico	1(2)	0(0)	0,42 ¹	0(1)	0,67 ¹	1(1)	0,12 ¹	0(1)	0,50 ¹
pN	29(58)	17(53)	0,66 ¹	6(46)	0,64 ¹	15(46)	0,63 ¹	12(46)	0,32 ¹

Valores em parenteses indicam valores percentuais.

1 teste qui quadrado – 2 Teste exato de Fisher.

4.3. Sobrevida livre de metástases inguinais em 5 anos e taxa de risco de acordo com a presença do HPV e variáveis histopatológicas

A ocorrência de metástases em linfonodos inguinais foi 56% (46 de 82) dos casos. A probabilidade sobrevida acumulada livre de metástases inguinais em 5 anos não apresentou diferença entre os grupos HPV positivo e negativo: 34%x29% (log-ranktest, p=0,45) (Gráfico 3).

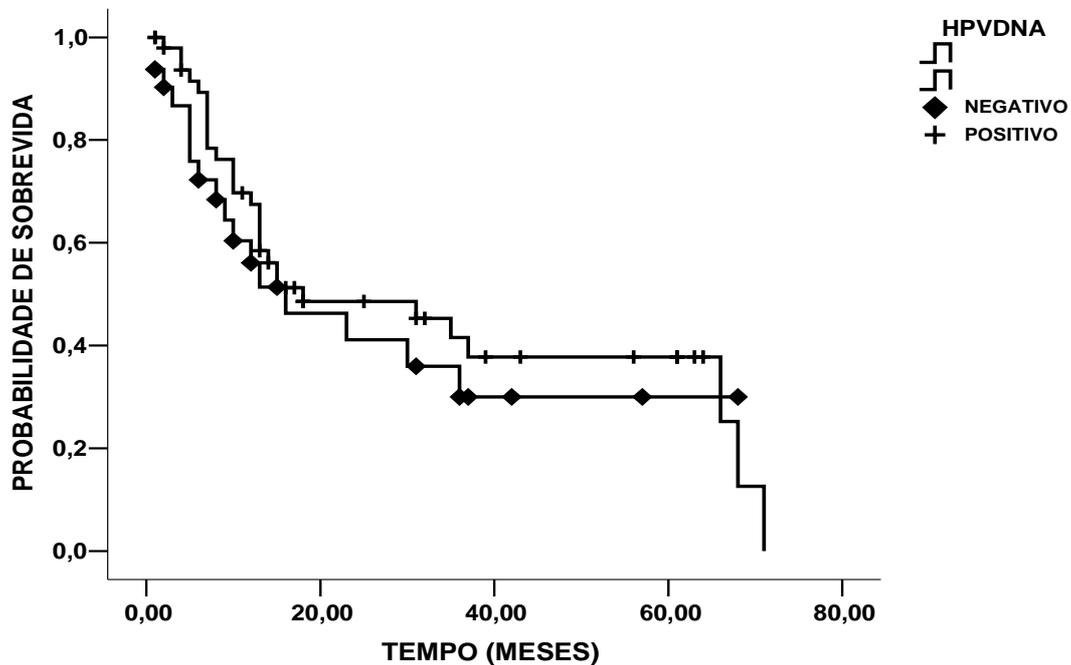


GRÁFICO 3. SOBREVIDA LIVRE DE METÁSTASES INGUINAIS APÓS TRATAMENTO DO TUMOR PRIMÁRIO, NÃO APRESENTOU DIFERENÇA SIGNIFICATIVA, COMPARANDO TUMORES HPV POSITIVO (N50/82) OU NEGATIVO (N32/82), TESTE LOG RANK=0,45.

Não houve diferenças nas sobrevidas entre os grupos HPVvar, HPVbr e HPVmult. A análise univariada da SLMi em 5 anos, de acordo com as variáveis histopatológicas demonstrou que o $T \geq T1b-T4$ (HR=5,76), ILV (HR=2,90), IPN (HR=2,88), e frente de invasão infiltrativa (HR=2,68) foram em ordem decrescente, fortes preditores de metástases inguinais (Tabela 4). Nos pacientes com $T \geq T1b-T4$, ILV+, IPN+ e frente de invasão infiltrativa, metástases inguinais ocorreram em 82,6% (38/52), 100% (11/11), 94,4% (17/18) e 70,2% (33/47), respectivamente. Nesta amostra apenas o subtipo sarcomatóide relacionou-se com metástases regionais (80%, 4 de 5). O subtipo papilífero apresentou correlação negativa com metástases de 100% (0 de 5).

TABELA 4. ÍNDICE DE SOBREVIDA LIVRE DE METÁSTASE INGUINAL EM 5 ANOS E TAXA DE RISCO DE ACORDO COM AS VARIÁVEIS CLÍNICO E PATOLÓGICAS – ANÁLISE UNIVARIADA.

	No de pacientes	SLMI em 5 anos (95%IC) (%)	Valor p (Log-Rank teste)	Taxa de risco (IC95%)
pT				
T1a	23	59(45-73)	0,002	5,76(1,78-18,64)
T1b-T4	57	26(19-33)		
Grau				
1-2	51	34(25-43)	0,42	1,27(0,70-2,31)
3	31	28(18-39)		
ILV				
presente	11	14(3-25)	0,0004	2,90(1,44-5,81)
ausente	71	36(28-43)		
IPN				
presente	18	14(6-22)	0,000	2,88(1,54-5,37)
ausente	64	39(30-47)		
Invasão infiltrating	47	23(16-31)	0,003	2,68(1,38-5,22)
pushing	35	46(35-57)		
Subtipo				
Usual	60	33(25-41)	0,55	0,81(0,39-1,65)
Condilomatoso	4	38(10-66)	0,52	0,53(0,73-3,88)
Verrucoso	3	9(2-15)	0,99	1,00(0,13-7,38)
Basalóide	4	12(9-15)	0,24	1,96(0,60-6,45)
Papilífero	5	9(4-13)	0,02	0,04(0,00-15,59)
Sarcomatóide	5	9(4-13)	0,02	3,02(1,05-8,64)
Acantolítico	1	7(7-7)	0,14	3,88(0,51-29,2)
HPV				
positivo	50	34(25-43)	0,45	0,79(0,43-1,46)
negativo	32	29(18-40)		

A análise multivariada para controle de outras variáveis, mostrou que $T \geq T1b-T4$, ILV e frente de invasão infiltrativa foram fortes fatores preditivos independentes para metástases inguinais (Tabela 5).

TABELA 5. ÍNDICE DE SOBREVIDA LIVRE DE METÁSTASE INGUINAL EM 5 ANOS E TAXA DE RISCO DEACORDO COM AS VARIÁVEIS CLÍNICO E PATOLÓGICAS – ANÁLISE MULTIVARIADA.

ANÁLISE DE REGRESSÃO MULTIVARIADA DE COX- FATORES DE RISCO INDEPENDENTES PARA METÁSTASES INGUINAIS		
Variáveis	Taxa de risco (IC95%)	Valor “p”
pT1axpT1b-4 (pT1b-4)	2,67(1,16-6,15)	0,02
ILV +	2,09(1,03-4,22)	0,03
Invasão infiltrativa	2,00(1,00-4,03)	0,04

5. DISCUSSÃO.

O presente estudo representa a primeira descrição sobre a presença e o genótipo do HPV, relacionado ao CEP, no estado do Pará, do norte do Brasil, região que apresenta alta prevalência da doença (Favorito *et al.*, 2008; Fonseca *et al.*, 2010). Nesta amostra, a prevalência total do HPV em CEP foi de 60,9%, o que é compatível com a literatura, que reporta uma variação entre 14% a 100% (Gregoiret *et al.*, 1995; Bezerra *et al.*, 2001; Lontet *et al.*, 2006; Scheineret *et al.*, 2008; Miralles-Guri *et al.*, 2009). Um estudo de metanálise, avaliando 1266 casos de CEP, totalizando 30 estudos, reporta prevalência do DNA do HPV em 47,9% dos casos e, especificamente na América do sul, em cerca de 40,7% dos tumores (Miralles-Guri *et al.*, 2009). Quanto a distribuição dos genótipos, nesta série, observamos claro predomínio dos tipos 11 e 6, contrariando achados prévios que relatam absoluto predomínio dos tipos 16 e 18 (Miralles-Guri *et al.*, 2009); além do mais, infecção múltipla foi observada em 30,4% (25/50) desta amostra, contrastando com os achados de Krstrup *et al.* (2009), que não evidenciaram infecções por vários tipos virais em sua casuística. Variações na prevalência reportada ao DNA do HPV, deve-se principalmente às diferenças na técnica de amostragem, população estudada, métodos de detecção utilizados, armazenamento do tecido tumoral e inclusão de tumores de diversos sub-tipos histológicos (Anicet *et al.*, 2011).

O papel do HPV na carcinogênese do epitélio da cérvix uterina está bem estabelecido, onde são encontrados tipos virais com alto risco oncogênico em mais de 95% dos casos (Wattleworth, 2011); enquanto que, em CEP, a presença viral não é obrigatória, existindo vias etiológicas não relacionadas ao HPV e associadas a outros fatores de risco (Rubin *et al.*, 2001). A relação significativa entre tumores genitais e HPV, tem aumentado o interesse em explorar a potencial interferência viral no processo biológico de metástases e prognóstico.

Em CEP a descrição de fatores prognósticos, capazes de auxiliar na decisão clínica, sobre a realização de linfadenectomias torna-se necessária; entretanto, a significância prognóstica do HPV em tumores penianos é controversa. Vários autores tentaram relacionar a presença viral com fatores histopatológicos de pior prognóstico (Gregoire *et al.*, 1995; Bezerra *et al.*, 2001; Lontet *et al.*, 2006; Scheiner *et al.*, 2008; Krstrup *et al.*, 2009; Kirrander *et al.*, 2010). Scheiner *et al.* (2008), Bezerra *et al.* (2001), Lontet *et al.* (2006) e Kirrander *et al.* (2010) relatam achados negativos; enquanto, Gregoire *et al.* (1995) e Krstrup *et al.* (2009) reportam uma associação estatisticamente significativa entre a presença de HPV e tumores de alto grau.

Neste estudo, subdividindo os tumores HPV positivo em grupos de alto, baixo risco e infecção múltipla, a única associação positiva encontrada foi a prevalência de HPV em 75% dos tumores basalóides, que é incluído em grupo de pior prognóstico (Cubilla, 2009). Cubilla *et al.* (2010) e Chaux *et al.*, (2010) encontraram associação de 75% entre o subtipo basalóide e HPar. Avaliando 14 casos de tumores basalóides, Guimarães *et al.* (2007) relatam 50% de metástases inguinais, enquanto nesta amostra observamos 75% (3/4) desta ocorrência. Apesar do pequeno número de casos avaliados, achamos que esta associação mereça ser melhor estudada em estudos futuros.

Na atualidade, as recomendações para realização de linfadenectomias em pacientes com linfonodos clinicamente negativos, baseia-se em fatores patológicos preditivos, relacionados à lesão primária, sobretudo estadio tumoral e grau (Cubilla, 2009). Todavia, isto leva a supertratamento em até 82% dos pacientes (Ficarra *et al.*, 2009). Nesta amostra mesmo basendo-se em protocolo bem fundamentado na literatura, este fato ocorreu em 88% (30 de 34) dos pacientes.

Enquanto o método minimamente invasivo de biópsia dinâmica do linfonodo sentinela tem revolucionado o tratamento dos linfonodos regionais, na identificação de

metástases ocultas, com boa acurácia e baixa morbidade (Kroon *et al.*, 2005), existe a necessidade de marcadores não invasivos para metástases linfonodais. Nesta casuística não houve associação entre a presença ou distribuição dos genótipos do HPV com acometimento linfonodal, como encontrado por outros autores (Gregoire *et al.*, 1995; Krstrup *et al.*, 2010).

Desta forma, até o momento, não existem evidências, que suportem a utilização do HPV, na decisão sobre realizar ou não linfadenectomias. Surpreendentemente, Lontet *et al.* (2006), apesar de não mostrar associação entre o estado do HPV e metástases linfonodais, observaram melhor sobrevida doença específica, em pacientes com CEP associado a vírus de alto risco (Logrank, $p=0,03$). Para evitar influências no estudo, procuramos avaliar apenas sobrevida livre de doença inguinal (SLDI), que não mostrou diferenças entre os grupos HPV positivo e negativo Logrank, $p= 0,45$)

Com objetivo de melhorar a avaliação dos linfonodos regionais, diversos fatores de risco patológicos e moleculares têm sido descritos. Entre os fatores preditivos patológicos, apenas IPN, ILV e o grau histológico, têm se mostrado como fatores independentes na predição de metástases linfonodais. (Cubilla, 2009). Lopes *et al.* (1996), reportaram que a espessura tumoral e ILV associaram-se com metástases inguinais, entretanto estadiamento do tumor e grau, não foram significativos em análise univariada e apenas ILV mostrou-se como fator independente em análise multivariada. Ficarra *et al.* (2009) relatam que muitos fatores preditivos patológicos são significativos em análise univariada, porém apenas ILV apresentou importância independente de outros fatores em análise multivariada (HR=5,38, $p=0,01$).

Quanto aos fatores histológicos relacionados ao tumor, observamos que estágio tumoral $\geq T1b-T4$, ILV, IPN, frente de invasão infiltrativa e o subtipo histológico sarcomatóide correlacionaram-se com metástases linfonodais, em análise univariada (Tabela 4).

Apesar do tamanho limitado da amostra, chama atenção a falta de significância do grau de diferenciação tumoral como fator prognóstico, entretanto, a heterogeneidade patológica, com mais de um grau presente no mesmo tumor, raramente é considerada nas séries estudadas (Cubilla, 2009).

Em análise de regressão multivariada, apenas tumores $\geq T1b-T4$, ILV e crescimento infiltrativo mostraram-se como fatores independentes, sendo o estadio T o mais importante (HR=2,67, p=0,02).

As diferenças encontradas nas diversas séries, devem-se principalmente às diferenças na metodologia patológica, na abordagem terapêutica e heterogeneidade das populações estudadas, sendo difícil validar esses fatores prognósticos. Essas limitações devem ser contornadas, na tentativa de se obter uma melhor validação desses fatores de risco para metástases inguinais.

6. CONCLUSÕES.

A análise do presente trabalho em relação à prevalência, distribuição e importância prognóstica para metástases linfonodais em carcinoma epidermóide do pênis, do Papiloma vírus humano, na população selecionada na região norte do Brasil, permitiu concluir que:

1- A prevalência do HPV encontrada nas amostras histológicas de carcinoma epidermóide do pênis foi de 60,9%, o que é compatível com dados da literatura atual.

2- Os tipos virais predominantes nas amostras foram os 11 e 6, contrariando os achados da literatura que reportam predomínio absoluto do tipo 16.

3- A presença viral não mostrou qualquer correlação com a sobrevida livre de doença inguinal, sugerindo que esta associação não esteja envolvida nos mecanismos moleculares das metástases linfonodais em CEP.

4- Os subgrupos virais de alto risco, baixo risco ou infecção múltipla não mostraram correlação com metástases linfonodais em CEP, sugerindo que a infecção viral possa exercer algum papel na etiologia da doença, mas não nos mecanismos de metástases.

5- Os tumores com a presença do HPV mostraram-se mais diferenciados, em relação ao grau histológico, que os tumores com ausência do HPV.

6- A presença de vírus do grupo de alto risco correlacionou-se significativamente com o sub-tipo histológico basalóide e, a ausência deste mostrou relação com tumores de maior estadiopatológico.

7- Entre os fatores histológicos de pior prognóstico, nenhum apresentou correlação independente com a presença, ausência ou subgrupos do HPV.

8- O estadiopatológico tumoral (\geq T1b-T4), invasão linfovascular, invasão perineural, frente de invasão infiltrativa e os subtipos histológicos papilífero e sarcomatóide foram preditores para metástases inguinais em análise univariada. O subtipo histológico papilífero demonstrou correlação negativa com doença linfonodal nesta análise.

9- Entre os fatores histológicos preditivos de doença linfonodal, o estadio tumoral (\geq T1b-T4), invasão linfovascular e crescimento do tipo infiltrativo, mostraram significância independente na predição de metástases linfonodais. Estes resultados sugerem a necessidade de incluir a frente de invasão do tipo infiltrativa, nos nomogramas preditivos para metástases linfonodais em carcinoma epidermóide do pênis.

10- Evidenciou-se necessidade de realizar estudos multicêntricos, com um grande número de casos e metodologia padronizada, para validar os fatores preditivos de metástases linfonodais já conhecidos em CEP, assim como pesquisar outros fatores que possam ser utilizados na predição de metástases linfonodais nesta doença.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ABI-AAD, A.S.; de KERNION, J.B. Controversies in ilioinguinal lymphadenectomy for cancer of the penis. *Urol.Clin.North. Am.*, v.19, p.319-24, 1992.

AJCC CANCER STAGING MANUAL. Philadelphia, Lippincott. 2010; Seventh Edition, p.447.

ANIC GM, GIULIANO AR: Genital HPV infection and related lesions in men. *Preventive Medicine.*, v.53, p.s36-s41, 2011.

BHAGAT, S; GOPALAKRISHNAN, G; KEKRE, N. Factors Predicting inguinal node metastasis in squamous cell cancer of penis. *World. J. Urol.*, 28(1):93-8, 2010.

BARBOSA, A.A., Jr.; ATHANÁZIO, P.R.F.; OLIVEIRA, B. Câncer do penis: Estudo da sua patologia geográfica no estado da Bahia, Brasil. *Rev. Saúde. Públ.*, São Paulo, v.18, p.429-35, 1984.

BAROCAS, D.A.; CHANG, S.S. Penile Cancer: Clinical Presentation, Diagnosis, and Staging. *Urol. Clin. North. Am.*, 37:343-352, 2010.

BARRASO, R.; De BRUX, J.; CROISSANT, O.; ORTH, G. High prevalence of papillomavirus associated penile intraepithelial neoplasia in sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *N. Engl. J. Med.*, v.317, p.916-23, 1987.

BEZERRA ALR, LOPES A, SANTIAGO GH, RIBEIRO KCB, LATORRE MRDO, VILLALL: Human Papillomavirus as a prognostic factor in carcinoma of the penis. *Cancer.*, v.91, p.2315-21, 2001.

BHANA, D.; KYALWAZI, S.K. Review of carcinoma of the penis at Mulago. *East.African.Med.J.*, v.49, p.996-1001, 1972.

BLEEKER MCG, HEIDEMAN AM, SNIJDERS PJF, HORENBLAS S, DILLNER J, MEIJER CJLM: Penile cancer: epidemiology, pathogenesis and prevention. *World J Urol.*, 27:141-150, 2009.

BRUMINI, R.; TORLONI, H.; HENSON, D.E.; GOTLIEB, S.L.D.; De SOUZA, J.M.P. Câncer no Brasil: dados histopatológicos 1976-1980. Rio de Janeiro. Ministério da Saúde, 1982.

CABALLERO C, BARRETO J, RIVEROS M, CUBILLA AL. Carcinoma epidermoide de glande peneano: parametrospatologicospredictores de metastasis ganglionar inguinal. *Patol.Spain.*, 24:1137–1141, 1991.

CATALONA, W.J. Role of lymphadenectomy in carcinoma of the penis. *Urol. Clin. North.Am.*, v.7, p.785-92, 1980.

CATALONA, W.J. Modified inguinal lymphadenectomy for carcinoma of the penis with preservation of saphenous veins: Technique and preliminary results. *J. urol.*, v.140, p.306-10, 1988.

CHAUX A, TAMBOLI P, AYALA A, SOARES F, RODRÍGEUZ I, BARRETO J, CUBILLA AL: Warty-Basalóide Carcinoma: Clinicopathological Features of a Distinctive Penile Neoplas. Report of 45 Cases. *Modern Pathology.*, v.23, p.896-904, 2010.

CRISPEN, PL; MYDLO, JH. Penile Intraepithelial Neoplasia and Others Premalignant Lesions of the Penis. *Urol. Clin. North. Am.*, 37:335-342, 2010.

CUBILLA AL, REUTER VE, GREGOIRE L, AYALA G, OCAMPOS S, LANCASTER WD. Basaloid squamous cell carcinoma: a distinctive HPV related penile neoplasm: a report of 20 cases. *Am. J. Surg. Patho.*, 22:751–761, 1998.

CUBILLA AL, VELAZQUES EF, REUTER VE, OLIVA E, MIHM MC JR, YOUNG RH. Warty (condylomatous) squamous cell carcinoma of the penis: a report of 11 cases and proposed classification of verruciform tumors penile tumors. *Am. Surg. Path.*, 24:505–512, 2000.

CUBILLA AL: The role of pathologic prognostic factors in squamous cell carcinoma of the penis. *World J Urol.*, 27:169–177, 2009.

DAGHER, R.; SEIZER, M.L.; LAPIDES, J. Carcinoma of the penis and the anti-circuncioncruzade. *J.Urol.*, v.110, p.79-80, 1973.

D`ANCONA, C.A.; BOTEAGA, N.J.; MORAES, C.; LAVOURA, N.S., Jr.; NETTO, N.R., Jr. Quality of life after partial penectomy for penile carcinoma. *Urology.*, v.50, p.593-96, 1997.

DEMETER, L.M.; STOLER, M.H.; BONNEZ, W.; COREY, L.; PAPPAS, P.; STRUSSENBERG, J.; REICHMAN, R.C. Penile intraepithelialneoplasia: Clinical presentation and an analysis of the physical state of human papillomavirus DNA. *The J. of Infect. Dis.*, v.168, p.38-46, 1993.

DODGE, O.G.; LINSELL, C.A. Carcinoma of the penis in Uganda and Kenya Africans.Cancer., v.16, p.1259-63, 1963.

FAVORITO LA, NARDI AC, RONALSA M, ZEQUI SC, SAMPAIO FJB, GLINA S: Epidemiologic Study on Penile cancer in Brazil. International Braz J Urol. 34(5):587-593, 2008.

FICARRA V, MARTIGNONI G, MAVEI N, CERRUTO MA, NOVARA G, CAVALLERI S. Predictive pathological factors of lymph node involvement in the squamous cell carcinoma of the penis. Int. Urol. Nephrol., 34:245–250, 2002.

FICARRA V, ZATTONI F, CUNISCO SC, GALETTI TP, LUCIANI L, FANDELLA A. Lymphatic and vascular embolizations are independent predictive variables of inguinal node involvement in patients with squamous cell carcinoma of the penis. Cancer., 103:2507–2516, 2005.

FICARRA V, NOVARRA G, BOSCOLO-BERTO R, ORTIBANI W, KATTAN MW: How accurate are present risk group assignment tools in penile cancer? World J Urol., v.27, p.155-160, 2009.

FONSECA, A.G.; PINTO, J.A.S.A.; MARQUES, M.C.; DROSDOSKY, F.S.; NETO, L.O.R.F. Estudo Epidemiológico do Câncer de Pênis no Estado do Pará, Brasil. Rev. Pan-Amaz.Saude., 1(2):85-90, 2010.

FOWLER, J.E., Jr. Sentinel lymph node biopsy for staging penile cancer.Urology., v.23, p.352-54, 1984.

FRALEY, E.E.; ZHANG, G.; MANIVEL, C.; NIEHANS, G.A.The role of ilioinguinal lymphadenectomy and significance of histological differentiation in treatment of carcinoma of the penis.J.Urol., v.142, p.1478-82, 1989.

FRISCH, M.; JORGENSEN, B.B.; FRIIS, S.; MELBYE, M. Syphilis and the risk of penis cancer.Sexually.Transmitted.Diseases., v.23, p.471-74, 1996.

GAJALAKSHMI, C.K.; SHANTA, V. Association between cervical and penile cancer in Madras,India. Acta.Oncol., v.32, p.617-20, 1993.

GERBER, G.S. Carcinoma in situ of the penis. J. urol., v.151, p.829-33, 1994.

GIL, A.O. Análise crítica da associação do papilomavírus humano (HPV) e da proteína p53 no câncer de pênis. São Paulo, 1998. 149p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

GREGOIRE L, CUBILLA AL, REUTER VE, HASS GP, LANCASTER W: Preferencial association of papillomavirus with high grade histologic variants of penile invasive squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.*, v.87, p.1705-1709, 1995.

GRIFFITHS, T.R.L.; MELLON, J.K. Human papillomavirus and urological tumors: I. Basic science and role in penile cancer. *BJU International.*, v.84, p.579-86, 1999.

GROSS, G; PISTER, H. Role of human papillomavirus in penile câncer. *Med. Microbiol. Imunol.*, 193(1):35-44, 2004.

GROSSMAN, H.B. Premalignant and carcinomas of the penis and scrotum. *Urol.Clin.North.Am.*, v.19, p.221-26, 1992.

GUIMARAES GC, LOPEZ A, CAMPOS RS, ZEQUI SDE C, LEAL ML, CARVALHO AL. Front pattern of invasion in squamous cell carcinoma of the penis: new prognostic factor for predicting risk of lymph node metastasis. *Urology.*, 68:148–153, 2006.

GUIMARAES G, WERNECK DA CUNHA I, SOARES F, LOPEZ A, TORRES JJ, CHAUX A, VELAZQUEZ EF, CUBILLA AL. (2007) WHO histological classification, regional metastasis and outcome in 375 surgically treated patients with penile SCC. *Mod Pathol.*, v.20, p.150a, 2007.

HELBERG, D.; NILSSON, S. Genital cancer among wives of men with penile cancer. A study between 1958 and 1982. *Brit. J. of Obstet.Gynecol.*, v.96, p.221-25, 1989.

HOLLY, E.A.; PALEFSKY, J.M. Factors related to risk of penile cancer: New evidence from a study in the pacific northwest. *J. Nat. Cancer. Inst.*, v.85, p.2-3, 1993.

HORENBLAS, S.; VAN TINTEREN, H.; DELAMARE, J.F.M.; BOON, T.A.; MOONEN, L.M.F.; LUTIG, V. Squamous cell carcinoma of the penis. II. Treatment of the primary tumor. *J. Urol.*, v.147, p.1533-38, 1992.

HORENBLAS, S.; VAN TINTEREN, H.; DELAMARE, J.F.M.; MOONEN, L.M.F.; LUSTIG, V.; VAN WAADENBURG, E.W. Squamous cell carcinoma of the penis. III. treatment of regional lymph nodes. *J. urol.*, v.149, p.492-97, 1993.

HORENBLAS, S.; VAN TINTEREN, H. Squamous cell carcinoma of the penis. IV. Prognostic factors of survival: analysis of tumor, nodes and metastasis, classification system. *J. Urol.*, v.151, p.1239-43, 1994.

HUBBEL, C.R.; RABIN, V.R.; MORA, R.G. Cancer of the skin in blacks: a review of 175 black patients with squamous cellcarcinoma of the penis. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.18, p.292-98, 1988.

HUGHES, B; LEIJTE, J; SHABIR, M; WATKIN, N; HORENBLAS, S. Non-invasive and minimally invasive staging of regional lymph nodes in penile câncer. *World. J. Urol.*, 27: 197-203, 2009.

JENSEN, M.S. Cancer of the penis in denmark 1942 to 1962 (511 cases). *Danish.Med. Bull.*, v.24, p.66-72, 1977.

KAYES, O; AHMED, HU; ARYA. M. Molecular and genetic pathways in penile cancer. *Lancet.Oncol.*, 8(5):420-29, 2007.

KIRRANDER P, KOLARIC A, HELLENIUS G, WINDHAL T, ANDRÉN O, STARK JR *ET AL.*: Human papillomavirus prevalence, distribution and correlation to histopathological parameters in a large Swedish cohort of men with penile carcinoma. *BJU International.*, v.108, p.355-59, 2010.

KOCHEN, M.; McCURDY, S. Circumcision and the risk of cancer of the penis: A life-table analysis. *Am. J. Dis. Child.*, v.134, p.484-6, 1980.

KROON, BK; VALDÉS OLMOS, RA; VAN TINTEREN, H; NIEWEG, OE; HORENBLAS, S. Reproducibility of lymphoscintigraphy for lymphatic mapping in patients with penile carcinoma. *J. Urol.*, 174(6):2214-2217, 2005.

KRUSTRUP D, JENSEN HL, VAN DEN BRULE AJC, FRISCH M: Histological characteristics of human papilloma-virus-positive and negative invasive and in situ squamous cell tumours of the penis. *Int J Exp Path.*, v.90, p.182-89, 2009.

KULKARNI, J.N.; KAMAT, M.R. Prophylactic bilateral groin node dissection versus prophylactic radiotherapy and surveillance in patients with No and N1-2acarcinoma of the penis. *Eur.Urol.*, v.26, p.123-8, 1994.

LYNCH, D.F., Jr.; SCHELLHAMMER, P.F. Tumors of the penis. In: WALSH, P.C.; RETICK, A.B.; VAUGHAN, E.D., Jr.; WEIN, A.J., ed. *Campbell`s Urology*. Pennsylvania, W.B. Saunders, 1998. p. 2453-85.

LONT AP, KROON BK, HORENBLAS S, GALLEE MPW, BERKHOF J, MEIJER CJLM, SNIJDERS PJF: Presence of high-risk human papillomavirus DNA in penile carcinoma predicts favorable outcome in survival. *Int J Cancer.*, 119:1078-1081, 2006.

LOPES, A.; ROSSI, B.M.; FONSECA, F.P.; MORINI, S. Unreliability of modified inguinal lymphadenectomy for clinical staging of penile cancer. *Cancer.*, v.77, p.2099-102, 1996.

LUCIA, M.S.; MILLER, G.J. Histopathology of malignant lesions of the penis. *Urol.Clin.North.Am.*, v.19, p.227-46, 1992.

MADEN, C.; SHERMAN, K.J.; BECKMANN, A.M.; HISLOP, T.G.; TEH, C.; ASHLEY, R.L.; DALING, J.R. History of circumcision, medical conditions and sexual activity and risk of penile cancer. *Journal of the National Cancer Institute.*, v.85, p.19-24, 1993.

MARTINEZ, I. Relationship of squamous cell carcinoma of the cervix uterina to squamous cell carcinoma of the penis. *Cancer.*, v.24, p.777-80, 1969.

MELMED, E.P.; PYNE, J.R. Carcinoma of the penis in a jewcircumcised in infancy. *Brit. J. Surg.*, v.54, p.729-31, 1967.

MCDOUGAL, W.S. Carcinoma of the penis:Improved survival by early regional lymphadenectomy based on histological grade and dept of invasion of the primary lesion. *J. Urol.*, v.154, p.1364-66, 1995.

MICALI, G.; INNOCENZI, D.; NASCA, M.R.; MUSUMECI, M.L.; FERRARI, F.; GRACO, M. Squamous cell carcinoma of the penis. *J. Am. Academ. Dermatol.*, v.35, p.432-51, 1996.

MIRALLES-GURI C, BRUNI L, CUBILLA AL, CASTELLSAGUÉ X, BOSCH FX, SANJOSÉ SDE: Human papillomavirus prevalence and type distribution in penile carcinoma. *J ClinPathol.*, v.62, p.870-78, 2009.

MUNEER, A; KAYES, O; AHMED, HU; ARYA, M; MINHAS, S. Molecular Prognostic Factors in Penile Cancer. *World. J. Urol.*, 27:161–167, 2009.

NARAYANA, A.S.; OLNEY, L.E.; LOENING, S.A.; WEIMAR, G.W.; CULP, D.A. Carcinoma of the penis. Analysis of 219 cases. *Cancer.*, v.49, p.2185-91, 1982.

NATH, S.; DESAIG, G.; MUNKONGE, L. Carcinoma of the penis in Zambia: Associated problems in management. *Centra. African. J. of Medicine.*, v.38, p.108-11, 1992.

NOVARA, G; ARTIBANI, W; CUNICO, SC. How accurately do Solsona and European Association of Urology risk groups predict for risk of lymph node metástases in patients with squamous cell carcinoma of the penis? *Urology.*, 71:328-333, 2008.

OBALEK, S; JABLONSKA, S; BEAUDENON, S. Bowenoidpapulosis of the male and female genitalia: Risk of cervical neoplasia. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 14(3):433-444, 1986.

ONUIGBO, W.I.B. Carcinoma of skin of penis. *Brit. J. Urol.*, v.57, p.465-66, 1995.

OPJORDSMOEN, S.; FOSSA, S.D. Quality of life in patients treated for penile cancer. A follow-up study. *Brit. J. Urol.*, v.74, p.652-57, 1994.

PAYMASTER, J.C.; GANGADHARAN, P. Cancer of the penis in India. *J.Urol.*, v.97, p.110-13, 1967.

PERSKY, L.E. Epidemiology of cancer of the penis: II Penis carcinoma. *Recent. Results. Cancer. Res.*, v.60, p.97-109, 1977.

POMPEO, A.C.L. Linfadenectomia inguinal estadiada em câncer do pênis. Avaliação prospectiva de 50 pacientes. São Paulo, 1993. 124p. Tese(Livre Docência) – Faculdade de medicina. Universidade de São Paulo.

POMPEO, A.C.L.; BILLIS, A. Carcinoma epidermóide do pênis. *International. Braz. J. Urol.*, 27:44-50,2003.

RAJU, G.C.; NARAYNSINGH, V.; VENUS, P.S. Carcinoma of the penis in west Indies: A Trindade study. *Trop. Geogr. Med.*, v.37, p.334-36, 1985.

REDDY, C.R.R.M.; RAGHAVIAH, N.V.; MOULI, K.C. Prevalence of carcinoma of the penis with special reference to India. *Internat.Surg.*, v.60, p.474-76, 1975.

REDDY, C.R.R.M.; DEVENDRANATH, V.; PRATAP, S. Carcinoma of penis. Role of phimosis. *Urology.*, v.24, p.85-88, 1984.

RIVEROS, M.; LEBRÓN, R.F. Geographical pathology of cancer of the penis. *Cancer.*, v.16, p.798-11, 1963.

ROGAN, W.J.; MILNE, K.L. Correlation between cancers of the cervix and penis. *J. Natl. Cancer. Inst.*, v.77, p.427-28, 1983.

RUBIN MA, KLETER B, ZHOU M, AYALA G, CUBILLA AL, QUINT WGV, PIROG EC: Detection and Typing of Human Papillomavirus DNA in Penile Carcinoma: Evidence for Multiple Independent Pathways of Penile Carcinogenesis. *AJP.*, v.159, p.1211-18, 2001.

SANDERMAN, T.F. Carcinoma penis. *Australas. Radiol.*, v.34, p.12-16, 1990.

SCHEINER MA, CAMPOS MM, ORNELLAS AA, CHIN EW, ORNELLAS MH, ANDRADA-SERPA MJ: Human Papillomavirus and Penile Cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV Typing and Clinical Features. *International Braz J Urol.*, v.34, p.467-76, 2008.

SIMON, R; SAUTER, G. Tissue Mycroarray (TMA): applications for molecular medicine. *Expert. Rev. Mol. Med.*, 5(26):1-12, 2003.

SKINNER, D.G.; LEADBETTER, W.F.; KELLEY, S.B. The surgical management of squamous cell carcinoma of the penis. *J. Urol.*, v.107, p.273-77, 1972.

SLATON JW, MORGENSTERN N, LEVY DA, SANTOS MW JR, TAMBOLI P, RO JY. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: independent prognosticators for inguinal node metastasis in penile squamous cancer. *J. Urol.*, 165:1138–1142, 2002.

SMITH, P.G.; KINLEN, L.J.; WHITE, G.G.; ADELSTEIN, A.M.; FOX, A.J. Carcinoma of the penis and cervix. *Lancet.*, v.ii, p.417, 1980.

SOBIN, LH; GOSPODAROWICZ, MK; WITTEKIND, C. International Union Against Cancer (UICC). Penis. TNM classification of malignant tumors. 7th edition. Chichester, West Sussex (UK): Wiley-Blackwell, p.239, 2009.

SOBIN, L.H; WITTEKIND, C. Union Internationale contre le cancer: TNM Classification of malignant tumors, 5ed. Washington D.C, Willey-Liss, Inc., p.175-77, 1997.

SOLSONA, E.; ALGABA, F.; HORENBLAS, S. EAU guidelines on penile câncer. *Eur. Urol.*, 46:1-48, 2004.

SRINIVAS, V.; MORSE, M.J.; HERR, H.W.; SOGANI, P.C.; WHITMORE, W.F., Jr. Penile cancer: Relation of extent of nodal metastasis to survival. *J. Urol.*, v.137, p.880-881, 1987.

SROUGI, M.; SIMON, S.D. Câncer do pênis. In: SROUGI, M.; SIMON, S.D., ed. Câncer urológico. São Paulo, Platina, 1990, p.361-7.

STEWART, SB; LEDER, RA; INMAN, BA. Imaging Tumors of the Penis and Urethra. *Urol. Clin. North. Am.*, 37:353-367, 2010.

THOMAS, J.A.; SMALL, C.S. Carcinoma of the penis in southern India. *J. Urol.*, v.100, p.520-26, 1968.

TORNESELLO, M.L.; BUONAGURO, F.M.; BETH-GIRALDO, E.; KYALWAZI, S.K.; GIRALDO, G. Human papillomavirus (HPV) DNA in penile carcinomas and two cell lines from high-incidence areas for genital cancers in Africa. *Int. J. Cancer.*, v.51, p.587-92, 1992.

VAPNEK, J.M.; HRICAK, H.; CARROL, P.R. Recent advances in imaging studies for staging of penile and urethral carcinoma. *Urol. Clin of North. Am.*, v.19, p.257-66, 1992.

VELAZQUEZ EF, MELAMED J, BARRETO JE, AGUERO F, CUBILLA AL. Sarcomatoid carcinoma of the penis. A clinico-pathological study of 14 cases. *Am. J. Surg. Pathol.*, 29:1152–1158, 2005.

VELAZQUEZ, EF; AYALA, G; LIU, H. Histologic grade and perineural invasion are more important than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. *Am. J. Surg. Pathol.*, 32:974-80, 2008.

YAMASHITA, T.; OGAWA, A. Ultrasound in penile cancer. *Urol. Radiol.*, v.11, p.174-6, 1989.

WATTLEWORTH R. Human Papillomavirus infection and the links to penile and cervical cancer. *J AmOsteopath Assoc.*, v.111, p.s3-s10, 2011.

ANEXO I

CARTA DE ACEITE PARA PUBLICAÇÃO

International Braz J Urol

Official Journal of the Brazilian Society of Urology

Address: Rua Bambina, 153 - Rio de Janeiro - Brazil - 22251-050
 Tel.: + 55 21 2539-6787; Fax: + 55 21 2246-4088
 E-mail: brazjurol@brazjurol.com.br; Website: www.brazjurol.com.br

Date: May 27, 2013

To:

Dr. Aluizio Gonçalves da Fonseca

Avenida Conselheiro Furtado 1625, apto 401, Nazaré,

Belém, Pará, 66040-100

FAX: (91)3223-3878

E-mail: Aluiziodafonseca@uol.com.br

Ref.: IBJU-959-12-Papilloma vírus humano: Prevalência, distribuição e importância como fator preditivo para metástases linfonodais em carcinoma do pênis.

Dear Doctor **Fonseca**,

Your above-mentioned manuscript has been accepted for publication in the International Braz J Urol. In accordance with the policy of other journals, minor deletions and alterations, consistent with good reporting will be made in the interest of brevity. Thank you very much for submitting your work to the International Braz J Urol. We hope that you will continue to do so.

Sincerely, **Sidney Glina, MD, PhD**

Editor, International Braz J Urol

www.brazjurol.com.br

editor@brazjurol.com.br

Sidney Glina
 Editor-in-Chief
 ABC Medical School and
 Ipiranga Hospital, SP, Brazil

Fernando Kim
 Editor Internacional
 University of Colorado, Denver, CO, USA

Luciano A. Favorito
 Associate Editor
 State Univ of Rio de Janeiro
 Rio de Janeiro, Brazil

Paulo Monti
 Associate Editor
 Federal University of Triângulo Mineiro,
 MG, Brazil

Sandro Esteves
 Associate Editor
 Androfert, SP, Brazil
