



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



**ANÁLISE DE FATORES PROGNÓSTICOS E EXPRESSÃO
IMUNO-HISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA KI67 DE
PACIENTES COM CÂNCER DE PÊNIS QUE FORAM
SUBMETIDOS A LINFADENECTOMIA REGIONAL NO
ESTADO DO MARANHÃO**

ATHIENNE DRIELE MANIVA TEIXEIRA DO NASCIMENTO

São Luís

2018

ATHIENNE DRIELE MANIVA TEIXEIRA DO NASCIMENTO

**ANÁLISE DE FATORES PROGNÓSTICOS E EXPRESSÃO
IMUNO-HISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA KI67 DE
PACIENTES COM CÂNCER DE PÊNIS QUE FORAM
SUBMETIDOS A LINFADENECTOMIA REGIONAL NO
ESTADO DO MARANHÃO**

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

Área de Concentração: Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.

Orientador: Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva.

São Luís

2018

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

Maniva Teixeira do Nascimento, Athienne Driele.
ANÁLISE DE FATORES PROGNÓSTICOS E EXPRESSÃO IMUNO-
HISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA KI67 DE PACIENTES COM CÂNCER DE
PÊNIS QUE FORAM SUBMETIDOS A LINFADENECTOMIA REGIONAL NO
ESTADO DO MARANHÃO / Athienne Driele Maniva Teixeira do
Nascimento. - 2018.

85 f.

Orientador(a): Gyl Eanes Barros Silva.
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís -Ma, 2018.

1. Câncer de pênis. 2. Linfadenectomia. 3.
Metástase. 4. Preditor. I. Barros Silva, Gyl Eanes. II.
Título.

ATHIENNE DRIELE MANIVA TEIXEIRA DO NASCIMENTO

**ANÁLISE DE FATORES PROGNÓSTICOS E EXPRESSÃO
IMUNO-HISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA KI67 DE
PACIENTES COM CÂNCER DE PÊNIS QUE FORAM
SUBMETIDOS A LINFADENECTOMIA REGIONAL NO
ESTADO DO MARANHÃO**

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

A Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado apresentada em sessão pública, considerou a candidata aprovada em: ____/____/____.

Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão – PPGSAD

Prof(a) Dra. Jaqueline Diniz Pinho (Examinadora)
Universidade Federal do Pará – UFPA

Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão – PPGSAD

Prof(a) Dr(a). Maria do Desterro S. B. Nascimento(Examinadora)
Universidade Federal do Maranhão – PPGSAD

Aos meus filhos Bernado e Isabela.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar a oportunidade de realizar esse sonho e a cada madrugada que ele me mateve acordada com saúde e vigor para esta concretização.

Ao meu esposo que me apoiou em todas as horas.

A minha mãe Celeste e tia Marinangela que assumiram o cuidado dos meus filhos em muitos momentos que estive ausente e a todos da família que contribuíram direta e indiretamente.

Ao programa de Pós – Graduação em Saúde do Adulto e da Criança – PPGSAC – UFMA, e a todos do corpo Docente e aos funcionários.

A FAPEMA, pelo apoio e recurso para a realização e concretização da pesquisa.

Aos amigos que construí durante toda a caminhada.

Aos técnicos do laboratório do LIME, pelas preciosas instruções.

A toda a equipe do HUPD e IMOAB pelo apoio e disponibilização do material para pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gyl Eanes.

A equipe executora do projeto de Câncer de Pênis no Estado do Maranhão.

A Dra Jaqueline Pinho, grande amiga, que foi minha companheira de jugo me dando apoio durante todo o período do mestrado.

Aos amigos Augusto, Raiane, Nádia e Victor, pela contribuição na pesquisa.

*As pequenas oportunidades são,
frequentemente , o início de grandes
empreendimentos
(Demóstenes)*

RESUMO

O câncer de pênis é um problema de saúde pública no estado do Maranhão e possui a maior incidência já registrada na literatura. A presença de metástase linfonodal é o principal fator prognóstico associado a sobrevida. O grande desafio dos sistemas de saúde em relação ao câncer de pênis é a identificação de fatores que podem gerar impacto no prognóstico dos pacientes e a descoberta de biomarcadores que possam contribuir no tratamento do paciente e principalmente em relação a indicação das linfadenectomias, pois não existem marcadores para indicar a presença de metástase linfonodal. O objetivo do estudo foi analisar fatores prognósticos e a expressão imuno-histoquímica da proteína Ki67 em pacientes com câncer de pênis que foram submetidos a linfadenectomia regional no Estado do Maranhão no período de janeiro 2009 a setembro de 2017. Procedeu-se a revisão de prontuários e entrevistas com os pacientes que foram diagnosticados com a doença e revisão periódica do prontuário eletrônico para acompanhamento do status do paciente. Foram analisados 55 casos com média de idade de 55,4 anos, a média de tempo entre o início dos sintomas e o início do tratamento foi de 24,4 meses. A presença de invasão angiolinfática ($p=0.029$) e a ausência de coilocitose ($p=0.001$) foram fatores preditores para metástase linfonodal. Os pacientes que foram submetidos a linfadenectomia profilática apresentaram uma sobrevida livre de doença maior em 5,5 meses quando comparados com os pacientes que realizaram o procedimento tardiamente.

Palavras Chaves: Câncer de pênis; Linfadenectomia; Biomarcador ki67; Metástase; Sobrevida.

ABSTRACT

Penile cancer is a public health issue in the state of Maranhão and has the highest incidence ever documented in literature. The presence of lymph node metastasis is the main prognostic factor associated with survival. Health systems' major challenge concerning penile cancer is the identification of factors that may impact the prognosis of patients and the discovery of biomarkers capable of contributing to the treatment of these patients, especially regarding the indication for lymphadenectomy since there are no markers to identify the presence of lymph node metastasis. The aim of this study was to analyze prognostic factors and the immunohistochemical expression of Ki67 protein in penile cancer patients who underwent regional lymphadenectomy in the state of Maranhão between January 2009 and September 2017. We reviewed medical records, interviewed patients who were diagnosed with the disease and established a periodic review of the electronic medical record to follow-up of the patient's status. Fifty-five cases were analyzed with an average age of 55.4 years being the average time between the onset of symptoms and the onset of treatment of 24.4 months. The presence of angiolymphatic invasion ($p=0.029$) and the absence of koilocytosis ($p=0.001$) were predictive factors for lymph node metastasis. Patients who underwent prophylactic lymphadenectomy presented a 5.5 months longer disease-free survival when compared to patients who underwent the procedure belatedly.

Keywords: Penile cancer; Lymphadenectomy; Biomarcador ki67; Metastasis; Survival.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Sistema TMN (2010 – proposto pela UICC/AJCC para estadiamento do câncer de pênis.....	22
Figura 1 – Paciente com CaPe.....	23
Figura 2 – Principais complicações relacionadas a linfadenectomia inguinal.....	24
Tabela 1 – Características epidemiológicas e fatores de risco dos pacientes com CaPe que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro de 2009 a setembro de 2017 no Estado do Maranhão.....	33
Tabela 2 – Características histológicas, recidiva e tipo de cirurgia dos pacientes com CaPe que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro 2009 a setembro 2017 no Estado do Maranhão.....	35
Tabela 3 – Características clínicas dos pacientes e das linfadenectomias dos pacientes com CaPe que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro 2009 a setembro de 2017 no Estado do Maranhão.....	36
Tabela 4 – Associações entre variáveis clínicas e histológicas com a presença ou ausência de metástase linfonodal	36
Tabela 5 – Regressão logística entre metástase linfonodal (variável dependente) e variáveis histológicas.....	37
Figura 3 – Gráfico de sobrevida livre de doença dos pacientes que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro de 2009 a setembro de 2017.....	38
Fugura 4 - Expressão imuno-histoquímica positiva do ki67.....	38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AJCC – American Joint Committee on Cancer

CaPe- Câncer de Pênis

CCE – Carcinoma de Células Escamosas

CEP – HUUFMA – Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário

HPV – Human Papillomavirus (Papilomavírus Humano)

HUPD – Hospital Universitário Presidente Dutra

IMOAB – Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Belo

INCA- Instituto Nacional do Câncer

Ki67 – Índice de proliferação celular

LIME/ HUPD – Laboratório de Imunoflorescência e Microscopia Eletrônica do Hospital
Universitário Presidente Dutra

OMS – Organização Mundial de Saúde

SBU – Sociedade Brasileira de Urologia

TCLE – Termo de Compromisso Livre e Esclarecido

TMN - Tumor primário (T); Linfonodos regionais (N); Metástases distantes(M)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Câncer de pênis	15
2.1.1 Epidemiologia do câncer de pênis	15
2.1.2 Etiologia e fatores de risco	15
2.1.3 Idade	15
2.1.4 HPV	16
2.1.5 Fimose	16
2.1.6 Baixo padrão sócio-econômico e hábitos de higiene.....	17
2.1.7 Tabagismo	17
2.1.8 Lesões associadas (dermatose em região genital, líquen escleroso ou atrófico)	17
2.1.9 Comportamentos de risco: Multiplicidade de parceiros sexuais e a prática de zoofilia.....	17
2.1.10 Características clínicas	18
2.1.11 Histologia e morfologia.....	19
2.1.12 Padrão de crescimento subtipos e morfologia.....	19
2.1.13 Subtipos e morfologia.....	19
2.1.14 Tamanho da lesão	20
2.1.15 Grau histológico	20
2.1.16 Infiltração.....	21
2.1.17 Estadiamento	21
2.1.18 Tratamento.....	22
2.1.19 Linfadenectomia	23
2.1.20 Fatores prognósticos	25
2.1.21 Uso do Ki67 como biomarcador para câncer de pênis	25
3 OBJETIVO	27
3.1 Geral	27
3.2 Específicos	27
4 METODOLOGIA	28
4.1 Tipo de estudo	28
4.2 Período e local do estudo	28

4.3 Amostragem do estudo	28
4.4 Determinação das variáveis	28
4.5 Critérios de inclusão	29
4.6 Critérios de não exclusão	29
4.7 Critérios de exclusão	29
4.8 Etapas do estudo	29
4.8.1 Revisão dos prontuários e lâminas	29
4.8.2 Realização de imunohistoquímica	30
4.8.3 Técnica de imunoistoquímica	30
4.8.4 Quantificação.....	31
4.8.5 Identificação histológica do HPV.....	31
4.10 Análise estatística	32
4.11 Aspectos éticos	32
5 RESULTADOS	33
6 DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÃO	43
8 LIMITAÇÕES	44
9 REFERÊNCIAS	45
10 ANEXO	54
11 APÊNDICE	62
12 ARTIGO CIENTÍFICO	67
12.1 Nome do periódico e classificação.....	67
12.2 Normas editoriais da revista.....	67
12.3 Artigo.....	68

1 INTRODUÇÃO

O Câncer de Pênis (CaPe) é uma neoplasia rara em países desenvolvidos. No entanto, sua incidência é mais elevada em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, como o Brasil, em especial nas regiões Norte e Nordeste (BRASIL, 2003, SOUZA et al., 2011). Acredita-se que esta neoplasia pode superar os casos de câncer de próstata e de bexiga (; REIS et al., 2010; FONSECA et al 2010; FONTES et al., 2011).

No país este tipo de tumor representa 2% de todos os casos de câncer em homens situados entre a 5^o e a 6^o década de vida e com baixas condições sócio-econômicas (SBU, 2010; FONSECA et al., 2010; SOUSA et al., 2011; KORKES et al., 2012; SILVA et al., 2012). O Maranhão é o estado que possui o maior número de casos de CaPe no mundo e no Brasil apresenta uma incidência anual de 1,18 a cada 100.000 habitantes (COELHO et al., 2018).

A avaliação clínica do paciente é primordial no diagnóstico do CaPe, são associados a essa análise exames de imagem e o histopatológico da lesão, sendo que o Carcinoma de Células Escamosas (CCE) representa 95% de todos os tipos histológicos, sendo portanto o mais representativo (ORNELLAS E BROWN, 2004; MICALI, et al., 2006; VELAZQUEZ e CUBILLA, 2007; CARVALHO et al, 2007).

Quando o tratamento é definido mediante o diagnóstico, a abordagem cirúrgica é realizada rotineiramente para tratar a lesão primária, entretanto outras condutas também podem ser tomadas, a saber, terapia de radiação superficial, quimioterapia, radioterapia e cirurgia a laser. Os pacientes que manifestam metástase inguinal, são submetidos a linfadenectomia (DE PAULA et al., 2005, GREENBERG, 2010). A linfadenectomia consiste em uma cirurgia onde ocorre a ressecção dos linfonodos, podendo ser realizadas em dois momentos, de modo preventivo ou para tratamento (MILATHIANAKIS, 2005).

Muitos pacientes que não possuem linfonodos palpáveis, tem sido submetidos a linfadenectomia, uma vez que, os mesmos podem apresentar micrometástases inguinais e/ou apresentar comprometimentos de linfonodos pélvicos (SOUSA el al., 2014). Logo, este tipo de procedimento tem sido frequentemente realizado de forma profilática, apesar de ser associado a alta morbidade dos pacientes (DE PAULA et al., 2005; BATISTA et al., 2014; REIS et al., 2010). Em estados como o Maranhão, tal conduta se justifica pelo fato de muitos pacientes abandonarem o tratamento, por se tratar de uma região subdesenvolvida, onde os

pacientes apresentam baixo nível de instrução e condições sócio-econômicas (NUNES et al, 2003; BARROS, 2009; PAIVA,2010).

O comprometimento linfonodal é um importante fator prognóstico onde a descoberta da positividade linfonodal para metastase tem desafiado os estudos que envolvem o tumor peniano. Devido a isto, faz-se necessário também nesse manejo de condutas a identificação de fatores prognósticos associados a utilização biomarcadores que visem auxiliar no diagnóstico e prognóstico do câncer de pênis, assim como auxiliem na identificação daqueles pacientes que realmente precisam ser submetidos à linfadenectomia, pois a avaliação para comprometimento linfonodal não pode ser feita de forma confiável apenas pelo exame clínico ou de imagens (LOPES et al., 1996b).

Diversos estudos tem buscado avaliar a empregabilidade de biomarcadores e sua relação com fatores prognósticos em diferentes tipos de neoplasias, a expressão do Ki67 (índice de proliferação celular), tem sido relatada de maneira satisfatória quando estudadas lesões intra-epiteliais escamosas cervicais, e as taxas de expressão do Ki67 associadas a gravidade das lesões cervicais (KANTHIYA et al., 2016).

Entretanto, existe uma escassez de trabalhos que validem a utilização de biomarcadores, a saber, o ki67 e sua utilização no CaPe, e ainda mais que possibilitem de uma maneira simples, rápida e menos onerosa a sua análise da forma como o ki67 proporciona. Para isso, se faz necessário novos estudos que auxiliem na elucidação de tantas lacunas ainda existentes no manejo e prognóstico dos pacientes com CaPe.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Câncer de pênis

2.1.1 Epidemiologia do câncer de pênis

Existe uma discrepante diferença mundial em relação a distribuição do CaPe. Nos Estados Unidos ele acomete 1/100000 (BRAY et al., 2010; ARYA et al., 2013). No Reino Unido representa 0,6/ 100.000 das neoplasias em homens (RITCHIE et al., 2004). No entanto, em alguns países da Ásia, África e América do Sul sua incidência é maior, podendo representar até 20% das neoplasias malignas em homens (BAROCAS e CHANG, 2010; CHRISTOULIDOU et al., 2015).

No Brasil, em pesquisa realizada pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) em 2008, afirma que no período de dezembro de 2006 a novembro de 2007, foram realizadas 407 penectomias no Brasil. A região Nordeste apresentou o maior número de casos, perfazendo um total de 163 cirurgias. Em seguida, a região Sudeste 132, Sul 62, Norte 38, e Centro Oeste 12 cirurgias. No Nordeste esse quantitativo representa 40% dos procedimentos no período (BARROS e MELLO 2009). O Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) destaca que no ano de 2013 o CaPe levou a óbito no Brasil 396 homens.

2.1.2 Etiologia e fatores de risco

Existem ainda incertezas em relação a etiologia do CaPe (CUBILLA et al. 2004). Entre as características comuns que a literatura descreve que podem influenciar no risco do surgimento do câncer de pênis estão a idade, infecção pelo HPV, fimose, baixo padrão sócio econômico, hábitos de higiene e o tabagismo. Tem-se como comportamentos de risco a prática de zoofilia e múltiplos parceiros sexuais. (PAULA et al., 2005; INCA, 2008; FAVORITO et al. 2008; WROCLAWSKI e SERPA NETO 2010, AUSTIN, 2010; REIS et al, 2010; ZEQUI et al. 2012).

2.1.3 Idade

A idade média do diagnóstico é de 68 anos e cerca de 80% dos casos da doença são diagnosticados em homens com mais de 55 anos, embora possa atingir também os mais

jovens (REIS et al., 2008; FONSECA et al., 2010). Segundo Paiva et al.,(2010) descrevem ainda a ocorrência de CaPe em indivíduos abaixo de 40 anos e com achados clínicos e histológicos mais agressivos.

2.1.4 HPV

A presença da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) é observada em associação com o CaPe em muitas séries, esses estudos foram primordiais para a compreensão da patogênese do CaPe. Em um estudo de 43 pacientes com objetivo de avaliar o genótipos do HPV no CaPe em diferentes lesões penianas detectou-se o HPV em hiperplasia escamosa (12 lesões, 10 pacientes) condilomatosa (26 lesões, 7 pacientes), e carcinomas invasivos de células escamosas (26 lesões, 26 pacientes), (POW- SANG et al., 2002; NESTOSA et al., 2017).

O HPV possui um mecanismo de transformação neoplásica mediado por dois genes E6 e E7 os quais codificam oncoproteínas que respectivamente se ligam proteínas de supressão tumoral, p53 e pRb, proporcionando uma desordem no crescimento celular (GANGULY e PARIHAR 2009).

Além desse mecanismo de indução, existem genótipos de alto risco para o desenvolvimento de câncer, entre eles os subtipos 16 e 18, e também são associados a doença, predispondo esses indivíduos a um maior risco de desenvolvimento do tumor (MCCANCE et al., 1986; SCHEINER et al., 2008). Uma pesquisa recente sobre a prevalência do câncer atribuível ao HPV identifica os subtipos 16 e 18 como genótipos de alto risco para outros tipos de câncer (DE MARTEL, 2017).

2.1.5 Fimose

A fimose é algo que dificulta a avaliação da glândula e prejudica o autocuidado, se constituindo um fator de risco para o CaPe, segundo a literatura a fimose pode ser encontrada em um percentual de 25 a 75% dos pacientes diagnosticados (MADEN et al., 1993).

Segundo Morris e Krieger (2017), a circuncisão de homens no início da vida diminui de forma substancial a ocorrência e o risco de doenças inflamatórias do pênis. Apesar disso, no Sistema Único de Saúde do Brasil, a circuncisão é realizada prioritariamente para o tratamento de doenças e muito pouco aplicada de forma profilática (KORKES et al., 2012).

Em populações onde homens não circuncidados apresentam hábitos de boa higiene, percebe-se que a incidência do diagnóstico de câncer de pênis é bem próxima a de homens circuncidados (POW SANG et al., 2002).

2.1.6 Baixo padrão socio-econômico e hábitos de higiene

Em geral, nas análises epidemiológicas de casos de CaPe os estudos apontam para uma estreita relação existente entre os portadores da neoplasia e o baixo nível sócio-econômico e cultural dos pacientes, demonstrando assim que homens que possuem um baixo nível de instrução e classe social são os mais afetados (FONSECA et al., 2010; REIS et al., 2010).

2.1.7 Tabagismo

Estudos descrevem que os fumantes estão entre os que possuem risco para desenvolver câncer e que os produtos derivados do tabaco podem influenciar na etiologia da doença (NOLASCO, 1995, HARISH e RAVI, 1995).

No CaPe, o risco para um homem tabagista desenvolver a doença é influenciado diretamente pela quantidade de cigarros consumidos (POW – SANG et al., 2010).

2.1.8 Lesões associadas (dermatose em região genital, líquen escleroso ou atrófico)

O líquen escleroso, a dermatose inflamatória crônica, e a balanite xerótica obliterativa (líquen escleroatrófico) são dermatoses que quando limitadas ao prepúcio e a glândula são associadas ao CaPe, porém, histologicamente são lesões benignas (KOIFFMAN et al., 2013).

2.1.9 Comportamento de risco (Multiplicidade de parceiros sexuais e a prática de zoofilia)

Alguns estudos apontam o número de parceiros sexuais como um importante fator de risco para o câncer de pênis uma vez que expõe o paciente a infecção pelo HPV (MADEN et al., 1993). O vírus demonstra uma associação com o CaPe que pode variar entre 30,3 a 63% dos casos, isso sugere também que outros fatores podem estar envolvidos, incluindo uma

anamnese que remete um antecedente de repetidas escoriações penianas (WIENER et al., 1992; CARVALHO et al., 2007; DILNEER et al., 2000).

Em um estudo de caso controle realizado no período de 2009 a 2010, com o objetivo de avaliar características da prática de zoofilia e sua relação com o CaPe, observou-se que 34% dos entrevistados tiveram contato íntimo com animais em algum momento da vida (ZEQUI et al., 2012).

2.1.10 Características clínicas

Oitenta por cento dos tumores penianos são originados na glândula e crescem lentamente, as lesões podem se apresentar escondidas pelo prepúcio de pacientes que possuem fimose. Quando essas lesões não são tratadas podem se estender para o prepúcio em 15%, 5% delas atingem o sulco coronal, os corpos cavernosos, acompanhados de invasão linfonodal e o tecido esponjoso, raramente a uretra é acometida, ocorrendo apenas em fases avançadas, podendo até mesmo chegar a auto-amputação. As metástases para os linfonodos inguinais e ilíacos são a via de disseminação do CaPe (LOPES et al., 1994; MICALI et al., 2006, POMPEO e GIL., 2013).

Na entrevista com o profissional da saúde a queixa principal do paciente é de dor ou refere ainda uma ferida que não sara (NUNES et al., 2003; HEYNS et al., 2010). Barocas e Chang (2010), descrevem os tipos de lesões mais comuns, em 47% dos casos ela é representada por uma massa que pode ser fixa ou nodular, 35% apresentam lesão ulcerada ou ferida, e 17% são lesões inflamatórias (CUBILLA et al., 2004; POMPEO et al., 2006). Os pacientes também podem apresentar massas tumorais em regiões inguinais, podendo ser oriundas de inflamação local e/ou infecção, e até mesmo em decorrência da metástase para os nódulos linfáticos. Wanick et al., (2011) classifica as lesões do CaPe em nodulares, vegetativas e ulcerativas.

A secreção com odor estranho, disúria e sangramento são também sintomas que podem estar associados, apesar de se apresentarem com uma frequência menor. Em casos mais extremos, observa-se dificuldade de deambulação, fadiga, anorexia, chegando até a dor óssea (GUIMARÃES et al., 2011). Vale ressaltar que existem aqueles que apresentam lesões ulceradas em região inguinal, que é uma evidência de metástase, o tumor infiltra feixes vasculo-nervoso podendo ocorrer hemorragia e infecção levando o paciente a óbito (POMPEU, 1993).

2.1.11 Histologia e morfologia

O Carcinoma Epidermóide (CE) também é classificado pela literatura de escamoso ou espinocelular e possui tendência infiltrativa e ulcerada (MICALI et al., 2006; REIS et al., 2010). O pênis pode ser acometido de outras neoplasias, devido a metástases oriundas de tumores de outros órgãos, como o Sarcoma de Kaposi, linfoma e o melanoma (CULKIN e BEER, 2003; CUBILLA et al., 2004; RIPPENTROP et al., 2004).

2.1.12 Padrão de crescimento subtipos e morfologia

De acordo com a SBU (2012), existem basicamente quatro padrões morfológicos de crescimento e de evolução do CaPe:

I. Crescimento horizontal - superficial: composto por tumores planos correspondem a 1/3 dos casos e são de padrão epidermóide pouco invasivo, podem se estender à glândula ou ao sulco coronal.

II. Crescimento vertical: invadem o corpo cavernoso e esponjoso, possuem alto risco de metástase para linfonodos e apresentam lesão ulcerada e com crescimento sólido.

III. Verrucoso: apresenta crescimento lento e compreende 20% a 30% dos tumores de pênis, possui baixo índice de metástases, e característica exofítica de crescimento.

IV. Multicêntrico: são tumores raros, comuns no prepúcio e podem se encontrar associados ao líquen escleroso. Costumam recidivar localmente após ressecção da lesão primária, porém, com baixo índice de metástases definido como duas ou mais lesões separadas por tecido benigno.

2.1.13 Subtipos e morfologia

Segundo Cubilla et al., (1998), os carcinomas de subtipo condilomatoso representam 20% das lesões que possuem aspecto de verruga, possuem crescimento lento e são associados ao HPV, possui como achado comum a coilocitose. Lesionam glândula, sulco coronal bem como o prepúcio e acometem homens na quinta década de vida.

Os papilares raramente fazem metástase para linfonodos, homens entre a quinta e sexta década de vida são os mais acometidos, o tumor não é associado ao HPV, é hiperqueratótico e

crece em arranjos papilares. Um outro subtipo de tumor sendo que este é considerado agressivo é o basalóide, é associado a presença de HPV e tem uma representatividade entre cinco a dez por cento dos tumores, possui caráter mais infiltrativo, suas células possuem pouca atividade mitótica, evoluem com tendência a metástase linfonodal, além de alta taxa de mortalidade (CUBILLA et al., 2009).

O subtipo sarcomatóide surgem em recidivas de CEC, ou em casos de pacientes que já fizeram tratamento radioterápico. Recebe essa denominação porque histologicamente suas células aparentam um sarcoma, são fusocelulares e apresentam alta taxa de metástase para linfonodos e prognóstico incerto. Existe também os padrões considerados mistos, em média ¼ dos casos revelam mais de um tipo de padrão (CUBILLA et al., 2009; CUBILLA 2001; CHAUX et al., 2010b; AXCRONA et al., 2010).

2.1.14 Tamanho da lesão

Segundo Wanick et al., (2011) as lesões do CaPe podem ser ulcerativas, vegetativas e nodulares. Para isso, se realiza análise do tamanho da lesão, elas podem ser agrupadas em intervalos de $\leq 0,5$ cm; 0,5 – 2,0cm; 2,1 - 5,0cm e $\geq 5,1$ cm.

2.1.15 Grau histológico

De acordo com o Royal College of Pathologists (2006), a graduação histológica do CaPe é classificada conforme o sistema de Broders, os mesmos parâmetros determinam o tipo histológico do tumor. Existem três categorias de diferenciação: G1- grau 1: tumor bem diferenciado; G2- grau 2: moderadamente diferenciado; G3- grau 3: indiferenciado. O que determina a distribuição nessas categorias é a avaliação microscópica de 4 elementos a saber:

- I. A atividade mitótica
- II. Grau de queratinização
- III. Atipia celular
- IV. Presença de pontes intercelulares.

2.1.16 Infiltração

Considera-se que tumores com espessura superior a 5mm possuem pior prognóstico, para tanto, se leva em consideração a superfície tumoral até o local com maior profundidade da neoplasia (LOPES et al., 1996; VELAZQUEZ et al., 2008).

2.1.17 Estadiamento

Existe um sistema de estadiamento do CaPe que fora criado para suprir uma carência de padronização de terminologias utilizadas. A ordem de classificação segue o sistema TNM(T= tumor primário, N= número de linfonodos comprometidos; M= metástase a distância), que fornece informações relacionadas ao tamanho do tumor e quantidade dos nódulos regionais que foram acometidos e, por fim, avalia metástase à distância. É revisado de forma rotineira se baseando no entendimento e compreensão do prognóstico da doença, (CUBILLA et al., 2004; INCA, 2004; EDGE, 2010) conforme pode ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 – Estadiamento TNM (2010) – proposto pela UICC/AJCC para estadiamento do câncer de pênis.
T-Tumor primário
TX Tumor primário não pode ser avaliado
T0 Sem evidência de tumor primário
Tis Carcinoma in situ
Ta Carcinoma verrucoso não invasivo,
T1 Tumor invade o tecido conjuntivo subepitelial
T1a: sem invasão linfovascular e bem ou moderadamente diferenciado) (Grau 1-2)
T1b: com invasão linfovascular ou pouco diferenciado/indiferenciado (Grau 3-4)
T2 Tumor invade o corpo esponjoso/corpo cavernoso
T3 Tumor invade a uretra
T4 Tumor invade outras estruturas adjacentes
N- Linfonodos regionais (Clínico e Patológico)
cNX Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
cN0 Sem linfonodos inguinais aumentados visíveis ou palpáveis
cN1 Linfonodo inguinal palpável móvel unilateral
cN2 Linfonodos inguinais palpáveis móveis múltiplos ou bilaterais
cN3 Massa de linfonodos inguinais fixa ou linfadenopatia pélvica, unilateral ou bilateral

pNX Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
pN0 Ausência de metástase em linfonodos regionais
pN1 Metástase intranodal em um único linfonodo inguinal
pN2 Metástases em múltiplos linfonodos inguinais ou em linfonodos inguinais bilaterais
pN3 Metástases em linfonodo(s) pélvico(s), unilaterais ou bilaterais, ou extensão extranodal de metástases em linfonodos regionais
M-Metástase à distância
Mx Metástases à distância não pode ser avaliada
M0 Sem metástases à distância
M1 Metástases à distância
G- Graduação histopatológica
Gx O grau de diferenciação não pode ser avaliado
G1 Bem diferenciado
G2 Moderadamente diferenciado
G3 Pouco diferenciado
G4 Indiferenciado

Fonte: Adaptado de AJCC Cancer Staging Manual. 7th ed. New York, NY: Springer, 2010.

2.1.18 Tratamento

A modalidade de tratamento do paciente diagnosticado com CaPe dependerá da avaliação das características do tumor, bem como sua localização e o grau de invasão. (CUBILLA et al., 2004). Questões como o desejo de preservação do órgão, orientações relacionadas ao tipo de cirurgia e os impactos referentes as características estéticas devem ser levadas em consideração (KOIFMAN et al., 2013). Devido ao fato do pênis ser constituído por estruturas que incluem nervos, músculo, vasos sanguíneos e pele, a clínica tumoral será manifesta mediante tais diferenças histológicas, daí a necessidade da avaliação diagnóstica com detecção da profundidade acometida (POW SANG et al., 2002).

Figura 1 – Paciente com CaPe. A) Paciente com quadro de carcinoma epidermoide de pênis acometendo toda a glândula. (B) Lesão tumoral isolada, com a base do pênis garroteada. (C) Realizada amputação peniana parcial com exposição dos corpos cavernosos e individualização da uretra. (D) Aspecto final da cirurgia



Fonte : Korkes et al. (2013)

O tratamento da lesão primária pode acontecer através de ressecção cirúrgica ou radioterapia, a cirurgia se estende desde postectomias, cirurgias parciais ou totais do órgão e nos casos mais graves a emasculação. A radioterapia pode ser utilizada como uma alternativa para aqueles que possuem indicação de cirurgia, mas, recusam a se submeterem, uma vez que a cirurgia se propõe a retirada total ou parcial da lesão primária. Outras alternativas de tratamento são a criocirurgia e cirurgia a laser, entretanto, o objetivo final é sempre a excisão total do tumor (DE PAULA et al., 2005; POMPEO et al., 2006, KOIFMANN et al., 2013).

2.1.19 Linfadenectomia

Os fatores prognósticos mais importantes relacionados a sobrevida do paciente são a presença e a extensão das metástases inguinais. Quando existe positividade linfonodal as cadeias inguinais superficiais e profundas são as que se comprometem pela metástase das células neoplásicas, pois as mesmas se disseminam linfaticamente, estendendo-se posteriormente para a cadeia ilíaca externa e interna até chegar a pelve (SCHELLHAMMER et al, 1992; LEONE et al., 2017).

A dissecação do linfonodo sentinela, nome que recebe o primeiro linfonodo a ser invadido por células neoplásicas, proposta por Cabanas (1977), tem sido descrita em muitos estudos, porém essa conduta ainda é controversa (BAROCAS E CHANG, 2010). Enquanto

Catalona (1988), propôs a técnica de linfadenectomia inguinal modificada com o objetivo principal de explorar somente áreas mais acometidas. Neste mesmo trabalho o autor descreveu alguns casos que a linfonodomegalia acontece em consequência da infecção do tumor primário, por causa desse importante fator, Ornellas et al., (1994) recomendaram cuidado no emprego dessa técnica em virtude de invasão fora da área dissecada.

O paradoxo acerca da escolha de condutas em relação ao tratamento linfonodal, se reflete quando 20% dos pacientes que não possuem linfonodos palpáveis podem apresentar metástase oculta, as quais, podem ser detectadas apenas através da linfadenectomia. É válida a ressalva que nem todos os linfonodos que se encontram com volume aumentado apresentam metástase, para cada 50% de pacientes com linfadenopatia inguinal, apenas a metade tem comprometimento metastático de linfonodos. Esses achados justificam a controvérsia em relação a abordagem do paciente de acordo com o momento da abordagem da linfadenectomia ser profilática ou terapêutica (LYNCH E SCHELLHAMER, 2001; LUCENA, 2001).

A Linfadenectomia convencional (inguinal superficial) possui maior potencial de complicações locais, mas, apresenta menor risco de resultado falso-negativo, sua recomendação é no caso de suspeita de infiltração de células neoplásicas regionais. É um procedimento associado a uma alta taxa de morbidade conforme a descrição de vários autores apresentada na Figura 2 (KOIFFAN et al., 2013).

Figura 2 – Principais complicações relacionadas a linfadenectomia inguinal.

AUTOR	PACIENTES	NECROSE DA PELE	INFECÇÃO	SEROMA	LINFOCELE	LINFEDEMA
Ornellas (1972-1987)	200	5%	15%	6%	9%	16%
Lopes (1953-1985)	145	15%	22%	60%	–	30%
D'anconna (1994-1999)	26	38%	–	38%	–	38%
Kroon (1994-2003)	129	15%	27%	9%	12%	31%
Perdona (1990-2003)	70	8%	8%	13%	4%	21%
Pompeo (1984-1997)	50	6%	12%	6%	–	18%
Tobias M. Aberta laparoscópica	10	20%	30%	0%	0%	20%
	10	0%	0%	5%	10%	5%
Sotelo (laparoscópica)	8	0%	0%	0%	23%	0%

Fonte: Koiffan et al. (2013)

Ademais, as evidências apoiam a linfadectomia quando os tumores penianos apresentam alto risco de metástase sem adenopatia inguinal (CHIPOLINNI et al., 2017).

Novas tecnologias tem surgido no diagnóstico e estratificação de pacientes e tem demonstrado benefícios à assistência bem como na investigação da doença (SACCO E COHEN, 2015). Técnicas de linfadenectomia minimamente invasivas e utilizando a robótica tem sido campo de estudos em pacientes com CaPe e a investigação visa diminuir os impactos adversos que a linfadenectomia gera na vida do paciente no pós operatório (LEONE et al, 2017).

2.1.20 Fatores prognósticos

A extensão do comprometimento dos linfonodos tem sido avaliada há muitos anos por diversos autores, e é consenso que a presença de metástase para os linfonodos é o principal fator para um prognóstico ruim em homens acometidos por carcinomas penianos (KAMAT et al., 1993; LEONE et al., 2017;CHIPOLLINI et al., 2017).

Publicações apontam para uma taxa de sobrevida entre 93 e 50% para cinco anos em pacientes sem e com metástase respectivamente, sendo que quando o paciente possui mais de dois linfonodos positivos, o risco de recidiva e óbito é maior (HORENBLAS et al. 1993; RAVI, 1993; LOPES et al. 1996b; POMPEO et al., 2006).

Existem na literatura achados que associam a metástase linfonodal com a existência de êmbolo tumoral linfático e vascular, espessura tumoral acima de 5mm, além da presença de invasão dos corpos cavernoso e uretra (SOLSONA et al., 1992; HORENBLAS et al.,1993; HEYNS et al.,1997; CUBILLA et al., 2001, CUBILLA 2009). E ainda com o grau histológico (LOPES et al., 1996).

Segundo Horenblas et al.,(1993), Slaton et al., (2001), Solsona et al., (2001), afirmam que os graus de diferenciação e o padrão de crescimento, estão diretamente correlacionados com a propabilidade de metástases para linfonodos. Cubila et al., (2001) relatam que essa probabilidade é de 25% para tumor grau I, 50% grau II e 80% grau III.

2.1.21 O uso do Ki67 como biomarcador para o câncer de pênis

A empregabilidade de biomarcadores na resposta do comportamento clínico de neoplasias tem sido um método auxiliar na avaliação de alterações diante da progressão de neoplasias. Devido a esse fato, muitas pesquisas estão se concentrando na identificação de biomarcadores que possam estar aliados a um diagnóstico precoce assim como ao prognóstico

do paciente, esses são considerados os dois grandes desafios do câncer de pênis (ARISAWA, 1999; FUGUEIRO, 2014).

Existe uma necessidade de avaliação de métodos que proporcionem o reconhecimento individual biológico de tumores cancerígenos epidermóides. O fenótipo maligno apresenta uma característica de proliferação celular, esta análise pode, portanto, ser avaliada através da expressão do antígeno Ki67 que possibilita avaliar o prognóstico de doenças (SAWHNEY N. 1992; ESPOSITO et al., 2000).

O Ki67 é uma proteína nuclear não-histona, sua estrutura protéica faz parte de uma localização conhecida como suporte cromossômico e foi obtido pela primeira vez por Guedes e colaboradores em 1983 (BROWN e GATTER, 2002). Quem determina sua expressão é o gene situado no locus 10 q 25 e ocorre no final da fase G1, em S, G2 e M1, exceto na fase G0. A técnica de verificação possibilita de maneira simples e rápida, além de gerar pouca oneração a investigação do comportamento de proliferação celular de tumores (HALL E LEVINSON, 1990; GERGES,1991).

O uso do Ki 67 tem uma boa empregabilidade na avaliação prognóstica de muitos tipos de canceres como o CA de mama, Tawfik (2007). Pacientes com essa neoplasia possuem como principal fator capaz de influenciar o prognóstico a presença de metástase para linfonodos axilares, a invasão neoplásica quando avaliada por marcadores (MARINHO et al 2008). Em neoplasias renais, detectou-se a utilização desse marcador como um poderoso preditor de sobrevivência ($p = 0,0016$). De acordo com Berdjis et al., (2005), a alta expressão do ki67 pode indicar um risco de metástase nodal. Em outro estudo realizado no Brasil com 26 pacientes com diagnóstico de CaPe que tinham sido submetidos a amputação parcial ou total de pênis, 10 foram submetidos a linfadenectomia regional por suspeita de metástases, não se encontrou relação entre a expressão imunohistoquímica do Ki-67 e a agressividade biológica do tumor (FARIA et al., 2000).

O futuro do manejo de pacientes com CaPe depende de questões que ainda não foram elucidadas. A importância da descoberta do emprego de biomarcadores e sua relação com a doença, pode ajudar a validar tais paradigmas auxiliando inclusive em decisões clínicas, diminuindo a quantidade de linfadenectomias gerando um grande impacto em fatores que acredita-se influenciar no prognóstico, culminando em uma melhor qualidade de vida para os pacientes .

3 OBJETIVO

3.1 Geral

Analisar fatores prognósticos para metástase linfonodal e expressão imuno-histoquímica da proteína KI67 em pacientes com câncer de pênis que foram submetidos a linfadenectomia regional no Estado do Maranhão.

3.2 Específicos

- ❖ Caraterizar os pacientes quanto aos dados sócio-demográficos e a presença de fatores de risco;
- ❖ Caraterizar os pacientes quanto aos fatores histológicos;
- ❖ Associar as características clínicas e histológicas quanto a presença e ausência de metástase linfonodal;
- ❖ Investigar a expressão imuno-histoquímica do marcador de proliferação celular ki-67 nos pacientes com câncer de pênis;
- ❖ Investigar a sobrevida livre de doença em relação a realização da linfadenectomia profilática ou terapêutica.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo descritivo que foi realizado em duas fases.

Fase retrospectiva: revisão e seleção de prontuários dos casos de neoplasia em estudo e segregação de blocos e lâminas de penectomias correspondentes.

Fase prospectiva: acompanhamento do paciente através do prontuário eletrônico.

4.2 Período e local do estudo

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Imunofluorescência e Microscopia do Hospital Universitário Presidente Dutra (LIME – HUPD) e no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Belo (IMOAB) no período de janeiro 2016 a setembro 2017.

4.3 Amostragem do estudo

Foram selecionados os prontuários dos pacientes com diagnóstico de CaPe, todos comprovados por diagnóstico histopatológico que foram atendidos nos respectivos serviços do HUPD e IMOAB, no período de janeiro de 2009 a setembro de 2017 e que foram submetidos a linfadenectomia mediante autorização prévia dos setores. (ANEXO A).

4.4 Determinação das variáveis

Foram consideradas a idade, topografia da lesão, presença de lesão peniana infectada, linfonodomegalia, tempo entre início da lesão e a procura pelo serviço de saúde, tipo da linfadenectomia realizada; se profilática ou terapêutica a presença de metástase linfonodal.

Para a determinação histológica dos subtipos adotou-se a classificação da WHO (2016). A graduação histológica se deu através do padrão de Broders de acordo com o Royal College of Pathologists (2006), os tumores foram reestadiados segundo o acordo de estadiamento do TNM AJCC 8ª edição.

Os critérios de seleção dos pacientes que foram submetidos a linfadenectomia profilática ou terapêutica seguiram as recomendações da Associação Europeia de Urologia

(EAU). Os pacientes com tumores de baixo risco (pTis, pTa G1, pT1a e G1), foram mantidos em vigilância (HUGHES et al,2010). Realizaram linfadenectomia profilática os pacientes com tumor estadiados em \geq pT1b e/ou \geq G2 sem linfonodos palpáveis. Pacientes que possuíam linfonodos palpáveis, foram submetidos a linfadenectomia considerada terapêutica, aqueles que apresentaram sinais clínicos de infecção ao exame físico, foi implementada antibioticoterapia antes da realização da linfadenectomia (Gregory et al., 2016).

4.5 Critérios de inclusão

Pacientes com diagnóstico clínico e histopatológico de CaPe que realizaram cirurgia peniana e linfadenectomia em um dos dois serviços de referência.

4.6 Critérios de não inclusão

Dados incompletos do prontuário médico que impeçam o levantamento de dados demográficos, clínicos, histopatológicos ou ausência de informação sobre realização de linfadenectomia e estadiamento.

4.7 Critérios de exclusão

Pacientes que tiveram material extraviado e aqueles que a primeira cirurgia não foi em nosso serviço.

4.8 Etapas do estudo

4.8.1 Revisão dos prontuários e lâminas

Foram selecionados os blocos e lâminas dos casos levantados afim de serem reavaliados por um patologista para confirmação do diagnóstico bem como classificação histopatológica. A partir da revisão das lâminas apenas uma foi selecionada para a realização da técnica imuno-histoquímica.

4.8.2 Realização da imuno-histoquímica

A técnica de imuno-histoquímica foi realizada para avaliar a expressão do ki67.

4.8.3 Técnica de imuno-histoquímica

- a) Desparafinização: o tecido estudado proveniente das biópsias de câncer peniano foi desparafinado com imersões em xilol e desidratados com banhos de álcool. Depois foi lavado em água corrente durante 5 minutos.
- b) Bloqueio da peroxidase endógena: em seguida, foi realizado o bloqueio da enzima endógena peroxidase com solução previamente preparada de H₂O₂ (peróxido de hidrogênio), (Merck KgaA, Darmstadt, Germany) a 3% que foi adicionada às cubetas durante 10 minutos. Após o tempo previsto as lâminas foram então lavadas em água destilada.
- c) Recuperação antigênica: as lâminas foram inseridas em cubetas de material resistente acrescidas de solução tampão, afim de conservar o material durante o processo de recuperação antigênica. O tampão utilizado foi EDTA pH 8,0, sendo sua escolha proveniente da recomendação sugerida pelo fabricante do anticorpo. As cubetas foram colocadas em aparelho de aquecimento a vapor para realização da recuperação antigênica por calor, sendo que o mesmo foi previamente aquecido e configurado para promover temperatura com variações entre 90°C e 100°C durante 40 minutos. Depois de esperar o resfriamento das cubetas por 20 minutos, as lâminas foram lavadas com solução de PBS- Tween 20 ph 7,4 (nacl 0,15M, tampão fosfato 0,01M, ph 7,4).
- d) Bloqueio de proteínas e enzimas endógenas: as lâminas foram dispostas em bandejas específicas para o prosseguimento do experimento, sendo estas previamente umedificadas com papel de filtro embebido em água destilada. Durante o processo de disposição das lâminas na bandeja foi utilizada, quando necessário, solução de PBS- Tween 20 pH 7,4 para evitar a secagem dos cortes. As lâminas foram enxugadas, com devido cuidado em relação aos cortes histológicos e, em seguida, os mesmos foram delimitados com caneta hidrofóbica a fim de proporcionar melhor exposição aos reagentes aplicados na lâmina evitando a dispersão dos mesmos. Foi feita a aplicação do Bloqueador de Proteína A (Kit EasyPath) por 10 minutos.

- e) Aplicação do anticorpo primário: foi aplicado a quantidade suficiente do Anticorpo diluído em PBS-Tween 20/BSA 1%. O tempo de incubação foi 90 minutos. Após esse intervalo, as lâminas foram devidamente lavadas com solução de PBS-Tween 20 pH 7,4.
- f) Amplificação: a amplificação da expressão do anticorpo primário foi feita utilizando o método indireto através do uso de Polímeros (Kit EasyPath), que foram aplicados aos cortes em quantidades suficientes para reagir em todo o material fixado na lâmina, por um tempo de 30 minutos. Após esse tempo, as lâminas foram lavadas com PBS-Tween 20 pH 7,4.
- g) Revelação: as reações foram reveladas incubando-se cada corte durante 5 minutos com quantidade suficiente do cromógeno 3,3' Diaminobenzidina (DAB, Sigma, St Louis, MO, USA, D5637-1G) diluído em Substrato DAB. Após o tempo de exposição, as lâminas foram lavadas com água corrente.
- h) Contracoloração e montagem: a contra-coloração foi feita com Hematoxilina. Os cortes foram desidratados em soluções de álcool e xilol e, posteriormente, montadas.

4.8.4 Quantificação

A imuno-histoquímica de Ki-67 foi realizada utilizando o anticorpo primário Ki-67 Clone SP6 (Spring, Bioscience, USA) diluído numa proporção de 1:200 µc, como controle foi utilizada amígdala. Para definição dos scores de Ki-67 foram utilizados de acordo com a intensidade de coloração e porcentagem de células positivas, negativo (score 0), baixo (score 1), moderado (score 2, 25-50%), e alta expressão (score 3, > 50%), conforme descrito por (MUÑOZ et al., 2015).

4.8.5 Identificação histológica do HPV

Para a realização da histologia do HPV foi definida a presença de coilocitose fixando três critérios considerados obrigatórios:

- I – Halo perinuclear
- II – Atipia nuclear
- III – Binucleação

Os serviços de patologia referidos neste estudo incluem toda a amostra para aumentar parâmetros histológicos, toda a penectomia, inclusive o prepúcio, exceto os casos com mais de 50 cassetes. O exame microscópico e a avaliação histopatológica foi realizada por um patologista com mais de 15 anos de experiência. Para a classificação do estadiamento tumoral foi utilizado a AJCC.

4.10 Análise estatística

Os dados foram analisados no programa (SPSS 23.0, Chicago, IL, USA). A associação entre a presença ou ausência de metástase linfonodal com os dados clínicos e histopatológicos foi realizada com o teste Qui-Quadrado. A análise de sobrevida foi realizada usando o método Kaplan Meier para determinar a sobrevida livre de doença e a sua relação com a linfadenectomia precoce ou tardia. O teste Long Rank foi usado para comparar as curvas de sobrevida. Para todos os testes realizados foi considerado o $p \leq 0.05$ como estatisticamente significativo.

4.11 Aspectos éticos

Esta pesquisa está vinculada a um projeto guarda-chuva que possui como título “Análise clínico-epidemiológica, histológica e imunoistoquímica do câncer peniano no estado do Maranhão” que foi submetido e aprovado pela comissão científica – COMIC – HUUFMA com o parecer nº 2457/2014-60 e ao comitê de ética em Pesquisa do Hospital Universitário /CEP – HUUFMA com parecer de aprovação de número: 1.093.435 e CAAE: 43774215.7.0000.5086 (Anexos A e B). Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido que segue os preceitos nacionais para pesquisa com seres humanos(Apêndice A).

Este trabalho atende as normas para pesquisa com seres humanos, estabelecida pela resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

5 RESULTADOS

Foram analisados 55 pacientes com diagnóstico de CaPe, com idade média de 55,4 anos na data da primeira consulta. O paciente mais jovem possuía 25 e o mais idoso 80, dentre eles, 10 pacientes tinham abaixo de 40 anos.

A Tabela 1 apresenta a descrição da procedência dos pacientes, que foi considerada de acordo com a divisão de mesorregiões do Maranhão; 26(47%) dos pacientes eram da região metropolitana e Norte do estado, a segunda região foi a Centro-Oeste com 17(31%) pacientes. Da região Leste procederam 5(9%) pacientes, apenas 1(2%) era da região Sul e 1(2%) da região Oeste e 5(9%) tinham origem não informada em prontuário.

A maioria eram casados 40(72%), 30(55%) eram lavradores, e 27(49%) tinham o nível fundamental. Com relação aos fatores de risco, 26(47%) afirmaram ser tabagistas, a fimose estava presente em 22(40%) dos pacientes no momento do exame físico e apenas 4(7%) já tinham realizado cirurgia. Em relação ao tempo de início dos sintomas, 22(40%) buscaram o profissional de saúde após um ano de início dos sintomas.

Tabela 1 – Características epidemiológicas e fatores de risco dos pacientes com CaPe que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro 2009 a setembro de 2017 no Estado do Maranhão.

Variáveis	Categoria	N	%
Região	Norte	26	47
	Centro – Oeste	17	31
	Leste	5	9
	Oeste	1	2
	Sul	1	2
	NI*	5	9
Estado civil	Casado/União estável	40	72
	Solteiro	2	4
	NI*	13	24

Continua.

Continuação.

Tabela 1 – Características epidemiológicas e fatores de risco dos pacientes com CaPe que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro 2009 a setembro de 2017 no Estado do Maranhão.

Ocupação	Lavrador	30	55
	Aposentado	5	9
	Pescador	6	11
	Outros	10	18
	NI*	4	7
Escolaridade	Analfabeto	18	33
	Nível Fundamental	27	49
	Nível Médio	8	14
	NI*	2	4
Tabagismo	Sim	26	47
	Não	14	26
	NI*	15	27
Coilocitose	Presente	34	62
	Ausente	17	31
	NI*	4	7
Início dos sintomas e busca pelo profissional de saúde	≥12 meses	22	40
	≤11 meses	14	22
	Não sabia referir	19	38

NI*= não informado

A Tabela 2 descreve características histológicas. Em relação ao tumor primário, 26(47%) tiveram o tumor estadiado em pT1b – pT2, a glândula foi a topografia mais acometida 30(55%) e em relação as lesões 28(51%) pacientes apresentaram tamanhos entre 2,0 – 5,0 cm. Quando avaliadas a invasão perineural e angiolinfática as mesmas estiveram ausentes em 33(60%) e 39(71%).

Tabela 2 – Características histológicas e tipo de cirurgia dos pacientes com CaPe que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro 2009 a setembro de 2017 no Estado do Maranhão.

Variáveis	Categoria	N	%
Tumor primário	pT1b - pT2	26	47
	pT3 - pT4	29	53
Grau	1 – 2	34	62
	3	21	38
Topografia	Glande	30	55
	Glande e prepúcio	6	11
	Glande prepúcio e corpo peniano	6	11
	Glande e corpo peniano	2	4
	Prepúcio e corpo peniano	6	11
	NI	5	8
Tamanho do tumor	2,1 – 5,0	28	51
	≥5,1cm	24	44
	NI	3	5
Invasão perineural	Presente	22	40
	Ausente	33	60
Invasão angiolinfática	Presente	16	29
	Ausente	39	71
Tipo de cirurgia	Penectomia parcial	36	65
	Penectomia total	2	31
	NI*	2	4

NI* = não informado

A Tabela 3 descreve características clínicas e das linfadenectomias dos pacientes. Observou-se que 29(53%) da casuística não apresentaram linfonodos palpáveis, 37 (67%) foram submetidos a linfadenectomia de forma profilática e 28(51%) apresentaram metástase linfonodal comprovada por histopatológico.

Tabela 3 – Características clínicas e das linfadenectomias dos pacientes com CaPe que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro de 2009 a setembro de 2017 no Estado do Maranhão.

Variáveis	Categoria	N	%
Linfonodos palpáveis na admissão	Presente	26	47
	Ausente	29	53
Linfadenectomia	Profilática	32	58
	Terapêutica	23	42
Metástase linfonodal	Presente	28	51
	Ausente	27	59

Pode ser observado na Tabela 4 possíveis preditores ou não para metástase linfonodal. Observa-se que ausência de invasão angiolinfática e a presença de coilocitose estiveram associadas a ausência de metástase linfonodal ($p=0,0037$) e de ($p=0,001$) respectivamente.

Tabela 4 – Associação entre variáveis clínicas e histológicas com a presença ou ausência de metástase linfonodal.

Características	LN+	LN-	p valor*
Tamanho do tumor			
2,1 – 5,0 cm	15	13	0.15
≥ 5,1cm	10	14	
Grau histológico			
1 – 2	17	17	1.0
3	11	10	
Tumor primário(pT)			
pT1b – pT2	11	15	0.174
pT3 – pT4	17	12	
Invasão perineural			
Presente	10	12	0.58
Ausente	18	15	

Continua.

Continuação.

Tabela 4 – Associação entre variáveis clínicas e histológicas quanto a presença ou ausência de metástase linfonodal

Características	LN+	LN-	p - valor*
Invasão angiolímfática			
Presente	12	4	0,0037
Ausente	16	23	
Linfadenectomia			
Terapêutica	11	12	0,78
Profilática	17	15	
Coilocitose			
Presente	11	23	0,001
Ausente	14	03	

*Grau de significância das associações realizadas pelo teste do qui-quadrado.

As variáveis selecionadas para a análise multivariada encontram-se descritas na Tabela 5. Detectou-se que a presença de invasão angiolímfática ($p=0.029$) e a ausência de coilocitose ($p=0.001$) demonstraram ser fatores preditores para metástase linfonodal. Os pacientes que foram acometidos de invasão angiolímfática apresentaram um risco 7 vezes maior de desenvolver metástase quando comparado a outras variáveis.

Tabela 5 – Regressão logística entre metástase linfonodal (variável dependente) e variáveis histopatológicas.

Variável	p – valor	OR	IC
Grau	0,288	2,333	0,101 – 2,232
Linfonodos palpáveis	0,888	1,106	0,023 – 0,821
Invasão angiolímfática	0,029	7,224	0,831 – 22,730
Invasão perineural	0,099	0,24	0,126 – 2,488
Tumor primário	0,649	1,389	0,124 – 2,017
Coilocitose	0,001	0,088	2,628- 50,718

Na Figura 3 pode-se observar a análise da sobrevida através do teste de Log Rank. Ela demonstra que os pacientes que realizaram a linfadenectomia precocemente apresentaram uma sobrevida livre de doença de 25,4 meses ($\pm 5,81$), enquanto que os que realizaram a linfadenectomia tardia, 19,9 meses ($\pm 3,18$) embora não houvesse significância estatística ($p=0,81$).

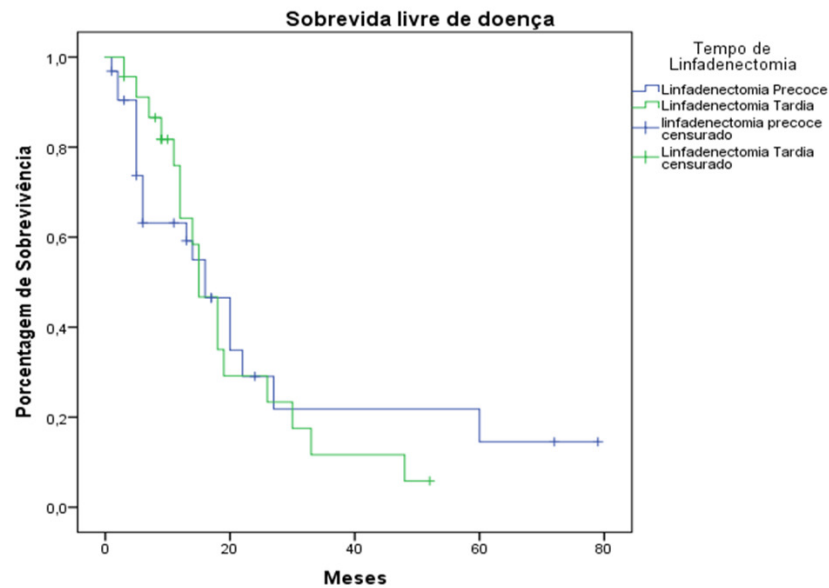


Figura 3. Gráfico de sobrevida livre de doença dos pacientes que foram submetidos a linfadenectomia regional no período de janeiro de 2009 a setembro de 2017.

Dentre os 55 pacientes avaliados obtivemos 13 casos com padrão de expressão acima de 55%, 2 com scores moderados e 11 casos com alta expressão.

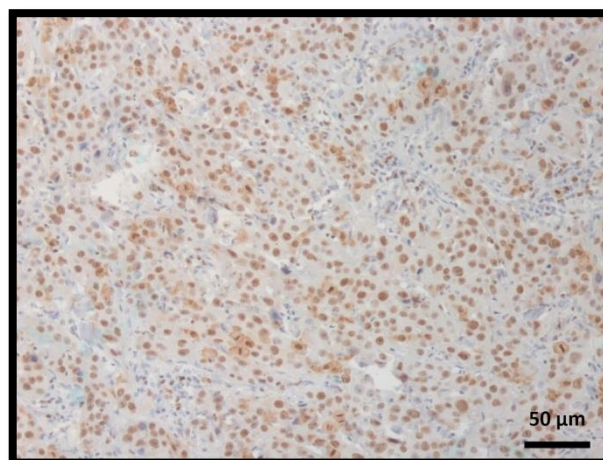


Figura 4: Expressão imuno-histoquímica positiva do ki67.

6 DISCUSSÃO

A média de idade encontrada neste estudo foi de 55,4 anos, essa característica etária é semelhante a literatura que refere a prevalência do CaPe a partir da quinta década de vida (FAVORITO et al., 2008; FONSECA et al., 2013; BATISTA et al., 2014). Os dados deste estudo concordam ainda com Paiva (2010), que menciona encontrar indivíduos abaixo de 40 anos com CaPe, na causuística deste estudo foi encontrado 8 pacientes com idade inferior a 40 anos.

A maioria dos pacientes eram procedentes da mesorregião Norte e região metropolitana do Maranhão 26(47%), outras séries nacionais realizadas no Pará e na Bahia demonstraram pacientes que eram provenientes de regiões mais próximas a capital do estado (FONSECA et al., 2010; PAIVA, 2010).

Com relação ao estado civil observou-se que a maioria afirmaram ser casados 40(72%). De acordo com Rippentrop et al., (2004) os pacientes casados com diagnóstico de CaPe localizam a doença de forma mais precoce que os solteiros, vale acrescentar que segundo o DATASUS no ano de 2015, entre os 402 casos de óbitos registrados no Brasil por CaPe a maioria dos pacientes eram casados e possuíam acima de cinquenta anos de idade.

A grande parte dos pacientes eram lavradores 30(55%) e possuíam o nível fundamental 27(49%), o que demonstra uma predominância do nosso perfil de homens com um baixo nível sócio-econômico e cultural, corroborando com Christodoulidou et al., (2015), quando afirma em seu estudo epidemiológico predominância do CaPe em homens de baixa renda. Até mesmo nos EUA, onde o câncer de pênis é considerado raro, dados demográficos do estudo de Chipollini et al., (2017) com fonte em base de dados médicos americanos, constatou o CaPe mais incidente em homens com renda menor que 38 mil dólares ao ano, a menor faixa de renda considerada em tal estudo.

A presença de fimose, a infecção pelo HPV e a má higiene, associados ao uso do tabaco e o comportamento sexual promíscuo são fatores de risco relacionados a etiologia do CaPe 26(47%) dos casos declararam ser tabagistas e 22(40%) apresentavam fimose(FERRÁNDIZ-PULIDO et al, 2012; FLAHERTY et al, 2014).

Os resultados obtidos concordam com a literatura, pois de acordo com Pizzocaró et al., (2012) 25 a 60% dos pacientes com CaPe apresentam fimose e corrobora também com Pow –Sang et al., (2010), quando relata que entre homens que mascam o tabaco o risco para CaPe aumenta de 1,14% para 2,11%, hábito predominante entre homens de baixa renda e do

interior do Maranhão. Quando avaliada a associação entre tabagismo e metástase linfonodal e entre fimose e metástase, não foi encontrada associação significativa.

Em relação a presença de coilocitose, 34 (62%) dos pacientes possuíam histopatológico positivo para o HPV, porém existem poucos trabalhos que demonstram a relação entre o HPV e o CaPe. Existem fatores individuais e ambientais podem gerar uma implicação e fazer com que a infecção pelo HPV contribua na oncogênese, assim, a relação existente entre o vírus, o Carcinoma Epidermóide e sua influência no prognóstico da doença ainda possuem resultados discordantes (MADKAN et al., 2007; BEZERRA et al., 2001).

No estudo de De Paula et al.,(2006) foi encontrada uma frequência maior de coilocitose entre os pacientes de CaPe que possuíam metástase linfonodal, porém sem diferença estatística. Enquanto que neste estudo na análise de associação a presença da coilocitose mostrou significância $p=(0,001)$. Notou-se a presença de coilocitose em maior quantidade entre os pacientes que não possuíam metástase linfonodal.

Em cânceres de cabeça e pescoço a presença do HPV é descrita em alguns estudos como um fator relacionado a um menor risco para metástase (PYTYNIA et al., 2014; PANNONE et al.,2011)

Em relação ao início do tratamento 22(40%) os pacientes deste estudo demonstraram demora quanto ao início do tratamento, o paciente que mais demorou a procurar pelo serviço de saúde levou 9 anos e o mais precoce 3 meses desde o início da lesão. Segundo Nunes et al., (2003), quando estudam o diagnóstico clínico e histopatológico do CaPe, demonstram em seus achados que o tempo de início dos sintomas e a busca pelo profissional de saúde é postergado devido a questões sociais, culpa, vergonha ou até mesmo medo do desconhecido.

Segundo Lopes et al., (1994) e Cubilla et al., (2004) o CaPe se inicia por uma lesão na glândula. Fonseca et al., (2010) observaram como achados em seu estudo a glândula e o prepúcio como a localização preponderante para a lesão de origem do CaPe, os achados do nosso trabalho corroboram com esses autores 30(54,54%) dos tumores eram localizados na glândula, é importante ainda referir que 14 pacientes possuíam tumores de outras topografias nas quais a glândula também era acometida.

No tocante ao tipo de cirurgia realizada e tamanho das lesões Guimarães et al., (2011) afirma que nos casos avançados a amputação do tipo parcial ou total se faz necessária em tumores maiores, vale ressaltar que em nossa casuística não encontramos tumores inferiores a 2,0 cm e 28(51%) apresentavam lesões com tamanho entre 2,0 a 5,0cm; 36(65,45%) foram submetidos a penectomia parcial.

Os objetivos do tratamento cirúrgico incluem a ressecção completa do tumor primário com margens livres para redução do risco de recidiva local e a promoção do estadiamento patológico do tumor para que sejam avaliados os riscos de metástase para linfonodos inguinais e, assim, proporcionar a estratificação do paciente em grupos de risco (ZHU et al., 2010).

Na avaliação histológica preponderaram os pacientes que não possuíram invasão angiolinfática 39(70%). Encontrou-se uma associação entre a ausência de invasão angiolinfática e a ausência de metástase linfonodal com um valor de p (0,0037).

Segundo Lynch e Schellhammer (2001); Pompeo(2003); Velasques, et al., (2008), é relevante conhecer esses dados histológicos uma vez que a disseminação da doença acontece pela via linfática e já é consolidado entre os autores a sua associação com a metástase linfonodal e com um prognóstico obscuro. Entretanto outros autores, não encontraram em seus estudos relação entre a invasão angiolinfática e o risco para metástase linfonodal (BATISTA et al., 2014; AITA et al., 2016).

Na análise multivariada a presença de invasão angiolinfática e a ausência de coilocitose mostraram-se como únicos preditores com significância, ou seja, podem alterar a ocorrência de metástase inguinal, porém, a coilocitose é demonstrada como um possível preditor para baixo risco de metástase (OR=0,088). A invasão angiovascular é mais comumente citada na literatura do que a coilocitose como fator associado a metástase linfonodal no CaPe (SLATON et al., 2011; FICARRA et al.,2006).

De acordo com Sanches et al., (2015) em seu estudo sobre fatores patológicos de carcinomas de células escamosas penianas e grupos de risco para metástase, é importante a identificação de fatores que podem determinar o prognóstico de pacientes com CaPe.

No tocante a presença de linfonodos palpáveis, estudos nacionais e internacionais referem que a presença de linfonodos palpáveis na admissão do paciente pode variar entre 20 a 96% das casuísticas (POMPEO, 2003; HEGARTY et al., 2006). A literatura descreve ainda que 50% dos linfonodos palpáveis não apresentam comprometimento linfonodal e 20% dos pacientes sem linfadenopatia ao exame físico possuem metástase oculta (LUCENA, 2001; PAULA et al., 2005;). Fazendo um contraponto com a literatura na amostra deste trabalho 51% dos pacientes sem linfonodos palpáveis na admissão foram acometidos por metástase linfonodal, demonstrando uma taxa de falso negativo mais alta que a encontrada por muitos autores. (POMPEO et al., 2006, PIZZOCARO et al., 2001). Tais achados podem estar

relacionados com a demora do paciente em procurar o serviço de saúde, esse fator poderá influenciar futuramente na decisão clínica do paciente N0.

Chipollini al., (2017) descreve fatores prognósticos favoráveis quando avaliada a aplicabilidade da linfadenectomia para pacientes clinicamente negativos, entretanto, o momento da abordagem e o método ideal de avaliação dos linfonodos continua em discussão. Existem ainda evidências que apoiam a linfadenectomia para pacientes que possuam tumoração peniana primária com risco de metástase.

De Paula et al., (2005), indica a linfadenectomia profilática desde que o paciente esteja inserido devidamente em grupos de risco para metástase. Alguns serviços de referência adotam essa conduta baseando-se em trabalhos que compararam pacientes que foram submetidos a vigilância e posteriormente a linfadenectomia terapêutica. Os achados demonstram que vários pacientes não puderam mais ser submetidos a cirurgia de resgate por apresentar doença criticamente avançada e irressecável (Fraley, 1989; Ravi 1993; Ornellas 1994).

Um estudo realizado na China investigou a evolução clínica de pacientes que foram submetidos a linfadenectomia inguinal profilática e terapêutica, detectou que quando o procedimento é realizado precocemente ele pode melhorar a sobrevivência de pacientes com clínica negativa para metástase inguinal (WANG et al., 2016).

Apesar de não ter sido observado um valor estatístico significativo, os dados apresentados em relação a sobrevida livre de doença dos pacientes submetidos a linfadenectomia precoce e tardia concordam com a literatura. Os pacientes que realizaram linfadenectomia profilática apresentaram uma sobrevida livre de doença maior em 5,5 meses quando comparados com os pacientes que realizaram o procedimento tardiamente.

7 CONCLUSÃO

Através dos dados deste estudo pode-se avaliar que:

- 1) O CaPe é um problema de saúde pública no Maranhão e acomete principalmente indivíduos de baixa condição sócio-econômica e social.
- 2) Existe um intervalo de tempo preocupante entre o início dos sintomas e a primeira consulta.
- 3) Na análise da correlação entre invasão angiolinfática e metástase, a ausência de invasão esteve relacionada a ausência de metástase linfonodal.
- 4) Na análise multivariada a ausência de coilocitose e ausência de invasão angiolinfática foram fatores preditores de metástase linfonodal.
- 5) Os pacientes que foram submetidos a linfadenectomia profilática possuíram um tempo de sobrevida superior em relação aos que realizaram o procedimento tardiamente.
- 6) Entre os 55 casos de Ki67 avaliados obtivemos 13 casos com padrão de expressão acima de 55%, 2 com scores moderados e 11 casos com alta expressão.

8 LIMITAÇÕES

Devido as condições de processamento das amostras e dados incompletos nos prontuários dos pacientes não foi possível realizar este estudo com os 189 casos que existiam inicialmente, restando apenas 55 casos que se enquadraram em nossos critérios metodológicos.

Não foi possível a obtenção satisfatória da reação imuno-histoquímica de todos os casos em virtude das condições de processamento. Pois muitos casos de tecido eram fixados em formol sem tamponamento (forma de conservação), assim, os controles internos de ki67 não evidenciaram marcação pelo anticorpo invalidando os casos para análise.

9 REFERÊNCIAS

- AITA, G.A. Tumor histologic grade is the most important prognostic factor in patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes not submitted to regional lymphadenectomy. **International Brazilian Journal Urology**, v. 42, n.7, 2016.
- ARISAWA, E. A. L.; MORAES, E. PCNA and Ki-67 cell-cycle makers: a brief review. Pós-Grad. **Rev. Faculdade de odontologia de São José dos Campos**, v.2, n.1, p. 54-60, jan./jun., 1999.
- ARYA, M. L. L. Long- term trends in incidence, survival and mortality of primary penile câncer in Englang. **Cancer causes Control**, v.24, p. 2169-2176. 2013.
- AUSTIN. P.F. Circumcision. **Current Opinion in Urology**, v.20, p.318–322, 2010.
- AXCRONA, K. et al. Sarcomatoid squamous cell carcinoma of the penis. **Mod Pathology**, v. 49, p.128-30, 2010.
- BAROCAS, D. A.; CHANG, S. S. Penile cancer: clinical presentation, diagnosis, and staging. **The Urologic Clinics of North America**, v. 37, n. 3, p. 343–52, 2010.
- BARROS, E. N., MELO. M.C.B. Câncer de pênis: perfil sócio-demográfico e respostas emocionais à penectomia em pacientes atendidos no Serviço de Psicologia do Hospital de Câncer de Pernambuco. **Rev. SBPH**, v. 12, n. 1, Rio de Janeiro, 2009.
- BATISTA, L. L., et al. Estudo das linfadenectomias inguinais realizadas em pacientes portadores de câncer de pênis em hospital de referência da Amazônia. **Revista Paraense de Medicina**, v. 28, n. 3, 2014.
- BERDJIS, et al. **Expressão de Ki 67 no carcinoma de células escamosas do pênis**.v.15. São Paulo, 2005.
- BRASIL. Ministério da saúde. **Câncer no Brasil: dados de registros de base populacional**. v.3. Rio de Janeiro: INCA, 2003.
- _____. Óbitos p/ Ocorrência por Unidade da Federação segundo Região. **DATASUS: tecnologia da informação a serviço do SUS**, 2013. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>>. Acesso em: 19 set. 2017.
- _____. Óbitos p/ Ocorrência por Unidade da Federação segundo Região. **DATASUS: tecnologia da informação a serviço do SUS**, 2015. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>>. Acesso em: 19 set. 2017.
- BRAY, F. et al. Estimation of global cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. **International Journal of Cancer**, v. 132, n. 5, p. 1133–1145, 2013.
- _____. Trends in survival of patients diagnoses with male genital cancer in the Nordic countries, 1964 – 2003 followed up until the end of 2006. **Acta Oncol.**, v.49, p. 644 – 654, 2010.

BROWN, D.C.; GATTER, K.C. Ki67 protein: the immaculate deception? **Histopathology**, v. 40, p. 2-11, 2002.

CABANAS, R. M. An approach for the treatment of the penile carcinoma. **Cancer**, v. 39, p. 456-66, 1977.

CAÑETE-PORTILLO, S. et al. Medullary Carcinoma of the Penis: a Distinctive HPV-related Neoplasm: **A Report of 12 Cases**, v. 41, n. 4, p. 535-540, 2017.

CARVALHO, N. S. de et al. Associação entre HPV e câncer peniano: uma revisão de literatura. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v.19, n. 2, p. 92-95, 2007.

CATALONA WJ. Role of lymphadenectomy in carcinoma of the penis. **Urol Clin North Am.**, v.7, p. 785-92, 1988.

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

_____. Risk Group Systems for Penile Cancer Management: a Study of 203 Patients With Invasive Squamous Cell Carcinoma. **Urology**, v. 86, n. 4, p. 790-796, 2015.

CHIPOLLINI, J. et al. delay to inguinal lymph node dissection greater than 3 months predicts poorer recurrence – Free Survival for patients with penile cancer. **Journal Urology**, v. 198, n. 6, p. 1346-1352.

_____. Patterns of Regional Lymphadenectomy for Clinically Node-negative Patients With Penile Carcinoma: analysis From the National Cancer Database From 1998 to 2012. **Clin Genitourin Cancer**, v. 26, 2017.

CHRISTOULIDOU, M. et al. Epidemiology of penile cancer. **Curr Probl Cancer**, v. 39, p. 129-136, 2015.

COELHO, R. W. P. et al. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence global. **BMC Urol.**, 2018.

CUBILLA, A. L. et al. Basaloid squamous cell carcinoma: a distinctive human papilloma virus-related penile neoplasm: a report of 20 cases. **American Journal Surgical Pathology**, v. 22, p. 755-61, 1998.

_____. et al. Histologic classification of penile carcinoma and its relation to outcome in 61 patients with primary resection. **Internacional Journal Surgical Pathology**, v. 9, p. 111-20, 2001.

_____. Tumors of the penis. In: EBLE, J. N. et al. (Eds.). **World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARC Press, 2004. p. 281–298.

_____. The role of pathologic prognostic factors is squamous cell carcinoma of the penis. **World journal urology**, v. 27, p.169-77, 2009.

CULKIN, D. J.; BEER, T. M. Advanced penile carcinoma. **Journal of Urology**, v. 170, p. 359-365, 2003.

CURARO. M. P. **Cancer Incidence in Five Continents**. v. 4, n. 160. Lyon: IARK, 2007.

DE MARTEL, C. Worldwide burden of cancer attributable to HPV. **International Journal of Cancer**, 2017.

DE PAULA, A. A. P. et al. Carcinoma epidermóide do pênis: considerações epidemiológicas, histopatológicas, influência viral e tratamento. **Revista brasileira de cancerologia**. v. 51, n. 3, p. 243-252, 2005.

DILLNER, J. et al. Etiology of squamous cell carcinoma of the penis. **Scand J Urol Nephrol Suppl**, v. 205, p. 189-93, 2000.

EDGE, S. B. et al. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. **Annals of surgical oncology**, n. 6, v. 17, p. 1471-1474, 2010.

ESPOSITO, J. P. Immunohistochemical expression of markers pcna, ki67 and p53 in squamous cell carcinomas of upper aerodigestive. FMUSP, Hospital Universitário da USP e da Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 27, n. 5, p. 327.

FARIA, S. M. et al. Immunoexpression of ki-67 antigen in carcinoma of the penis. **Acta Cirurgia. Brasileira**, São Paulo, v. 15, suppl. 2, 2000.

FAVORITO, L. A. et al. Epidemiologic study on penile cancer in Brazil. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 34, n. 5, p. 587-93, 2008.

FERRÁNDIZ-PULIDO, C. et al. Penile squamous cell carcinoma. **Actas dermosifiliograficas**, v. 103, p. 478-487, 2012.

FICARRA, V. et al. Nomogram predictive of pathological inguinal lymph node involvement in patients With squamous cell carcinoma of the penis. **Journal Urology**, v. 175, p. 1700-1705, 2006.

FLAHERTY, A. et al. Implications for human papillomavirus in penile câncer. **Urol oncol**, v. 32, n. 53, p.1-8, 2014.

FONSECA, A. G. et al. Human papilloma virus: prevalence, distribution and predictive value to lymphatic metastasis in penile carcinoma. **International Braz of Urol**, v. 39, n. 4, 2013.

_____. Estudio epidemiológico sobre el cancer de pene en el estado de Pará. **Revista Pan – amazônica saúde**, v. 1, n. 2, p.85-90, 2010.

FONTES, W. C., et al. Atenção à saúde do homem: interlocução entre ensino e serviço. **Acta. Paul. Enferm.**, v. 24, n. 3, p. 430-433, 2011.

FRALEY, E. E. et al. The role of ilioinguinallymphadenectomy and significance of histological differentiation in treatment of carcinoma of the penis. **Journal Urology**, v. 142, p. 1478, 1989.

FUGUEIRO, A. M. N. **Estudo Epidemiológico do Câncer de pênis e dos Marcadores Tumorais p53, c-MYC, TOLL-LIKE e MMP**. 2014, 91 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Estadual de Campinas Instituto de Biologia. Campinas, 2014.

GANGULY, N.; PARIHAR, S. P. Human papillomavirus E6 e E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. **Journal Bioscienc.** v. 34, p. 113-23, 2009.

GARÓFOLO, A. et al. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 491-505, 2004.

GERDES, J. et al. Immunobiochemical and molecularbiologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. **The American Journal of Pathology**, v. 138, p. 867-873, 1991.

GREENBER, G. R. E. Surgical management of carcinoma of the pênis. **The Urologic Clinics of North America**, v. 37, n. 3, p. 369 -378, 2010.

DIORIO, G. J. LEONE, A. R., SPIESS, P. E. Management of penile cancer. **Urology**, 2016.

GUIMARÃES, G. C. et al. Penile cancer: epidemiology and treatment. **Current Oncology Reports**, v. 13, n. 3, p. 231–239, 2011.

GUIMARÃES, G. C. et al. Penile squamous cell carcinoma clinicopathological features, nodal metastasis and outcome in 333 cases. **Journal Urology**, v. 182, p. 528-534, 2009.

HALL, P. A.; LEVINSON, D. A. Review assessment of cell proliferation in histological material. **Journal Clinical Pathology**, v. 432, n. 2, p. 182-184, 1990.

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

HEGARTY, P. K. A prospective study of 100 cases of penile cancer managed according to European Association of Urology guidelines. **BJU International**, v. 98, p. 3, 2006.

HEYNS, C. F. et al. Diagnosis and staging of penile cancer. **Urology**, v. 76, n. 2 Suppl. 1, p. 15–23, 2010.

HEYNS, C. F. et al. Carcinoma of the penis appraisal of a modified tumor-staging system. **Brasilian Journal of Urology**, v. 80, p. 307-312, 1997.

HORENBLAS, S. et al. Squamous cell carcinoma of the penis. III. Treatment of regional lymph nodes. **Journal of Urology**, v. 149, p. 492-497, 1993.

INCA – Instituto Nacional de Câncer; Ministério da Saúde. **TNM**: classificação de tumores malignos. 6. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2004.

_____. **Tipos de câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2008.

KAMAT, M. R. et al. Carcinoma of the penis: the Indian experience. **International Journal Surgical Pathology**, v. 52, p. 50-55, 1993.

KANTHIYA, K. et al. Expression of the p16 and Ki67 in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions and Cancer. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 17, n. 7, p. 3201-3206, 2016.

KOIFMAN, L. et al. Câncer de Pênis. In: FIGUEIREDO, Eurídice; MONTEIRO, Mauro; FERREIRA, Alexandre (Orgs.). **Tratado de Oncologia**. v. 2, 1. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2013. p. 1605-1615.

KORKES, F. et al. Circunsição por motivos médicos no sistema público de saúde do Brasil: epidemiologia e tendências. **Hospital Israelita Albert Einstein**, v.10, n. 3, p. 242-246, 2012.

LEONE, A. et al. Contemporary management of patients with penile cancer and lymph node metastasis. **Nat. Rev. Urol.** v. 14, n. 6. P. 335-347, 2017.

LOPES, A. et al. Câncer de pênis. **Âmbito Hospitalar**. v.58, p. 5-13, 1994.

_____. Prognostic factors in carcinoma of penis: multivariate analysis of 145 patients treated with amputation and lymphadenectomy. **Journal of Urology**, v. 156, p. 1637-1642, 1996.

LUCENA, R. G. **Lifadenectomia inguinal modificada no carcinoma do pênis**: avaliação prospectiva de 27 pacientes. Tese (Mestrado em Medicina) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas: UEC, 2001.

LYNCH, D. F.; SCHELLHAMMER, P. F. Surgical Management of squamous cell carcinoma of the pênis. **Dig Urol Journal**, 2001.

MADEN, C. et al. History of circumcision, medical conditions and sexual activity and risk of penile cancer. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 85, n. 1, p. 9-24, 1993.

MADKKAN, V. K. et al. The oncogenic potential of human papillomavirus: a review on the role of host genetics and environmental cofactors. **Braslian Journal Dermatology**, v. 157, n. 2, p. 228-241, 2007.

MARCONNET L. et al. Long Term follow-up of penile carcinoma with high risk for lymph node invasion treated with inguinal lymphadenectomy. **Journal of Urology**, v. 183. p. 2227-2232.2010.

MCCANCE, D. J. et al. Human papillomavirus types 16 and 18 in carcinomas of the penis from Brazil. **International Journal of Cancer**. v. 37, p. 55-59, 1986.

MELLO, E. L. et al. **Linfadenectomia inguinal no câncer de pênis: há como diminuir a morbidade do procedimento.** 2013.

MICALI, G. et al. Penile câncer. **J Am Acad Dermatol**, v. 54, n. 3, p. 369-391, 2006.

MILATHIANAKIS C. et al. Morbidity of prophylactic inguinal lymphadenectomy with saphenous vein preservation for squamous cell penile carcinoma. **International Journal Urology**, v. 12, n. 8, p.776-778, 2005.

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

MORRIS, B. J.; KRIEGER, J. N. Penile Inflammatory Skin Disorders and the Preventive Role of Circumcision. **Int J Prev Med.**, v. 4, p. 8-32, 2017.

MOSCONI, A. M. et al. Cancer de penis: criticals rewies. **Oncology/Hematology**, v. 53, n. 2, p. 165-177, 2005.

MUÑOZ, J. J. et al. Down-Regulation of SLC8A1 as a Putative Apoptosis Evasion Mechanism by Modulation of Calcium Levels in Penile Carcinoma. **J Urol**, v. 194, p. 245-251, 2015.

NARDI, A. C. et al. Epidemiology and Natural History of Penile câncer. In: POPMPEO, A. C. L., HEYNS, C. F. ABRAMS. **Penile Cancer**. Santiago, Chile: International Consultation on Penile Cancer, 2008. p. 3-14.

NESTOSA, F. M. J. HumanPapillomavirus (HPV) Genotypes in Condylomas, Intraepithelial Neoplasia, and Invasive Carcinoma of the Penis Using Laser Capture Microdissection (LCM)-PCR: A Study of 191 Lesions in 43 Patients. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 41, n. 6, p. 820-832, 2017.

NOLASCO, S. **O mito da masculinidade**. Rio de Janeiro: Rocco;1995.

NUNES, D. S. et al. Diagnóstico clínico e histopatológico do câncer de pênis. **Revista de Medicina de Minas Gerais**, v. 13, n. 4, p. 248-250, 2003.

ORNELLAS A.A, BROWN G.A. Câncer urológico (câncer de pênis). In: FERREIRA, C. G.; ROCHA, J. C. **Oncologia molecular**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 224-229.

_____. Surgical treatment of invasive squamous cell carcinoma of the penis: retrospective analysis of 3250 cases. **J. Urol.**, v. 151, p. 1244-1249, 1994.

PAIVA, G. R. **Carcinoma de pênis: panorama da doença no estado da Bahia: considerações epidemiológicas e histopatológicas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Salvador, BA: UFB, 2010. 70 p.

PANONE, G. et al. The role of human papillomavirus in the pathogenesisof head & neck squamous cell carcinoma: an overview. **Infect Agent Cancer**, v. 4, p.10, 2011.

PARKIN, D. M. et al. **Cancer incidence in five continents**. v. 8. Lyon: IARC Scientific Publications, 2002. p. 1-781.

PERSKY, L. Epidemiology of cancer of the penis. **Recent Results Cancer Res**, v. 60, p.97-109,1997.

PETITO, G. et al. Human papillomavirus in oral cavity and oropharynx carcinomas in the central region of brazil. **Braz j otorhinolaryngol**, v. 83, n.1, p. 38-44, 2017.

PIZZOCARO, G.; ALGABA, F.; SOLSONA, E. et al. European Association of Urology - Guidelines on Penile Cancer. **European Urology**, v. 46, n. 1, p. 1–8, 2012.

POMPEO, A. et al. **Projeto Diretrizes Carcinoma do Pênis - Parte I**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Urologia, 2006. p. 18.

POMPEO, A. C. L.; GIL, O. A. HPV Livro-13: Câncer de pênis. **HPV INFO BRASIL**, 2003.

_____. **Linfadenectomia inguinal estagiada em câncer de pênis: avaliação prospectiva de 50 pacientes**. Tese [Livre-Docência] – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo: FMUSP, 1993.

POW – SANG, M. R. et al. Cancer of pênis. **Cancer Controle Journal**. v. 9, n. 4, p. 305-314, 2002.

_____. Epidemiology and natural history of penile cancer. **Urology**, v. 76, p. 2-6, 2010.

PYTYNIA, K. B. et al. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal câncer. **Oral Oncology**, v. 50, n. 5, p. 380–386, 2014.

RAVI, R. Prophylactic lymphadenectomy versus observation versus inguinal biopsy in node negative patients with invasive carcinoma of the penis. **Jpn. J. Clin. Oncol.**, v.23, p. 53-58, 1993.

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

RIPPENTROP, J. M. et al. Squamous cell carcinoma of the penis. Evaluation of data from the surveillance, epidemiology, and results program. **Cancer**, v. 101, n. 6, p.1357-1362, 2004.

ROYAL COLLEGE OF PATHOLOGISTS. **Standards and Datasets for Reporting Canceres Datas et for penile cancer histopathology reports**. London: the Royal College of Pathologists, 2006. 13 p.

SACO, A. G.; COHEN, E. E. Current treatment options for recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. **J. Oncol.**, v.33, p. 3305-3313, 2015.

SANCHES D.F. et al. Carcinoma de células de células claras do pênis: uma variante do carcinoma de células escamosas relacionada ao HPV: um relatório de 3 casos. **American Journal Pathology**, v. 40, ed.7, p. 917-922, 2016.

SAWHNEY, N.; HALL, P. A. Ki67 structure, function and new antibodies. **Journal of Pathology**, v. 168, p. 161-162, 1992.

SCHEINER, M.A. et al. Human papillomavirus and penile cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV typing and clinical features. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 34, p. 467-74, 2008.

SCHELLHAMMER PF, et al. In: WALSH, P. C. et al. **Campbell Urologia Medica Panamericana**. v.2. 6. ed. Buenos Aires: Editorial, 1992. cap. 31, p. 1263-91.

SILVA, P.A.S. et al. A saúde do homem na visão dos enfermeiros de uma unidade básica de saúde. **Escola Anna Nery**, v. 16, n. 3, p. 561 – 568, 2012.

SLATON JW, Morgenstern N, Levy DA, et al. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: independent prognosticators for inguinal lymph node metastasis in penile squamous cancer. **Journal of Urology**, v. 156, p. 1138-1142, 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA.SBU. Campanha de prevenção do câncer de pênis vai ser encerrada esta semana. **Jornal Pequeno**, 27 jun. 2007. Disponível em: <<https://edicao.jornalpequeno.com.br/impresso/2007/06/27/campanha-de-prevencao-do-cancer-de-penis-vai-ser-encerrada-esta-semana/>>. Acesso em: 24 ago 2017.

SOLSONA, E. et al. EAU guidelines on penile cancer. **European Urology**, v. 46, p. 1-8, 2004.

SOLSONA, E. et al. Corpus cavernosum invasion and tumor grade in the prediction of lymph node condition in penile carcinoma. **European Urology**, v. 22, p. 115-118, 1992.

_____. Prospective validation of the association of local tumor stage and grades as a predictive factor for occult lymph node micrometastasis in patients with penile carcinoma and clinically negative inguinal nodes. **Journal of Urology**, v. 165, p. 1506-1509, 2001.

SOUSA, J.E.R.B., et al. Conhecimento do homem sobre a prevenção do câncer de pênis. **Revista de Enfermagem da Universidade Federal do Piauí**, v. 3, n. 1. p. 79-84, 2014.

SOUZA, K.W. et al. Estratégias de prevenção para câncer do testículo e pênis: revisão integrativa. **Revista Escola de Enfermagem Universidade de São Paulo**, v. 45, n. 1, p. 277-282, 2011.

SRINIVAS, V. et al. Penile cancer: relation of exten of nodal metastasis to survival. **Journal Urology**, v. 137, p. 880-882, 1987.

TAWFIK, O. et al. Granding invasive ductal carcionoma of the beast of the breast: advantages of using automated proliferation index instead of mitotic count. **Virchows Arch**, v. 450, p. 627-636, 2007.

VELAZQUEZ, E. F.; CUBILLA, A. L. Penile squamous cell carcinoma: anatomic, pathologic and viral studies in Paraguay (1993-2007). **Anal Quant Cytol Histol**, v.29, n. 4, p. 185-198, 2007.

_____. Histologic grade and perineural invasion are more importante than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 32, n.7, p. 974- 9, 2008.

WANG, H. Z. et al. Immediate inguinal Linfonodo Dissection improves survival in patients of penile cancer. **Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban**, v. 47, n. 3, p. 371-375, maio 2016.

WANICK, F. B. F. et al. Carcinoma epidermóide do pênis: estudo clínico patológico de 34 casos. **Revista Brasileira de Dermatologia**, v. 8, n. 6, p. 1082-1091, 2011.

WIENER, J. et al. Prevalence of human papillomavirus types 16 and 18 in squamous-cell carcinoma of the penis: a restropective analysis of primary and metastatic lesions by differential polymerase chain reation. **International Journal of the Cancer**, v. 50, p. 694-701, 1992.

WROCLAWSKi, M. L.; SERPA NETO, A. Biologia Molecular em uro – oncologia. In: ZERATI FILHO, M.; NARDOZZA JÚNIOR, A. **Urologia Fundamental**. São Paulo: Planmark, 2010. p.409-414.


ZEQUI, S.de C. et al. Sex with Animals (SXA): behavioral characteristics and possible Association with penile câncer. A Multicenter Study. **Journal of Sexual Medicine**, v. 9, n.7, p. 1860-1866, 2012.

ZERATI FILHO, M. et al. **Urologia Fundamental**. São Paulo: Planmark, 2010. p. 409-414.

ZHU, Y. et al. Prospectively packaged ilioinguinal lymphadenectomy for penile cancer: the disseminative pattern of lymph node metastasis. **The Journal of Urology**, v. 181, p.2103-2108, 2009.

10 ANEXO

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO

		UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO GERÊNCIA DE ENSINO E PESQUISA COMISSÃO CIENTÍFICA – COMIC – HUUFMA	
PARECER CONSUBSTANCIADO			
FINANCIAMENTO		NATUREZA DO PROJETO	
<input type="checkbox"/> Recurso Próprio <input checked="" type="checkbox"/> Fomento <input type="checkbox"/> Ind. Farmacêutica		<input type="checkbox"/> Graduação <input type="checkbox"/> Especialização <input type="checkbox"/> Mestrado <input type="checkbox"/> Doutorado <input type="checkbox"/> Serviço/HUUFMA <input checked="" type="checkbox"/> Dep. Acadêmico <input type="checkbox"/> Outros	
		N° do Protocolo: 2457/2014-60 Data de Entrada no COMIC: 06/06/2014 N° do Parecer: 058/2014 Parecer: APROVADO	
I – IDENTIFICAÇÃO:			
Título: Análise Clínico-Epidemiológica, Histológica e Imunoistoquímica do Câncer Peniano no Estado do Maranhão			
Pesquisador Responsável: Gyl Eanes Barros Silva			
Equipe Executora: Silma Regina Ferreira Pereira, José de Ribamar Calixto, Leudivan Ribeiro Nogueira, Fábio França Silva, Jaqueline Diniz Pinho, Hugo Eduardo Azevedo			
Unidade do HUUFMA onde será realizado: HUPD			
Sector de realização: LABORATÓRIO DE IMUNOHISTOQUÍMICA MICROSCOPIA ELETRÔNICA			
Cooperação estrangeira: Sim () Não (X)		Multicêntrico: Sim () Não (X)	

II – OBJETIVOS:

- **Geral:** Estudar as características clínicas, epidemiológicas, evolutivas, histológicas e o perfil imunoistoquímico do câncer de pênis no estado do Maranhão.

- **Específicos:**

- Identificar o perfil clínico-epidemiológico de pacientes com câncer peniano atendidos nos Hospitais de Referência do Maranhão.

- Correlacionar a expressão da Ciclina D1 com as variantes histológicas do Carcinoma de Pênis;

- Identificar a presença de infecção por HPV, através dos marcadores tumorais p16 e p53;

- Correlacionar a expressão de Ciclina D1 com as características clínicas e histopatológicas da amostra estudada;

- Verificar o papel da Ciclina D1 como marcador prognóstico no Carcinoma de Pênis;

- Avaliar a expressão de Ciclina D1 entre os casos HPV + (p16 e p53 positivos) e HPV - (p16 e p53 negativos);

- Investigar se a expressão de Ciclina D1, p16 e p53, isoladamente ou em conjunto, pode ser um marcador de metástase linfonodal;

- Correlacionar o índice de proliferação celular (Ki-67) com fatores prognósticos clássicos e com desenvolvimento de metástase linfonodal.

III – CRONOGRAMA: Setembro 2014 a dezembro 2016

IV - RESUMO DO PROJETO: O câncer de pênis (CP) é uma neoplasia rara em países desenvolvidos. No entanto, sua incidência é elevada em países em desenvolvimento, como o Brasil, sendo mais prevalente nas regiões Norte e Nordeste. Em inquérito voluntário realizado pela Sociedade Brasileira de Urologia foram comunicados 283 casos novos no Brasil em 2007. De acordo com a SBU, o Maranhão tem 10,7% dos casos de câncer de pênis notificados no Brasil, estando entre os cinco estados onde há maior prevalência, sendo superior até mesmo que o câncer de próstata. O estudo será realizado em duas etapas: O retrospectivo com análise de laudos histopatológicos, prontuários médicos, revisão de lâminas e reação imunoistoquímica no material arquivado em bloco de parafina no Serviço de Patologia do Hospital Universitário Presidente Dutra e Hospital Aldenora Belo, no período de janeiro de 2000 a abril de 2014 e prospectivo com coleta de dados clínicos-epidemiológicos, análise histológica e reação imunoistoquímica de novos casos no

período de setembro 2014 a dezembro de 2014. Os dados demográficos, clínicos, laboratoriais e de imagem serão coletados por meio de investigação dos prontuários.

Estudo relevante considerando a alta prevalência no norte e nordeste do Brasil, destacando o Estado do Maranhão, com uma estimativa acima de 30 casos por ano, além do aspecto mutilante.

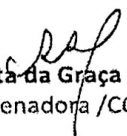
V - PARECER CONSUBSTANCIADO: APROVADO

O parecer **Aprovado** representa a autorização para a coleta de dados no âmbito do HUUFMA, fundamentado na Resolução 001/CAHU/UFMA e 03 de agosto de 2007 da constituição da Comissão Científica- HUUFMA.

VI - OBSERVAÇÃO:

- O início da coleta de dados está condicionado à aprovação pelo Comitê de Ética em pesquisa CEP/HUUFMA;
- A avaliação de projetos posteriores estará condicionada à entrega do relatório final (resumo e resultado, cópia em CD) da pesquisa anterior sob a responsabilidade do investigador principal.

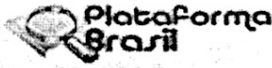
São Luís, 14 de agosto de 2014


Prof. Dra. Rita da Graça Carvalho Frazão Corrêa
Coordenadora /COMIC - HUUFMA

ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMIC



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/HU/UFMA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA, HISTOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DO CÂNCER PENIANO NO ESTADO MARANHÃO

Pesquisador: Gyl Eanes Barros Silva

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 43774215.7.0000.5086

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.093.435

Data da Relatoria: 12/06/2015

Apresentação do Projeto:

O câncer de pênis (CP) é uma neoplasia rara em países desenvolvidos. No entanto, sua incidência é mais elevada em países em desenvolvimento, como o Brasil, sendo mais prevalente nas regiões Norte e Nordeste. No país, ele representa 2% de todos os casos de câncer no homem. A escassez de publicações reflete a baixa incidência da doença em países ricos, e conseqüentemente a maioria dos trabalhos é proveniente de instituições isoladas e com pequena casuística. Assim, muitas questões relevantes referentes à doença, inclusive manejo clínico e terapêutico, do câncer de pênis continuam em aberto. O câncer de pênis tem incidência aumentada a partir da sexta década de vida. Este tumor é infrequente em adultos abaixo de 30 anos, sendo raramente descrito em crianças. Noventa e cinco por cento das neoplasias que ocorrem no pênis são representadas pelo carcinoma epidermóide, também denominado espinocelular ou escamoso (CEC); as restantes decorrem de metástases originadas em tumores de outros órgãos, representados pelos sarcomas, carcinoma basocelular e, muito raramente, melanomas. Em cerca de 70 a 80% dos pacientes que têm doença restrita ao pênis, a dor e sintomas sistêmicos são incomuns na apresentação inicial. O estadiamento do câncer peniano é importante, pois, além de orientar a conduta terapêutica, fornece informações sobre a probabilidade de cura e prognóstico. A Ciclina D1 é uma proteína nuclear de 35 KDa, codificada pelo gene CCND1 ou PRAD1, em referência ao achado de frequentes

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

Fax: (98)2109-1223

E-mail: cep@huufma.br



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/HU/UFMA



Continuação do Parecer: 1.093.435

rearranjos desse gene em adenomas da paratireoide, localizado no braço longo do cromossomo 11q13. Além de seu papel como protooncogene no ciclo celular, a Ciclina D1, como oncogene, atua na capacidade de invasão e potencial metastático através de interações entre a célula neoplásica e o microambiente tumoral. Em relação ao câncer de pênis, há apenas um trabalho na literatura que estudou a expressão de Ciclina D1. Os autores sugerem que a ciclina D1 parece atuar principalmente na promoção da proliferação de células, indicando seu potencial papel na patogênese do carcinoma peniano. No entanto, seus resultados não foram relevantes devido a baixa amostragem (21 casos) e, conseqüentemente, o baixo número de evolução desfavorável (morte, recorrência e metástases), decorrentes do diagnóstico mais precoce típico de países desenvolvidos. De acordo com a SBU, o Maranhão tem 10,7% dos casos de câncer de pênis notificados no Brasil, estando entre os cinco estados onde há maior prevalência, sendo superior até mesmo que o câncer de próstata. A etiologia é heterogênea. O estudo Clínico-Epidemiológico, Histológico e Imunohistoquímico dos espécimes cirúrgicos poderá trazer novas informações e aprofundar as já existentes sobre os tipos e evolução dos tumores, bem como os graus de estadiamento da doença, de modo a identificar o tipo histológico mais prevalente no Maranhão, e buscar entender determinantes na origem e evolução dessa patologia. Assim, os dados obtidos poderão subsidiar pesquisas em busca de marcadores diagnósticos, prognósticos e novas moléculas terapêuticas para essa patologia. Para a análise estatística, os dados serão analisados utilizando o programa Bioestat 5.0. As variáveis quantitativas serão analisadas através de frequências e porcentagens. Os dados epidemiológicos serão analisados EPINFO. Para as demais análises serão usados testes paramétricos sendo considerado o nível de significância quando $p < 0,05$. Fonte de financiamento: FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA E AO DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO DO MARANHÃO (FAPEMA). Equipe executora: Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva (pesquisador responsável), Prof^a. Dr^a. Silma Regina Ferreira Pereira, Prof. Dr. José de Ribamar Calixto, Leudivan Ribeiro, Msc. Fábio França Silva, Mestre, Msc. Jaqueline Diniz Pinho, Hugo Eduardo Azevedo.

Objetivo da Pesquisa:

Primário:

Estudar as características clínicas, epidemiológicas, evolutivas, histológicas e o perfil imunoistoquímico do câncer de pênis no estado do Maranhão.

Secundários:

- Correlacionar a expressão da Ciclina D1 com as variantes histológicas do Carcinoma de Pênis;
- Identificar a presença de infecção por HPV, através dos marcadores tumorais p16 e p53;

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

Fax: (98)2109-1223

E-mail: cep@huufma.br



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/HU/UFMA



Continuação do Parecer: 1.093.435

- Avaliar a expressão da proteína Ciclina D1 no Carcinoma de Pênis através da técnica de imunistoquímica;
- Correlacionar a expressão de Ciclina D1 com as características clínicas e histopatológicas da amostra estudada;
- Verificar o papel da Ciclina D1 como marcador prognóstico no Carcinoma de Pênis;
- Avaliar a expressão de Ciclina D1 entre os casos HPV + (p16 e p53 positivos) e HPV - (p16 e p53 negativos);
- Investigar se a expressão de Ciclina D1, p16 e p53, isoladamente ou em conjunto, pode ser um marcador de metástase linfonodal;
- Correlacionar o índice de proliferação celular (Ki-67) com fatores prognósticos clássicos e com desenvolvimento de metástase linfonodal;
- Implantação do primeiro ambulatório de referência do carcinoma de pênis do Brasil, no estado do Maranhão;
- Garantir acompanhamento ambulatorial adequado ao paciente acometido pelo câncer de pênis, por meio da atenção médica especializada e periódica;
- Rastrear, através de busca ativa no interior do estado, de possíveis casos de carcinoma de pênis e trazê-los ao ambulatório de referência para atendimento e tratamento especializado;
- Alertar a população maranhense quanto ao câncer de pênis, fatores de risco e suas complicações, por meio de ações educativas.
- Atender e tratar novos casos que surjam durante o período de realização do deste projeto, sejam eles oriundos do ambulatório de referência ou da busca ativa no interior do estado;
- Coletar material à fresco desses novos casos para posterior estudos genéticos e moleculares;
- Divulgar os resultados obtidos pelo referido projeto em congressos, revistas científicas e/ou outros meios científicos, visando expandir o debate sobre o tema e consequentemente, possibilitar o aumento das ações de prevenção de tal patologia e do acompanhamento adequado do paciente acometido.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores, este projeto confere riscos mínimos aos pacientes, uma vez que não será realizada nenhuma intervenção direta ou indireta para fins exclusivos desta pesquisa, mas somente aquelas previstas para o diagnóstico e tratamento dos sujeitos da pesquisa. As amostras biológicas a serem utilizadas serão provenientes de procedimentos cirúrgicos prescritos para os casos com diagnóstico clínico e anatomopatológico de câncer de pênis. A coleta dos fragmentos de tumor não implicará em riscos adicionais no tratamento ou na cirurgia, e nem tampouco, em

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

Fax: (98)2109-1223

E-mail: cep@huufma.br



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/HU/UFMA



Continuação do Parecer: 1.093.435

aumento no tempo de operação ou extensão da mesma. Sob o aspecto emocional, os pacientes serão informados pela equipe médica, que sua participação na pesquisa não terá nenhuma influência sobre seu tratamento, de modo que eles devem se sentir livres para escolher entre participar ou não da pesquisa. Assim, é garantida a continuidade do acompanhamento, tratamento, assistência integral e orientação dos pacientes independentemente destes concordarem ou não em participar da pesquisa. Além disso, caso o paciente se sentir constrangido no momento da coleta a equipe médica sempre estará à disposição para que o participante se sinta à vontade. Considerando que o risco relaciona-se à quebra da confidencialidade, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo das informações e guardar as mesmas em local seguro, de modo que, somente os pesquisadores ou o paciente terão acesso a estas informações. No que se refere aos benefícios, este trabalho deverá produzir resultados que não beneficiarão diretamente o sujeito da pesquisa, mas contribuirá para produção de conhecimento sobre a patologia para futuras investigações sobre possíveis marcadores de diagnóstico e prognóstico, o que muito contribuirá para o monitoramento e controle do câncer peniano na população. Os resultados obtidos nesta pesquisa serão comparados aos já existentes na literatura científica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trabalho relevante, pois pretende estudar as características clínicas, epidemiológicas, evolutivas, histológicas e o perfil imunistoquímico do câncer de pênis no Estado do Maranhão. Os resultados permitirão conhecer o perfil epidemiológico dos pacientes com câncer de pênis no Maranhão; conscientizar a população sobre a importância do autocuidado e do risco que o câncer de pênis representa; capacitar recursos humanos para realização de pesquisa científica de modo a implementar ações de prevenção, diagnóstico e tratamento de câncer peniano; além de caracterizar a via das ciclinas nos tumores penianos, relacionados ou não ao HPV, o que poderá ser utilizado como estratégia para o desenvolvimento de marcadores biológicos diagnósticos ou prognósticos mais precoces e específicos, evitando terapêuticas altamente mutilantes e com drásticas repercussões nas relações sociais e familiares dos pacientes. A metodologia está de acordo a que se propõe a pesquisa. A programação para o início da coleta de dados é posterior a avaliação do CEP/HUUFMA (junho a outubro/2015). O estudo apresenta riscos mínimos aos pacientes, uma vez que, não será realizada nenhuma intervenção direta ou indireta para fins exclusivos desta pesquisa, mas somente aquelas previstas para o diagnóstico e tratamento dos sujeitos da pesquisa; em relação à quebra da confidencialidade, os pesquisadores se comprometem a manter sigilo das informações e guardar as mesmas em local seguro, de modo que, somente os pesquisadores ou o paciente terão acesso a estas informações. Quanto aos

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

Fax: (98)2109-1223

E-mail: cep@huufma.br



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/HU/UFMA



Continuação do Parecer: 1.093.435

benefícios apresentados pelo pesquisador, os mesmos são indiretos, e estão relacionados ao acompanhamento futuro dos pacientes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo cumpre com as exigências da Resolução CNS/MS nº 466/12 em relação aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), Projeto de pesquisa original na íntegra, Declaração de compromisso em anexar os resultados na Plataforma Brasil garantindo o sigilo, Orçamento financeiro detalhado e Autorização do Gestor para a realização da coleta de dados.

Recomendações:

Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA solicita que se possível os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O presente protocolo atende as exigências da resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares, estando APTO para a sua realização.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa-CEP-HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

Fax: (98)2109-1223

E-mail: cep@huufma.br

11 APÉNDICE

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
LABORATÓRIO DE IMUNOFLOURESCÊNCIA E MICROSCOPIA
ELETRÔNICA

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

Você está sendo convidado a participar voluntariamente do projeto de pesquisa **ANÁLISE CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA, HISTOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DO CÂNCER PENIANO NO ESTADO MARANHÃO.**

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

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO ESTUDO

O aparecimento de tumor no pênis é um fato não muito raro no Estado do Maranhão. Isso pode acontecer por diferentes motivos. Esta pesquisa tem como principal objetivo estudar as possíveis causas para o surgimento dessa doença, principalmente os aspectos relacionados com a presença do vírus HPV e alterações no tecido.

De que forma posso auxiliar neste estudo?

Você pode auxiliar autorizando que o material resultante da cirurgia para remoção do tumor e os resultados dos exames possam ser utilizados nesta pesquisa.

Quais os riscos e limites que podem ser encontrados nos exames?

O paciente não terá nenhum risco a mais, pois todo o procedimento cirúrgico será realizado conforme a prescrição médica.

Os resultados obtidos para essa pesquisa são absolutamente confidenciais, portanto, serão comunicados somente à pessoa ou responsável e ao profissional médico que acompanha o paciente.

APÊNCIDE B- ENTREVISTA ESTUDO CÂNCER DE PÊNIS NO
MARANHÃO.

PROF. DR. GYL EANES BARROS SILVA

Pesquisador				Data
CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS				
1) Número da peça				
2) Instituição				
3) Telefone				
4) Endereço				
5) Nome				
6) Idade				
7) Sítio(s) anatômico(s) do tumor	a) Glânde	b) Sulco coronal	c) Prepúcio	
8) Tamanho do tumor	7cm			
9) Número de secções				
10) Nível anatômico da invasão	Glânde	a) Lâmina própria	b) Corpo esponjoso	c) Túnica albugínea
	Prepúcio	a) Lâmina própria	b) Dartos	c) Pele
11) Espessura do tumor	(Em mm)			
12) Tipo histológico	(Conforme OMS)			
13) Grau histológico	I	II	III	
14) Invasão vascular	Não			
15) Invasão perineural	Não			
16) Margens cirúrgicas	a) Uretra ou periuretral	b) Pele	c) Fâscia	d) Corpo cavernoso
17) Neoplasia peniana	a) Diferenciada	b) Verrucosa, basiloide, basiloide-verrucosa		c) Outra
18) Líquen escleroso	a) Em tecidos adjacentes ao pênis	b) Em tecidos adjacentes ao câncer invasivo	c) No pênis	
CARACTERÍSTICAS SOCIOECONÔMICAS				
19) Residência	a) Urbana	b) Suburbana	c) Rural	
20) Formação educacional	a) Nenhuma	b) Primária	c) Secundária	d) Terciária
21) Renda familiar	a) menor que salário mínimo		b) maior que um salário mínimo	
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS				
22) Tabagismo	a) Nega			
	b) Refere		b.1) Idade de início	
			b.2) Idade de término	
		b.3) N° de cigarros/dia		
23) Características do prepúcio	a) Prepúcio longo			
	b) História de fimose			
	c) Circuncisão prévia	Idade:		
24) Verruga genital	a) Refere	b) Nega		
25) Higiene genital	a) Pobre/moderada	b) Boa		
26) História de DST	a) Refere	b) Nega		
27) História sexual	a) Idade do primeiro coito:			
	b) N° de parceiras sexuais		b.1) Menor que 6	
			b.2) Entre 6 e 10	
			b.3) Maior que 10	
28) Prática de zoofilia	a) Refere	b) Nega		

APÊNDICE C - DADOS DO PRONTUÁRIO

1. Data de admissão:
2. Idade de admissão:
3. Data de nascimento:
4. Residência:
5. Contato:
6. Naturalidade:
7. Profissão:
8. Instrução: () Analfabeto () Fundamental incompleto () Fundamental completo ()
Médio incompleto () Médio completo () Superior incompleto
9. Estado civil: () Solteiro () Casado () Separado () Ignorado () Viúvo
10. Orientação sexual: () Hetero () Homo () Bi () Ignorado
11. Hábitos sexuais: () Parceiro único () Parceiros múltiplos () Ignorado
12. Idade do primeiro coito:
13. Cor da pele: () Branca () Amarela () Negra () Ignorado () Parda
14. Doença prévia: () Ferida () Dor () Inflamação () Disúria
15. () Prurido () Sangramento () outros
16. Tempo de evolução:
17. Antecedentes venérios: () Não () Sim
18. Postectomia: () Não () Não referido () Sim () Ao nascimento () Idade adulta ()
Recente () Ignorado
19. Fimose: () Sim () Não () Não referido
20. Tabagismo: () Não () Sim cigarros/ dia; anos; () Ignorado
21. Etilismo: () Não () Sim
22. Data da cirurgia:
23. Cirurgia: () Amputação parcial () Amputação total () Exérese da lesão ()
Postectomia () Emasculação () Não descrita
24. Complicações da amputação: () Não () Infecção () Deiscência () Estenose ()
Hemorragia () Ignorado
25. Recidiva: () Não () Sim Data:
26. Local da recidiva: () Coto () Regional () Pulmão () Ossos () Fígado () Outros
27. Metástase linfonodal: () Sim () Inguinal () Inguino-ilíaco () ignorado
() Direito () Esquerdo

28. Esvaziamento linfonodal: Sim Não
29. Data do esvaziamento: //
- Inguinal Inguino-ilíaco ignorado
- Direito Esquerdo
30. Complicações da linfadenectomia: Não
- Infecção Deiscência Hematoma Necrose Linfedema
- Rotura de vasos.
31. Radioterapia: Sim tempo/ciclos Não
32. Quimioterapia: Sim tempo/ciclos Não
33. Data do último seguimento:
34. Situação do seguimento: Vivo s/doença Vivo c/doença Óbito p/câncer
- Óbito p/outras causas Perdido de vista.
35. Estadiamento TNM

12. ARTIGO CIENTÍFICO

12.1 Nome do periódico com classificação na webqualis CAPES

Nome da revista: Journal of Cancer Survivorship

Fator de impacto: 3.051

12.2 Normas editoriais/normas para autores

O artigo deve conter os seguintes tópicos: página de título, resumo, introdução, método, resultado, discussão, responsabilidade ética dos autores, conformidade com padrões éticos e referências.

Página de título: Nesta página do artigo deverá ser indicado o título, nome completo dos autores, endereços institucionais e autor correspondente.

Resumo: Não deve conter mais que 250 palavras e deve ser dividido nas seguintes seções (objetivo, métodos, resultados, conclusões, implicações para sobreviventes de câncer), fornecer entre 4 a 6 palavras chave.

Introdução: Deverá ser descrita de forma clara e objetiva apontando o motivo do estudo.

Método: Incluir o local de estudo, descrever os processos de realização e o tipo de análise estatística utilizada.

Resultados: As tabelas devem ser enumeradas e citadas no texto em ordem numérica consecutiva, utilizar no máximo 4(tabelas e/ou gráficos).

Discussão: Incluir as implicações existentes no contexto da pesquisa realizada.

Conclusão: Destacar os principais achados.

Abreviações: devem ser definidas na primeira menção e citadas no texto na sequência de utilização.

Agradecimentos: Agradecimentos de pessoas, subsídios, fundos, etc. devem ser colocados em uma seção separada na página de título. Os nomes das organizações de financiamento devem ser escritos por extenso.

Referências: Todas devem ser citadas e enumeradas consecutivamente, entre colchetes na ordem de citação no texto. A lista de referência deverá ser formatada antes da submissão.

Responsabilidade ética dos autores: O consentimento para enviar foi recebido explicitamente de todos os co-autores, bem como das autoridades responsáveis - tacitamente ou explicitamente no instituto / organização onde o trabalho foi realizado, antes de o trabalho ser submetido.

Os autores cujos nomes aparecem na submissão contribuíram suficientemente para o trabalho científico e, portanto, compartilham a responsabilidade coletiva e a responsabilidade pelos resultados.

Conformidade com padrões éticos: Destacar a existência de conflito de interesse.

12.3 Artigo

Fatores preditivos de pacientes com câncer de pênis submetidos a linfadenectomia em uma região de alta incidência do Nordeste Brasileiro.

Athienne Driele Maniva Teixeira do Nascimento^{1*}, Jaqueline Diniz Pinho², Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior³, Gyl Eanes Barros Silva⁴

1. **Departamento de Pós graduação PPGSAD – UFMA**
Email:athienneteixeira@gmail.com/ (99)982182229
2. **Doutora – UFPA**
Email:jack-gene@hotmail.com/(98)981481742
3. **Departamento de Pós graduação PPGSAD – UFMA**
Email:augustojunior.ufma@gmail.com/
4. **Departamento de Patologia – UFMA**
Email:gyleanes@fmrp.usp.br/

***Correspondência: athienneteixeira@gmail.com**

Resumo

Objetivo: Analisar possíveis parâmetros clínico-patológicos preditores de metástase linfonodal, além de avaliar o impacto da linfadenectomia na sobrevida desses pacientes.

Métodos: Estudo dos pacientes com diagnóstico de câncer de pênis submetidos à linfadenectomia regional no Instituto Maranhense de Oncologia (IMOAB) e Hospital Universitário Presidente Dutra (HUPD), na cidade de São Luís – MA. Os pacientes foram atendidos no período de Janeiro de 2009 a Setembro de 2017.

Resultados: Foram analisados 55 casos com média de idade de 55,4 anos (faixa de 25 a 84 anos), a média de tempo entre o início dos sintomas e o início do tratamento foi de 24,4 meses. Entre os pacientes que não possuíram linfonodos palpáveis na primeira consulta, 51% foram acometidos por metástase inguinal. Na análise multivariada, a presença de invasão angiolinfática ($p=0.029$) e a ausência de coilocitose ($p=0.001$) foram fatores preditores para metástase linfonodal. Os pacientes que foram submetidos à linfadenectomia profilática apresentaram uma sobrevida livre de doença de 25,4 meses ($\pm 5,81$), e os que realizaram o procedimento tardiamente 19,9 meses ($\pm 3,12$).

Conclusão: A invasão angiolinfática e a ausência coilocitose parecem ser fatores preditores de metástase linfonodal. A submissão de pacientes com risco para metástase a linfadenectomia profilática pode melhorar a sobrevivência dos pacientes.

Implicação para sobreviventes de câncer: A linfadenectomia profilática em pacientes inseridos em grupos de risco para metástase inguinal, pode causar um impacto positivo na sobrevida. Foi considerado marcador histopatológico de risco para metástase linfonodal a invasão angiolinfática e a ausência de coilocitose.

Palavras-Chave: Câncer de pênis; Linfadenectomia; Preditor; Metástase; Sobrevida.

Introdução

O Câncer de Pênis (CP) é diagnosticado com discrepantes diferenças mundiais, acomete homens com uma frequência de 1/100.000 nos EUA, no Reino Unido representa 0,6/100.000 dos cânceres em homens. O Brasil destaca-se entre os países em desenvolvimento que apresenta altas taxas de CP, com a distribuição de 2,9 -6,8/100.000 habitantes [1 -3]. Entre os subtipos de CP 95% correspondem ao carcinoma espinocelular [4]. Dentre os fatores

de risco relacionados ao HPV destacam-se: histórico de fimose, infecção pelo HPV, tabaco, baixas condições sócio-econômicas que culminam em hábitos precários de higiene, além de repetidas escoriações penianas [5-6].

A doença possui um início lento apresentando lesões superficiais que se aprofundam no tecido peniano e invadem o córion, o tecido esponjoso e corpos cavernosos. A principal via de disseminação tumoral é a via linfática, sendo que, o comprometimento linfonodal é o mais importante fator prognóstico e ainda não existem parâmetros capazes de predizer com segurança o status linfonodal e comprometimento ganglionar [7-8].

Observa-se que a presença de linfonodos palpáveis na avaliação clínica dos pacientes varia entre 20 a 96 %. A presença da hiperplasia ganglionar é muito comum e a infecção nesses sítios dificulta a avaliação linfonodal [9-10]. Assim, 20% dos linfonodos clinicamente negativos apresentam micro metástase ao diagnóstico anatomopatológico e 50% dos linfonodos clinicamente positivos não apresentam diagnóstico de metástase na biópsia tumoral[11].

Dessa forma, uma das maiores controvérsias na literatura é em relação ao melhor momento da abordagem dos linfonodos inguinais no CP [12]. Logo, este tipo de procedimento tem sido frequentemente realizado de forma profilática, apesar de ser associado a alta morbidade dos pacientes [13,14,15].

Em regiões de baixo índice sócio econômico como o nosso estado, tal conduta se justifica pelo fato de muitos pacientes abandonarem o tratamento [16-17]. Com base nesses dados, esse trabalho procurou analisar parâmetros clínico-patológicos, que fossem preditores de metástase linfonodal, além de avaliar o impacto da linfadenectomia na sobrevida desses pacientes.

Materiais e métodos

Foram utilizados dados dos pacientes com diagnóstico de CP atendidos no Instituto Maranhense de Oncologia (IMOAB) e Hospital Universitário Presidente Dutra(HUPD), na cidade de São Luís – Ma que foram atendidos no período de janeiro de 2009 a setembro de 2017 e foram submetidos a linfadenectomia.

Não foram incluídos na pesquisa os casos que possuíam dados incompletos em relação a: realização da linfadenectomia e características histológicas.

Após seleção dos casos, o material anatomopatológico foi submetido a uma revisão por um patologista (GEBS), que selecionou a área do tumor com maior representatividade. Foram realizados cortes de 3 μ m, para a confecção de blocos de lâminas correspondentes a cada caso com coloração de hematoxilina-eosina.

Determinação das variáveis

Foram consideradas a idade, topografia da lesão, presença de lesão peniana infectada, linfonodos palpáveis, tempo entre início da lesão e a procura pelo serviço de saúde, tipo da linfadenectomia realizada, se profilática ou terapêutica e a presença de metástase linfonodal após avaliação histológica. É importante observar que durante a clivagem do material de linfadenectomia todos os linfonodos encontrados foram incluídos para análise.

Para a determinação histológica dos subtipos adotou-se a classificação da WHO [18]. A graduação histológica se deu através do padrão de Broders de acordo com o Royal College of Pathologists [19], os tumores foram reestadiados segundo o acordo de estadiamento da 8ª edition of the American Joint Committee on Câncer (AJCC) Câncer Staging Manual [20].

Os critérios de seleção dos pacientes que foram submetidos a linfadenectomia profilática ou terapêutica seguiram as recomendações da Associação Européia de Urologia (EAU)[21]. Os pacientes com tumores de baixo risco (pTis, pTa G1, pT1a e G1), foram mantidos em vigilância [22]. Realizaram linfadenectomia profilática os pacientes com tumores estadiados em \geq pT1b e/ou \geq G2 sem linfonodos palpáveis. Pacientes que possuíam linfonodos palpáveis, foram submetidos a linfadenectomia considerada terapêutica, aqueles que apresentaram sinais clínicos de infecção ao exame físico, foi implementada antibioticoterapia antes da realização da linfadenectomia [23].

Vale ressaltar que nos serviços de referência que este estudo foi realizado, as condutas terapêuticas não são geradas a partir de um protocolo institucional. A abordagem do paciente no que se refere a linfadenectomia profilática/terapêutica são realizadas baseadas na conduta individual de cada urologista.

Avaliação do seguimento

Para a determinação do seguimento, os pacientes que realizaram linfadenectomia foram divididos em dois grupos: com e sem metástase. Após o período final do seguimento, os pacientes foram classificados em: vivos sem câncer e vivos com câncer, óbitos associados ao câncer e os que perderam seguimento.

Análise estatística

Os dados foram analisados no programa (SPSS 23.0, Chicago, IL, USA). A associação entre a presença ou ausência de metástase linfonodal com os dados clínicos e histopatológicos foi realizada com o teste Qui-Quadrado. A análise de sobrevida foi realizada usando o método Kaplan Meier para determinar a sobrevida livre de doença e a sua relação com a linfadenectomia precoce ou tardia. O teste Long Rank foi usado para comparar as curvas de sobrevida. Para todos os testes realizados foi considerado o $p \leq 0.05$ como estatisticamente significativo.

Aspectos éticos

Esta pesquisa segue os preceitos e normas da resolução com Conselho Nacional de Saúde , resolução 510/16, e tem aprovação pela comissão científica COMIC _ HUUFMA com o parecer de aprovação número 1.093.435 e CAAE: 43774315.7.0000.5086.

Resultados

No período de janeiro de 2009 a setembro de 2017 foram avaliados 55 pacientes submetidos a linfadenectomia e que preencheram os critérios de seleção. A idade dos pacientes variou entre 25 a 84 anos com média 55,4 anos.

Observou-se que a glândula foi o local mais acometido por lesões 55%(30), a penectomia parcial foi o tipo de cirurgia mais presente 36%(65). A procura pelo serviço de saúde no intervalo entre o início dos sintomas e a primeira consulta foi maior que 12 meses em 40%(22) casos. A maioria dos pacientes 53%(29) não possuíam linfonodos palpáveis na

primeira consulta, 67%(37) realizaram a linfadenectomia profilática; 51%(28) da amostragem tiveram metástase linfonodal. Observa-se que o tumor primário esteve estadiado em 51%(28) dos casos entre pT1a e pT2, e G 1-2 67%. Em relação ao tamanho do tumor 51%(28) apresentaram lesões dimensões entre 2,1-5,0cm, a invasão perineural e angiovascular esteve ausente na maioria dos casos com percentuais de 60% e 71% respectivamente. Para a descrição completa dos dados vide a Tabela 1.

Tabela 1. Características clínico patológicas e status linfonodal dos 55 pacientes com CP que foram submetidos a linfadenectomia.

Características	Variáveis	N	%
Tipo histológico	Carcinoma epidermóide	55	100%
	Glande	30	55%
Topografia	Glande e prepúcio	6	11%
	Glande , prepúcio e corpo peniano	6	11%
	Glande e corpo peniano	2	4%
	Prepúcio e corpo peniano	6	11%
	NI*	5	8%
Tipo de cirurgia	Penectomia parcial	36	65%
	Penectomia total	17	31%
	NI*	2	4%
Tumor primário	pT1b – pT2	26	47%
	pT3 – pT4	29	53%
Grau	1 – 2	34	62%
	3	21	38%
Invasão perineural	Presente	22	40%
	Ausente	33	60%
Invasão angiolinfática	Presente	16	29%
	Ausente	39	71%
Linfonodos palpáveis na primeira consulta	Presente	26	47%
	Ausente	29	53%
Coilocitose	Presente	34	62%
	Ausente	17	31%
	NI*	4	7%

Tabela 1. Características clínico patológicas e status linfonodal dos 55 pacientes com CP que foram submetidos a linfadenectomia.

Linfadenectomia	Profilática	32	58%
	Terapêutica	23	42%
Metástase	Presente	28	51%
	Ausente	27	49%
Início dos sintomas e a primeira consulta	≤ 11 meses	14	22%
	≥ 12 meses	22	40%
	Não sabia referir	19	38%
Tamanho do tumor	2,1 – 5,0	28	51%
	≥ 5,1cm	24	44%
	NI*	3	5%

N: Frequência absoluta ; **%:** Frequência relativa; ***NI:** Não informados.

Na Tabela 2 são demonstrados possíveis fatores considerados como predisponentes ou não para a presença de metástase inguinal. A ausência de invasão angiolinfática e a presença de coilocitose mostraram valor significativo de ($p=0,0037$) e ($p=0,001$) respectivamente e estiveram relacionadas a ausência de metástase linfonodal.

Tabela 2. Associação entre variáveis clínicas e histológicas com a presença ou ausência de metástase linfonodal.

Características	LN+	LN-	P valor*
Tamanho do tumor			
2,1 – 5,0 cm	15	13	0.15
≥ 5,1cm	10	14	
Grau histológico			
I – II	17	17	1.0
III	11	10	
Tumor primário(pT)			
pT1 – pT2	11	15	0.174
pT3 – pT4	17	12	

Tabela 2. Associação entre variáveis clínicas e histológicas com a presença ou ausência de metástase linfonodal.

Invasão perineural			
Presente	10	12	0,58
Ausente	18	15	
Invasão angiolinfática			
Presente	12	4	0,0037
Ausente	16	23	
Linfadenectomia			
Terapêutica	11	12	0,78
Profilática	17	15	
Coilocitose			
Presente	11	23	0,001
Ausente	14	03	

*Grau de significância das associações realizadas pelo teste do qui-quadrado.

No modelo multivariado com variáveis selecionadas e descritas na Tabela 3, a presença de invasão angiolinfática($p=0.029$) e a ausência de coilocitose ($p=0.001$) foram fatores preditores para metástase linfonodal. Os pacientes que foram acometidos de invasão angiolinfática possuíam um risco 7 vezes maior de desenvolver metástase quando comparado a outras variáveis.

Tabela 3. Regressão logística entre metástase linfonodal (variável dependente) e variáveis histopatológicas.

Variável	P – valor	OR	IC
Grau	0,288	2,333	0,101 – 2,232
Linfonodos palpáveis	0,888	1,106	0,023 – 0,821
Invasão angiolinfática	0,029	7,224	0,831 – 22,730
Invasão perineural	0,099	0,24	0,126 – 2,488
Tumor primário	0,649	1,389	0,124 – 2,017
Coilocitose	0,001	0,088	2,628- 50,718

A análise da sobrevida através do teste de Log Rank demonstra que os pacientes que realizaram a linfadenectomia precocemente apresentaram uma sobrevida livre de doença de 25,4 meses ($\pm 5,81$), enquanto que os que realizaram a linfadenectomia tardia, 19,9 meses ($\pm 3,18$) embora não houvesse significância estatística ($p= 0,81$).

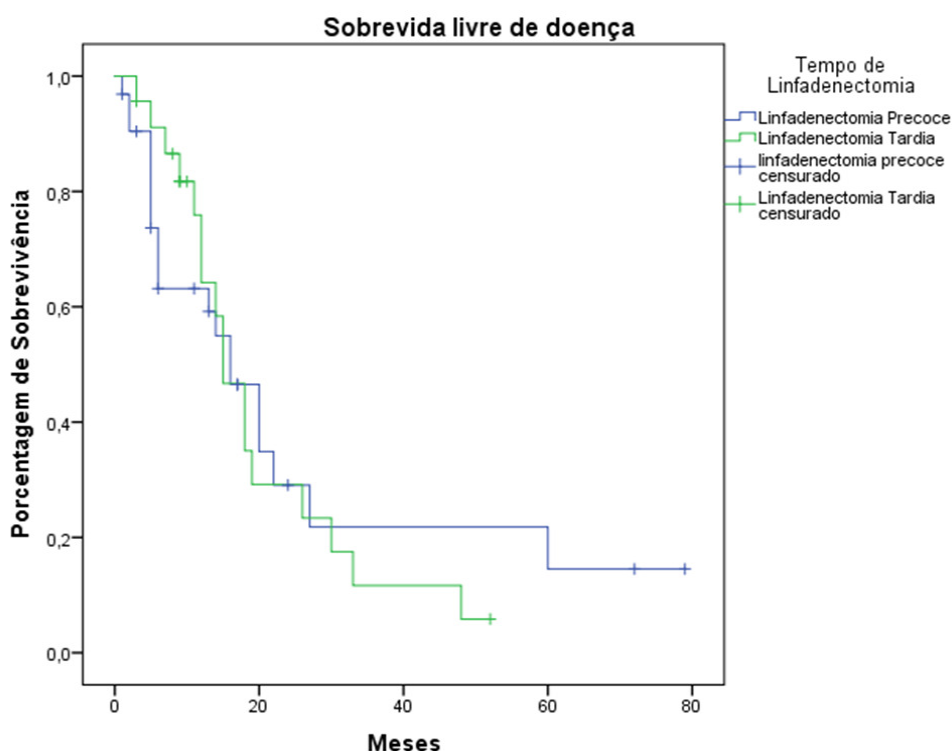


Figura 1: Gráfico de sobrevida livre de doença dos pacientes com CP que foram submetidos a linfadenectomia regional.

Discussão

A média de idade encontrada em nossa amostra foi de 55,4 anos, essa faixa etária é semelhante a literatura no que se refere ao pico de incidência do CP entre a quinta e sexta década de vida [1,3,13,24-25]. Chama a atenção, estudos que apresentam a ocorrência de CP em indivíduos abaixo de 40 anos, com taxas de 39,9% [26], 5,8% [27] e 22% [28]. Em nossa amostra, 13% pertenciam a uma faixa de idade menor que 40 anos.

O perfil epidemiológico predominante dos pacientes deste estudo são de homens casados, lavradores, com o nível fundamental de escolaridade e que demoraram em procurar o serviço de saúde. Os dados descritos seguem os achados da literatura em relação a essas condições sócio-econômicas [28-30]. A maioria dos pacientes apresentaram lesões avançadas

e foram submetidos a penectomia parcial. Alguns autores afirmam que a demora do início do tratamento implica em doença local avançada e, conseqüentemente, amputações do tipo parcial ou total são necessárias[29,31,32].

Outro dado relevante caracterizado nos resultados foi a relação significativa entre ausência da invasão angiolinfática e a ausência de metástase linfonodal. A literatura é divergente quando relaciona a embolização angiolinfática como um fator preditivo para metástase. Alguns trabalhos citam essa variável como um fator importante e preditor para metástase [33,34]. Enquanto que outros estudos descrevem que a invasão angiolinfática não foi caracterizada como um fator para metástase linfonodal [13-35]. A invasão perineural também é um parâmetro considerado em muitos estudos como preditor de metástase [36,37,38]. Entretanto, em nosso trabalho não foi encontrada relação significativa.

Na análise, de associação a presença da coilocitose mostrou significância. Notou-se a presença de coilocitose em maior quantidade entre os pacientes que não possuíam metástase linfonodal. No estudo de De Paula et al.[39] foi encontrada uma frequência maior de coilocitose entre os pacientes de CP que possuíam metástase linfonodal, porém sem diferença estatística.

Na nossa análise multivariada a presença de invasão angiolinfática e a ausência de coilocitose mostraram-se como únicos preditores com significância, ou seja, podem alterar a ocorrência de metástase inguinal, porém, a coilocitose é demonstrada como um possível preditor para baixo risco de metástase (OR=0,088). A invasão angiovascular é mais comumente citada na literatura do que a coilocitose como fator associado a metástase linfonodal no CP [31- 40].

A presença do HPV tem sido estudada de forma exaustiva nos últimos anos em tumores de colo de útero e cabeça e pescoço[41]. Apesar disso, existem poucas publicações a respeito da influência prognóstica da infecção por HPV em CP. Em cânceres de cabeça e pescoço a presença do HPV é descrita em alguns estudos como um fator relacionado a um menor risco para metástase [42-43]. Em estudos sobre CP Bezerra et al.[44], não encontrou correlação prognóstica entre a presença do HPV relacionada a essa neoplasia. No entanto, a presença da infecção viral esteve relacionada a tumores mais diferenciados no estudo de Gregoire et al.[45].

A coilocitose ainda é uma variável pouco estudada e apenas um artigo demonstra relação entre presença da embolização angiolinfática e a ausência de coilocitose como fatores prognósticos para o risco de metástase [37]. De Paula et al.[39] não encontrou em seu estudo a presença de coilocitose como fator independente para o risco de metástase. Entretanto, vale ressaltar que são necessários mais estudos nessa área que possa estabelecer de forma mais criteriosa e incontestável a relação entre a coilocitose como um preditor para metástase linfonodal

As novas estratégias de manejo para o envolvimento dos linfonodos no CP procuram realizar uma estratificação de risco apropriada dos pacientes, são úteis para o planejamento terapêutico e otimizam os resultados oncológicos através da avaliação dos fatores prognósticos do paciente [46,47].No tocante ao exame clínico dos linfonodos, a literatura menciona que apenas 20% dos linfonodos não palpáveis apresentam metástase [9,33]. Fazendo um contraponto com a literatura, nesta casuística, 51% dos pacientes sem linfonodos palpáveis na admissão foram acometidos por metástase linfonodal, demonstrando uma taxa de falso negativo mais alta que a encontrada por muitos autores. [48-49].Tais achados podem estar relacionados com a demora do paciente em procurar o serviço de saúde, esse fator poderá influenciar futuramente na decisão clínica do paciente NO clinicamente.

Alguns autores indicam a linfadenectomia profilática, desde que o paciente esteja inserido devidamente em grupos de risco para metástase [15,50]. We et al.[51] também descreve benefícios para pacientes que realizam linfadenectomia profilática. Alguns serviços de referência em CP adotam essa conduta baseando-se em trabalhos que compararam pacientes que foram submetidos a vigilância e posteriormente a linfadenectomia terapêutica.Os achados demonstram que vários desses pacientes não puderam mais ser submetidos a cirurgia de resgate por apresentar doença criticamente avançada e irressecável[52-54].

Nesse contexto, existem evidências que apoiam a linfadenectomia profilática para pacientes que possuem tumoração peniana primária com risco de metástase. Estudos recentes afirmam que a linfadenectomia pode gerar um impacto positivo na sobrevida dos pacientes com CP [47-51]. Nosso estudo corrobora com esses achados pois embora não tenha sido estatisticamente significante, os pacientes que realizaram linfadenectomia profilática apresentaram uma sobrevida livre de doença maior em 5,5 meses quando comparados com os pacientes que realizaram o procedimento tardiamente.

Limitações

Devido as condições de armazenamento nos blocos de penectomia, impossibilitando uma revisão de lâminas mais adequada e dados incompletos nos prontuários dos pacientes, não foi possível realizar este estudo com os 189 casos que existiam inicialmente, restando apenas 55 casos que se enquadraram em nossos critérios metodológicos.

Conclusão

Em conclusão, nosso estudo demonstrou em análise multivariada que a presença de invasão angiolímfática e a ausência de coilocitose mostraram-se como preditores para metástase linfonodal. Embora não houvesse significância estatística, os pacientes que foram submetidos a linfadenectomia profilática apresentaram uma sobrevida livre de doença maior em relação aos que foram submetidos a linfadenectomia terapêutica.

Responsabilidade ética dos autores

Todos os autores leram, comentaram e aprovaram o manuscrito.

Conformidade com padrões éticos

Conflito de interesse

Os autores declaram que não tem conflito de interesse.

Referências

1. Bray F, Klint A, Gislum M, Hakulinen T, Engholm G, Tryggvadóttir L et al. Trends in survival of patients diagnoses with male genital cancer in the Nordic countries, 1964 – 2003 followed up until the end of 2006. *Acta Oncol.* 2010;49: 644-54. DOI: 10.3109 / 02841860903575315
2. Arya M, Li R, Pegler K, Sangar V, Kelly JD, Minhas S et al. Long- term trends in incidence, survival and mortality of primary penile câncer in Englang. *Cancer causes Control.* 2013;24: 2169-76. DOI: 10.1007 / s10552-013-0293-y
3. Christodoulidou M, Sahdev V, Houssein S, Muneer A. Epidemiology of penile cancer. *Curr Probl Cancer.* 2015;39: 129-36, 2015. DOI: 10.1016/j.currprobcancer.2015.03.010
4. Renaud – Vilmer C, Cavelier-BalloyB, Verola O, Morel P, Servant JM, Desgrandchamps F, Dubertret L: Analysis of alterrations adjacente to invasive squamous cell carcinoma of the pênis and their relationship with associed carcinoma. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2010, 62(2):284-290.
5. Korkes F, Silva II JL, Pompeo AC. Circuncisão por motivos médicos no sistema público de saúde do Brasil: epidemiologia e tendências. *Hospital Israelita Albert Einstein.* 2012;10(3): 242-46. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-45082012000300015>
6. Morris BJ, Krieger JN. Penile Inflammatory skin disorders and the preventive role of circumsion. *Int J Prev Med.* 2017;4(8): 32. DOI: 10.4103/ijpvm.IJPVM_377_16
7. Ornellas AA, Seixas AL, Marota A, Wisnescky A, Campos F, de Moraes JR. Surgical treatment of invasive squamous cell carcinoma of the penis: retrospective analysis of 3250 cases. *J.Urol.* 1994;151: 1244-49. DOI: 10.1002/jso.20980
8. Horenblas S. Lymphadenectomy in penile câncer. *Urol.Clin.North Am. Urol Clin North Am.* 2011 Nov;38(4): 459-69. DOI: 10.1016/j.ucl.2011.07.004
9. Catalona WJ. Role of lymphadenectomy in carcinoma of the penis. *UrolClin North Am.* 1988;7: 785-92. PMID: 7456187
10. Kamat MR, Kulkarni JN, Tongaonkar HB. Carcinoma of the penis: the Indian experience. *International Journal Surgical Pathology.* 1993;52: 50-55. DOI: <https://doi.org/10.1002/jso.2930520114>.
11. Sufrin G, Huben R. Benignant and malignant lesions of the penis. In: Gillewnateer JY. *Adult and pediatric urology.* 2. ed. Chicago: Year Book Medical; 1987. P.1462-3.
12. Kofman L, Ornellas AA, Koifman ACB, Tobias-Machado M. Câncer de Pênis. In: Figueiredo E, Monteiro m, Ferreira A (Org.). *Tratado de Oncologia.* v. 2. 1.ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2013. P. 1605-1615.

13. Batista LL, Fonseca AG, Andrade Filho JFA, Moreira RR, Regis JS Ferreira, PRC. Estudo das linfadenectomias inguinais realizadas em pacientes portadores de câncer de pênis em hospital de referência da Amazônia. *Revista Paraense de Medicina*. 2014;28(3). ID: lil-737142
14. Chaux A, Netto GJ, Rodrigues IM, Barreto JE., Oertell J, Ocampos S, Boggino H, Cotas R, Bosh FX, de Sanjose: Epidemiologic profile, sexual history, pathologic feature, and human papillomavirus status of 103 patients with penile carcinoma. *World Journal of urology* 2013, 31(4): 861 – 867.
15. De Paula AA, Neto JCA, Cruz AD, Júnior RF. Carcinoma epidermóide do pênis: considerações epidemiológicas, histopatológicas, influência viral e tratamento. *Revista brasileira de cancerologia*. 2005;51(3): 243-52. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232010000700018>
16. Paiva GR. Carcinoma de pênis: panorama da doença no estado da Bahia: considerações epidemiológicas e histopatológicas [Dissertação]. Salvador, BA: Universidade Federal da Bahia; 2010. 70 p.
17. Nunes DS, Magalhães FJS, Castro MV, Brólio CH, Amaral VF, Barbosa C et al. Diagnóstico clínico e histopatológico do câncer de pênis. *Revista de Medicina de Minas Gerais*. 2003;13(4): 248-50.
18. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *European Urology*. 2016;70: 93–105. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.029> 0302-2838/# 2016
19. Royal College of Pathologists. Standards and Datasets for Reporting Cancer Data et for penile cancer histopathology reports. London: the Royal College of Pathologists;2006. 13 p.
20. Edge SB, Compton CC. American Joint Committee on Cancer. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8. ed. New York: Springer; 2017.
21. SOLSONA E, Algaba F, Horenblas S, et al. EAU guidelines on penile cancer. *European Urology*. 2004;46:1-8.
22. Hughes BE, Leijte JA, Kroon BK, Shabbir MA, Swallow TW, Heenan SD et al:GG. Lymph node metastasis in intermediate-risk penile squamous cell cancer: a two-centre experience. *Eur Urol*. 2010;57: 688-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2009.07.004>
23. Gregory J, Diorio, Andrew R. Leone, Philippe E. Spiess. Management of penile cancer. *2016 Oct*;96: 15–21 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.urology.2015.12.041>

24. Favorito LA, Nardi AC, Ronalsa M, Zequi SC, Sampaio FJB, Glina S. Epidemiologic study on penile cancer in Brazil. *International Brazilian Journal of Urology*. 2008;34(5): 587–93. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S167755382008000500007>
25. Fonseca GA, Pinto JASA, Marques MC, Drosdoski FS, Fonseca Neto LOR. Estudio epidemiológico sobre el cancer de pene en el estado de Pará. *Revista pan – amazônica saúde*. 2010;1(2): 85-90. DOI: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000200010>
26. Barros E N, Melo MCB. Câncer de pênis: perfil sócio-demográfico e respostas emocionais à penectomia em pacientes atendidos no Serviço de Psicologia do Hospital de Câncer de Pernambuco. *Rev. SBPH*. Rio de Janeiro, 2009;12(1).
27. Paiva GR, Oliveira AB, Athanazio DA, Freital A. Penile cancer: impact of age at diagnosis on morphology and prognosis. *IntUrolNephrol*.2015;47(2):295-9. DOI: 10.1007/s11255-014-0875-y
28. Reis AAS, Paula LB, Paula AAP, Saddi VA, Cruz AD. Aspectos clínico-epidemiológicos associados ao câncer de pênis. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2010;15: 1105-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232010000700018>
29. Pow-Sang MR, Ferreira U, Pow-Sang JM, Nardi AC, Destefano V. Cancer of penis. *Can. Contr. J.n.4*, v. 9, p.305 – 314, 2002. DOI: 10.1016/j
30. Rippentrop JM1, Joslyn SA, Konety BR. Squamous cell carcinoma of the penis. Evaluation of data from the surveillance, epidemiology, and results program. *Cancer*. 2004;101(6): 1357-62. DOI: 10.1002/cncr.20519
31. Slaton JW, Morgenstern N, Levy DA, Santos MW Jr, Tamboli P, Ro JY et al. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: independent prognosticators for inguinal lymph node metastasis in penile squamous cancer. *J Urol* 1997; 165(4):1138-42. PMID: 11257655
32. Guimarães GC1, Rocha RM, Zequi SC, Cunha IW, Soares FA. Penile cancer: epidemiology and treatment. *Current Oncology Reports*. 2011;13(3): 231–9. DOI: 10.1007/s11912-011-0163-2
33. Lopes A, Hidalgo GS, Kowalski LP, Torloni H, Rossi BM, Fonseca FP. Prognostic factors in carcinoma of penis: multivariate analysis of 145 patients treated with amputation and lymphadenectomy. *Journal of Urology*. 1996;156: 1637-42,1996. PMID: 8863559
34. Cubilla AL. The role of pathologic prognostic factors in squamous cell carcinoma of the penis. *Wod journal urology*, v.27.p.169-77,2009. DOI: 10.1007/s00345-008-0315-7
35. Aita GA, Zequi SC, Costa WH, Guimarães GC, Soares FA, Giuliangelis TS. Tumor histologic grade is the most important prognostic factor in patientswith penile cancer and clinically negative lymph nodes not submitted to regional lymphadenectomy. *International Brazilian Journal Urology*.2016;42(7). DOI: 10.1590/S1677-5538. IBJU.2015.0416

36. Slaton JW, Morgenstern N, Levy DA, et al. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: independent prognosticators for inguinal lymph node metastasis in penile squamous cancer. *Journal of Urology*. v.156,p.1138-42, 2001. PMID: 11257655
37. Ornellas. AA, Nóbrega BL, Wei Kin Chin E, Wisnecky A, da Silva PC, de Santos Schwindt AB. Prognostic factors in invasive squamous cell carcinoma of the penis: analysis of 196 patients treated at the Brazilian National Cancer Institute. *J Urol*. 2008;180(4): 1354-9. DOI: 10.1016/j.juro.2008.06.028
38. Velazquez EF, Ayala G, Liu H, Chaux A, Zanotti M, Torres J et al. Histologic grade and perineural invasion are more importante than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2008;32(7): 974- 9. DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181641365
39. De Paula AA, Netto JC, Freitas R Jr, de Paula LP, Mota ED, Alencar RC et al. Penile Carcinoma: The Role of Koilocytosis in Groin Metastasis and The Association With Disease Specific Survival. *The J Urol*.2007. DOI: [https://DOI:10.1016/j.juro.2006.11.063](https://doi.org/10.1016/j.juro.2006.11.063)
40. Ficarra V, Zattoni F, Artibani W, Fandella A, Martignoni G, Novara G et al. Nomogram predictive of pathological inguinal lymph node involvement in patients With squamous cell carcinoma of the penis. *J Urol*. 2006;175: 1700-5. DOI: 10.1016/S0022-5347(05)01003-7
41. Badial RM, Dias MC, Stuqui B, Melli PPDS, Quintana SM, Bonfim CMD et al. Detection and genotyping of human papillomavirus (HPV) in HIV-infected women and its relationship with HPV/HIV co-infection. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Apr;97(14): 9545. DOI: 10.1097/MD.00000000000009545
42. Pytynia KB, Dahlstrom KR, Sturgis EM. Epidemiology of HPV- associated oropharyngeal câncer. *Oral Oncology*. 2014;50(5) :380–386. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2013.12.019.
43. Pannone G, Santoro A, Papagerakis S, Lo Muzio L, De Rosa G, Bufo P. The role of human papillomavirus in the pathogenesisof head & neck squamous cell carcinoma: an overview. *InfectAgent Cancer*. 2011;6: 4-10. DOI: 10.1186/1750-9378-6-4
44. Bezerra AL, Lopes A, Santiago GH, Ribeiro KC, Latorre MR, Villa LL. Human papillomavirus as a prognostic factor in carcinoma of the penis: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. *Cancer*. 2001;91: 2315-21. PMID: 11413520
45. Gregoire L, Cubilla AL, Reuter VE, Haas GP, Lancaster WD. Preferential association of human papillomavirus with high-grade histologic variants of penile-invasive squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1995;87: 1705. PMID: 7473819
46. Leone A, Diorio GJ, Pettaway C, Master V, Spiess PE. Contemporary management of patients with penile cancer and lymph node metastasis. *Nat Rev Urol*. 2017;14(6): 335-47. DOI: 10.1038/nrurrol.2017.47

47. Chipollini J, Tang DH, Gilbert SM, Poch MA, Pow-Sang JM, Sexton WJ, et al. Delay to Inguinal Lymph Node Dissection Greater than 3 Months Predicts Poorer Recurrence-Free Survival for Patients with Penile Cancer. *J Urol*. 2017 Dez;198(6): 1346-52. DOI: 10.1016/j.juro. 2017 .06.076.
48. Pompeo ACL, Billis A. Carcinoma epidermóide do pênis. *Uropatologia – Pênis. Int Braz J Urol* 2003;29: 44-40.
49. Pizzocaro G, Algaba F, Horenblas S, Solsona E, Tana S, Van Der Poel H,. European Association of Urology - Guidelines on Penile Cancer. *European Urology*. 2012;46(1): 1–8. DOI: 10.1016/j.eururo.2010.01.039
50. Heyns CF, Mendoza-Valdés A, Pompeo AC. Diagnosis and staging of penile cancer. *Urology*. 2010;76(2)Suppl 1: 15–23. DOI: 10.1016/j.urology.2010.03.002
51. Wen S, Ren W, Xue B, Fan Y, Jiang Y, Zeng C, Li Y, Zu X. Prognostic factors in patients with penile cancer after surgical management. *World J Urol*. 2018 Mar;36(3): 435-440. DOI: 10.1007/s00345-017-2167-5.
52. McDougal WS, Kirchner FK Jr, Edwards RH, Killion LT. Treatment of carcinoma of the pênis: the case of primary lymphadenectomy. *J Urol*. 1986;136: 38-41. PMID: 3712610
53. Fraley EE, Zang G, Manivel C, NiehanS GA. the role of ilioinguinal lymphadenectomy and significance of histological differentiation in treatment of carcinoma of the penis. *J.Urol*.1989;142:1478. PMID: 2585620
54. Ravi R. Prophylactic lymphadenectomy versus observation versus inguinal biopsy in node negative patients with invasive carcinoma of the penis. *Jpn.J. Clin. Oncol*. 1993;23: 53-58. PMID: 8459642