



Universidade Federal do Maranhão  
Agência de Inovação, Empreendedorismo, Pesquisa, Pós-Graduação e  
Internacionalização  
Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto  
Mestrado Acadêmico



**PERFIL CLÍNICO, HISTOPATOLÓGICO, IMUNO-  
HISTOQUÍMICO E DE INFECÇÃO POR HPV DE  
CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE PÊNIS USUAIS  
COM ÁREAS DE ASPECTO BASALOIDE**

**SYOMARA PEREIRA DE COSTA MELO**

**São Luís**

**2022**

**SYOMARA PEREIRA DA COSTA MELO**

**PERFIL CLÍNICO, HISTOPATOLÓGICO, IMUNO-  
HISTOQUÍMICO E DE INFECÇÃO POR HPV DE  
CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE PÊNIS USUAIS  
COM ÁREAS DE ASPECTO BASALOIDE**

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:** HPV e Câncer

**Orientador:**

Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva

**Coordenador:**

Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade

**São Luís**

**2022**

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

Pereira da Costa Melo, Syomara.

PERFIL CLÍNICO, HISTOPATOLÓGICO, IMUNO-HISTOQUÍMICO E DE INFECÇÃO POR HPV DE CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE PÊNIS USUAIS COM ÁREAS DE ASPECTO BASALOIDE / Syomara Pereira da Costa Melo. - 2022.

89 p.

Orientador(a): Gyl Eanes Barros Silva.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2022.

1. Câncer de pênis. 2. Histopatologia e Imuno-histoquímica. 3. Infecção por HPV. I. Eanes Barros Silva, Gyl. II. Título.

**SYOMARA PEREIRA DA COSTA MELO**

**PERFIL CLÍNICO, HISTOPATOLÓGICO, IMUNO-  
HISTOQUÍMICO E DE INFECÇÃO POR HPV DE  
CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE PÊNIS USUAIS  
COM AREAS DE ASPECTO BASALOIDE**

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.

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

---

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

---

**Prof. Dr. José de Ribamar Rodrigues Calixto**  
Universidade Federal do Maranhão

---

**Prof. Dr. George Castro Figueira de Mello**  
Universidade CEUMA

---

**Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade**  
Universidade Federal do Maranhão

Aos meus pais, pelo exemplo de honradez.  
Ao meu marido e filhos, que pacientemente  
acompanharam todo este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus.

A minha família.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva.

Ao meu amigo, Antônio Augusto Lima Teixeira Júnior.

A todos os membros do GEPAM, Grupo de Estudos em Patologia Molecular.

Ao Centro de Pesquisa Clínica (CEPEC) da Universidade Federal do Maranhão, na pessoa do Prof. Dr. Marcelo Magalhães, e ao Núcleo de Pesquisa em Oncologia da Universidade Federal do Pará, na pessoa do Prof. Dr. André Salim, por todo o suporte dado a realização dos ensaios descritos neste trabalho.

Ao Hospital do Câncer Aldenora Bello e ao Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, pela autorização para que esta pesquisa fosse desenvolvida em suas dependências.

A Professora Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento, que com muita dedicação e compromisso se dedicou à pesquisa no Maranhão e à preservação deste Programa.

Ao Professor Dr. Marcelo Souza de Andrade, que com muito carinho conduz todos os alunos do programa.

A CAPES que permite e estimula a pesquisa e o crescimento científico em todo território nacional, em especial o PPGSAD

A toda a equipe da PPGSAD, em especial ao Sr. José.

Aos meus colegas de trabalho.

A todos os colegas da Turma 18 do PPGSAD.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento desse trabalho.

## RESUMO

**Introdução:** O câncer de pênis é uma doença rara e com elevada morbi-mortalidade, atingindo preferencialmente regiões socioeconômicas menos favorecidas. O diagnóstico e seu perfil prognóstico é definido através de exames morfológicos e a cirurgia ainda é o principal tratamento. **Objetivo:** Caracterizar o perfil clínico-histopatológico, imunohistoquímico e de infecção pelo papilomavírus humano em pacientes do estado do Maranhão/Brasil diagnosticados com Carcinoma de pênis tipo escamocelular (CEC), subtipo usual com áreas de aspecto basaloide e mostrar sua relação com agressividade tumoral. **Métodos:** Pesquisa retrospectiva, com 96 casos de Carcinoma escamocelular subtipo usual de pênis, diagnosticados no estado do Maranhão/Brasil, no período entre 2007 e 2021, separado em dois grupos, o usual com áreas de aspecto basaloide (n=28), representado por grupamentos de células arredondadas, com maior razão núcleo-citoplasma, sem necrose e que não comprometessem > 20% da superfície tumoral. E o grupo sem áreas de aspecto basaloide (N=68). Observado suas características clínico-epidemiológicas, histológicas/imuno-histoquímicas (Ki67, p16 e p53) e de infecção pelo HPV, sendo considerado significativo o resultado com  $p < 0,05$ . **Resultados:** Comparando-se os grupos usual com e sem áreas de aspecto basaloide, observou-se semelhança nas variáveis sociodemográficas relacionadas a idade maior que 60 anos, procedência de residência rural e região norte do estado, cor da pele parda e estado civil casado, assim como nenhuma ou baixa escolaridade e profissão lavrador. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos em relação ao estilo e hábitos de vida, nem aos sintomas referidos, como tabagismo, etilismo, histórico de infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e idade da primeira relação sexual inferior a 18 anos. Majoritariamente, a população apresentou detecção do HPV, ausência de invasão angio-linfática e de comprometimento de corpos cavernosos e da túnica albugínea, bem como presença de invasão perineural, comprometimento de corpo esponjoso e uretra, presença do infiltrado linfocitário peri-tumoral e associação com carcinoma *in situ*. O grupo usual com áreas de aspecto basaloide apresentou diferenças com significância estatística no grau de diferenciação ( $p = 0,001$ ) e estadiamento aplicado ( $p = 0,0042$ ), com predomínio do estágio II e III. Esse grupo também apresentou mais casos com presença de invasão angio-linfática e perineural, de comprometimento de corpos cavernosos e da túnica albugínea, associação com carcinoma *in situ* e comprometimento linfonodal. A amplitude do tempo livre da doença, nos casos possíveis de serem acompanhados, foi menor no grupo usual com áreas de aspecto basaloide que no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide, de 0 a 31 meses e de 0 a 62 meses, respectivamente. **Conclusão:** os CECs usuais, diferentemente dos outros subtipos de CEC, apresentam perfil preditivo-prognóstico variável e precisam reunir muitas informações para melhor administrar o seguimento do paciente. O aspecto basaloide não trouxe resultados com significância estatística na nossa população, apesar de ter mostrado maior percentual fatores de risco sociodemográficos e positividade para critérios histológicos ditos de maior agressividade, como invasão de corpos cavernosos e da túnica da albugínea, presença de invasão angio-linfática e perineural, comprometimento linfonodal. Novas pesquisas são necessárias na busca de critérios preditores dessa doença de elevada morbidade e mortalidade.

**Palavras-chave:** Câncer de pênis. Infecção por HPV. Histologia. Imuno-histoquímica.

## ABSTRACT

**Introduction:** Penile cancer is a rare disease with high morbidity and mortality, affecting preferentially lower socioeconomic regions. The diagnosis and its prognostic profile is defined through morphological examinations and surgery is still the main treatment. **Objective:** To characterize the clinical-histopathological, immunohistochemical and human papillomavirus infection profile in patients from the state of Maranhão, Brazil, diagnosed with squamous cell carcinoma of the penis (SCC), the usual subtype with areas of basaloid aspect and to show its relationship with tumor aggressiveness. **Methods:** Retrospective study, with 96 cases of Squamous cell carcinoma of the penis diagnosed in the state of Maranhão, Brazil, in the period between 2007 and 2021, separated into two groups, the group without areas of basaloid aspect (N=68) and the usual with areas of basaloid aspect (n=28), represented by groups of rounded cells, with higher nucleus-cytoplasm ratio, without necrosis and that did not involve > 20% of the tumor surface. Their clinical-epidemiological, histological and immunohistochemical (Ki67, p16 and p53) and HPV infection characteristics were observed. Considered significant the result with  $p < 0.05$ . **Results:** Comparing the usual groups with and without areas of basaloid appearance, similarity was observed in the sociodemographic variables related to age over 60 years, origin of rural residence and northern region of the state, brown skin colour and married marital status, as well as no or low education and occupation farmer. There were no statistically significant differences between the two groups in relation to lifestyle and habits of life, nor to the symptoms reported, such as smoking, alcoholism, history of sexually transmitted infections (STIs) and age at first sexual intercourse less than 18 years. Most of the population presented HPV detection, absence of angio lymphatic invasion and involvement of corpora cavernosa and tunica albuginea, as well as presence of perineural invasion, involvement of corpus spongiosum and urethra, presence of peri-tumoral lymphocytic infiltrate and association with carcinoma in situ. The usual group with basaloid aspect areas showed differences with statistical significance in the degree of differentiation ( $p = 0.001$ ) and applied staging ( $p = 0.0042$ ), with predominance of stage II and III. This group also presented more cases with the presence of angio lymphatic and perineural invasion, involvement of corpora cavernosa and tunica albuginea, association with carcinoma in situ and lymph node involvement. The range of disease-free time, in cases that could be followed up, was shorter in the usual group with basaloid areas than in the usual group without basaloid areas, from 0 to 31 months and from 0 to 62 months, respectively. **Conclusion:** the usual SCCs, unlike the other subtypes of SCCs, have a variable predictive-prognostic profile and need to gather a lot of information to better manage the patient's follow-up. The basaloid aspect did not bring results with statistical significance in our population, despite having shown higher percentage of socio-demographic risk factors and positivity for histological criteria said to be more aggressive, such as invasion of corpora cavernosa and tunica albuginea, presence of angio-lymphatic and perineural invasion, lymph node involvement. New researches are necessary in the search for predictive criteria of this high morbidity and mortality disease.

**Keywords:** Penile cancer. HPV infection. Histology. Immunohistochemistry.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>AJCC</b>	American Joint Committee on Cancer
<b>CaPe</b>	Câncer de pênis
<b>CEC</b>	Carcinoma de células escamosas
<b>DATASUS</b>	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (SUS)
<b>HPV</b>	Papilomavírus humano
<b>IARC</b>	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
<b>IUAC</b>	International Union Against Cancer
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>SBU</b>	Sociedade Brasileira de Urologia
<b>SIM</b>	Sistema de Informação sobre Mortalidade do DATASUS
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde
<b>TNM</b>	Tumor, Nódulo, Metástase
<b>HE</b>	Hematoxilina e Eosina

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Invasão tumoral e padrões de invasão (Hematoxilina e Eosina) .....	26
Figura 2.	Invasão vascular de CEC usual G2 e CEC basaloide G3 envolvendo o feixe neural. ....	28
Figura 3.	Subtipos histológicos avaliados, usual habitual e com área de aspecto basaloide .....	33
Figura 4.	Corte histológico de tumor de pênis exibindo célula tumoral (seta vermelha) com binucleação, vacuolização e atipia nuclear.....	36
Figura 5.	Análise de sobrevida livre da doença dos pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022.....	45

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1.	Lesões penianas pré-malignas .....	14
Quadro 2.	Sistema TNM para estadiamento de câncer de pênis de acordo com American Joint Committee on Cancer (AJCC) e International Union Against Cancer (IUAC) .....	19
Quadro 3.	Variantes do carcinoma de células escamosas do pênis.	23
Quadro 4.	Sistema de 3 graus - Características morfológicas para avaliação do grau tumoral e a relação com prognóstico .....	25
Tabela 1.	Caracterização sócio-demográfica de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022 .....	38
Tabela 2.	Estilo, hábitos de vida e sintomas referidos de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022 .....	39
Tabela 3.	Características da lesão de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022 .....	41
Tabela 4.	Invasão e comprometimento tecidual de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022 .....	42
Tabela 5.	Detecção do HPV e marcadores imuno-histoquímicos de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022.....	44

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	13
<b>2.1</b>	<b>Etiologia e fatores de risco</b> .....	13
2.1.1	Papilomavírus humano (HPV) e câncer de pênis .....	14
2.1.2	Associação das proteínas p53, p16 e Ki67 .....	15
<b>2.2</b>	<b>Aspectos Epidemiológicos</b> .....	16
<b>2.3</b>	<b>Características clínicas</b> .....	17
<b>2.4</b>	<b>Diagnóstico do câncer de pênis</b> .....	18
2.4.1	Estadiamento .....	18
<b>2.5</b>	<b>Classificação histopatológica</b> .....	19
2.5.1	Tipo histológico .....	19
2.5.2	Tipo histológico associado a HPV .....	23
<b>2.6</b>	<b>Prognóstico conforme critérios morfológicos</b> .....	23
2.6.1	Grau histológico .....	23
2.6.2	Tamanho tumoral .....	25
2.6.3	Profundidade de invasão e espessura tumoral .....	25
2.6.4	Padrão de invasão .....	26
2.6.5	Invasão angio-linfática e perineural .....	27
2.6.6	Padrão de crescimento .....	28
<b>2.7</b>	<b>Tratamento</b> .....	29
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	30
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	30
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	30
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	31
<b>4.1</b>	<b>Caracterização do Estudo</b> .....	31
<b>4.2</b>	<b>Período e Local</b> .....	31
<b>4.3</b>	<b>Crítérios de inclusão</b> .....	31
<b>4.4</b>	<b>Crítérios de não-inclusão</b> .....	32
<b>4.5</b>	<b>Variáveis da pesquisa</b> .....	32
<b>4.6</b>	<b>Revisão de lâminas histológicas e seleção de área para estudo</b> .....	33
<b>4.7</b>	<b>Análise Imuno-histoquímica</b> .....	34
<b>4.8</b>	<b>Detecção e genotipagem do Papilomavírus Humano (HPV)</b> .....	35
<b>4.9</b>	<b>Aspectos Éticos</b> .....	36
<b>4.10</b>	<b>Análises de dados</b> .....	37
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	38
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	46
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	56
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	57
<b>9</b>	<b>PRIMEIRO ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	69
<b>9.1</b>	<b>Artigo 1: Predictive histopathological factors of nodal metastasis in penile cancer: a review with a perspective from the region with highest in the world</b> .....	70
<b>9.2</b>	<b>Normas Editoriais</b> .....	85

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer de pênis (CaPe) é uma doença rara, correspondendo a menos de 1% das neoplasias que afetam a população mundial, ocupando a 30ª posição no ranking dos tumores (CARDONA; GARCÍA-PERDOMO, 2017). Nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento apresentam taxas mais elevadas, chegando a alcançar, no continente africano, até 17% das neoplasias masculinas (BATISTA et al. 2014).

As regiões Norte e Nordeste no Brasil, concentram maior número de casos, representando até 53,02%, observado em um estudo epidemiológico realizado no período de 2006 e 2007 (FAVORITO et al., 2008), assim como 45,7 % das internações por câncer de pênis no período de 1992 a 2017 (KORKES et al., 2020). No Maranhão, a incidência foi de 6,1 afetados por 100.000 homens para um intervalo de cinco anos, talvez a maior já registrada no mundo (COELHO et al., 2018). As regiões mais afetadas apresentam menores índices socioeconômicos, menor escassez de serviços e de profissionais com experiência na área, o que também dificulta a triagem, atrasa o diagnóstico e o manejo destes pacientes (BERTINATO et al., 2021).

O diagnóstico das neoplasias é feito, principalmente, através dos critérios histopatológicos, que juntamente com marcadores proteicos, direcionam o perfil tumoral e predição dos pacientes. Para o câncer de pênis os marcadores moleculares, contudo, ainda não estão bem estabelecidos, diferentemente do que é observado para outras neoplasias, como as de mama, pulmão, sistema nervoso central e até CEC (Carcinoma de células escamosas) de cavidade oral. Assim, o laudo histopatológico, atualmente, é que contribui para melhor condução dos pacientes, como também para avaliações a longo prazo, do perfil clínico e evolutivo de cada subtipo tumoral (INCA, 2022).

Na avaliação histopatológica podem ser fornecidos vários achados importantes como o tamanho da lesão, tipo, subtipo e grau do tumor, nível e forma de invasão; presença ou não de infiltração vascular e neural; infiltrado inflamatório intra e peritumoral; alterações citopáticas relacionadas a infecção viral, como pelo Papilomavírus humano (HPV) e outras circunstâncias, como Líquen e outras inflamações genitais. Contudo, esses achados obtidos através de uma análise morfológica direta do tumor, não tem fácil aplicabilidade e reprodutibilidade. Como

exemplo, o carcinoma de células escamosas (CEC) que é o principal tumor diagnosticado em pênis (95%), tem muitas variantes e as características morfológicas diferenciais, por vezes, são sutis. E, não infreqüentemente, dentro de um mesmo tumor, pode-se observar mais de uma variante quando se formam os tumores mistos (INCA, 2021).

O CEC usual é uma variante que apresenta células organizadas em ninhos sólidos ou trabéculas, sem formação de papilas e, em sua maioria, com citoplasma amplo, produtor de queratina e HPV-negativo. Na realidade, enquadrar-se-ia mais como uma classificação de exclusão ou subsidiária diante da ausência de critérios histológicos para os demais subtipos do CEC. O grau histológico da neoplasia é dado pela maior ou menor presença de características especiais do epitélio escamoso (Malpighiano) e o aspecto basaloide é uma forma mais imatura de apresentação das células do CEC, exibindo células mais arredondadas, com maior relação núcleo-citoplasma, pouca ou nenhuma ceratinização e sem comedo-necrose.

Nessa linha, o presente estudo propõe observar a presença de áreas de aspecto basaloide na variante usual do CEC de pênis, buscando mais um elemento útil na definição do seguimento do paciente, já que, mesmo sendo o subtipo mais comum, não tem um prognóstico uniforme, estando sua definição na dependência da reunião de diversos fatores clínicos e principalmente, anatomopatológicos.

Esta dissertação apresenta-se no formato Tradicional, cuja a organização foi dividida em Introdução, Referencial teórico, Objetivos, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e a produção científica, sendo apresentado o artigo de revisão intitulado “*Predictive histopathological factors of nodal metastasis in penile cancer: a review with a perspective from the region with highest in the world*”, submetido ao periódico *Frontiers in Oncology*, com classificação *WebQualis* A2 na área de Medicina II e Fator de Impacto 6.200.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Fatores de risco e etiologia

O câncer de pênis afeta mais frequentemente indivíduos em condições socioeconômicas e educacionais desfavoráveis, em especial aqueles que estão entre quinta e sexta década de vida, independentemente de sua origem étnica, porém, jovens também podem ser afetados, sendo observado que aproximadamente 22% dos casos registrados ocorrem em pacientes com idades inferiores a quarenta anos (BELFORT et al., 2017; BERTINATO et al., 2021).

Alia-se aos fatores socioeconômico e educacional, o hábito de higiene precário e alimentação inadequada, comumente associada a outros fatores de risco, como a fimose, inflamação crônica e infecção pelo Papilomavírus humano (HPV). A má higienização, propicia o acúmulo de células degradadas e proliferação bacteriana na cavidade do prepúcio, ocasionando inflamações crônicas (balanopostite), infecções recorrentes, retenção urinária, infecções do trato urinário (ITU) e o câncer de pênis (MORRIS; MATTHEWS; KRIEGER, 2020). Ainda podemos acrescentar como comportamento de risco o consumo excessivo de álcool, tabagismo, atividade sexual precoce e com multiplicidade de parceiros (ACC, 2017. SOUSA et al, 2014; CARVALHO et al., 2007; SENKOMAGO et al., 2016; RODNEY, 2016; LISBÔA, 2019).

De modo geral, a frequência de fimose em homens com carcinoma de pênis é alta, variando de 44% a 85% (NASCIMENTO JR, 2020; MORRIS; KRIEGER, 2017). Em contrapartida, homens circuncidados representam menos de 0,1% dos tumores de pênis. Tabagistas podem apresentar de 2.8 a 4.5 vezes mais chances para o desenvolver o câncer de pênis (ROSAS et al., 2021). A obesidade, por sua vez, está relacionada a diversas neoplasias e ao câncer de pênis, que além de fatores como inflamação crônica, estresse oxidativo e resistência à insulina, ainda pode dificultar a higiene genital, o autoexame peniano ou a exposição da glândula (BARNES et al., 2016).

A presença do HPV, descrito a parte, contribui para o desenvolvimento do câncer de pênis segundo estudos que mostram que aproximadamente 50,0% dos casos estão relacionados ao HPV, com percentuais maiores em países da América Latina e menores em países asiáticos

(PATEL et al., 2016; SCHLENKER; SCHNEEDE, 2018; OLESEN et al., 2019).

Diante da combinação desses fatores de risco, sugere-se que estejam envolvidas múltiplas vias moleculares para o desencadeamento do carcinoma peniano, os quais abrangem condições inflamatórias crônicas, produtos oncogênicos e cofatores carcinogênicos (KAYES et al., 2007).

Em suma, a etiologia sobre o CaPe ainda não é sólida e consoante entre as literaturas, é atrelada a diversos fatores de riscos, que favorecem o seu desenvolvimento. Antes da evolução para lesões invasoras (câncer propriamente dito), os indivíduos podem apresentar lesões percussoras, que atingem as regiões da glândula, prepúcio, sulco e corpo do pênis, nesta sequência (WIND et al., 2019). Algumas lesões penianas consideradas pré-malignas estão descritas no quadro abaixo (HAKENBERG et al. 2018).

**Quadro 1.** Lesões penianas pré-malignas.

Lesões esporadicamente associadas	Lesões pré-malignas
Corno cutâneo	Neoplasia intraepitelial de alto grau (grau III)
Papulose bowenóide de pênis	Condiloma gigante (Buschke-Lowenstein)
Líquen escleroso	Eritroplasia de Queyrat
Balanite xerótica obliterante	Doença de Bowen
	Doença de Paget (Adenocarcinoma intradérmico)

Adaptado de: GUIDONI, 2019.

### 2.1.1 Papilomavírus humano (HPV) e câncer de pênis

A patogenicidade do HPV já é bem estabelecida para a neoplasia de células escamosas do colo uterino e da cavidade oral, contudo para o carcinoma peniano ela ainda não é bem compreendida. A alta prevalência desta infecção viral levanta considerações interessantes sobre a sua relação com esse tipo de neoplasia maligna. Segundo Flaherty et al. (2014), a prevalência global de infecção por HPV em tumores penianos é de 36-40%, com maior contribuição dos subtipos HPV16 e HPV18. Os subtipos virais 6 e 11, também frequentemente encontrados em lesões penianas, estão mais relacionados a lesões verrucosas (benignas). No entanto, pesquisas recentes têm apontado uma maior frequência do HPV6 em carcinoma peniano invasivo (LEBELO et al., 2014; ALEMANY et al., 2016).

Trabalhos realizados no Brasil têm demonstrado que a prevalência do HPV em carcinomas penianos pode ser bem maior que a relatada por Flaherty et al., (2014). Em dois estudos realizados no Rio de Janeiro, mostrou presença de HPV em 60,7% e 75%, sendo o subtipo HPV16 o mais frequente (SCHEINER et al., 2008; AFONSO et al., 2012). Um outro trabalho realizado no Norte do país, apontou para uma maior porcentagem de casos HPV11, HPV6 e HPV 16 (FONSECA et al., 2013). Na região Nordeste, estudo de SOUSA et al. (2015) identificou uma prevalência de 63,15% de HPV, sendo mais frequente os subtipos 16, 18, 45 e 69. E no Maranhão, foi possível encontrar uma prevalência de 93,9% (MARTINS et al., 2018).

O HPV afeta o epitélio de duas maneiras: como uma infecção viral, na qual o epitélio escamoso suporta a produção do vírion, desenvolvendo-se em lesões de baixo grau, como condilomas; ou como uma lesão pré-cancerosa associada ao vírus, que ocorre quando o genoma viral é incluído no DNA da célula hospedeira, levando à superexpressão dos oncogenes e a proliferação celular descontrolada (IORGA et al., 2020). O genoma deste vírus tem organização simples, que pode ser dividida em duas regiões: codificante e não-codificante. As regiões codificantes são denominadas de precoce “E” (do inglês *early*) e tardia “L” (do inglês *later*), enquanto a não-codificante é uma longa região de controle, denominada *Long Control Region* (LCR) (DOORBAR et al., 2012). Dos oito genes codificados no DNA viral, dois oncogenes importantes estão incluídos: E6 e E7. Os oncogenes E6 e E7 são ativamente transcritos nas células infectadas e são essenciais para a transformação maligna induzida por vírus. A oncoproteína E6 do HPV de alto risco pode ligar-se ao supressor tumoral p53 e estimular a sua degradação via ubiquitinação. De modo semelhante, a oncoproteína E7 atua ligando-se à proteína supressora de tumor pRb, promovendo a sua degradação (GAO; SMITH, 2016).

### 2.1.2 Associação das proteínas p53, p16 e Ki67

Várias oncoproteínas estão sendo estudadas para CaPe, principalmente, pela existência da relação com CECs de outras regiões do corpo, como colo uterino e cavidade oral. A proteína p53 atua no processo de apoptose celular e na regulação do ciclo celular, nas fases G1/S e G2/M e a sua superexpressão sinaliza para uma alta atividade de divisão celular. Os trabalhos mostram

que sua alteração, por mutação ou deleção, está relacionada com a oncogênese de muitos tumores, como os de mama, cólon e reto, pulmão, estômago, pâncreas entre outros. No Câncer de pênis, alguns estudos mostram que, em tumores invasivos e não-invasivos de alto grau, a proteína se apresenta como um fator preditivo para metástase linfonodal e piora da sobrevida específica do paciente (GUNIA, 2012; PRAPISKA; WARLI, 2019).

A proteína p16 é uma proteína de regulação negativa da proteína do retinoblastoma (pRB), promotora da divisão celular (Fase G0/S). Sua importância se dá principalmente pela inativação da via pRB pelo oncogene E7 viral (HPV) que promove a sua superexpressão, sinalizando a integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira. Sendo assim, é um marcador indireto substituto e de alta sensibilidade para infecção viral nos carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço, genital feminino, anorretal e peniano (KHATTAKA et al., 2017; PRIGGE et al., 2017).

O índice Ki-67 é um marcador de proliferação celular, importante no perfil preditivo de algumas neoplasias como as de mama e os tumores neuroendócrinos, mas não demonstrou valor preditivo de agressividade tumoral, mortalidade ou sobrevida dos pacientes com Câncer de pênis invasivo (FARIA et al., 2000). Contudo, mantém o seu valor, para lesões intraepiteliais, sendo um importante elemento diferenciador entre lesões neoplásicas e não-neoplásicas (ZIARAN, 2020).

## **2.2 Aspectos Epidemiológicos**

O câncer de pênis é uma doença rara, responsável por cerca de 13200 mortes em 2020 (IARC, 2020), é uma neoplasia observada, preponderantemente, em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, da Ásia, África e América Latina. Ressalta-se, nesta última, o Brasil, como uma área continental de elevada incidência, com 454 mortes em 2018 (BRASIL, 2020). Sendo o Maranhão uma região do país de importante contribuição para esse fato, com até 6,1 casos por 100.000 habitantes (COELHO et al., 2018).

No Maranhão, Nordeste do Brasil, a incidência da doença permaneceu incerta durante anos, mascarando o panorama da doença no estado. Contudo, com o estudo epidemiológico

recente de Coelho et al. (2018), intitulado “*Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally?*”, que descreveu 392 pacientes diagnosticados com CaPe no Maranhão, entre 2004 e 2014, em um único hospital do Estado, revelou uma incidência local de 6,1 afetados por 100.000 homens para um intervalo de cinco anos, a maior já registrada no Brasil e no mundo, de acordo com a IARC (2020). E sendo aplicada em um intervalo de 11 anos, essa mesma incidência sobe para 13,8 afetados. Essa elevada casuística torna oportuno estudos em câncer de pênis, que visem descrever os aspectos epidemiológicos, clínicos e histológicos dos tumores nesta região do país.

Em uma outra pesquisa realizada em São Luís, Maranhão, o coeficiente de mortalidade por câncer de pênis aumentou de 2010 a 2014, onde no ano de 2014 o maior coeficiente estimado foi de 8,84 óbitos por 1 milhão, aumento considerável em relação a 2010, que apresentava coeficiente de 5,51 óbitos por 1 milhão (BONFIM, 2017). Outro estudo indicou que em 2016, a região com maior taxa de mortalidade por câncer de pênis foi a Norte (0,06%), seguida da região Nordeste (0,04%) e em terceiro o Centro Oeste (0,03%) (LISBOA, 2019).

### **2.3 Características clínicas**

O pênis pode ser acometido por neoplasias malignas de origem epitelial (carcinomas), mesenquimal (sarcoma) e de outras linhagens (melanoma; linfoma; neuroendócrino e neoplasias secundárias), sendo o Carcinoma de células escamosas (CEC) o mais comum, correspondendo a cerca de 95% dos tumores diagnosticados desse órgão. Esse tumor possui variantes histológicas, as quais estão divididas em dois grupos de acordo com a via tumorigênica relacionada à infecção por HPV de alto risco ou não, esta última geralmente atrelada a processos de inflamação crônica. (KAYES et al., 2007).

O acometimento tumoral do pênis ocorre principalmente na glândula (74 a 80%), seguido do prepúcio (15%) e do sulco coronal (5%); o corpo peniano responde por cerca de 2% das neoplasias penianas. Contudo, sabe-se que, ao diagnóstico, significativa parcela dos tumores ocupa mais de um setor peniano. Os tumores de prepúcio estão relacionados com melhor prognóstico e baixo índice de metástases, diferente daqueles que acometem o corpo, que são menos frequentes, porém mais agressivos (COELHO et al., 2018; HAKENBERG et al., 2018;

CUBILLA et al., 2009; MAICHE; PYRHÖNEN; KARKINEN, 1991; SOLSONA 2004; POMPEO; MARTINS; SOUZA, 2006; WHO, 2016).

## **2.4 Diagnóstico do câncer de pênis**

O diagnóstico clínico do CaPe é feito através do exame físico do pênis e inclui a avaliação dos linfonodos regionais (HAKENBERG et al., 2018). A neoplasia se inicia nas camadas mais superficiais do pênis, com o tempo progride para o interior do órgão, podendo alcançar nervos e vasos, promover destruição do pênis e metástases. A principal linha de metástase é a linfática, para linfonodos, cujo comprometimento é um dos principais elementos definidores da qualidade de vida e sobrevida do paciente. No entanto, ainda é um desafio reconhecer precocemente a metástase linfonodal e quem se beneficiaria efetivamente com a linfadenectomia. Tomografia computadorizada, ressonância nuclear magnética e ultrassonografia também podem auxiliar no diagnóstico da doença, porém biópsia e exame histopatológico são indispensáveis para o diagnóstico definitivo (PAIVA, 2010).

### **2.4.1 Estadiamento**

Após o diagnóstico clínico, a análise histopatológica é essencial para confirmação do diagnóstico, classificação e caracterização do tumor, uma peça-chave na determinação do estadiamento e avaliação prognóstica dos tumores (NAM et al., 2017). O estadiamento patológico adequado só poderá ser feito após a cirurgia com linfadenectomia, utilizando-se, principalmente, do sistema TNM (Tumor, Nódulo, Metástase), conforme descrito no Quadro 1.

**Quadro 2.** Sistema TNM para estadiamento de câncer de pênis de acordo com *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* e *International Union Against Cancer (IUAC)*.

Tumor primário	Critério		
Tx	Tumor primário não é passível de avaliação		
T0	Sem evidência de tumor primário		
Tis	Carcinoma in situ (Neoplasia Intraepitelial do pênis – PeIN)		
Ta	Carcinoma localizado e não invasivo		
T1	Tumor invade tecido conectivo subepitelial		
T1a	Invasão subepitelial, sem invasão linfovascular, invasão perineural ou Grau 3		
T1b	Invasão subepitelial, com invasão linfovascular, invasão perineural ou Grau 3		
T2	Tumor invade corpo esponjoso		
T3	Tumor invade corpo cavernoso (incluindo túnica albugínea)		
T4	Tumor invade outras estruturas adjacentes (próstata, escroto ou púbis)		
Linfonodos regionais*			
NX	Linfonodos regionais não passíveis de avaliação		
N0	Ausência de metástase linfonodal		
N1	Metástase em um ou dois linfonodos, sem extensão extranodal		
N2	Metástase em 3 ou mais linfonodos inguinais, múltiplas ou bilaterais		
N3	Metástase em linfonodos com extensão extranodal ou em linfonodos pélvicos unilaterais ou bilaterais		
Metástase			
M0	Nenhuma metástase distante		
M1	Metástase a distância		
Estadiamento clínico			
ois	Tis, N0, M0	IIIa	T1-3, N1, M0
oa	Ta, N0, M0	IIIb	T1-3, N2, M0
I	T1a, N0, M0	IV	T4, N+, M0
IIa	T1b, N0, M0	IV	Tis-T4, N3, M0
IIa	T2, N0, M0	IV	Tis-T4, N+, M1
IIb	T3, N0, M0		

(\*) Classificação histopatológica de linfonodos. **Fonte.** EDGE, 2017.

## 2.5 Classificação histopatológica

### 2.5.1 Subtipo histológico

Embora os subtipos histológicos do CEC estejam bem estabelecidos, na prática o reconhecimento dessas variantes não é tão simples e requer uma expertise maior do patologista, bem como uma boa amostragem do tumor para subclassificação. Notadamente, o grupo usual

é o mais frequente (48-65%), seguido pelo condilomatoso (17%), verrucoso (8%), papilar (7-10%) e basaloide (5-15%) (CUBILLA, 2009; CHAUX et al., 2010).

De acordo com sua apresentação morfológica são denominadas e caracterizadas, conforme estudos publicados (KATO et al., 2000; VELAZQUEZ et al., 2005; CUBILLA et al., 2009; CHAUX et al., 2012; CUBILLA et al., 2012; BOVOLIM et al., 2017; CAÑETE-PORTILLO et al., 2017; SANCHEZ et al., 2015):

Variante usual: Corresponde a 40 a 65%. Com apresentação plano-endofíticas, ceratinizantes, com células grandes de citoplasma amplo, organizando-se em trabéculas ou de forma sólida; tem crescimento vertical e extensivo-superficial. Atinge, principalmente, homens da 6ª e 7ª décadas. Os sítios de acometimento nessa ordem: prepúcio > sulco coronal > glândula. 28 a 39 % tem linfonodos positivos ao diagnóstico.

Variante papilar: corresponde a 5 a 15 %. Com apresentação exofítica, com ou sem eixo papilar central; as papilas são irregulares e complexas; ceratinizantes; com bordo infiltrativo e irregular com o estroma. Atinge a média de 63 anos, entre 43 e 85, normalmente acomete glândula e prepúcio e não apresenta relação com metástase

Variante verrucosa: compreende 3 a 8%. Se apresenta de forma exofítica; com papilas bem definidas, com eixo fibrovascular longo e bem estreito, as vezes imperceptível; hiperqueratose e acantose mais marcantes que o papilífero; bordo tumoral expansivo regular com o estroma; discreta atipia celular em porção mais basal; denso infiltrado inflamatório pode obscurecer o bordo tumoral. A faixa etária comum é 6ª e 7ª décadas, atingindo a glândula; no prepúcio na forma multicêntrica, possui prognóstico sem relação com metástase

Variante cuniculatum: < 1%. Possui apresentação endo-exofítica; verruciformes; com invaginações profundas; comumente observadas fístulas. São morfológicamente idênticos a variante verrucosa e são bem delimitados, com criptas a superfície de corte, preenchidas por material hiperqueratótico. A idade média de 77 anos, entre 73 e 83, atinge glândula e sulco coronal e não possui relato de metástases.

Variante pseudo-hiperplásica: < 1%. Possui apresentação em planos ou ligeiramente sobrelevados; com ninhos de células muito bem diferenciadas, com mínima atipia; estroma reativo, na faixa de idade dos 69 anos, média entre 53 a 76, normalmente atinge prepúcio >

glande > sulco coronal, não apresenta metástase nodal.

Variante pseudo-glandular: < 1%. Possui apresentação de tumores grandes exofíticos e ulcerados; aparência multicística ou de favo de mel no pequeno aumento; as células que revestem os espaços são de epitélio atípico, plano, cuboidal ou cilíndrico; os espaços podem ser vazios ou preenchidos parcialmente por material amorfo eosinofílico, restos celulares e escamas córneas; além de microabcesso neutrofílico intraluminal. Atinge a faixa etária dos 54 anos, na glande para sulco coronal e prepúcio. É mais agressivo e maior incidência de metástase nodal e mortalidade.

Variante adeno-escamosa: < 1%. Possui apresentação de massa tumoral endofítica; com ninhos de células escamosas ao lado de glândulas com epitélio colunar ou cuboidal com aspecto mucinoso; com predomínio do componente escamocelular, com idade média de 55 anos, entre 30 e 74, atingindo glande, extensão a sulco coronal e prepúcio. Tem recorrência 25%; metástase nodal em 43 a 50%; mortalidade baixa < 14%.

Variante sarcomatoide: observada em 1 a 3%. Possui apresentação endo-exofítica, polipoide e sangrantes; com células de aparência fusiforme, dispostas em fascículos permeada por células epitelióides e pleomórficas, alta atividade mitótica e presença de necrose. Atinge a idade média de 59 anos, entre 28 e 81, ocorrer na glande e apresenta 75 a 89 % de metástase nodal; mortalidade de 40 a 75 % dentro de 1 ano; recorrência de 67%.

Variante condilomatosa (*Warty*): 7 a 10%. Possui apresentação exofítica por natureza, aspecto de couve-flor, exhibe projeções papilares com proeminente e irregulares eixos vasculares, ora longo ora curto; com topos arredondados ou cônicos; ceratinizante, com hiperkeratose, parakeratose e coilocitose; nucléolos presentes, atipia leve a moderada; bordo tumoral irregular com o estroma. Ocorre na faixa dos 48-55 anos entre 37 a 74, na glande > sulco coronal > prepúcio e recorre em 10%, 17-18% apresentam metástase nodal; mortalidade < 10%

Variante basaloide: 4 a 10%. Se apresenta com lesões planas e ulceradas, massas endofíticas; organiza-se em ninhos tumorais sólidos e coesos, infiltrativos; células pequenas, redondas ou ovais, escasso citoplasma, núcleo hiper cromático e nucléolo inconspícuo; ceratinização abrupta central, com necrose tipo comedo; paliçada pode ser vista; atividade mitótica elevada. Atinge em média 6ª década entre 33 e 84 anos, ocorrendo na glande > sulco

coronal > prepúcio e tem de 50 a 66% de metástase nodal.

Variante de Células claras: 1 a 2 %. Possui apresentação endo e exofíticas; ninhos de células com proeminente citoplasma vacuolado, núcleo central redondo, ovoide e pleomórfico; não-ceratinizante, com material eosinofílico intracitoplasmático PAS positivo; delicada trama fibrosa interveniente; com necrose tipo comedo e tipo geográfica. Atinge a faixa entre 52 a 95 anos, na glândula. Possui prognóstico reservado; disseminação nodal e sistêmica.

Variante Linfopitelioma-like: < 1% (extremamente raro). Possui apresentação em tumores endofíticos, apresentando-se com células epitelióides anaplásicas, com nucléolo evidente e eosinofílico, organizando-se em cordões ou ninhos sólido-trabeculares, com bordo obscurecidos por denso infiltrado inflamatório com linfócitos, eosinófilos, neutrófilos e plasmócitos. Pacientes com idade entre 58 e 75 anos, localizada na glândula e ainda não prognóstico estabelecido.

Variante medular rico em células inflamatórias: < 1%. Possui apresentação em tumores plano-endofíticos, apresentando-se com células pouco diferenciadas e pleomórficas, com nucléolo evidente e elevado índice mitótico, organizando-se blocos mais coesos sólido ou trabeculares, com nítida separação com estroma, denso infiltrado inflamatório, rico em neutrófilos e eosinófilos, com formação de microabscessos. Atinge a faixa etária entre 54 a 92 anos, geralmente em glândula > prepúcio > sulco coronal, com prognóstico: ainda não estabelecido.

Formas mistas também são descritas para o CaPe, sendo arbitrado um percentual de representação de pelo menos 20% de um dos componentes para esta classificação (ALVARADO-CABRERO et al., 2017), dessa maneira, correspondem a 28 a 37 % dos CaPe, sendo os mais comuns o Condilomatoso-basalóide (9-14%), papilífero-basalóide (muito raro), como também os carcinomas chamados híbridos, como papilífero – sarcomatoide, usual – condilomatoso.grupo usual com áreas de aspecto basalóide, pseudoglandular bem diferenciados CEC. Possui apresentação em tumores ulcerados, exofíticos, verruciformes; padrão morfológico de acordo com os subtipos. Atinge a 7ª década de vida, ocorrendo glândula > prepúcio e recorre em 20%; Metástase nodal em 9%; mortalidade é baixa (3%).

## 2.5.2 Tipo histológico associado a HPV

Recentemente uma nova divisão foi definida para os CECs de pênis, tendo como base a via tumorigênica do HPV, criando-se dois grupos separados como visto no Quadro 2. Esta separação não confere em si, melhor ou pior prognóstico a doença, ou mesmo indicativo de linfadenectomia profilática, ambos os grupos HPV ou não-HPV relacionados possuem formas de maior e menor agressividade. No entanto, observa-se que a maioria das formas histológicas mais agressivas são HPV positivas, e que as variantes verrucosa, pseudo-hiperplásica e papilífera, comumente não se relacionam ao HPV e a metástases (CAÑETE-PORTILLO et al. 2020).

**Quadro 3.** Variantes do carcinoma de células escamosas do pênis.

<b>HPV-não-associados</b>	<b>HPV-associados</b>
CEC usual	CEC basalóide
CEC pseudohiperplásico	CEC condilomatoso
CEC pseudoglandular	CEC warty-basalóide
CEC verrucoso	CEC medular
CEC cuniculado	CEC de células claras
CEC papilífero	CEC linfoepitelioma-like
CEC sarcomatóide	CEC misto, com componente condilomatoso ou basalóide
CEC adenoescamoso	
CEC mucoepidermóide	
CEC misto, sem componentes condilomatoso e basalóide	

Fonte: Cañete-Portillo et al. (2020).

## 2.6 Prognóstico conforme critérios

### 2.6.1 Grau histológico

Dentre os elementos morfológicos estudados nos carcinomas escamo-celulares de pênis, assim como de colo uterino e o carcinoma da cavidade oral, o grau histológico se mantém

consistente na maioria dos trabalhos como fator preditivo para metástase linfonodal, para morbidade e mortalidade (CHAUX et al, 2009; AKHTER et al., 2011; AITA et al., 2016).

Por outro lado, ainda há um grande desafio na reprodutibilidade desse critério, principalmente, devido a heterogeneidade tumoral e a não uniformidade na aplicação dos sistemas de graduação, culminando com incongruências dos resultados intra e inter-observadores, como também dificuldades de se reunir estudos que abordem este critério (CHAUX et al, 2009; KAKIES et al, 2014; TAKAMOTO D. et. Al, 2017).

Os modelos mais tradicionalmente adotados são os de 4 graus de Broders (1920) e o 3 graus sugerido por Slaton (2001). Ambos se baseiam no percentual de componente anaplásico do tumor. Atualmente, os centros de referência têm adotado o sistema de 3 graus – bem diferenciado (G1), moderadamente diferenciado (G2) e pouco diferenciado (G3), onde se estabelece que o tumor bem diferenciado é aquele com mínimas alterações e proximidade morfológica com um epitélio normal ou hiperplásico, apresentando atipia na camada mais basal; o pouco ou pobremente diferenciado, seria o tumor com qualquer percentual de anaplasia celular e, aqueles tumores que tem alterações entre os dois grupos (G1 e G3), enquadrar-se-iam no grupo dos tumores moderadamente diferenciados. Assim, os CECs verrucosos sempre serão de baixo grau e os com componente sarcomatoso, de alto grau (CHAUX et al., 2010; AITA et al., 2016; ZHOU et al., 2018).

Os achados morfológicos normalmente utilizados para avaliação do grau em carcinomas escamo-celulares são, como aplicados no Quadro 3 (AITA et al., 2016; CHAUX et al., 2010; ZHOU et al., 2018).

**Quadro 4.** Sistema de 3 graus - Características morfológicas para avaliação do grau tumoral e a relação com prognóstico

<b>Características</b>	<b>Grau 1</b>	<b>Grau 2</b>	<b>Grau 3</b>
Ceratinização	Acentuada	Moderada	Rara / ausente
Atipia	Discreta	Moderada	Acentuada
Mitoses	Raras	Frequentes	Abundante
Bordo tumoral	Expansiva	Infiltrativa	Infiltrativa
Prognóstico	Bom	Intermediário	Reservado

### 2.6.2 Tamanho tumoral

Os tumores de pênis, na maioria das vezes, apresentam-se volumosos ao diagnóstico e facilmente mensuráveis à observação direta, com média de 4,5 cm. Diferindo de outras neoplasias, o tamanho tumoral no CaPe não é um bom parâmetro preditivo, justifica-se tal fato pela forma vegetante observada em cerca de um terço dos tumores, como também pelas extensas neoplasias de crescimento horizontal, que têm baixa relação com metástase nodal ou sistêmica (VELAZQUEZ et al., 2008; CUBILLA, 2009; VIEIRA et al., 2020).

Estudos como o de Caballero mostraram resultados paradoxais relacionados à medida tumoral, encontrando relação prognóstica semelhante, com baixo índice de metástase nodal (30%) em tumores menores que 2 cm e nos maiores que 4 cm, enquanto tumores de tamanho médio, entre 2 e 4 cm tinham maior associação com metástase nodal (68%).

### 2.6.3 Profundidade de invasão e espessura tumoral

A profundidade da invasão tumoral e envolvimento das camadas subjacentes são utilizados como determinantes da agressividade tumoral, relacionando-se à possibilidade de alcançar os vasos e os nervos e elevar o potencial de metástases nodal e sistêmica. No corpo peniano, a fáscia de Buck e a túnica albugínea funcionam como verdadeiras barreiras naturais, dificultando a comunicação do tumor com os corpos cavernosos e o sistema linfático (POW-SANG et al., 2010).

As medidas habituais, livres de tumor, da distância da superfície do pênis para camadas subjacentes dos pênis são de cerca de 3mm para alcançar a lâmina própria (T1), 5mm para o corpo esponjoso (T2) e 10mm para alcançar o corpo cavernoso (T3). E a espessura prepucial também de cerca de 10 mm (VELAZQUEZ et al., 2008).

A espessura tumoral e a profundidade de invasão são trabalhadas ora como um só

parâmetro ora como elementos independentes. A medida da profundidade de invasão deve ser feita a partir da membrana basal intacta da borda tumoral até a célula tumoral mais profunda; já a espessura do tumor é avaliada do topo da neoplasia à célula mais profunda. Peculiaridades de mensuração são recomendadas para algumas neoplasias, por exemplo, para neoplasias verruciformes, a medida deve ser tomada a partir da camada granulosa e, em lesões ulceradas, da superfície da úlcera (CUBILLA, 2009; VIEIRA et al., 2020).

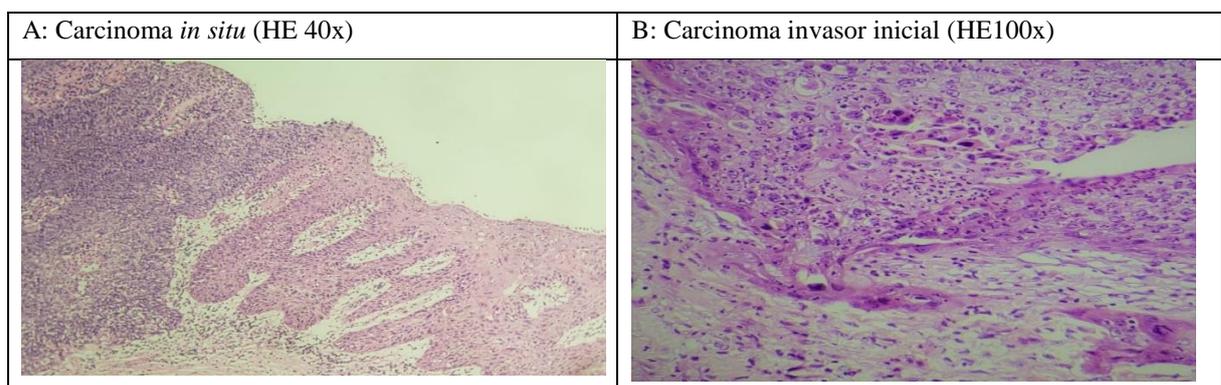
Esse parâmetro relaciona-se com maior potencial de comprometimento linfonodal, de modo que espessura tumoral menor que 5mm/6mm, tem menor risco, o qual aumenta para cerca de 80- 86%, em medidas maiores que 10mm (EMERSON, 2001; VELAZQUEZ et al., 2008).

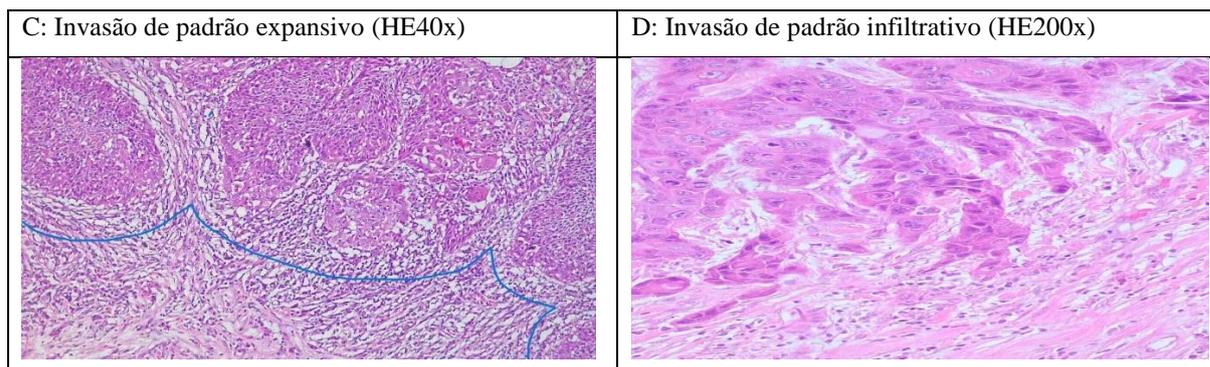
#### 2.6.4 Padrão de invasão

O padrão de invasão tumoral reflete a relação entre o tumor e o hospedeiro, pode ser de dois tipos, o infiltrativo (ou reticular), mais agressivo, caracteriza-se por pequenos blocos tumorais ou células isoladas no estroma. O tipo expansivo se apresenta com blocos maiores e sem células destacadas ou isoladas (Figura 1).

É um fator relacionado à metástase linfonodal para CECs de cabeça e pescoço e ginecológico. No pênis, o padrão infiltrativo se relaciona com maior risco de mortalidade específica (HR=11,5) e mortalidade geral (HR=2,3) (AITA G. et al, 2015).

Figura 1. Invasão tumoral e padrões de invasão.





### 2.6.5 Invasão angio-linfática e perineural

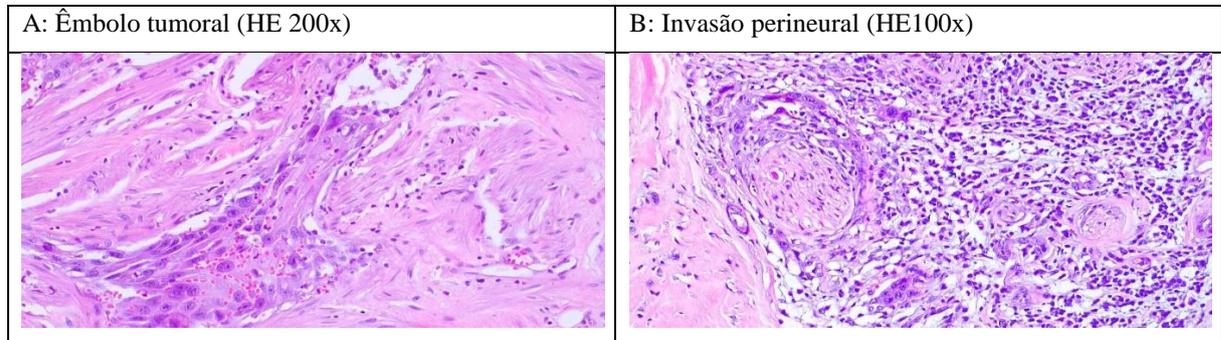
A invasão vascular angio-linfática consiste na presença de neoplasia em espaços recobertos por endotélio e deve ser avaliada em vasos da periferia do tumor, preferencialmente a uma distância de um campo de grande aumento (SLATON et al., 2001). Este sinal, representa, na maioria dos estudos, um fator independente para metástase, para sobrevida e para mortalidade, ainda que nos linfonodos clinicamente negativos (ZHU et al., 2010). E tem forte associação com o risco de progressão da doença, por vezes, sendo fator indicativo de linfadenectomia inguinal bilateral (EMERSON et al., 2001; SLATON et al., 2001; SOLSONA et al., 2004; CUBILLA, 2009; AITA et al., 2015; FICARRA et al, 2005; COELHO et al., 2018).

A embolização linfo-vascular, em estudo recente, mostrou ter significância preditiva na sobrevida dos pacientes com câncer de pênis, e com isso, foi sugerido um aprimoramento no estadiamento do sistema TNM, que aos moldes do estágio I (T1a e T1b), o critério de “embolização linfo-vascular” seja também atribuído aos níveis mais avançados T2 e T3 (LI et a., 2019; HU et al., 2019)

A invasão perineural é observada em cerca de 50% dos pacientes com câncer de pênis e em 56% daqueles com metástase nodal, tendo forte valor preditivo independente para a mortalidade específica e para metástase não-linfonodal em pacientes abaixo de 60 anos. (SOLSONA et al., 2004; AITA et al., 2016). Dado seu valor, a invasão perineural juntamente com o grau histológico e o nível de infiltração do tumor compõem o Índice de Prognóstico para câncer de pênis, um sistema de somatório de pontos proposto como preditor de metástase linfonodal, para pacientes sem aparente comprometimento ganglionar ao exame clínico e

radiológico (VELAZQUEZ et al., 2008; CUBILLA, 2009; AITA et al., 2016; HAKENBERG et al., 2018).

**Figura 2.** Invasão vascular de CEC usual G2 e CEC basaloide G3 envolvendo o feixe neural.



#### 2.6.6 Padrão de crescimento

O tecido tegumentar é constituído por epitélio e um conjuntivo subjacente, separados pela membrana basal, uma matriz extracelular. As neoplasias epiteliais (carcinomas) iniciam no epitélio e quando rompem a barreira da membrana basal, tornam-se invasivos, atingem o conjuntivo subepitelial e tem potencial de adentrar vasos e nervos e, conseqüentemente, proporcionar metástases. Para a neoplasia limitada ao epitélio dá-se o nome de Carcinoma *in situ* (Cis) ou Neoplasia intraepitelial de alto grau (NIPe III) ou Eritroplasia de Queyrat (para mucosas de prepúcio e glande) ou Doença de Bowen (para pele do corpo, escroto ou períneo). O Carcinoma de células escamosas de pênis *in situ* tem incidência de cerca de 5%, acomete principalmente glande e pacientes mais jovens, sendo a forma mais comumente vista em portadores de HIV (MICALI et al., 2006; CHAUX et al., 2010).

As neoplasias invasoras podem crescer de várias formas - extensivo superficial (ou horizontal); verruciforme (exofítico); multicêntrica (raro); vertical (endofítico) e ainda de forma mista (exo-endofítico). Os dois primeiros padrões têm baixa associação com metástase, fazem parte deste grupo os subtipos papilífero, pseudohiperplásico e condilomatoso. O padrão vertical, comumente, é sólido e ulcerado, atinge níveis mais profundos e compromete os corpos esponjoso e cavernoso, associam-se com doença avançada, sendo vistos nas formas basaloide,

adenocarcinoma e sarcomatoide. O padrão misto é observado em 15 a 25% dos casos. (CUBILLA, 2009; CHAUX et al., 2012).

## **2.7 Tratamento**

A despeito das diversas modalidades terapêuticas, o tratamento cirúrgico é o mais empregado e com melhores resultados. A escolha do tratamento depende do estágio em que se encontra a neoplasia ao tempo do diagnóstico, se é doença localizada, localmente avançada ou metastática, além da condição clínica do paciente. A penectomia parcial ou total, com linfadenectomia, ainda continua sendo o mais efetivo tratamento da lesão primária do câncer de pênis, entretanto esse procedimento é associado com alta morbidade (POMPEO et al., 2010).

O principal fator de reserva de prognóstico, em pacientes com carcinoma de pênis, é o acometimento linfonodal, sendo as cadeias inguinal superficial e profunda e a cadeia pélvica, as mais envolvidas, nesta ordem (KOIFMAN et al., 2011). Assim, a linfadenectomia é um procedimento indicado em muitas cirurgias de primeira abordagem, com comprovada melhora tanto na sobrevida livre de doença quanto na sobrevida global. Contudo, também está relacionada a elevação da morbidade e complicações pós-cirúrgicas desses pacientes (FICARRA et al., 2010; GUIMARÃES et al., 2011; O'BRIEN et al., 2017; LIMA JR., 2016).

Quanto as terapias complementares a cirurgia, como radioterapia e quimioterapia, existe uma exiguidade de informações sobre a sua sensibilidade nos vários subtipos de carcinomas de células escamosas penianos (HAKENBERG et al., 2018).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Caracterizar o perfil clínico-histopatológico, imunohistoquímico e de infecção pelo papilomavírus humano (HPV) de tumores de pênis usuais e com diferenciação basaloide de pacientes do estado do Maranhão e mostrar sua relação com a agressividade tumoral.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar o perfil sociodemográfico de pacientes com Carcinoma de células escamosas do pênis subtipo usual com áreas de aspecto basaloide, em relação a faixa etária, renda familiar, procedência, profissão, hábitos de vida e aos fatores de risco, como tabagismo, etilismo, vida sexual e infecções.

- Definir quais os sintomas referidos e as características das lesões nos pacientes com Carcinoma de células escamosas do pênis subtipo usual com áreas de aspecto basaloide;

- Comparar os critérios histológicos dos pacientes com Carcinoma de células escamosas do pênis subtipo usual nos grupos com e sem áreas de aspecto basaloide, em relação a critérios de maior agressividade tumoral, com como nível e forma de invasão tumoral, invasão vascular e perineural, infiltrado inflamatório peri-tumoral, além do comprometimento linfonodal.

- Verificar a detecção do HPV e biomarcadores de pacientes Carcinoma de células escamosas do Pênis subtipo usual com áreas de aspecto basaloide;

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Caracterização do Estudo**

Esta pesquisa tem caráter retrospectivo, epidemiológico e histopatológico, com o levantamento de casos diagnosticados com câncer de pênis, com revisão dos laudos histopatológicos, prontuários médicos, revisão de lâminas, detecção do HPV e realização de ensaios de expressão por imuno-histoquímica no material selecionado. O material utilizado (Lâminas e blocos de parafina) encontrava-se no arquivo de blocos e lâminas do Laboratório de patologia do Hospital Aldenora a Bello e do Hospital Universitário Presidente Dutra, e foram separados para pesquisa.

Após aplicação dos critérios de inclusão e de não-inclusão, foram selecionados 96 casos como casuística desta pesquisa, os quais foram submetidos à revisão de dados histológicos, detecção e genotipagem de HPV e análise imuno-histoquímica para marcadores de importância diagnóstica e prognóstica.

### **4.2 Período e Local**

Esta pesquisa foi conduzida no Laboratório de Imunofluorescência e Microscopia Eletrônica do Hospital Universitário Presidente Dutra (HU-UFMA), tendo início em 2019 e finalização em 2021 e realizada com pacientes diagnosticados entre 2007 e 2021.

### **4.3 Critérios de inclusão**

Foram incluídos nesta pesquisa pacientes com diagnóstico clínico-histopatológico de câncer de pênis, maiores de 18 anos e que realizaram procedimento cirúrgico como primeira opção de tratamento.

#### **4.4 Critérios de não inclusão**

Não foram incluídos nesta pesquisa pacientes com diagnóstico clínico-histopatológico de câncer de pênis atendidos no Hospital Universitário Presidente Dutra (HU-UFMA) e Hospital do Câncer Aldenora Bello (HCAB) com dados incompletos no prontuário médico que impossibilitassem o levantamento de dados demográficos, clínicos e laboratoriais. Como também, aqueles com ausência de material em condições adequadas para estudos morfológicos.

#### **4.5 Variáveis da pesquisa**

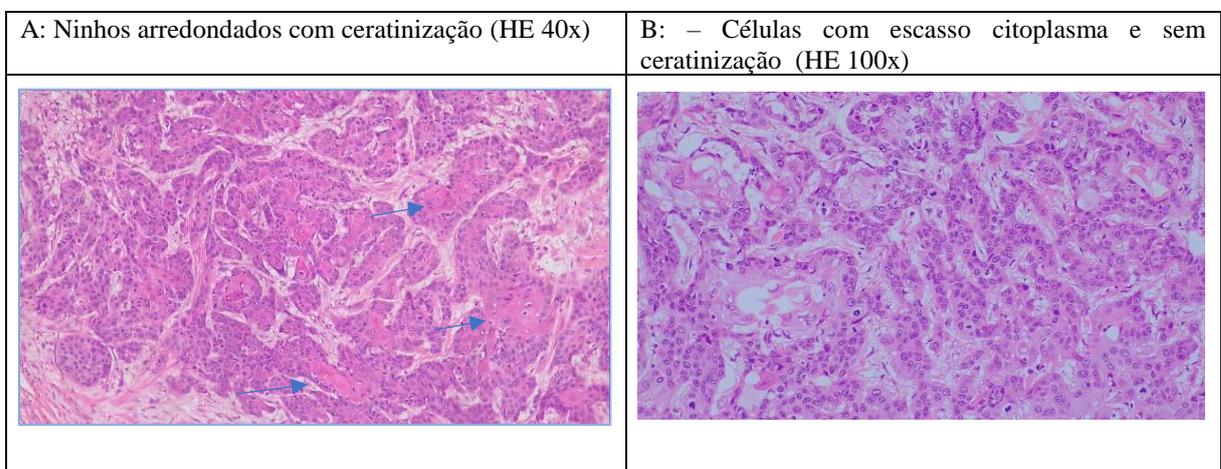
As variáveis demográficas previstas para avaliação neste estudo foram raça e idade do paciente e, através da revisão de prontuário dos pacientes, foram coletadas outras informações tais como ocupação, escolaridade, estado civil, tipo de residência, renda per capita, tabagismo, etilismo, zoofilia, higiene pessoal, número de parceiros, idade da primeira relação sexual. As variáveis clínico-histopatológicas foram histórico de ISTs (Infecções Sexualmente Transmissíveis), história pessoal e familiar de câncer, idade ao diagnóstico, início dos sintomas, características macroscópicas da lesão, tamanho e localização da lesão, tipo e subtipo histológico, nível de infiltração, grau de diferenciação celular, margens cirúrgicas, estadiamento clínico-patológico, presença de invasão angio-linfática e perineural, infiltrado inflamatório intra/peritumoral, comprometimento linfonodal, presença de metástase, sobrevida livre da doença (SLD), que foi calculada como o período entre o início do tratamento e a data da última informação objetiva observada para os pacientes nesta data.

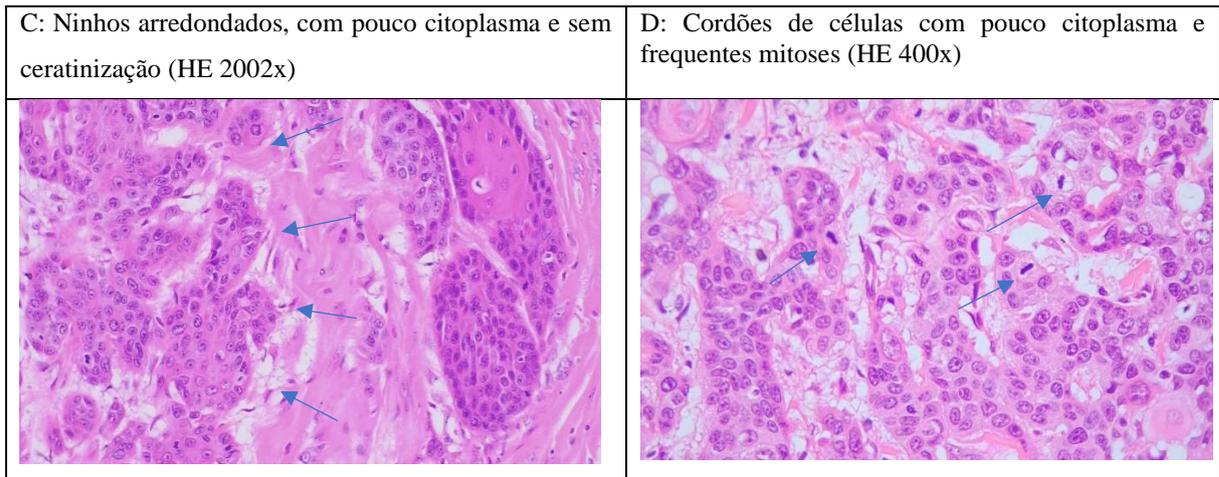
#### 4.6 Revisão de lâminas histológicas e seleção de área para estudo

Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foram separados os casos, cujas lâminas coradas em Hematoxilina e Eosina (H&E), foram submetidos a nova leitura para confirmação do diagnóstico histológico e classificação dos tumores de acordo com os critérios propostos pela *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) (EDGE, 2009). A revisão de lâminas foi conduzida por dois patologistas de forma independente.

A subclassificação dos tumores (CECs) baseou-se em critérios estabelecidos na literatura médica (WHO, 2016), sendo a variante usual do Carcinoma escamocelular caracterizada por um tumor de apresentação plano-endofítica, produtor de queratina, com células de citoplasma amplo, sem formação de papilas ou fístulas, organizadas em ninhos sólidos ou trabéculas, sendo de certa forma, um padrão residual após inobservância de critérios classificadores das demais variantes, ou seja, uma categoria de exclusão para tumores que não preenchem critérios para os demais subtipos do CEC. Considerou-se áreas de aspecto basaloide no CEC usual, a presença de áreas com células epiteliais arredondadas, citoplasma reduzido, aumento da relação núcleo-citoplasma, sem comedonecrose, que comprometesse não mais que 20% da neoplasia representada nas amostras de tumor avaliadas, e que não se enquadravam na variante basaloide ou nas outras variantes do CEC, conforme Figura 3, observa-se a visão histológica do CEC de pênis com áreas de aspecto basaloide.

Figura 3. Subtipo histológico usual do CEC com áreas de aspecto basaloide.





#### 4.7 Análise Imuno-histoquímica

Após a escolha do de 01 bloco de parafina de cada caso através da revisão de lâminas, foram feitas secções histológicas de 03µm de espessura e colocadas sobre lâminas previamente banhadas com solução de Poly-L-Lysina a fim de propiciar melhor aderência a elas. As lâminas foram dispostas em estufa com temperatura de aproximadamente 65°C na noite anterior ao ensaio imunohistoquímico (*overnight*). Seguiram-se as etapas de desparafinização, bloqueio da peroxidase endógena, bloqueio da enzima endógena biotina, aplicação do anticorpo primário monoclonal anti-p53, p16 e ki67, aplicação do bloqueador pós-primário, amplificação da expressão do anticorpo primário, revelação em cromógeno 3,3'-Diaminobenzidina, contra coloração em Hematoxilina de Harris e montagem das lâminas para análise em microscópio óptico. A avaliação da p53 foi realizada com base no escore adotado por Lopes et al, considerando positivo quando a imunomarcação é observada > 50% das células tumorais (LOPES et al., 2002). Para o KI-67, utilizou-se os critérios alta e baixa marcação, tendo a marca de separação em 40,5% adotada por Berdjis et al. (2005). Foi realizada uma estratificação para marcação da p16, variando em escores de 0 a 3, sendo 0 - nenhuma marcação celular, marcação focal, placas descontínuas e todas as células tumorais positivas, mas que, contudo, apenas quando todas as células eram positivas (escore 3) foi considerado a imunomarcação positiva para a oncoproteína p16 (CUBILLA et al., 2011).

#### 4.8 Detecção e genotipagem do Papilomavírus Humano (HPV)

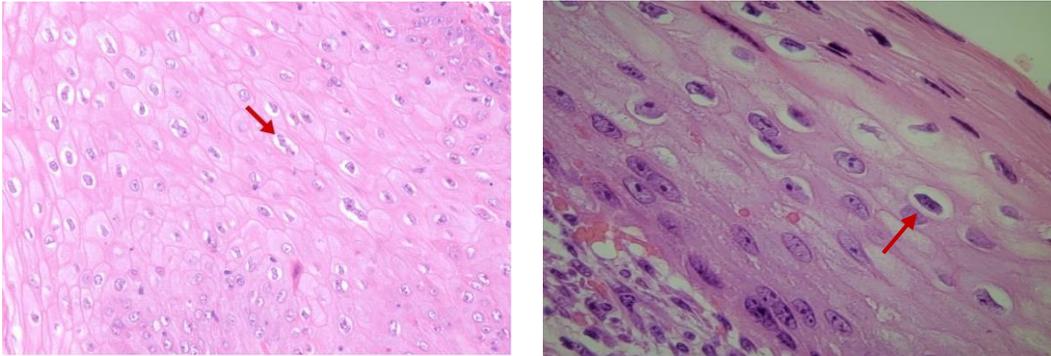
Para obtenção de material genético (DNA) de tecido FFPE, foram realizados três cortes de 10 µm de cada material parafinado e transferidos para um microtubo de 2,0 mL. Adicionado 1,0 mL de xilol em cada amostra, as quais foram incubadas por 5 minutos a 50°C para remoção do excesso de parafina. As amostras foram centrifugadas a 14.000 RPM por 2 minutos, após esta etapa foi descartado o sobrenadante e o mesmo procedimento foi feito por 03 vezes. Adicionou-se 1,0 mL de etanol absoluto após a retirada do sobrenadante na última lavagem. As amostras foram centrifugadas novamente a 14.000 RPM por 2 minutos, o sobrenadante foi descartado e a lavagem com etanol foi repetida. Após a lavagem com etanol as amostras foram submetidas as etapas de isolamento de DNA por meio do kit *QIAamp DNA FFPE Tissue* (QiagenCat No/ ID 56404), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante. As amostras foram avaliadas quanto à qualidade de extração através de quantificação de material total em espectrofotômetro Qubit® v. 3.0, com concentrações expressas em ng/ µL, e com avaliação de pureza com medidas 260/280 (entre 1,8 e 2,0) e 260/230 (acima de 1,0).

A detecção molecular do HPV foi conduzida por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) convencional, em duas etapas (tipo *nested*). Na primeira PCR foi utilizado um conjunto de *primers* genérico denominados PGMY09/11, descrito por Gravitt et al. (2002), que produzem um fragmento de 450pb da região L1 do capsídeo do HPV. Na segunda PCR utilizou-se o primer GP5+/6+ (JACOBS et al., 1997), o qual gerou um amplicon de 170pb, sendo correspondente à região L1 do capsídeo viral. Como controle positivo da reação, foi utilizado um par de *primers* para o gene da β-globina (fragmento de 366 pb). O mix final é de 25 µL para cada amostra, utilizando o kit *Mastermix PCR Platinum Superfi* (Life Technologies™), seguindo-se de 45 ciclos de 94°C por 45 segundos, 40°C por 1 min e 72°C por 1min; e por fim 72°C por 10 minutos. Os *amplicons* foram separados em gel de agarose a 1,5%, submetidos a uma tensão constante de 90V por 40 min, sendo considerados positivos aqueles que possuíram amplificação para o gene da β-globina e GP5+/6+.

Para a genotipagem das amostras positivas para HPV, foi realizado através de PCR e sequenciamento. As sequências nucleotídicas obtidas foram colocadas no software MEGA 6.0, e em seguida as sequências foram comparadas com as do banco de dados do GeneBank/NCBI,

utilizando-se o Blast – Basic Local Alignment Search Tool - como ferramenta para a genotipagem (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). A Figura 4 descreve as alterações consideradas para detecção histológica do HPV.

Figura 4. Cortes histológicos de tumor de pênis exibindo coilocitose (seta vermelha) com binucleação, vacuolização e atipia nuclear (Ampliação 100X).



#### 4.9 Aspectos Éticos

Esta pesquisa foi conduzida seguindo as regulamentações previstas na resolução CNS n.º 466/2012. As amostras utilizadas são provenientes de um biorrepositório de pesquisa do Laboratório de Imunofluorescência e Microscopia Eletrônica (LIME) do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, coletadas ao longo dos seguintes projetos de pesquisas intitulados: “Análise clínico-epidemiológica, histológica e imuno-histoquímica do câncer peniano no estado Maranhão”. Parecer n.º: 1.093.435. CAAE: 43774215.7.0000.5086; “Identificação de sítios de integração genômicos do papilomavírus humano (HPV) em tumores de pênis de pacientes do estado do Maranhão”. Parecer n.º: 3.122.045. CAAE: 05918918.9.0000.5086; “Perfil fisiopatológico e molecular de tumores de pênis associados à infecção pelo papilomavírus humano (HPV)”. Parecer n.º: 4.228.789. CAAE: 30760420.3.0000.5086

#### **4.10 Análises de dados**

Os dados foram tabulados e analisados estatisticamente no programa *SPSS v. 23.0* (Chicago, IL, USA). Foi realizado o teste do Qui-quadrado verificar associação entre as variáveis categóricas e o teste de Mann-Whitney para verificar variáveis numéricas entre os subtipos histológicos dos avaliados. A análise de sobrevida foi realizada pelo método de Kaplan-Meier para determinar a sobrevida livre de doença e sua relação com o tipo histológico. O teste de log-rank foi usado para comparar as curvas de sobrevivência. Para todas as análises foram considerados resultados significantes aqueles com  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

Foram analisados retroativamente 96 pacientes afetados por CEC e se esclarece que algumas informações não estavam disponíveis no banco de dados. Assim, da amostra avaliada, 68 pacientes formaram o grupo histológico usual sem áreas de aspecto basaloide e 28 formaram o grupo usual com áreas de aspecto basaloide. Comparando-se esses dois grupos, não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre variáveis sociodemográficas, com exceção da renda ( $p=0,026$ ). Observou-se que, respectivamente no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide e grupo usual com áreas de aspecto basaloide, predominaram idosos, acima de 60 anos, 47,1% e 50,0%, residentes da região norte do estado, 63,5 e 53,3%, pardos em 56,0% dos avaliados do grupo usual sem áreas de aspecto basaloide e 45,0% de brancos e 45% de pardos no grupo usual com áreas de aspecto basaloide. Casados foram observados em ambos os grupos, 53,3 e 62,5%, sem e com áreas de aspecto basaloide, respectivamente, assim como nenhuma escolaridade ou ensino fundamental incompleto (74,4 e 73,7%), lavradores (56,1 e 52,4%), residência rural (63,8 e 58,8%). A renda de menos de um salário-mínimo ao mês foi mais frequente no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide (94,6%) que no grupo usual com áreas de aspecto basaloide (70,6%), diferença estatisticamente significativa (valor de  $= 0,026$ ) (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Maranhão.

Variáveis	Total	Grupos histológicos		p-valor
		CEC <sup>1</sup> Usual grupo sem áreas de aspecto basaloide	CEC Usual grupo com áreas de aspecto basaloide	
		n (%)	n (%)	
Idade ao diagnóstico				
23 a 35	8 (8,3)	3 (4,4)	5 (17,9)	0,134
36 a 47	1 (1)	1 (1,5)	0 (0)	
48 a 59	40 (41,7)	31 (45,6)	9 (32,1)	
60 ou mais	47 (49)	33 (48,5)	14 (50)	
Naturalidade*				
Centro	6 (9,0)	5 (9,6)	1 (6,7)	0,253
Leste	9 (13,4)	7 (13,5)	2 (13,3)	
Norte	41 (61,2)	33 (63,5)	8 (53,3)	
Oeste	8 (11,9)	5 (9,6)	3 (20,0)	
Outros Estados	3 (4,5)	2 (3,8)	1 (6,7)	

Raça / cor*				
Branca	14 (38,9)	9 (36,0)	5 (45,5)	0,841
Parda	19 (52,8)	14 (56,0)	5 (45,5)	
Preta	3 (8,3)	2 (8,0)	1 (9,1)	
Estado Civil*				
Solteiro	26 (31,0)	20 (33,3)	6 (25,0)	0,722
Casado	47 (56,0)	32 (53,3)	15 (62,5)	
Viúvo/outros	11 (13,0)	8 (13,4)	3 (12,5)	
Escolaridade*				
Nenhuma ou Fundamental inc.	43 (74,1)	29 (74,4)	14 (73,7)	0,530
Fundamental ou médio incompleto	11 (19,0)	9 (23,1)	2 (10,5)	
Médio completo ou Superior	4 (6,9)	1 (2,6)	3 (15,8)	
Ocupação*				
Lavrador	43 (55,1)	32 (56,1)	11 (52,4)	0,120
Aposentado	15 (19,2)	12 (21,1)	3 (14,3)	
Pescador	6 (7,7)	5 (8,8)	1 (4,8)	
Outros	14 (17,9)	8 (14)	6 (28,6)	
Residência*				
Urbana	24 (37,5)	17 (36,2)	7 (41,2)	0,715
Rural	40 (62,5)	30 (63,8)	10 (58,8)	
Renda per capita*				
< 1 salário-mínimo por mês	47 (87,0)	35 (94,6)	12 (70,6)	0,026
> 1 salário-mínimo por mês	7 (13,0)	2 (5,4)	5 (29,4)	

\* Sem registro em prontuário: dados perdidos ou não informados pelos pacientes.

Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos histológicos em relação ao estilo de vida, hábitos e sintomas referidos, mas se observa um maior percentual de casos no grupo usual com áreas de aspecto basaloide em relação ao tabagismo (78,9%), etilismo (76,9%) e idade na primeira relação sexual inferior a 18 anos (92,3%). A presença de verruga genital foi mais observada no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide (16,0%) que no grupo usual com áreas de aspecto basaloide (6,7%). A referência a zoofilia, higiene genital ruim, mais de 10 parceiras sexuais, história familiar de câncer e prepúcio fimótico foram proximamente distribuídas entre os grupos, sendo presentes na população total em 45,2, 67,2, 50,0, 53,6 e 86,2%, respectivamente. Os sintomas apareceram em até 12 meses em 57,6% da população total, sendo o mais referido uma ferida por 22,0% no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide e 42,1% grupo usual com áreas de aspecto basaloide (Tabela 2).

Tabela 2. Estilo, hábitos de vida e sintomas referidos de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Maranhão.

Variáveis*	Total	Grupos histológicos		p-valor
		CEC <sup>1</sup> Usual grupo sem áreas de aspecto basaloide	CEC Usual grupo com áreas de aspecto basaloide	

	n (%)	n (%)	n (%)	
Tabagismo*				
Sim	43 (63,2)	28 (57,1)	15 (78,9)	0,094
Não	25 (36,8)	21 (42,9)	4 (21,1)	
Etilismo*				
Sim	36 (67,9)	26 (65,0)	10 (76,9)	0,511
Não	17 (32,1)	14 (35,0)	3 (23,1)	
Zoofilia				
Sim	23 (54,8)	14 (53,8)	9 (56,3)	0,879
Não	19 (45,2)	12 (46,2)	7 (43,8)	
Verruga genital				
Sim	5 (12,5)	4 (16,0)	1 (6,7)	0,383
Não	35 (87,5)	21 (84,0)	14 (93,3)	
Higiene Genital				
Sim	39 (67,2)	28 (66,7)	11 (68,8)	0,880
Não	19 (32,8)	14 (33,3)	5 (31,3)	
Histórico de IST <sup>2</sup>				
Sim	17 (34,7)	10 (31,3)	7 (41,2)	0,487
Não	32 (65,3)	22 (68,8)	10 (58,8)	
Nº de Parceiras*				
1 a 3	3 (6,8)	3 (10,7)	0 (0,0)	0,572
4 a 4	9 (20,5)	6 (21,4)	3 (18,8)	
6 a 10	10 (22,7)	6 (21,4)	4 (25,0)	
10 ou mais	22 (50,0)	13 (46,4)	9 (56,3)	
Idade Relação Sexual*				
>18 anos	7 (17,9)	6 (23,1)	1 (7,7)	0,238
<18 anos	32 (82,1)	20 (76,9)	12 (92,3)	
História Familiar de Câncer*				
Sim	13 (46,4)	10 (47,6)	3 (42,9)	0,827
Não	15 (53,6)	11 (52,4)	4 (57,1)	
Prepúcio*				
Curto	2 (3,1)	0 (0,0)	2 (11,1)	0,063
Longo	7 (10,8)	6 (12,8)	1 (5,6)	
Fimótico	56 (86,2)	41 (87,2)	15 (83,3)	
Início dos sintomas*				
Até 6 meses	14 (21,2)	9 (18,8)	5 (27,8)	0,879
7 -12 meses	24 (36,4)	19 (39,6)	5 (27,8)	
13-18 meses	11 (16,7)	8 (16,7)	3 (16,7)	
19-24 meses	8 (12,1)	6 (12,5)	2 (11,1)	
> 24 meses	9 (13,6)	6 (12,5)	3 (16,7)	
Sintomas referidos*				
Ferida	19 (27,5)	11 (22,0)	8 (42,1)	0,095
Cocêira	10 (14,5)	8 (16,0)	2 (10,5)	0,564
Prurido	9 (13,0)	7 (14,0)	2 (10,5)	0,702
Ardência	5 (7,4)	4 (8,2)	1 (5,3)	0,681
Disúria	5 (7,2)	5 (10,0)	0 (0,0)	0,152

\* Dados perdidos ou não informados pelo paciente; <sup>1</sup> Carcinoma de Células Escamosas; <sup>2</sup> Infecções Sexualmente Transmissíveis.

Em ambos os grupos, portanto na população geral, verificou-se ausência de diferenças estatisticamente significativas em relação às características da lesão. A maioria dos pacientes foi submetido a cirurgia de penectomia parcial (74,0%), tumor primário localizado na glândula (42,6%), com 2,1 a 5,0 cm de diâmetro (65,2%), unifocal (88,2%). No grupo usual sem áreas de aspecto basaloide predominou a lesão ulcerada (43,3%) e no grupo usual com áreas de

aspecto basaloide, a ulcero-vegetante (46,2%). Foram observadas diferenças significativas em relação ao grau de diferenciação, com 100,0% do grupo usual com áreas de aspecto basaloide e 64,7% do grupo usual sem áreas de aspecto basaloide com grau 3 (valor de  $p < 0,001$ ) e no estadiamento ( $p = 0,042$ ), com predomínio do estágio II (64,7 e 78,6%, grupo sem e com áreas de aspecto basaloide, respectivamente), porém 25,0% do grupo usual sem áreas de aspecto basaloide apresentou estágio I, percentual superior ao observado no grupo usual com áreas de aspecto basaloide (3,6%). A amplitude do tempo de livre da doença no grupo usual com áreas de aspecto basaloide foi menor que no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide, de 0 a 31 meses e de 0 a 62 meses, respectivamente, porém sem diferença estatisticamente significativa (Tabela 3).

Tabela 3. Características da lesão de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022.

Variáveis	Total	Grupos histológicos		p-valor
		CEC <sup>1</sup> Usual	CEC Usual	
		grupo sem áreas de aspecto basaloide	grupo com áreas de aspecto basaloide	
	n (%)	n (%)	n (%)	
Tipo de cirurgia				
Exérese / Glandectomia / Postectomia	7 (7,3)	4 (5,9)	3 (10,7)	0,588
Penectomia parcial	71 (74,0)	50 (73,5)	21 (75,0)	
Penectomia total / Emasculação	18 (18,8)	14 (20,6)	4 (14,3)	
Topografia*				
Restrito ao prepúcio / sulco coronal	7 (7,4)	4 (6,0)	3 (11,1)	0,256
Glande	40 (42,6)	29 (43,3)	11 (40,7)	
Glande e prepúcio / glande e sulco coronal	26 (27,7)	16 (23,9)	10 (37,0)	
Glande e corpo / corpo	21 (22,3)	18 (26,9)	3 (11,1)	
Tamanho da lesão*				
0,6 – 2,0 cm	9 (9,8)	7 (10,9)	2 (7,1)	0,848
2,1 – 5,0 cm	60 (65,2)	41 (64,1)	19 (67,9)	
> 5,0 cm	23 (25,0)	16 (25,0)	7 (25,0)	
Características da lesão*				
Ulcerada	34 (36,6)	29 (43,3)	5 (19,2)	0,194
Ulcero-vegetante	33 (35,5)	21 (31,3)	12 (46,2)	
Vegetante/Verrucosa	14 (15,1)	9 (13,4)	5 (19,2)	
Outras	12 (12,9)	8 (11,9)	4 (15,4)	
Grau de diferenciação				
G1 – G2	24 (25,0)	24 (35,3)	0 (0,0)	<0,001
G3	72 (75,0)	44 (64,7)	28 (100,0)	
Focalidade Tumoral*				
Unifocal	75 (88,2)	53 (88,3)	22 (88,0)	0,965
Multifocal	10 (11,8)	7 (11,7)	3 (12,0)	
Estadiamento				
Estágio I	18 (18,8)	17 (25,0)	1 (3,6)	0,042
Estágio II	66 (68,8)	44 (64,7)	22 (78,6)	

Estágio III	12 (12,5)	7 (10,3)	5 (17,9)	
Tempo de livre da doença				
Med (Mín – Máx)	8 (0 - 62)	8 (0 - 62)	11 (1 - 31)	0,631 £

\* Dados perdidos ou não informados pelo paciente; <sup>1</sup> Carcinoma de Células Escamosas; £ Mann-Whitney.

Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos histológicos na avaliação da invasão tumoral e comprometimento tecidual, com exceção da presença do infiltrado linfocitário. Ainda assim, observou-se maioria de invasão angio-linfática, perineural e comprometimento de corpos cavernosos no grupo usual com áreas de aspecto basaloide, 53,6, 53,6 e 55,6%, respectivamente, comparado ao grupo usual sem áreas de aspecto basaloide demonstrou os seguintes percentuais para essas variáveis, 38,2, 47,1 e 43,8%, respectivamente. Verificou-se distribuições aproximadas entre os grupos em relação ao padrão de invasão expansiva, comprometimento de corpo esponjoso e uretra, e não comprometimento da túnica da albugínea, associação com carcinoma *in situ*, presença de transformação sarcomatoide, presença de líquen escleroso, tumor primário pT3, ausência de linfadenomegalia. A presença do infiltrado linfocitário foi observada em ambos os grupos, sendo 98,5% do grupo usual sem áreas de aspecto basaloide e em 89,3% do grupo usual com áreas de aspecto basaloide (valor de  $p = 0,041$ ) e a localização do infiltrado peritumoral foi mais frequente no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide (59,1%) e peritumoral / intratumoral, no grupo usual com áreas de aspecto basaloide (53,8%). A metástase linfonodal não exibiu diferença significativa. (Tabela 4).

Tabela 4. Níveis de invasão e comprometimento tecidual de pacientes submetidos a penectomia para Carcinoma de Células Escamosas usual de pênis em São Luís, MA. São Luís, Maranhão, 2022.

Variáveis	Total	Grupos histológicos		p-valor
		CEC <sup>1</sup> Usual grupo sem áreas de aspecto basaloide	CEC Usual grupo com áreas de aspecto basaloide	
		n (%)	n (%)	
Padrão de invasão*				
Expansiva	43 (62,3)	30 (63,8)	13 (59,1)	0,705
Infiltrativa	26 (37,7)	17 (36,2)	9 (40,9)	
Invasão angio-linfática				
Presente	41 (42,7)	26 (38,2)	15 (53,6)	0,167
Ausente	55 (57,3)	42 (61,8)	13 (46,4)	
Invasão perineural				
Presente	50 (52,1)	32 (47,1)	18 (64,3)	0,125
Ausente	46 (47,9)	36 (52,9)	10 (35,7)	
Invasão em corpos cavernosos*				

Presente	43 (47,3)	28 (43,8)	15 (55,6)	
Ausente	48 (52,7)	36 (56,3)	12 (44,4)	0,303
Corpo esponjoso*				
Livres	16 (17,6)	13 (20,3)	3 (11,1)	0,292
Comprometidos	75 (82,4)	51 (79,7)	24 (88,9)	
Comprometimento Uretral*				
Livre	33 (37,1)	24 (38,7)	9 (33,3)	0,709
Comprometida por contiguidade	9 (10,1)	7 (11,3)	2 (7,4)	
Comprometida	47 (52,8)	31 (50,0)	16 (59,3)	
Túnica da Albugínea*				
Livre	48 (53,9)	34 (54,8)	14 (51,9)	0,795
Comprometida	41 (46,1)	28 (45,2)	13 (48,1)	
Carcinoma <i>in situ</i> associado				
Presente	73 (76,0)	51 (75,0)	22 (78,6)	0,709
Ausente	23 (24,0)	17 (25,0)	6 (21,4)	
Transformação sarcomatoide*				
Presente	26 (27,4)	15 (22,4)	11 (39,3)	0,092
Ausente	69 (72,6)	52 (77,6)	17 (60,7)	
Infiltrado Linfocitário*				
Presente	91 (95,8)	66 (98,5)	25 (89,3)	0,041
Ausente	4 (4,2)	1 (1,5)	3 (10,7)	
Localização do infiltrado*				
Peritumoral	51 (55,4)	39 (59,1)	12 (46,2)	0,261
Peritumoral e intratumoral	41 (44,6)	27 (40,9)	14 (53,8)	
Líquen Escleroso associado*				
Presente	26 (27,7)	20 (29,9)	6 (22,2)	0,935
Ausente	68 (72,3)	47 (70,1)	21 (77,8)	
Tumor primário				
pT1	21 (21,9)	17 (25,0)	4 (14,3)	0,606
pT2	26 (27,1)	17 (25,0)	9 (32,1)	
pT3	47 (49,0)	33 (48,5)	14 (50,0)	
pT4	2 (2,1)	1 (1,5)	1 (3,6)	
Linfadenomegalia				
Sim	31 (46,3)	22 (45,8)	9 (47,4)	0,959
Não	36 (53,7)	26 (54,2)	10 (52,6)	
Linfonodos metastáticos				
pN0	2 (2,1)	2 (2,9)	0 (0,0)	0,504
pN1 – pN2	2 (2,1)	1 (1,5)	1 (3,6)	
pN3	9 (9,4)	5 (7,4)	4 (14,3)	
pNX	83 (86,5)	60 (88,2)	23 (82,1)	
Extensão extranodal				
Presente	26 (72,2)	18 (72,0)	8 (72,7)	0,964
Ausente	10 (27,8)	7 (28,0)	3 (27,3)	
Metástase linfonodal				
Com metástase	32 (84,2)	20 (76,9)	12 (100,0)	0,070
Sem metástase	6 (15,8)	6 (23,1)	0 (0,0)	
Metástase à distância				
pM0 – pMx	94 (97,9)	67 (98,5)	27 (96,4)	0,512
pM1	2 (2,1)	1 (1,5)	1 (3,6)	

\* Dados perdidos ou não informados pelo paciente; <sup>1</sup> Carcinoma de Células Escamosas.

Majoritariamente, a população total apresentou HPV positivo (80,6%), dentre os positivos, foi possível realizar genotipagem em apenas 51,8%. Os tipos de HPV encontrados foram 6, 11, 16, 30, 35, 53, 56, 59, 66, 70, 74, com infecção em 79,2% e múltiplas em 20,8%

dos casos positivos. A presença de coilocitose foi observada em 64,6% e alto risco oncogênico (16, 35, 56, 59 e 66) foram observadas 87,5% da população total.

Na avaliação imuno-histoquímica, o marcador ki67 alto foi observado em 41,1% no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide e 50,0% do grupo usual com áreas de aspecto basaloide, em relação ao marcador p53 negativo, foi mais observado em 50,0% do grupo usual com áreas de aspecto basaloide, porém o grupo usual sem áreas de aspecto basaloide apresentou menor percentual, 39,9% dessa população, o marcador p16 se apresentou negativo em 81,2% da população total, sendo verificada no grupo usual com áreas de aspecto basaloide 37,5% e apenas em 10,7% no outro grupo, diferença estatisticamente significativa (valor de  $p = 0,005$ ) (Tabela 5).

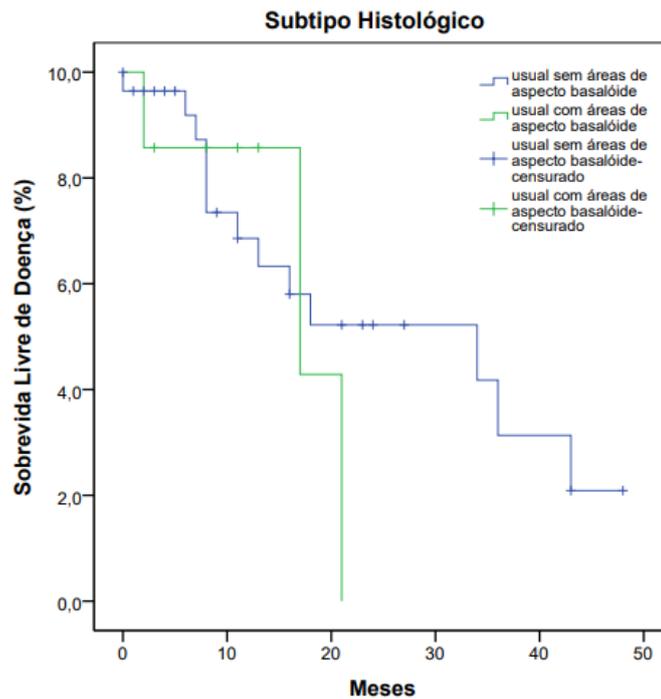
Tabela 5. Detecção do HPV e marcadores imunohistoquímicos de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Ma. São Luís, Maranhão, 2022.

Variáveis	Total	Subtipo histológico		p-valor
		CEC <sup>1</sup> Usual	CEC grupo usual com áreas de aspecto basaloide	
Detecção de HPV <sup>2*</sup>				
Negativo	12 (19,4)	9 (19,6)	3 (18,8)	0,943
Positivo	50 (80,6)	37 (80,4)	13 (81,3)	
Genotipagem*				
Demais tipos de HPV	6 (25,0)	6 (30,0)	0 (0,0)	0,206
Infecção simples/Múltipla	18 (75,0)	14 (70,0)	4 (100,0)	
Coilocitose				
Presente	62 (64,6)	45 (66,2)	17 (60,7)	0,611
Ausente	34 (35,4)	23 (33,8)	11 (39,3)	
Tipo de infecção*				
Simples	19 (79,2)	16 (80,0)	3 (75,0)	0,822
Múltipla	5 (20,8)	4 (20,0)	1 (25,0)	
Risco oncogênico*				
Baixo risco	3 (12,5)	3 (15,0)	0 (0,0)	0,408
Alto risco	21 (87,5)	17 (85,0)	4 (100,0)	
ki67*				
Baixo	45 (56,2)	33 (58,9)	12 (50,0)	0,461
Alto	35 (43,8)	23 (41,1)	12 (50,0)	
p53*				
Negativo	34 (42,5)	22 (39,3)	12 (50,0)	0,646
Positivo +	17 (21,2)	13 (23,2)	4 (16,7)	
Positivo ++	29 (36,2)	21 (37,5)	8 (33,3)	
p16*				
Negativo	65 (81,2)	50 (89,3)	15 (62,5)	0,005
Positivo	15 (18,8)	6 (10,7)	9 (37,5)	

\* Dados perdidos ou não informados pelo paciente; <sup>1</sup> Carcinoma de Células Escamosas; <sup>2</sup> Papilomavírus Humano.

Na análise de Sobrevida Livre da Doença (SLD) pela curva de Kaplan-Meier, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos sem e com áreas de aspecto basaloide, porém esse último apresenta menor sobrevida que o grupo usual sem áreas de aspecto basaloide (Figura 5).

Figura 5. Análise de sobrevida livre da doença dos pacientes submetidos a tratamento cirúrgico para Carcinoma de Células Escamosas de pênis em São Luís, Maranhão.



## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou retrospectivamente pacientes afetados com CEC de pênis subtipo usual com áreas de aspecto basaloide para analisar se aspecto o basaloide seria um achado relacionado a maior agressividade tumoral. Contudo, não foram identificadas diferenças significativas nas variáveis analisadas, apesar de morfologicamente, observar-se que os CECs usuais com áreas de aspecto basaloide tinham maior percentual de fatores de risco sociodemográficos, como presença de invasão angio-linfática e perineural e comprometimento de corpos cavernosos e linfonodal.

Comparando-se esses dois grupos, predominaram idosos, acima de 60 anos, residentes da região norte do estado, pardos e casados em ambos os grupos, assim como nenhuma baixa ou nenhuma escolaridade, residência rural, lavradores e renda menor que um salário-mínimo. De forma geral, nossos achados corroboram com a literatura no que tange fatores sociodemográficos observados na população afetada pelo CEC de pênis. Como no estudo de Vieira (2020), realizado com 116 pacientes com câncer de pênis atendidos no Hospital Universitário do Maranhão entre 2016 e 2018, onde maior parte dos pacientes eram residentes da zona rural (57,0%), casados (74,0%), agricultores e sem escolaridade ou até o ensino fundamental, com idade média de 60 anos (54%).

Os dados da literatura reforçam a percepção de que a doença acomete comumente homens entre a faixa etária de 50 a 70 anos (FONSECA et al., 2010) e nossos resultados se aproximam dos dados da Sociedade Brasileira de Urologia, onde indivíduos com mais de 50 anos de idade são afetados. Um alerta é observado no estudo de Miranda (2018), que analisou a epidemiologia do câncer de pênis no Brasil entre os anos de 1985 e 2015 e mostrou uma frequência 10,0% de acometimento pela doença nos jovens de até 40 anos. Nessa linha, em nosso estudo, o grupo usual com áreas de aspecto basaloide exibiu maior percentual na faixa de idade até 35 anos. De qualquer forma, são percentuais preocupantes, uma vez que tratamentos como emasculação e penectomia, parcial ou total, são o padrão-ouro e têm sido aplicados em homens sexualmente ativos, resultando em sequelas físicas, impacto na qualidade de vida e no bem-estar sexual, com consequente disfunção psicológica (VIEIRA, 2020). Como observado por Campos (2018), impõe-se a importância de investigação de qualquer lesão peniana suspeita,

independentemente da idade. E dada essa variação observada na literatura e a existência de poucos estudos publicados sobre câncer de pênis nessa faixa etária, bem como ainda é indeterminado se a idade mais jovem pode ser relacionada à agressividade do tumor.

O estudo de Couto et al. (2014), que investigou e analisou o perfil epidemiológico do câncer de pênis no estado de Pernambuco, demonstrou que 50,0% dos pacientes eram analfabetos e 43,2% tinham apenas a primeira série e somente 6,8% estudaram ou concluíram o colegial e 67,0% tinham emprego no âmbito informal.

Similares aos nossos achados em relação a predominância de indivíduos casados. Outros estudos divergem do nosso e traz uma alusão a frequência do câncer de pênis em homens solteiros, como referido por Torbrand et al. (2017), que relata solteiros ou divorciados com maior risco de Câncer de Pênis, porém ainda não há nenhuma evidência voltada para esta associação. O autor ainda conclui que baixo nível educacional, baixa renda e morar em uma casa de uma única pessoa aumentam o risco de câncer de pênis em estágio avançado (TORBRAND et al., 2017).

Esse conjunto de resultados, relacionados a fatores socioeconômicos, como idade, escolaridade, estado civil e renda podem resultar em uma menor sensibilidade para o autocuidado, dificuldade de acesso aos serviços de saúde e ao acesso à informação quanto ao câncer de pênis, fatores que, em conjunto colaboram para demora no tratamento e por conseguinte, piora do quadro clínico de uma doença prevenível, sendo ainda comum o diagnóstico tardio do câncer de pênis culminando na penectomia total (LEAL et al., 2012; SOUSA et al., 2014; ANTIQUEIRA, 2020).

Nossos achados em relação elevado percentual de tabagismo, convergem quando comparado a outras localidades, onde a população avaliada apresenta maior proporção de fumantes entre os pacientes com câncer de pênis, como o Rio de Janeiro, com 56,5% (KOIFMAN et al., 2011), Canadá, 50,0% (BEECH et al., 2015) e aproximado ao Paraguai, com 76,0% (CHAUX et al., 2013).

A zoofilia foi um achado interessante, como em nossos achados, Vieira et al. (2020) encontraram elevado percentual da prática de zoofilia (60,0%), dados semelhantes aos de Zequi et al. (2012), que, a fim de investigar características do comportamento sexual com animais e a associação com o CaPe, indicaram a zoofilia como um novo fator associado com o

desenvolvimento da doença, realizaram um estudo caso-controle da população brasileira com 118 pacientes com diagnóstico de câncer de pênis e 374 livres da doença, respectivamente nesses grupos, 44,9% e 31,6% reportaram esse hábito, sendo confirmado como fator de risco após a análise multivariada, sugerindo que o contato entre o tecido peniano e a mucosa genital animal pode resultar em micro-trauma e exposição a fluídos ano-genitais, que podem ser antigênicos ou carcinogênicos em humanos (BUSSO, 2013).

O tabagismo foi mais frequente em ambos os grupos, principalmente no grupo usual com áreas de aspecto basaloide. É um fator de risco associado com o desenvolvimento de diversas outras neoplasias (INCA, 2022) e estudos relataram a maior incidência de CaPe em fumantes (KOIFMAN et al., 2011; COUTO et al., 2014). O estudo de Montiel et al. (2017), que objetivou descrever a sobrevida de pacientes com câncer de pênis em cinco anos, foi verificado que o uso de tabaco aumenta a morbimortalidade em pacientes com câncer de pênis, sendo mais comum nessa população lesões maiores que 5 cm, resultante do atraso no tratamento.

Colberg et al. (2018), objetivando identificar diferenças globais quanto à incidência, fatores sociais e de risco do câncer de pênis, verificou em sua revisão que a fimose e doenças inflamatórias crônicas do pênis, incluindo as sexualmente transmissíveis, estão associadas a maiores riscos da doença, cuja prevenção é feita com exame clínico regular.

Segundo Morris, Matthews e Krieger (2020), a presença de fimose na idade adulta é superior a 3,4% e entre indivíduos com câncer de pênis, a prevalência varia de 25 a 75% mundialmente, como descrito por Heller et al. (2016). A contribuição da fimose na gênese do câncer pode ser atribuída ao acúmulo de esmegma, maior incidência de HPV ou como fator carcinogênico isolado (LETENDRE; SAAD; LATTOUF, 2011; ALBERO et al., 2013).

Belfort (2017) verificou a prevalência de 67,0% de fimose em sua amostra, percentual aproximado ao de Vieira (2020), identificou que 66,0% dos indivíduos acompanhados apresentavam histórico de fimose e que os 24,0% que representavam os pacientes circuncidados, a postectomia foi realizada na vida adulta.

Com percentual superior aos nossos, Vieira (2020), identifica que 73,0% dos indivíduos avaliados relataram ter higiene inadequada. A falta de higiene na promoção do tumor pode estar relacionada com a irritação crônica causada pela presença de esmegma, que tem sido considerado agente cancerígeno (KORKES, 2020), além de ser resultante da higiene

inadequada, o esmegma pode ser acumulado na presença do prepúcio fimótico. Outro fator importante considerado por Fortier et al. (2017), que avaliou os benefícios da consulta especializada para lesões cutâneas penianas, é relacionado ao fato de a fimose esconder uma lesão em glândula, silenciosa, podendo ser descoberta quando a lesão externamente ou na presença de odor fétido característico.

O elevado número de parceiras e menor idade na primeira relação sexual observado em nossa pesquisa corrobora com os achados de Vieira et al (2020), que relaciona a presença de HPV com essas variáveis e verificou a frequência de mais que 6 parceiras; a relação sexual antes dos 17 anos de idade foi elevada em indivíduos acometidos por câncer de pênis, fatores que podem colaborar com aumento da frequência de HPV e adicionado a isso, indivíduos sexualmente ativos há mais tempo aumentam sua vulnerabilidade de infecção ao HPV de 15% a 25% a cada nova parceria sexual, que por sua vez é altamente relacionada a ocorrência de câncer de pênis (BRASIL, 2020).

A maior parte população total do estudo apresentou coilocitose à microscopia e HPV positivo, destes, a maioria demonstrou Infecção simples ou múltipla (somente 3) para o HPV. Resultados superior ao observado em IARC (1995), que avaliou o risco carcinogênico para humanos causado pela infecção por HPV, aproximadamente 40,0%, sendo inferido que a proporção da doença vem aumentando com o passar das décadas. Conforme a metanálise de Flaherty et al., (2014), esse percentual varia conforme estudos, o DNA do HPV foi detectado entre 14% e 100% dos carcinomas penianos invasivos da literatura analisada. Diferente de nossa pesquisa, um percentual inferior foi observado no estudo de Koifman et al., (2011), que buscou determinar características epidemiológicas do câncer de pênis no Rio de Janeiro, a prevalência de coilocitose foi de 53,9%, porém o autor concluiu que não foi possível determinar a prevalência da infecção pelo HPV com baseado na presença de coilocitose.

Nossos achados são elevados, porém como os de Belfort (2017), que observou prevalência de 94,0% dos pacientes avaliados HPV, estudo também realizado com lâminas e blocos de parafina no estado do Maranhão, porém foram inseridos na pesquisa a análise com mostras frescas, o que pode influenciar na disponibilidade de material para análise, contribuindo para um maior percentual de detecção. Esses dados, assim como os nossos, são superiores aos de Vieira (2020), onde 55,0% dos casos foram infectados por HPV no estudo prospectivo, também realizado no estado do Maranhão. Sugere-se que existe grande variabilidade da

detecção no decorrer dos últimos anos no estado.

A pesquisa de Teixeira Júnior (2021), com base de dados semelhante à nossa, verificou menor prevalência (67,1%) de detecção positiva pra HPV que em relação ao nosso estudo, diferindo também em relação a presença de colicitose, identificadas em 88,4% dos casos avaliados, resultado superior aos nossos achados, embora subtipo usual tenha apresentado maior percentual desse dado. As diferenças entre os estudos podem ter relação com o número de participantes que receberam a análise para esses dados, e embora tenha maior número de pacientes com essa avaliação (79) que em nosso estudo, nossa pesquisa adicionou 27 pacientes a partir de 2020.

Dessa forma, a infecção por HPV tem relação com câncer de cérvix, vulva, ânus e orofaringe, e a infecção com o câncer de pênis ainda não é clara (AKAGI et al., 2014; GAO e SMITH, 2016). Para Afonso et al. (2017), a associação entre o câncer de pênis e a infecção por HPV é comprovada devido a frequência de detecção do vírus em indivíduos acometidos pela doença e, segundo Pastrez et al., (2017), que investigou a prevalência do HPV e caracterizou a expressão de marcadores substitutos da infecção pelo HPV em carcinoma de células escamosas de esôfago, essa associação pode ser resultante da interação de oncoproteínas com as células hospedeira levando a disfunção do ciclo celular e desencadeamento da tumorigênese.

Em dois estudos realizados no Rio de Janeiro a prevalência variou de 60,7 a 75,0%, sendo o subtipo 16 o mais frequente (SCHEINER et al., 2008; AFONSO et al., 2012). No estudo de Sousa et al., (2015), a prevalência de HPV foi de 63,15%, mais frequente os subtipos 16, 18, 45 e 69. Essa variação entre os estudos pode ser resultado das diferenças nos métodos usados de detecção do DNA, armazenamento de tecido tumoral, fresco ou embebido em parafina, e a inclusão de tumores com diversos subtipos histológicos, com relações diferentes com o HPV (FLAHERTY et al., 2014).

Em nossa pesquisa, observou-se na população total predominância de baixa expressão do ki67, negatividade de p16 e p53, que pode ter sofrido influência de elementos pré-analíticos não possíveis de intervenção, como tempo de isquemia fria, fixação com conservantes mais ácidos, assim como, pós-analíticos como acondicionamento em ambiente muito úmido que suscita crescimento fúngico e comprometimento do tecido emblocado em parafina (YILDIZ-AKTAS et al., 2012; KHOURY, T 2018; MÜLLER K et al., 2011).

Levando em conta que a expressão de p16 mostrou estar associada a um melhor prognóstico, conforme sugerido por Gunia et al., (2012), neste item, o grupo usual com áreas de aspecto basaloide demonstraria melhores resultados em relação ao grupo usual sem áreas de aspecto basaloide, porém, Lobato (2011) refere que p16 é geralmente superexpressa no epitélio displásico e que as lesões intraepiteliais de alto grau exibem forte e ampla expressão para essa proteína, da mesma forma, Ki-67 tem sido sugerido como importante marcador de proliferação celular no estudo de tumores humanos, assim, essa mesma linha, o autor afirma que a expressão negativa para p16 poderia estar presente na infecção por HPVs de baixo risco ou a expressão seria muito baixa ou até mesmo nula na presença infecção, o que foi observado em nossos achados (dados não tabelados). Essa divergência dos estudos sobre a utilização como marcadores e ainda como fatores prognósticos, pode estar relacionada a diferentes protocolos de coletas de amostras, no diagnóstico precoce da infecção pelo HPV, como observado no estudo de Martins (2019), onde a superexpressão de p16INK4a foi observada apenas no HR-HPV 16, sendo que foram diagnosticados HPV 6, 11, 42, 51, 53, 68 e 44/55, o que pode também indicar diferenças entre positividade e negatividade desse marcador conforme a genotipagem do vírus.

Em tempo Campos (2018), existe associação estatisticamente significativa entre o aumento da expressão do p53 e a maior ocorrência de recidivas, o que traz implicações no prognóstico da doença, embora a expressão do p53 e do Ki67 não tenham influenciado, na sobrevida global ou a ocorrência de metástases linfonodais. No entanto, como sugerido por Kandoth et al. (2013), existe relação sua expressão e piores indicadores, como estadiamento e sobrevida de tumores, sendo referida por Lopes et al., (2002) sua relação com maior risco de metástases linfonodais e apresenta pior curso clínico nessa população.

Martins (2018), que analisou o perfil imuno-histoquímico da proteína p16 associados a fatores histológicos e ao HPV no câncer de pênis, encontrou em sua pesquisa prevalência de homens casados (80,0%) em São Luís, Maranhão, dados que superiores aos achados de Miranda (2018), que identificou 43,6% de homens casados diagnosticados com câncer de pênis no Brasil e de Antiqueira (2020), que observou a frequência de 44,3% de casados no estado do Mato grosso.

Outro fator observado por Daling, et al. (2005) foi resultado da regressão logística

univariada mostrou que pacientes com fimose tiveram 11 vezes mais chance de superexpressão de p16, e de forma ampla, a fimose associada a má higiene íntima, consequente proliferação de esmegma, resultando, por sua vez, em lesões com potencial oncogênico (KORKES et al., 2020).

O presente estudo demonstrou que a ferida é o primeiro e principal sinal clínico percebido pelo paciente. Assim como Campos (2018) observou uma maior queixa de seus avaliados referente a presença de feridas, e também no estudo de Guidoni (2019), que, majoritariamente, foi referida.

O estudo de Teixeira Júnior (2021), observou predomínio de lesões entre 5 e 10 cm, o que divergiu de nossos achados, onde o tamanho da lesão predominou de 2 a 5 cm. O tamanho tumoral (> 3,0 cm), conforme metanálise realizada em 2019, com 25 estudos e 2.680 pacientes com câncer de pênis, de Hu et al. (2019), foi reportado como fator preditor significativo de metástase linfonodal em 4 estudos.

O câncer de pênis conforme observado na literatura, inicia-se na glândula e pode estender-se no prepúcio e corpo do pênis, podendo invadir corpos esponjoso e cavernoso além da uretra a partir da infiltração linfocitária, se não tratado (SUFRIN; HUBEN 1987; POMPEO et al. 2006), e, levando isso em conta, observa-se que em nossa amostra, o grupo usual com áreas de aspecto basaloide apresenta piores indicadores para esse tipo de infiltração, o que pode levar a um pior prognóstico.

A penectomia parcial foi realizada na maioria dos indivíduos de nosso estudo, proporção superior a outras regiões brasileiras, onde prevaleceram penectomia total (80,9%–93,1%). E corroborando com nossos achados, na pesquisa de Campos (2018) também predominou a penectomia parcial, prevalência de grau de diferenciação G2 e G3, porém observou uma frequência inferior em relação a presença de metástase linfonodal. Os dados são similares ao estudo de Guidoni (2019), que observou prevalência de penectomia parcial e localização da lesão em glândula, como em nossos achados, porém baixa ocorrência de metástases linfonodais e predomínio de diferenciação G3. Dados semelhantes ao estudo de Vieira (2020), onde prevaleceram lesões na glândula (47,0%), com tamanho médio de 4,5 cm de diâmetro, penectomia parcial (64%) e graus histológicos II e III predominantemente (87,0%) e aos de Pettaway (2021), com o acometimento do Câncer de Pênis principalmente na glândula. Estes estudos e nossa pesquisa divergem de Belfort (2017), que observou lesões não focalizadas na glândula e de G2 de diferenciação. Os dados podem divergir devido ao objetivo central da

pesquisa, com foco em fatores genéticos, sendo a amostra menor que os estudos comparados. Porém grande parte dos estudos corroboram com Cubilla (2009), onde predomina lesão na glândula em 48,0% dos casos de Câncer de Pênis, seguido do prepúcio (21,0%) e em ambas as áreas (9,0%).

O grau tumoral vem sendo referido como fator preditivo de metástase linfonodal e pior prognóstico no câncer de pênis Marques (2020). Estudo brasileiro que buscou avaliar o prognóstico de pacientes com câncer de pênis e a relação com a grau histológico, acompanhando 163 pacientes por três ou mais anos, demonstrou que o Grau 3 foi o principal fator prognóstico independente de sobrevida câncer específica (AITA et al. 2016). Da mesma forma como observado por Hu et al. (2019) em sua metanálise, onde 38,0% dos indivíduos apresentaram tumores Grau 1 e 62,0% tumores Grau 2 e 3 e evidenciou que os dois últimos foram preditores de metástase linfonodal, tanto em análise univariável, quanto multivariável. Nesse sentido, o nosso trabalho pode relacionar que, assim como a apresentação fusocelular (sarcomatoide) das células do CEC, o aspecto basaloide, elevou o grau tumoral (G3) o que pode justificar a diminuição do tempo livre de doença, comparado ao grupo sem áreas de aspecto basaloide.

Couto et al. (2014) constatou em seu estudo que 86,4% dos pacientes com Câncer de Pênis apresentou estágio TI e TII, assim como no estudo de Teixeira Júnior (2021), onde esses estágios atingiram 81,0% da sua amostra, estágios que predominaram no grupo usual sem áreas de aspecto basaloide em nossos achados, em contrapartida os dados de Antiquiera (2020) predominaram 91,8% dos estadiamentos do estágio TIII, que em nossa pesquisa foi predominante no grupo usual com áreas de aspecto basaloide, o que pode indicar elevado atraso no diagnóstico para essa população.

A presença de metástase linfonodal foi observada em grande parte da amostra em nosso estudo e mais predominantemente no grupo usual com áreas de aspecto basaloide, como verificado no estudo de Teixeira Júnior (2021), que realizou a pesquisa com um banco de dados similar ao nosso, porém com a pesquisa restrita até o ano de 2019 e com outros subtipos histológicos predominante Condilomatoso.

Metástase linfonodal é determinante da disseminação no carcinoma de pênis, considerada principal fator prognóstico nesse tipo de câncer segundo Couto et al. (2014), aproximadamente 31,9% dos casos de CaPe apresentaram metástase linfonodal unilateral ou

bilateral. Segundo SHAH (2016), que objetivou descobrir a relação de vários fatores prognósticos do carcinoma de pênis com os vários desfechos, observou que o comprometimento dos linfonodos foi fator prognóstico importante, uma vez que, a sobrevida livre da doença diminui com o acometimento linfonodal e para casos negativos é de cinco anos.

Em nosso estudo, na população total, observou-se ausência de invasão angio-linfática e de comprometimento dos corpos cavernosos, presença de invasão perineural, de comprometimento de corpo esponjoso uretral, associação com carcinoma *in situ* e infiltrado linfocitário. No entanto, maior prevalência de padrão expansivo de invasão tecidual, presença de invasão angio-linfática e perineural, comprometimento de corpo esponjoso, uretral e túnica da albugínea, além de associação com carcinoma *in situ*, foi visto no grupo usual com áreas de aspecto basaloide e o grupo usual sem áreas de aspecto basaloide demonstrou menores percentuais para essas variáveis, dessa forma, o grupo usual com áreas de aspecto basaloide apresentou piores características de nível invasão tecidual quando relacionado ao grupo usual sem áreas de aspecto basaloide e à literatura.

No estudo de Teixeira Júnior (2021), seus achados demonstraram ausência de invasão angio-linfática e perineural, dados que corroboram com os resultados do grupo usual sem áreas de aspecto basaloide, uma vez que o grupo usual com áreas de aspecto basaloide apresentou predominância dessas características em nossa pesquisa. Assim, sabe-se que invasão angio-linfática e perineural estão diretamente relacionados a um pior prognóstico e sobrevida diminuída (COELHO et al., 2018) e a invasão perineural está relacionada ao comportamento biológico do tumor (VELAZQUEZ et al., 2008; CUBILLA, 2009).

A metanálise de Hu et al. (2019) concluiu que a presença invasão perineural, volume tumoral, invasão angio-linfática, profundidade da invasão tumoral, invasão de uretra e corpo cavernoso, aumenta o risco de metástase linfonodal. Dessa forma, percebe-se que a extensão linfonodal é um fator preditivo importante para sobrevida (POMPEO et al., 2010), e ainda presença ou ausência da invasão perineural deve ser referida na anatomopatologia, pois é um considerado um parâmetro prognóstico para metástase inguinal (ERBERSDOBLER, 2016).

Além da invasão angio-linfática e perineural, os fatores prognósticos relacionados à sobrevida é a presença de metástase linfonodal e a extensão extranodal (LEONE et al., 2017), sua presença ocorre entre os pacientes com linfonodos comprometidos, característica de pior prognóstico (CHIPOLLINI et al., 2017).

Nossa pesquisa verificou predominância do tumor primário tipo pT3, como observado no estudo de Teixeira Júnior (2021), similar em relação a predominância de tumor primário pT3 (56,0%), contudo há baixa possibilidade de avaliação dos linfonodos pela não-linfadenectomia (pNx 88,0%), ou não-informação sobre metástase a distância (pMx 96,0%), o que indica uma certa homogeneidade, nesse quesito, levando em conta a inclusão de apenas 2 anos de seguimento em nossa avaliação.

Na análise de Sobrevida Livre da Doença (SLD) não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, apesar da sobrevida livre da doença, o grupo usual com áreas de aspecto basaloide ter mostrado menor amplitude em relação ao grupo usual sem áreas de aspecto basaloide. Isso pode ser justificado devido ao fato que o grupo usual com áreas de aspecto basaloide ser de alto grau histológico (G3) e ter apresentado maior percentual comprometimento vascular e de camadas mais profundas (corpos cavernosos), que são marcadores morfológicos de maior agressividade tumoral, como visto no estudo de Aita et al. (2014), que buscou identificar fatores prognósticos para recidiva, progressão e morte pela doença com e sem linfadenectomia inguinal, relacionou ao grau de diferenciação tumoral, segundo Cunha (2017), avaliando a frequência de mutações dos genes KRAS, BRAF e EGFR em câncer de pênis em uma população do nordeste do Brasil, relacionou ao envolvimento linfonodal. No estudo de Guidoni (2019) foi a sobrevida global ao câncer foi relacionada ao padrão de crescimento tumoral, grau de diferenciação histológica, infiltração de corpos cavernosos, invasão angiolinfática, invasão perineural, espessura tumoral, estadiamento pT e metástase linfonodal.

Neste ponto, podemos considerar uma limitação do nosso estudo é relativa ao caráter retrospectivo da avaliação dos dados, sendo utilizados dados registrados em prontuários, o que trouxe perda de algumas informações e limitação no número de casos, uma vez que houve ainda perdas de amostras de tecidos relacionada às lâminas arquivadas para fechamento do diagnóstico do CEC Usual. A falta de registro de diversos dados impediu uma melhor compreensão de fatores de risco associado ao CEC de pênis, sendo observada elevada perda de informações e por se tratar de uma pesquisa retrospectiva, foi impossibilitada a recuperação de dados. Outra limitação é relacionada a dificuldade de atualização do banco de dados em relação ao óbito dos pacientes, cujos prontuários não são inseridos no sistema, bem como a baixa amostragem dos tumores em alguns casos, que pode ter limitado a classificação mais adequada do subtipo dos CECs.

## 5 CONCLUSÕES

Este estudo retroativo se propôs a observar a presença de áreas de aspecto basaloide na variante usual do CEC de pênis, buscando caracterizar o perfil sociodemográfico, histopatológico, imunohistoquímico (p-16,p53 e ki67) e presença de HPV, bem como avaliar sua relação com agressividade tumoral. No entanto, os resultados não foram estatisticamente significativos, apesar do grupo ter mostrado maior percentual de achados ditos de maior agressividade como comprometimento vascular, de corpos cavernosos e linfonodal.

É essencial novos estudos, preferencialmente, de forma prospectiva que analisem os fatores associados a ocorrência de CEC de pênis, a fim de definir uma conduta prognostica padronizada e efetiva na prevenção de recidivas e com impacto na sobrevida, bem como proporcionar tratamento menos invasivo com objetivo de manter a função sexual e qualidade de vida dos pacientes.

## REFERÊNCIAS

ACC. Camargo Câncer Center. **Tudo sobre o câncer**. São Paulo. 2017. Disponível em: <http://www.accamargo.org.br/tudo-sobre-o-cancer>. Acesso em 29 de janeiro de 2022.

AFONSO, L. A., CARESTIATO, F. N., ORNELLAS, A. A., ORNELLAS, P., ROCHA, W. M., CORDEIRO, T. I., ... & CAVALCANTI, S. M. B. Human papillomavirus, Epstein-Barr virus, and methylation status of p16ink4a in penile cancer. *Journal of medical virology*, v. 89, n. 10, p. 1837-1843, 2017.

AFONSO, L. A., MOYSES, N., ALVES, G., ORNELLAS, A. A., PASSOS, M. R. L., OLIVEIRA, L. D. H. D. S., & CAVALCANTI, S. M. B. Prevalence of human papillomavirus and Epstein-Barr virus DNA in penile cancer cases from Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, p. 18-23, 2012.

AITA, G. A. Características clinicopatológicas e fatores prognósticos em portadores de câncer de pênis com linfonodos negativos submetidos ou não a linfadenectomia inguinal. Dissertação (Mestrado) – Fundação Antônio Prudente, 2014.

AITA, G. A., ZEQUI, S. D. C., COSTA, W. H. D., GUIMARÃES, G. C., SOARES, F. A., & GIULIANGELIS, T. S. Tumor histologic grade is the most important prognostic factor in patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes not submitted to regional lymphadenectomy. **International braz j urol**, v. 42, p. 1136-1143, 2016.

AKAGI, K., LI, J., BROUTIAN, T. R., PADILLA-NASH, H., XIAO, W., JIANG, B., ... & GILLISON, M. L. Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability. *Genome research*, v. 24, n. 2, p. 185-199, 2014.

AKHTER, M., HOSSAIN, S., RAHMAN, Q. B., & MOLLA, M. R. A study on histological grading of oral squamous cell carcinoma and its co-relationship with regional metastasis. **Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP**, v. 15, n. 2, p. 168, 2011.

Albero, G., Villa, L. L., Lazcano-Ponce, E., Fulp, W., Papenfuss, M. R., Nyitray, A. G., ... & Giuliano, A. R. Male circumcision and prevalence of genital human papillomavirus infection in men? A multinational study. **BMC Infect Dis**. v. 13, pg. 1–10, 2013.

ALEMANY, L., CUBILLA, A., HALEC, G., KASAMATSU, E., QUIRÓS, B., MASFERRER, E., ... & HPV VVAP study group. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. **European Urology**, v. 69, p. 953-961, 2016.

ALVARADO-CABRERO, I., SANCHEZ, D. F., PIEDRAS, D., RODRIGUEZ-GÓMEZ, A., RODRIGUEZ, I. M., FERNANDEZ-NESTOSA, M. J., ... & CUBILLA, A. L. The variable morphological spectrum of penile basaloid carcinomas: differential diagnosis, prognostic factors and outcome report in 27 cases classified as classic and mixed variants. **Applied Cancer Research**, v. 37, n. 1, p. 1-10, 2017.

ANTIQUERA, V. M. A. Aspectos epidemiológicos do câncer de pênis em Mato Grosso. Tese (**Doutorado**) – Fundação Antônio Prudente, 2020.

BARNES, K. T., MCDOWELL, B. D., BUTTON, A., SMITH, B. J., LYNCH, C. F., & GUPTA, A. Obesity is associated with increased risk of invasive penile cancer. **BMC urology**, v. 16, n. 1, p. 1-4, 2016.

BATISTA, L. L., da FONSECA, A. G., FILHO, J. F. A. A., Moreira, R. R., Regis, J. S., & FERREIRA, P. R. C. Estudo das linfadenectomias inguinais realizadas em pacientes portadores de câncer de pênis em hospital de referência na Amazônia. **Rev. para. med**, 2014.

BEECH, B., IZAWA, J., PAUTLER, S., CHIN, J., & POWER, N. Penile cancer: Perspective from a Canadian tertiary care centre. **Canadian Urological Association Journal**, v. 9, n. 9-10, p. 315, 2015.

BELFORT, M. R. D. C. Análise da alteração do número de cópias de genes envolvidos na via de sinalização celular EGFR/PI3K/AKT/PTEN em câncer peniano. Dissertação (**Mestrado**) – Universidade Federal do Maranhão, 2017.

BERDJIS, N., MEYE, A., NIPPGEN, J., DITTERT, D., HAKENBERG, O., BARETTON, G. B., & WIRTH, M. P. Expression of Ki-67 in squamous cell carcinoma of the penis. **BJU international**, v. 96, n. 1, p. 146-148, 2005.

BERTINATO, G. P., GARBERS, L. A. F. D. M., MACHADO-JÚNIOR, P. A. B., LUNEDO, A. C., DAER, D. C., & CONTAR, A. P. Linfoma primário do pênis: relato de caso. **Rev. méd. Paraná**, p. 55-58, 2021.

Bovolim, G., da Costa, W. H., Guimaraes, G. C., Soares, F. A., & da Cunha, I. W. Mixed papillary-sarcomatoid carcinoma of the penis: report of an aggressive subtype. **Virchows Archiv**, v. 471, n. 6, p. 815-818, 2017.

BRASIL. **Departamento de Informática do SUS (DATASUS)**. Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM). 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis (DCCI). **Boletim Epidemiológico Hepatites Virais 2020**. Brasília: Ministério da Saúde; 2020. 80 p.

Broders, A. C. Squamous-cell epithelioma of the lip: a study of five hundred and thirty-seven cases. **Journal of the American Medical Association**, v. 74, n. 10, p. 656-664, 1920.

BUSSO, A. F. Alteração no número de cópias genômicas e expressão gênica em larga escala em carcinomas de pênis. Tese (**Doutorado**) – Fundação Antônio Prudente, 2013.

CAMPOS, R. S. M. Análise da expressão imunohistoquímica da nucleofosmina, p53 e ki67 como fatores prognósticos em câncer de pênis. Tese (**Doutorado**) – Fundação Antônio Prudente, 2018.

CAÑETE-PORTILLO, S., CLAVERO, O., SANCHEZ, D. F., SILVERO, A., ABED, F., RODRIGUEZ, I. M., ... & CUBILLA, A. L. Medullary Carcinoma of the Penis. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 41, n. 4, p. 535-540, 2017.

CARDONA, C. E. M., & GARCÍA-PERDOMO, H. A. Incidence of penile cancer worldwide: systematic review and meta-analysis. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 41, p. e117, 2018.

CARVALHO, N. S., KANNENBERG, A. P., MUNARETTO, C., YOSHIOKA, D., ABSY, M. C. V., FERREIRA, M. A., & FILHO, R. T. Associação entre HPV e Câncer Peniano: Revisão da Literatura. DST – **Journal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 19, n. 2, p. 92-95, 2007.

CHAUX, A., CUBILLA, A. L. Advances in the pathology of penile carcinomas. **Human pathology**, v. 43, n. 6, p. 771-789, 2012.

CHAUX, A., NETTO, G. J., RODRÍGUEZ, I. M., BARRETO, J. E., OERTELL, J., OCAMPOS, S., ... & CUBILLA, A. L. Epidemiologic profile, sexual history, pathologic features, and human papillomavirus status of 103 patients with penile carcinoma. **World journal of urology**, v. 31, n. 4, p. 861-867, 2013.

CHAUX, A., TAMBOLI, P., AYALA, A., SOARES, F., RODRÍGUEZ, I., BARRETO, J., & CUBILLA, A. L. Warty–basaloid carcinoma: clinicopathological features of a distinctive penile neoplasm. Report of 45 cases. **Modern Pathology**, v. 23, n. 6, p. 896-904, 2010.

CHIPOLLINI, J., TANG, D. H., GILBERT, S. M., POCH, M. A., POW-SANG, J. M., SEXTON, W. J., & SPIESS, P. E. Delay to inguinal lymph node dissection greater than 3 months predicts poorer recurrence-free survival for patients with penile cancer. **The Journal of urology**, v. 198, n. 6, p. 1346-1352, 2017.

COELHO, R. W. P., PINHO, J. D., MORENO, J. S., DO NASCIMENTO, A. M. T., LARGES, J. S., CALIXTO, J. R. R., ... & SILVA, G. E. B.. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally?. **BMC urology**, v. 18, n. 1, p. 1-7, 2018.

COLBERG, C., VAN DER HORST, C., JÜNEMANN, K. P., & NAUMANN, C. M. Epidemiology of penile cancer. **Der Urologe. Aug. A**, v. 57, n. 4, p. 408-412, 2018.

COUTO, T. C. D., ARRUDA, R. M. B., COUTO, M. C. D., & BARROS, F. D. Epidemiological study of penile cancer in Pernambuco: experience of two reference centers. **International braz j urol**, v. 40, p. 738-744, 2014.

CUBILLA, A.L. The role of pathologic prognostic factors in squamous cell carcinoma of the

penis. **World Journal of Urology**, v. 27, p.169-177, 2009.

CUBILLA, A. L., LLOVERAS, B., ALEJO, M., CLAVERO, O., CHAUX, A., KASAMATSU, E., ... & BOSCH, F. X. Value of p16INK4a in the pathology of invasive penile squamous cell carcinomas: a report of 202 cases. **The American journal of surgical pathology**, v. 35, n. 2, p. 253-261, 2011.

CUBILLA, A. L., LLOVERAS, B., ALEMANY, L., ALEJO, M., VIDAL, A., KASAMATSU, E., ... & BOSCH, F. X. Basaloid squamous cell carcinoma of the penis with papillary features: a clinicopathologic study of 12 cases. **The American journal of surgical pathology**, v. 36, n. 6, p. 869-875, 2012.

CUNHA, M. D. P. S. S. Perfil clínico-patológico e molecular do cancer de pênis em pacientes atendidos em um centro de referência em oncologia no nordeste brasileiro. Tese (**Doutorado**) – Fundação Antônio Prudente, 2017.

DALING, J. R., MADELEINE, M. M., JOHNSON, L. G., SCHWARTZ, S. M., SHERA, K. A., WURSCHE, M. A., ... & KRIEGER, J. N. Penile cancer: importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in in situ and invasive disease. **International journal of cancer**, v. 116, n. 4, p. 606-616, 2005.

DOORBAR, J., QUINT, W., BANKS, L., BRAVO, I. G., STOLER, M., BROKER, T. R., & STANLEY, M. A. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, p. F55-F70, 2012.

EDGE, S. B., BYRD, D. R., COMPTON, C. C., FRITZ, A. G., GREENE, F. L., TROTTI, A. A. J. C. C. Cancer staging manual. **AJCC Cancer Staging Manual**. 7th edn. New York: Springer, p. 1-649, 2009.

EMERSON, R. E., ULBRIGHT, T. M., EBLE, J. N., GEARY, W. A., ECKERT, G. J., & CHENG, L. Predicting cancer progression in patients with penile squamous cell carcinoma: the importance of depth of invasion and vascular invasion. **Modern Pathology**, v. 14, n. 10, p. 963-968, 2001.

ERBERSDOBLER, A. Pathologic evaluation and reporting of carcinoma of the penis. **Clinical Genitourinary Cancer**, v. 15, n. 2, p. 192-195, 2016.

FARIA, S. M., MARTINS, A. C. P., LLORACH-VELLUDO, M. A. S., SUAID, H. J., TUCCI JR, S., COLOGNA, A. J., & OKANO, N. Imunoexpressão do Ki-67 no carcinoma do pênis. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 15, p. 31-33, 2000.

FICARRA, V., AKDUMAN, B., BOUCHOT, O., PALOU, J., & Tobias-Machado, M. Prognostic factors in penile cancer. **Urology**, v. 76, n. 2, p. S66-S73, 2010.

FICARRA, V., ZATTONI, F., CUNICO, S. C., GALETTI, T. P., LUCIANI, L., FANDELLA, A. Lymphatic and vascular embolizations are independent predictive variables

of inguinal lymph node involvement in patients with squamous cell carcinoma of the penis: Gruppo Uro-Oncologico del Nord Est (Northeast Uro-Oncological Group) Penile Cancer data base data. **Cancer**, v. 103, n. 12, p. 2507-2516, 2005.

FLAHERTY, A., KIM, T., GIULIANO, A., MAGLIOCCO, A., HAKKY, T. S., PAGLIARO, L. C., & SPIESS, P. E. Implications for human papillomavirus in penile cancer. **In: Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**. Elsevier, 2014. p. 53.

FONSECA, A. G. D., PINTO, J. A. S. D. A., MARQUES, M. C., DROSDOSKI, F. S., & FONSECA NETO, L. O. R. D. Estudo epidemiológico do câncer de pênis no Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 85-90, 2010.

FONSECA, A. J., DE LIMA FERREIRA, L. C., & NETO, G. B. Cost-effectiveness of the vaccine against human papillomavirus in the Brazilian Amazon region. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59, n. 5, p. 442-451, 2013.

FORTIER JR, E., CERRUTI, A., LE CLEC'H, C., AZZOUZI, A. R., & BIGOT, P. Benefits of urologic–dermatologic consultations for the diagnosis of cutaneous penile lesions: a prospective study. **Clinical Genitourinary Cancer**, v. 16, n. 2, p. e421-e424, 2018.

GAO, G., & SMITH, D. I. Human papillomavirus and the development of different cancers. **Cytogenetic and genome research**, v. 150, n. 3-4, p. 185-193, 2016.

GRAVITT, P. E., PEYTON, C. L., ALESSI, T. Q., WHEELER, C. M., COUTLEE, F., HILDESHEIM, A., ... & APPLE, R. J. Improved amplification of genital human papillomaviruses. **Journal of clinical microbiology**, v. 38, n. 1, p. 357-361, 2000.

GUIDONI, L. R. M. Estudo da expressão imunohistoquímica de SOX2 e ALDH1 como biomarcadores em pacientes portadores de carcinoma espinocelular do pênis. Tese (**Doutorado**) – Fundação Antônio Prudente, 2019.

GUIMARÃES, G. C., ROCHA, R. M., ZEQUI, S. C., CUNHA, I. W., & SOARES, F. A. Penile cancer: epidemiology and treatment. **Current oncology reports**, v. 13, n. 3, p. 231-239, 2011.

GUNIA, S., KAKIES, C., ERBERSDOBLER, A., HAKENBERG, O. W., KOCH, S., & MAY, M. Expression of p53, p21 and cyclin D1 in penile cancer: p53 predicts poor prognosis. **Journal of clinical pathology**, v. 65, n. 3, p. 232-236, 2012.

HAKENBERG, O. W., DRÄGER, D. L., ERBERSDOBLER, A., NAUMANN, C. M., JÜNEMANN, K. P., & PROTZEL, C. Penile Cancer: **European Association of Urology**. 2018.

HAKENBERG, O. W., DRÄGER, D. L., ERBERSDOBLER, A., NAUMANN, C. M., JÜNEMANN, K. P., & PROTZEL, C. The diagnosis and treatment of penile cancer. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 115, n. 39, p. 646, 2018.

HELLER, D. S. Lesions and neoplasms of the penis: a review. *Journal of lower genital tract disease*, v. 20, n. 1, p. 107-111, 2016.

HU, J., CUI, Y., LIU, P., ZHOU, X., REN, W., CHEN, J., & ZU, X. Predictors of inguinal lymph node metastasis in penile cancer patients: a meta-analysis of retrospective studies. ***Cancer Management and Research***, v. 11, p. 6425, 2019.

IARC. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans et al. Human papillomaviruses. ***IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans***, v. 64, p. 1, 1995.

INCA. **HPV e câncer** - Perguntas mais frequentes. Disponível em: [http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo\\_uterio/hpvcancer-perguntas-mais-frequentes](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uterio/hpvcancer-perguntas-mais-frequentes). Acesso em: 3 março de 2022.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estatísticas de câncer**, 2021. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/penis>. Acesso em: 19 jan, 2022.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Tipos de Câncer**, 2021. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/penis>. Acesso em: 19 jan, 2022.

IORGA, L., MARCU, R. D., DIACONU, C. C., STANESCU, A. M. A., STOIAN, A. P., MISCHIANU, D. L. D., ... & BRATU, O. G. Penile carcinoma and HPV infection. ***Experimental and Therapeutic Medicine***, v. 20, n. 1, p. 91-96, 2020.

KAKIES, C., LOPEZ-BELTRAN, A., COMPERAT, E., ERBERSDOBLER, A., GROBHOZ, R., HAKENBERG, O. W., ... & PROTZEL, C. Reproducibility of histopathologic tumor grading in penile cancer—results of a European project. ***Virchows Archiv***, v. 464, n. 4, p. 453-461, 2014.

KANDOTH, C., MCLELLAN, M. D., VANDIN, F., YE, K., NIU, B., LU, C., ... & DING, L. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. ***Nature***, v. 502, n. 7471, p. 333-339, 2013.

KATO, N., ONOZUKA, T., YASUKAWA, K., KIMURA, K., & SASAKI, K. Penile hybrid verrucous-squamous carcinoma associated with a superficial inguinal lymph node metastasis. ***The American journal of dermatopathology***, v. 22, n. 4, p. 339-343, 2000.

KAYES, O., AHMED, H. U., ARYA, M., & MINHAS, S. Molecular and genetic pathways in penile cancer. ***The Lancet Oncology***, v. 8, n. 5, 2007.

KHATTAK, F., HASEEB, M., FAZAL, S., BHATTI, A. I., & ULLAH, M. Mathematical modeling of E6-p53 interactions in cervical Cancer. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**: APJCP, v. 18, n. 4, p. 1057, 2017.

KHOURY, T. Delay to Formalin Fixation (Cold Ischemia Time) Effect on Breast Cancer Molecules, **American Journal of Clinical Pathology**, v. 149, n 4, p. 275–292, April 2018.

KOIFMAN, L., VIDES, A. J., KOIFMAN, N., CARVALHO, J. P., & ORNELLAS, A. A. Epidemiological aspects of penile cancer in Rio de Janeiro: evaluation of 230 cases. **International braz j urol**, v. 37, n. 2, p. 231-243, 2011.

KORKES, F., RODRIGUES, A. F. S., BACCAGLINI, W., CUNHA, F. T. S., SLONGO, J., SPIESS, P., & GLINA, S. Tendências e carga econômica do câncer de pênis no sistema público de saúde brasileiro. **Einstein** (São Paulo), v. 18, 2020.

LEAL, A. F., FIGUEIREDO, W. D. S., & NOGUEIRA-DA-SILVA, G. S.. O percurso da Política Nacional de Atenção Integral à Saúde dos Homens (PNAISH), desde a sua formulação até sua implementação nos serviços públicos locais de atenção à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p. 2607-2616, 2012.

LEBELO, R. L., BOULET, G., NKOSI, C. M., BIDA, M. N., BOGERS, J. P., & MPHAHLELE, M. J. Diversity of HPV types in cancerous and pre-cancerous penile lesions of south African men: implications for future HPV vaccination strategies. **Journal of Medical Virology**, v. 86(2): 257-265, 2014.

LEONE, A., ROCA, M. S., CIARDIELLO, C., COSTANTINI, S., & BUDILLON, A. Oxidative stress gene expression profile correlates with cancer patient poor prognosis: identification of crucial pathways might select novel therapeutic approaches. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, 2017.

LETENDRE, J., SAAD, F., & LATTOUF, J. B. Penile cancer: what's new? **Current opinion in supportive and palliative care**, v. 5, n. 3, p. 185-191, 2011.

LI, K., SUN, J., WEI, X., WU, G., WANG, F., FAN, C., & YUAN, H. Prognostic value of lymphovascular invasion in patients with squamous cell carcinoma of the penis following surgery. **BMC cancer**, v. 19, n. 1, p. 1-11, 2019.

LISBÔA, L. L. C. Mortalidade por câncer de pênis: análise de tendência nos estados brasileiros. Dissertação (**Mestrado**) – Universidade Federal do Maranhão, 2019.

LOBATO, S. Análise da expressão das proteínas P16INK4a, KI67 e MCM7 e da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) na progressão das lesões escamosas intraepiteliais do colo uterino. Tese (**Doutorado**) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

LOPES, A., BEZERRA, A. L. R., PINTO, C. A. L., SERRANO, S. V., DE MELLO, C. A., & VILLA, L. L. p53 as a new prognostic factor for lymph node metastasis in penile carcinoma:

analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. **The Journal of urology**, v. 168, n. 1, p. 81-86, 2002.

MAICHE, A. G., PYRHÖNEN, S., & KARKINEN, M. Histological Grading of Squamous Cell Carcinoma of the Penis: A New Scoring System. **British Journal of Urology**, v.67, p. 522-526, 1991.

MARQUES, M. R. L. Perfil de expressão dos fatores de transcrição STAT-1, STAT-4 e T-bet no carcinoma escamoso de pênis. Tese (**Doutorado**) - Fundação Antônio Prudente, 2020.

MARTINS, V. D. A., PINHO, J. D., TEIXEIRA JÚNIOR, A. A. L., NOGUEIRA, L. R., SILVA, F. F., MAULEN, V. E., ... & SILVA, G. E. B. P16INK4a expression in patients with penile cancer. **PLoS One**, v. 13, n. 10, p. e0205350, 2018.

MARTINS, V. D. C. A. Característica sociodemográfica, epidemiológica, clínica e o viroma de pacientes com câncer de pênis do Estado do Amazonas. Tese (**Doutorado**) – Universidade Federal do Amazonas, 2019.

MICALI, G., NASCA, M. R., INNOCENZI, D., & SCHWARTZ, R. A. Penile cancer. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 54, n. 3, p. 369-391, 2006.

MIRANDA, M. C. L. Análise epidemiológica do câncer de pênis no Brasil entre os anos de 1985 a 2015. Dissertação (**Mestrado**) - Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, 2018

MONTIEL-JARQUÍN, Á. J., DE JESÚS CONTRERAS-DÍAZ, A., VÁZQUEZ-CRUZ, E., CHOPIN-GAZGA, M. A., ROMERO-FIGUEROA, M. S., ETCHEGARAY-MORALES, I., & ALVARADO-ORTEGA, I. Five-year survival analysis in patients with penile cancer. **Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social**, v. 55, n. S1, p. 34-43, 2017.

MORRIS, B. J., MATTHEWS, J. G., & KRIEGER, J. N. Prevalence of phimosis in males of all ages: systematic review. **Urology**, v. 135, p. 124-132, 2020.

MORRIS, B.J.; KRIEGER, J.N. Penile Inflammatory skin disorders and the preventive role of circumcision. **International Journal of Preventive Medicine**, v 4(8):32, 2017.

MÜLLER K, ELLENBERGER C, AUPPERLE H, SCHMÄSCHKE R, SCHELLER R, WITTENBRINK MM, SCHOON HA. Fungal contamination of paraffin wax blocks in a pathology archive. **Journal of comparative pathology**. v. 145, n.2-3, p. 214-9, 2011.

NAM, J. K., LEE, D. H., PARK, S. W., KAM, S. C., LEE, K. S., KIM, T. H., ... & KIM, T. N. Clinicopathologic characteristics and treatment outcomes of penile cancer. **The World Journal of Men's Health**, v. 35, n. 1, p. 28-33, 2017.

NASCIMENTO-JÚNIOR, Braz José do. **Anatomia humana sistemática básica**. Petrolina, PE: UNIVASF, 2020.

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

PATEL, H., JEVE, Y. B., SHERMAN, S. M., & MOSS, E. L. Knowledge of human papillomavirus and the human papillomavirus vaccine in European adolescents: a systematic review. **Sexually transmitted infections**, v. 92, n. 6, p. 474-479, 2016.

PETTAWAY, C. A. Carcinoma of the penis: clinical presentation, diagnosis, and staging. **UpToDate**, Waltham, MA, 2021.

PIZZOCARO, G., ALGABA, F., HORENBLAS, S., SOLSONA, E., TANA, S., VAN DER POEL, H., & Watkin, N. A. EAU penile cancer guidelines 2009. **European urology**, v. 57, n. 6, p. 1002-1012, 2010.

POMPEO, A. C. L., HEYNS, C. F., & ABRAMS, P. Penile cancer: International Consultation on Penile Cancer, Santiago, Chile. **Montreal**: Société Internationale d'Urologie (SIU), 2009.

POMPEO, A. C. L., MARTINS, A. C. P., & SOUZA JR, A. E. P. Sociedade Brasileira de Urologia. Projeto Diretrizes: Carcinoma do Pênis-Parte II. **Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina**, v. 4, 2006.

POMPEO, A. C. L. Câncer de Pênis **In**: JÚNIOR, Archimedes Nardozza; ZERATTI FILHO, A.; REIS, B. R. Urologia fundamental. São Paulo: Planmark Editora Ltda, 2010.

POW-SANG, M. R., FERREIRA, U., POW-SANG, J. M., NARDI, A. C., & DESTEFANO, V. Epidemiology and natural history of penile cancer. **Urology**, v. 76, n. 2, p. S2-S6, 2010.

PRAPISKA, F. F., & WARLI, S. M.. P53 and survival rate in penile cancer. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 7, p. 1170, 2019.

PRIGGE, E. S., ARBYN, M., VON KNEBEL DOEBERITZ, M., & REUSCHENBACH, M.. Diagnostic accuracy of p16<sup>INK4a</sup> immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinomas: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Cancer**. v.140(5), p.1186-1198, 2017.

RAASHID, H., INAAM, Z., AADIL, H., DARZI, M. A., RASOOL, A., ABDUL, H., & AKHTER, A. Dermatofibrosarcoma protuberans of penis: case report and literature review. **Urology Annals**, v. 6, n. 3, p. 258, 2014.

RODNEY, S. HPV and penile cancer: perspectives on the future management of HPV-Positive disease. **Cancer network – Home of the journal oncology**, v. 30, n. 3, p. 250- 252, 2016.

ROSAS, N. A. B., DE SOUZA, P. M., BANDEIRA, V. H. R., RONDON, H. H. D. M. F., CASTRO, N. S., HEIBEL, M., ... & ALVES, V. D. C. R. Fatores de risco para o câncer

peniano: revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 3, p. 13138-13147, 2021.

SANCHEZ, D. F., RODRIGUEZ, I. M., PIRIS, A., CAÑETE, S., LEZCANO, C., VELAZQUEZ, E. F., ... & CUBILLA, A. L. Clear cell carcinoma of the penis: an HPV-related variant of squamous cell carcinoma: a report of 3 cases. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 40, n. 7, p. 917-922, 2016.

SCHEINER, M. A., CAMPOS, M. M., ORNELLAS, A. A., CHIN, E. W., ORNELLAS, M. H., & ANDRADA-SERPA, M. J. Human papillomavirus and penile cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV typing and clinical features. **International braz j urol**, v. 34, n. 4, p. 467-476, 2008.

SCHNEEDE, P.; SCHLENKER, B. Anogenitale Warzen und HPV-assoziierte Präkanzerosen. **Der Urologe**, v. 57, n. 4, p. 453-457, 2018.

SENKOMAGO, V., HENLEY, S. J., THOMAS, C. C., MIX, J. M., MARKOWITZ, L. E., & SARAIYA, M. Human papillomavirus-attributable cancers—United States, 2012–2016. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, n. 33, p. 724, 2019.

SHAH, A. A., SHAH, H. A., PANJWANI, G. N., PANDEY, B. B., & SHAH, N. Prognostic factors and 5-year survival of patients with carcinoma penis: Tertiary health center study. **Indian Journal of Cancer**, v. 53, n. 2, p. 309, 2016.

SLATON, J. W., MORGENSTERN, N., LEVY, D. A., SANTOS, M. W., TAMBOLI, P., RO, J. Y., ... & PETTAWAY, C. A. Tumor stage, vascular invasion and the percentage of poorly differentiated cancer: independent prognosticators for inguinal lymph node metastasis in penile squamous cancer. **The Journal of urology**, v. 165, n. 4, p. 1138-1142, 2001.

SOLSONA, E., ALGABA, F., HORENBLAS, S., PIZZOCARO, G., & WINDAHL, T. E. A. U. EAU guidelines on penile cancer. **European urology**, v. 46, n. 1, p. 1-8, 2004.

SOUSA, I. D. B., VIDAL, F. C. B., VIDAL, B., CASTELLO, J. P., DE MELLO, G. C. F., DO DESTERRO NASCIMENTO, M.S .B. N., & BRITO, L. M. O. Prevalence of human papillomavirus in penile malignant tumors: viral genotyping and clinical aspects. **BMC urology**, v. 15, n. 1, p. 1-6, 2015.

SOUSA, J. E. R. B.; SOARES, L. S.; REIS, E. M. A.; CARVALHO, M. R.; SILVA, G. R. F.; Man`s know ledge about prevention of penile câncer. **Rev de Enfermagem da UFPI**. Teresina.PI 3(1):79-84, jan-mar, 2014.

SUFRIN, G., & HUBEN, R. **Benignant and malignant lesions of the penis**. Adult and pediatric urology. 2nd ed. Chicago: Year Book Medical, p. 1462-3, 1987.

TEIXEIRA JÚNIOR, A. A. L. Perfil imuno-histoquímico e estado físico genômico do Papilomavírus humano (HPV) em tumores de pênis. Dissertação (**Mestrado**) – Universidade Federal do Maranhão. Monografia. 2019.

TORBRAND, C., WIGERTZ, A., DREVIN, L., FOLKVALJON, Y., LAMBE, M., HÅKANSSON, U., & KIRRANDER, P. Socioeconomic factors and penile cancer risk and mortality; a population-based study. **Bju international**, v. 119, n. 2, p. 254-260, 2017.

VELAZQUEZ, E. F., AYALA, G., LIU, H., CHAUX, A., ZANOTTI, M., TORRES, J., ... & CUBILLA, A. L. Histologic grade and perineural invasion are more important than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. **The American journal of surgical pathology**, v. 32, n. 7, p. 974-979, 2008.

VELAZQUEZ, E. F., MELAMED, J., BARRETO, J. E., AGUERO, F., & CUBILLA, A. L. Sarcomatoid carcinoma of the penis: a clinicopathologic study of 15 cases. **The American journal of surgical pathology**, v. 29, n. 9, p. 1152-1158, 2005.

VIEIRA, C. B., FEITOZA, L., PINHO, J., TEIXEIRA-JÚNIOR, A., LAGES, J., CALIXTO, J., ... & SILVA, G. E. B. Profile of patients with penile cancer in the region with the highest worldwide incidence. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-7, 2020.

WHO. Tumours of the penis. In: **Who Classification of Tumours of the urinary system and male genital organs**. 4ª Edição, p. 259-285, 2016.

WIND, M. M., FERNANDES, L. M. S., PINHEIRO, D. H. P., FERREIRA, V. R., GABRIEL, A. C. G., CORREIA, S. F., & SILVA, C. T. X. Câncer de pênis: aspectos epidemiológicos, psicológicos e fatores de risco. **Brazilian journal of development**, v. 5, n. 9, p. 14613-14623, 2019.

YILDIZ-AKTAS, I., DABBS, D. & BHARGAVA, R. The effect of cold ischemic time on the immunohistochemical evaluation of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 expression in invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* **25**, 1098–1105 (2012). <https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.59>

ZEQUI, S.C, GUIMARÃES, G. C., DA FONSECA, F. P., FERREIRA, U., DE MATHEUS, W. E., REIS, L. O., ... & LOPES, A. Sex with animals (SWA): behavioral characteristics and possible association with penile cancer. A multicenter study. **The journal of sexual medicine**, v. 9, n. 7, p. 1860-1867, 2012.

ZHOU, X., QI, F., ZHOU, R., WANG, S., WANG, Y., WANG, Y., ... & SONG, N. The role of perineural invasion in penile cancer: a meta-analysis and systematic review. **Bioscience reports**, v. 38, n. 5, 2018.

ZHU, Y., ZHANG, H. L., YAO, X. D., ZHANG, S. L., DAI, B., SHEN, Y. J., & YE, D. W. Development and evaluation of a nomogram to predict inguinal lymph node metastasis in

patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes. **The Journal of urology**, v. 184, n. 2, p. 539-545, 2010.

ZIARAN, S., HARSANYI, S., BEVIZOVA, K., NOVAKOVA, Z. V., TREBATICKY, B., BUJDAK, P., ... & DANISOVIC, L. Expression of E-cadherin, Ki-67, and p53 in urinary bladder cancer in relation to progression, survival, and recurrence. **European journal of histochemistry**: EJH, v. 64, n. 2, 2020.

**9 PRIMEIRO ARTIGO CIENTÍFICO** – Predictive histopathological factors of nodal metastasis in penile cancer: a review with a perspective from the region with highest in the world

**Periódico:** Frontiers in Oncology

**Classificação WebQualis:** A2

**Área:** Medicina II

**Fator de Impacto:** 6.200

**9.1 Artigo 1: Predictive histopathological factors of nodal metastasis in penile cancer: a review with a perspective from the region with highest in the world**

**Review Article**

**PREDICTIVE HISTOPATHOLOGICAL FACTORS OF NODAL METASTASIS IN PENILE  
CANCER: A REVIEW WITH A PERSPECTIVE FROM THE REGION WITH HIGHEST IN  
THE WORLD**

**Running Title: Predictive nodal metastasis in PC**

Syomara Pereira da Costa Melo<sup>1</sup>, Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior<sup>1,2</sup>, José de Ribamar Rodrigues Calixto<sup>3</sup>, Antônio Alencar Machado Júnior<sup>4</sup>, Francisco Sérgio M.S. do Nascimento<sup>5</sup>, Denner Rodrigo Diniz Duarte<sup>1</sup>, Wilson Araújo Silva Júnior<sup>2</sup>, Joyce Santos Larges<sup>1</sup>, Jaqueline Diniz Pinho<sup>1,6</sup>, Gyl Eanes Barros Silva<sup>1\*</sup>

1. Laboratory of Immunofluorescence and Electron Microscopy, Presidente Dutra University Hospital, São Luís, Brazil
2. Department of Genetics, University of Sao Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil
3. Department of Medicine II, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil
4. Departamento of Urology, Presidente Dutra University Hospital, São Luís, Brazil
5. Department of Medicine, Federal University of Maranhão, Pinheiro, MA, Brazil
6. State University of Maranhao, Zé Doca, MA, Brazil

**\*Corresponding Author:** Address: Laboratory Immunofluorescence and Electron Microscopy, University Hospital Universitário Presidente Dutra, R. Barão de Itapari, 227 - Centro, São Luís - MA, Brazil 65020-070. E-mail: gyleanes@alumni.usp.br, Tel: +55982109-6470

## **Abstract**

Penile cancer (PC) is a neoplasm with variable incidence depending on geographic location. It has greater prevalence in underdeveloped countries and, particularly, in the poorer regions of Brazil. Because PC affects socially disadvantaged populations in underdeveloped countries, advancements in clinical management and treatment are needed. The presence and extent of inguinal lymph node metastasis are the most important prognostic factors in PC. Lymphadenectomy can interrupt disease progression and promote cure. However, lymphadenectomy has a high rate of short- and long-term complications, and current clinical and radiological evaluations are insufficient to detect metastasis. In high-incidence areas, prophylactic lymphadenectomy is a viable option for patients at high risk of metastasis who are unable to complete medical follow-up. Researchers have explored the ability of several histological factors to safely predict the occurrence of metastasis in inguinal lymph nodes. The aim of this study was to provide pathologists, oncologists, and urologists with a review of the main histopathological parameters that should be considered when deciding whether to perform lymphadenectomy based on literature review and some personal observations from the experience of the region with the highest incidence of PC worldwide.

**Keyword:** lymphadenectomy, histological factors, lymph node metastasis, prognostic factor, penile cancer

## **Introduction**

Penile cancer (PC) is a neoplasm with variable incidence depending on geographic location, with higher prevalence in underdeveloped countries when compared with the first world (1). Moreover, the poorest regions of Brazil have the highest incidence of PC, according to the literature (2,3). Because PC mainly affects a socially disadvantaged population from underdeveloped countries, knowledge of its pathology, clinical management, and treatment is still limited. However, it has been revealed that the presence and extent of inguinal lymph node metastasis are the most important prognostic factors of PC (4,5).

PC often metastasizes first to the superficial inguinal lymph nodes, then extends to the deeper nodes, and, finally, to the iliac lymph nodes (6). Lymphadenectomy can interrupt this process and acts as a

curative treatment for PC. Moreover, recent studies have revealed better survival outcomes in patients with microscopic metastases who undergo prophylactic inguinal lymphadenectomy (IL) compared with those whose physical examination initially showed no metastasis to the lymph nodes but who later had recurrent disease (7–11). Clinical and radiological assessments are insufficient to detect early lymph node metastasis. Therefore, prophylactic lymphadenectomy is a viable procedure for selected patients at high risk of metastasis. Although, IL has a high rate of short- and long-term complications.

Accordingly, several histological factors have been explored with regard to their potential to reliably predict the occurrence of metastasis in inguinal lymph nodes. This study aims to provide pathologists, oncologists, and urologists with a review of the main histopathological parameters that should be considered when deciding to perform lymphadenectomy, along with observations from the region with the highest incidence of PC worldwide (2).

### **Histological type**

Squamous cell carcinoma (SCC) makes up 95% of PCs. The remaining 5% are classified as sarcoma (leiomyosarcoma, Kaposi's sarcoma, angiosarcoma, rhabdomyosarcoma, epithelioid sarcoma, and Ewing's sarcoma), melanoma, adenocarcinoma, or sebaceous carcinoma) (12). Although there is less evidence to support the use of lymphadenectomy in these other neoplasms, aggressive approaches should be considered in appropriate patients. Furthermore, it is important to consider tumor stage and nodal status when predicting the outcome of patients with non-SCC neoplasms (13).

In cases of penile melanoma, sentinel lymph node evaluation is similar to the established protocol for melanoma in other sites (14). Penile sebaceous carcinoma has a strong tendency to metastasize to regional lymph nodes; thus, it is usually treated with wide local excision and regional lymphadenectomy. Regional lymphadenectomy is performed only if clinically significant nodes are found. In one study, three of five patients with sebaceous carcinoma presented with bilateral palpable inguinal lymph nodes and underwent inguinal lymphadenectomy. In two of these three patients, biopsy revealed nodal metastasis (15).

### **Histological subtype**

Penile SCC is classified into several subtypes that demonstrate varying rates of inguinal lymph node involvement and survival. The most recent WHO classification divided SCC into two categories: HPV-associated and non-HPV-associated SCC (16). Unlike in SCC of the head and neck, the presence of HPV in penile SCC does not necessarily dictate prognosis or therapeutic approach. Thus, classifying tumors as HPV+ or HPV- may not be as useful as grouping them into histological subtypes of low risk or high risk for developing lymph node metastasis.

The frequency of SCC subtypes varies according to geographic location. In northeastern Brazil, HPV was detected in up to 89.1% of penile SCC cases (17), a rate higher than that seen in other regions, which have a prevalence ranging range from 1.3–72.9%. In our previous study, we showed many HPV-associated subtypes, differing from other regions, characterized by a large predominance of the usual variant (HPV-) (18).

Given the importance of the SCC histological subtype, it is vital that adequate tissue representation is used in macroscopy for the correct subclassification of these tumors. This is especially true for regions of high incidence, where patients seek medical assistance at a very advanced stage, with an average of almost thow years after first signs of the disease and with large tumors measuring about 4.5 cm (3). In this cases, more than one pattern is often observed under macroscopy and microscopy, and each of them may have different degrees of differentiation and a different prognostic profile, considering the high frequency of mixed subtypes in our cases, particularly in advanced tumors. Given these peculiarities regarding morphological criteria, we recommend that the same professional conduct all diagnostic steps, from macroscopy to microscopy. In the next section, we group the subtypes based on the risk of developing lymph node metastasis.

### ***Low-risk group***

In this section, we group the PC subtypes according to the risk of developing lymph node metastasis. Verruciform neoplasms make up one class of PC that is at low risk of metastasis, regardless of presence or absence of HPV. The prototype of this exophytic pattern is verrucous carcinoma, an HPV-*in-situ* neoplasm that is rarely invasive. Therefore, *in-situ* tumors and verrucous SCC are not recommended for IL, even when there is clinical suspicion of nodal involvement. In fact, there are no

reports of metastasis in patients with these tumors. Usually, antibiotic treatment is initiated for enlarged nodules, and the nodule is excised if enlargement persists (19). Other subtypes of verruciform carcinoma that are not associated with HPV and exhibit low rates of lymph node metastasis include pseudohyperplastic, papillary, and cuniculatum SCC.

Condylomatous carcinoma is a form of verruciform carcinoma that is associated with HPV and demonstrates a low rate of inguinal metastasis of approximately 17% (20). Nevertheless, more advanced tumors with a higher level of infiltration are more likely to lead to lymph node metastasis. In our country, where the neoplasm is diagnosed after two years of disease progression, the lesions are large, often forming part of a mixed-pattern neoplasm, especially with the usual type. In these cases, the patient faces a less favorable prognosis, usually with a more aggressive carcinoma component.

### ***High-risk group***

We classified tumors as high-risk if they demonstrated a risk of lymph node metastasis at diagnosis of greater than 50%. Like low-risk tumors, there are representatives of both HPV+ and HPV- tumors in this category. Non-HPV-associated subtypes include the usual (pattern solid), pseudoglandular and sarcomatoid, showing a risk of nodal involvement above 85% (22).

Among the subtypes associated with HPV are basaloid, clear cell, and mixed forms of SCC such as warty-basaloid. The risk of lymph node metastasis in these subtypes ranges from 50% to 66% in basaloid SCC to 100% in clear cell SCC (21). Other HPV+ forms of PC, such as lymphoepithelioma-like and medullary cancer, are high-grade neoplasms rich in inflammatory cells, but their prognosis has not yet been established.

Hybrid, warty-basaloid, and papillary-basaloid carcinomas should be further evaluated according to the percentage of the highest risk component. Thus, the tissues of the lesions should be accurately represented and observed to detect different subtypes. At our institution, lesions are well represented, with those smaller than 3.0 cm being fully represented, and the larger lesions being prepared with at least 30 blocks of paraffin.

### **Histological grade**

Tumor histological grade is the most important prognostic factor in PC patients with clinically negative lymph nodes that do not undergo regional lymphadenectomy (23). The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) and the European Urological Association (EUA) have published guidelines on the management of PC based on the histological grade and staging of the primary tumor (pTNM, AJCC). In epithelial tumors, it is generally more difficult to define the histological grade of squamous carcinomas than in adenocarcinomas. Moreover, classification criteria vary according to the institution, resulting in high interobserver variability in the grading of PC (24). Additionally, it is important to note that knowledge of SCC in other sites does not necessarily apply to SCC of the penis.

The morphological features commonly used to assess SCC grade are keratinization; cell atypia/anaplasia calculated by the nucleus to cytoplasm ratio; thickness of the cell membrane; nuclear pleomorphism and chromatin pattern; pattern of tumor growth and expansion in nests, cords, solid blocks, and detached cells; and presence of nucleolus, mitotic activity, intercellular bridges, and tumor edge (25). Tumor grading was classified based on the following criteria: G1 - well-differentiated, tumors with minimal changes and morphological proximity to a normal or hyperplastic epithelium, and atypia in the most basal layer; G2 - moderately differentiated, tumors with alterations between G1 and G3; and G3 - poorly differentiated, tumors with any percentage of cell anaplasia (6). This classification system demonstrates the importance of accurate sampling to detect small areas of undifferentiated cells.

The risk of nodal involvement, as well as tumor invasiveness and aggressiveness increase with histological grade. Specifically, nodal metastasis is found in approximately 8% of G1 tumors, 50% of G2 tumors, and 60% of G3 tumors (26, 27).

### **Tumor location and measurement**

The glans is the most frequent site of involvement in penile cancer, followed by the foreskin. Tumors of the foreskin have a better prognosis than those of the glans because they are of a lower grade and are more superficial than those of the glans, thus demonstrating less potential for nodal metastasis.

Although tumor size is not a good predictive factor for penile SCC, tumors 2–4 cm in size are more likely to be associated with nodal metastasis, in contrast to tumors smaller than 2 cm or larger than

4 cm. This is due to tumors with superficial dissemination (verruciforms) that reach large proportions (28, 29).

### **Presence of koilocytosis/HPV**

Koilocytosis is a morphological parameter indicative of the presence of HPV that should be included in the histopathological report. Through polymerase chain reaction (PCR), HPV has been identified as an important prognostic marker for penile neoplasia because of its tumorigenic pathway in SCC and its occurrence in tumor tissues (30). At least two Brazilian studies have identified an association between koilocytosis and a low incidence of lymph node metastasis (31, 32). However, further research is warranted for confirmation.

### **Perineural invasion**

Perineural invasion is characterized by infiltration of the clear space surrounding the nerve bundle under the epineurium and should not be confused with the nerve trapped within the tumor mass. The role of perineural invasion in PC is controversial. Some researchers have declared the presence of perineural invasion to be associated with a high risk of inguinal lymph node metastasis in PC patients (26, 33). Other, including studies from Brazil, have found different results (31, 33–35). In 2009, the European Association of Urology (EAU) guidelines introduced perineural invasion as an important prognostic factor to lymph node metastasis (36), although the same importance is not given to the 2014 EUA, 2017 National Comprehensive Cancer Network, or the 8<sup>th</sup> edition of the AJCC TNM staging guidelines.

### **Lesion depth/tumor thickness**

The depth of invasion and tumor thickness are often confused, and although they represent different measurements, they have equivalent significance. The depth of invasion is measured from the intact basement membrane of the tumor edge to the deepest tumor cell. Tumor thickness, in turn, is measured from the top of the neoplasm to the deepest tumor cell. In exophytic and keratinizing lesions, tumor thickness is measured from the surface, not including the keratin layer; in ulcerated lesions, tumor thickness is measured from the surface of the ulcer (3, 4, 28).

The mean thickness of neoplasia-free penile tissue to the lamina propria is 3 mm (T1), to the corpus spongiosum is 5 mm (T2), and to the corpus cavernosum is 10 mm (T3). In the foreskin, the thickness from the skin to the mucosa is approximately 10 mm (38).

Studies have shown a correlation between tumor thickness and lymph node metastasis index. Additionally, higher tumor infiltration and histological grade are correlated with a greater likelihood of lymph node metastasis. Thus, tumors with a thickness < 5 mm have a minimal risk of metastasis, those with a thickness of 5–10 mm have an intermediate risk of metastasis, and those with a thickness > 10 mm have a high risk of metastasis (approximately 80–86%). Nevertheless, due to anatomical variation in thickness, we believe TNM staging classification (based on anatomical structure) to be more efficient in the assessment of depth of invasion than the measurement in millimeters (7).

### **Growth pattern and invasion front**

Neoplasm growth patterns can be horizontal or vertical and correspond to the form of tumor spread and the relationship with the host tissue. Some researchers have determined the vertical growth pattern to be associated with a more unfavorable prognosis compared to the horizontal growth pattern (39–40). Moreover, the horizontal growth pattern is typically found in exophytic verruciform tumors.

Recently, researchers have turned their attention to the assessment of the so-called “invasion front” (38). Translocation of neoplastic cells is a well-known feature at the invasion front of malignant tumors. The change in the phenotypic pattern of invasion with the absence of epithelial markers and the presence of mesenchymal markers may be associated with invasion and lymph node involvement (41, 42). Unlike in colorectal and head and neck tumors, no studies have yet assessed tumor budding in PC. Thus, future study of this topic is warranted.

### **Nomograms**

Many nomograms have been created to predict lymph node metastasis (25, 43, 44). However, the diverging importance of each individual histological parameter results in poor performance of the combination of these parameters in nomograms. Another challenge of using these nomograms is the lack of independent external verification and validation. Nomograms applied by different groups to the same population did not obtain the same results (44–46).

### **Ki67, p53, and p16**

Ki67, p53, and p16 have been evaluated as potential markers of prognosis and lymph node metastasis in PC (47). Although p53 demonstrated the best predictive ability among the three biomarkers, it was not shown to be better than that of other predictive factors, such as tumor stage, and there are no consistent results concerning its use in the management of PC (48). Moreover, Brazilian studies have found good results with the evaluation of p53 (49,50). report a strong association between high Ki67 expression and lymph node metastasis in PC (51–52). Other studies have confirmed this association (53, 54). Although the absence of p16 may be associated with poor survival, most studies did not find an association between p16 and lymph node metastasis (17, 55, 56).

Immunohistochemical markers require further investigation as they are simple to employ and are widely used. Moreover, in Brazil, the use of immunohistochemical markers is funded by the public health system. Finally, it is noteworthy that the three markers listed above can be assessed in any basic pathology laboratory. Our group will soon present the results of a study using these markers.

### **Conclusion**

As yet, no definitive predictive marker of inguinal lymph node metastasis has been established. There are many challenges to achieving this goal: the disease is most prevalent in regions with low socioeconomic conditions, there is difficulty in standardizing the criteria for inguinal lymph node metastasis, there is difficulty in accessing radiological exams and medical monitoring of patients, there is varying prevalence of HPV and histological subtypes according to geographic location, there is interobserver variation, and there is the need for extensive tissue sampling in advanced tumors. However, several studies and international guidelines demonstrate that the strongest predictors of inguinal lymph node metastasis are the stage of the primary tumor, the histological grade, and the presence of angiolymphatic invasion.

### **Conflicts of Interest**

The authors declare no conflict of interest.

### **Author Contributions**

All authors participated in data interpretation and have read and agreed to the published version of the manuscript.

### **Funding**

The study was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPEMA) and the Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH).

### **REFERENCES**

1. Montes Cardona CE, García-Perdomo HA. Incidence of penile cancer worldwide: systematic review and meta-analysis. *Rev Panam Salud Publica* (2017) 41:117. doi:10.26633/RPSP.2017.117
2. Coelho RWP, Pinho JD, Moreno JS, Garbis DVEO, do Nascimento AMT, Larges JS, et al. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally? *BMC Urol* (2018) 18:50. doi: 10.1186/s12894-018-0365-0
3. Vieira CB, Feitoza L, Pinho J, Teixeira-Júnior A, Lages J, Calixto J, Coelho R, et al. Profile of patients with penile cancer in the region with the highest worldwide incidence. *Sci Rep* (2020) 19;10(1):2965. doi: 10.1038/s41598-020-59831-5
4. Ficarra V, Akduman B, Bouchot O, Palou J, Tobias-Machado M. Prognostic factors in penile cancer. *Urol* (2010) 76:S66–73. doi: 10.1016/j.urology.2010.04.008
5. Srinivas V, Morse MJ, Herr HW, Sogani PC, Whitmore WF Jr. Penile cancer: relation of extent of nodal metastasis to survival. *J Urol* (1987) 137:880–2. doi: 10.1016/s0022-5347(17)44281-9
6. Chaux A, Caballero C, Soares F, Guimarães GC, Cunha IW, Reuter V, et al. The prognostic index: a useful pathologic guide for prediction of nodal metastases and survival in penile squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* (2009) 33(7):1049–57. doi: 10.1097/PAS.0b013e31819d17eb
7. McDougal WS. Carcinoma of the penis: Improved survival by early regional lymphadenectomy based on the histological grade and depth of invasion of the primary lesion. *J Urol* (1995) 154:1364–6. doi: 10.1016/s0022-5347(01)66863-0
8. 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):335–347. doi: 10.1038/nrurol.2017.47
9. Kroon BK, Horenblas S, Lont AP, Tanis PJ, Gallee MP, Nieweg OE. Patients with penile carcinoma benefit from immediate resection of clinically occult lymph node metastases. *J Urol* (2005) 173(3):816–9. doi: 10.1097/01.ju.0000154565.37397.4d

10. Djajadiningrat RS, van Werkhoven E, Horenblas S. Prophylactic pelvic lymph node dissection in patients with penile cancer. *J Urol* (2015) 193(6):1976–80. doi: 10.1016/j.juro.2014.12.019
11. Graafland NM, Lam W, Leijte JA, Yap T, Gallee MP, Corbishley C, et al. Prognostic factors for occult inguinal lymph node involvement in penile carcinoma and assessment of the high-risk EAU subgroup: a two-institution analysis of 342 clinically node-negative patients. *Eur Urol* (2010) 58(5):742–7. doi: 10.1016/j.eururo.2010.08.015
12. Moses KA, Sfakianos JP, Winer A, Bernstein M, Russo P, Dalbagni G. Non-squamous cell carcinoma of the penis: single-center, 15-year experience. *World J Urol* (2014) 32(5):1347–1353. doi:10.1007/s00345-013-1216-y
13. Bhambhani HP, Greenberg DR, Parham MJ, Eisenberg ML. A population-level analysis of nonsquamous penile cancer: The importance of histology. *Urol Oncol*. (2021) 39(2):136.e1-136.e10.
14. Leiter U, Stadler R, Mauch C, Hohenberger W, Brockmeyer N, Berking C, et al. Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive melanoma (DeCOG-SLT): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* (2016) 17(6):757–67. doi: 10.1016/S1470-2045(16)00141-8
15. Ornellas AA, Frota R, Lopes da Silva LF, Dauster B, Quirino R, de Santos Schwindt AB, et al. Sebaceous carcinoma of the penis. *Urol Int* (2009) 82(4):477–80. doi: 10.1159/000218541
16. 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. *Eur Urol* (2016) 70(1):93–105. doi: 10.1016/j.eururo.2016.02.029
17. Martins VA, Pinho JD, Teixeira Júnior AAL, Nogueira LR, Silva FF, Maulen VE, et al. P16INK4a expression in patients with penile cancer. *PLoS One* (2018) 13(10):e0205350. doi: 10.1371/journal.pone.0205350
18. Kidd LC, Chaing S, Chipollini J, Giuliano AR, Spiess PE, Sharma P. Relationship between human papillomavirus and penile cancer-implications for prevention and treatment. *Transl Androl Urol* (2017) 6(5):791–802. doi:10.21037/tau.2017.06.27
19. Sánchez-Ortiz RF, Pettaway CA. The role of lymphadenectomy in penile cancer. *Urol Oncol* (2004) 22(3):236–44; discussion 244–5. doi: 10.1016/j.urolonc.2004.04.031
20. Guimarães GC, Cunha IW, Soares FA, Lopes A, Torres J, Chaux A, Velazquez EF, Ayala G, Cubilla AL. Penile squamous cell carcinoma clinicopathological features, nodal metastasis and outcome in 333 cases. *J Urol* (2009) 182(2):528–34; discussion 534. doi: 10.1016/j.juro.2009.04.028

21. Sanchez DF, Rodriguez IM, Piris A, Cañete S, Lezcano C, Velazquez EF, Fernandez-Nestosa MJ, Mendez-Pena JE, Hoang MP, Cubilla AL. Clear Cell Carcinoma of the Penis: An HPV-related Variant of Squamous Cell Carcinoma: A Report of 3 Cases. *Am J Surg Pathol* (2016) 40(7):917–22. doi: 10.1097/PAS.0000000000000607
22. Velazquez EF, Melamed J, Barreto JE, Agüero F, Cubilla AL. Sarcomatoid carcinoma of the penis: a clinicopathologic study of 15 cases. *Am J Surg Pathol* (2005) 29(9):1152–8. doi: 10.1097/01.pas.0000160440.46394.a8
23. Aita GA, Zequi SC, Costa WH, Guimarães GC, Soares FA, Giuliangelis TS. Tumor histologic grade is the most important prognostic factor in patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes not submitted to regional lymphadenectomy. *Int Braz J Urol* (2016) 42(6):1136–43. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2015.0416
24. Kakies CH, Lopez-Beltran A, Comperat E, Erbersdobler A, Grobholz R, Hakenberg OW, et al. Reproducibility of histopathologic tumor grading in penile cancer--results of a European project. *Virchows Arch* (2014) 464(4):453–61. doi: 10.1007/s00428-014-1548-z
25. Solsona E, Iborra I, Rubio J, Casanova JL, Ricós JV, Calabuig C. Prospective validation of the association of local tumor stage and grade as a predictive factor for occult lymph node micrometastasis in patients with penile carcinoma and clinically negative inguinal lymph nodes. *J Urol* (2001) 165(5):1506–9. doi:10.1016/S0022-5347(05)66337-9
26. Velazquez EF, Ayala G, Liu H, Chaux A, Zanotti M, Torres, J et al. Histologic grade and perineural invasion are more important than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. *Am J Surg Pathol* (2008) 32(7):974–9. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181641365
27. Ficarra V, Martignoni G, Maffei N, Cerruto MA, Novara G, Cavalleri S, Artibani W. Predictive pathological factors of lymph nodes involvement in the squamous cell carcinoma of the penis. *Int Urol Nephrol* (2002) 34(2):245–50. doi: 10.1023/a:1023243102230
28. Cubilla AL. The role of pathologic prognostic factors in squamous cell carcinoma of the penis. *World J Urol* (2009) 27,169. doi: 10.1007/s00345-008-0315-7
29. Caballero C, Barreto J, Riveros M, Cubilla AL (1991) Carcinoma epidermoide de glánde peneano: parametros patológicos predictores de metastasis ganglionar inguinal. *Patol Spain* 24:1137–1141.
30. Djajadiningrat RS, Jordanova E, Kroon B, van Werkhoven E, de Jong J, Pronk DTM, et al. Human papillomavirus prevalence in invasive penile cancer and association with clinical outcome. *J Urol* (2015) 193(2):526–31. doi: 10.1016/j.juro.2014.08.087

31. Nascimento ADMT, Pinho JD, Teixeira-Júnior AAL, Larges JS, Soares FM, Calixto JRR, et al. Angiolymphatic invasion and absence of koilocytosis predict lymph node metastasis in penile cancer patients and might justify prophylactic lymphadenectomy. *Medicine* (2020) 99(9):e19128. doi: 10.1097/MD.00000000000019128
32. De Paula AA, Netto JC, Freitas R Jr, de Paula LP, Mota ED, Alencar RC. Penile carcinoma: the role of koilocytosis in groin metastasis and the association with disease specific survival. *J Urol* (2007) 177(4):1339–43. doi: 10.1016/j.juro.2006.11.063
33. Mentrikoski MJ, Stelow EB, Culp S, Frierson HF Jr, Cathro HP. Histologic and immunohistochemical assessment of penile carcinomas in a North American population. *Am J Surg Pathol* (2014) 38(10):1340–8. doi: 10.1097/PAS.0000000000000124
34. Mannweiler S, Sygulla S, Tsybrovskyy O, Razmara Y, Pummer K, Regauer S. Clear-cell differentiation, and lymphatic invasion, but not the revised TNM classification, predict lymph node metastases in pT1 penile cancer: a clinicopathologic study of 76 patients from a low incidence area. *Urol Oncol* (2013) 31(7):1378–85. doi: 10.1016/j.urolonc.2012.01.017
35. Ornellas AA, Nóbrega BL, Wei Kin Chin E, Wisnescky 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
36. Pizzocaro G, Algaba F, Horenblas S, Solsona E, Tana S, Van Der Poel H, Watkin NA. European Association of Urology (EAU) Guidelines Group on Penile Cancer. EAU penile cancer guidelines 2009. *Eur Urol* (2010) 57(6):1002–12. doi: 10.1016/j.eururo.2010.01.039
37. Velazquez EF, Ayala G, Hao L, Alcides C, Zanotti M, Torres J, et al. Histologic Grade and Perineural Invasion are More Important Than Tumor Thickness as Predictor of Nodal Metastasis in Penile Squamous Cell Carcinoma Invading 5 to 10 mm. *Am Jour Surg Path* (2008) 32:7. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181641365
38. Guimarães GC, Lopes A, Campos RS, Zequi Sde C, Leal ML, Carvalho AL, et al. Front pattern of invasion in squamous cell carcinoma of the penis: new prognostic factor for predicting risk of lymph node metastases. *Urol* (2006) 68(1):148–53. doi: 10.1016/j.urology.2006.01.050
39. Aita G, da Costa WH, de Cassio Zequi S, da Cunha IW, Soares F, Guimaraes GC, et al. Pattern of invasion is the most important prognostic factor in patients with penile cancer submitted to lymph node dissection and pathological absence of lymph node metastasis. *BJU Int* (2015) 116(4):584–9. doi: 10.1111/bju.13071

40. Hu J, Cui Y, Liu P, Zhou X, Ren W, Chen J, et al. Predictors of inguinal lymph node metastasis in penile cancer patients: a meta-analysis of retrospective studies. *Cancer Manag Res* (2019) 11:6425–41. doi: 10.2147/CMAR.S206579
41. Da Cunha IW, Souza MJ, da Costa WH, Amâncio AM, Fonseca FP, Zequi Sde C, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenotype at invasion front of squamous cell carcinoma of the penis influences oncological outcomes. *Urol Oncol* (2016) 34(10):433.e19–26. doi: 10.1016/j.urolonc.2016.05.015
42. Mohamed H, Haglund C, Jouhi L, Atula T, Hagström J, Mäkitie A. Expression and Role of E-Cadherin,  $\beta$ -Catenin, and Vimentin in Human Papillomavirus-Positive and Human Papillomavirus-Negative Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *J Histochem Cytochem* (2020) 68(9):595–606. doi:10.1369/002215542095084
43. Maiche AG, Pyrhönen S, Karkinen M. Histological grading of squamous cell carcinoma of the penis: a new scoring system. *Br J Urol* (1991) 67(5):522–6. doi: 10.1111/j.1464-410x.1991.tb15199.x
44. Zhou X, Zhong Y, Song L, Wang Y, Wang Y, Zhang Q, et al. Nomograms to predict the presence and extent of inguinal lymph node metastasis in penile cancer patients with clinically positive lymph nodes. *Transl Androl Urol* (2020) 9(2):621–8. doi: 10.21037/tau.2020.01.32
45. Li J, Wang B, Zheng SS, Zhou FJ, Yang JA, Yuan DZ, et al. Independent external verification of the nomograms for predicting lymph node metastasis in penile cancer. *Zhonghua Nan Ke Xue* (2018) 24(5):399–403.
46. Maciel CVM, Machado RD, Morini MA, Mattos PAL, Dos Reis R, Dos Reis RB, et al. External validation of nomogram to predict inguinal lymph node metastasis in patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes. *Int Braz J Urol* (2019) 45(4):671–8. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2018.0756
47. Zargar-Shoshtari K, Spiess PE, Berglund AE, Sharma P, Powsang JM, Giuliano A, et al. Clinical Significance of p53 and p16(ink4a) Status in a Contemporary North American Penile Carcinoma Cohort. *Clin Genitourin Cancer* (2016) 14(4):346–51. doi: 10.1016/j.clgc.2015.12.019
48. Gunia S, Kakies C, Erbersdobler A, Hakenberg OW, Koch S, May M. Expression of p53, p21 and cyclin D1 in penile cancer: p53 predicts poor prognosis. *J Clin Pathol* (2012) 65(3):232–6. doi: 10.1136/jclinpath-2011-200429
49. Martins AC, Faria SM, Cologna AJ, Suaid HJ, Tucci S Jr. Immunoexpression of p53 protein and proliferating cell nuclear antigen in penile carcinoma. *J Urol* (2002) 167(1):89–92; discussion 92–3.

50. Lopes A, Bezerra AL, Pinto CA, Serrano SV, de Mello CA, Villa LL. p53 as a new prognostic factor for lymph node metastasis in penile carcinoma: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. *J Urol* (2002) 168(1):81–6.
51. Protzel C, Knoedel J, Zimmermann U, Woenckhaus C, Poetsch M, Giebel J. Expression of proliferation marker Ki67 correlates to occurrence of metastasis and prognosis, histological subtypes and HPV DNA detection in penile carcinomas. *Histol Histopathol* (2007) 22(11):1197–204. doi: 10.14670/HH-22.1197
52. Zhu Y, Zhou XY, Yao XD, Yao XD, Dai BD, Ye DW. The prognostic significance of p53, Ki-67, epithelial cadherin and matrix metalloproteinase-9 in penile squamous cell carcinoma treated with surgery. *BJU Int* (2007) 100(1):204–8. doi: 10.1111/j.1464-410X.2007.06908.x
53. Berdjis N, Meye A, Nippgen J, Dittert D, Hakenberg O, Baretton GB, et al. Expression of Ki-67 in squamous cell carcinoma of the penis. *BJU Int* (2005) 96(1):146–8. doi: 10.1111/j.1464-410X.2005.05584.x
54. Stankiewicz E, Ng M, Cuzick J, Mesher D, Watkin N, Lam W, Corbishley C, Berney DM. The prognostic value of Ki-67 expression in penile squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol* (2012) 65(6):534–7. doi: 10.1136/jclinpath-2011-200638
55. Steinestel J, Ghazal AA, Arndt A, Schholler TJ, Schraders AJ, Moeller P, et al. The role of histologic subtype, p16INK4a expression, and presence of human papillomavirus DNA in penile squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* (2015) 15:220. doi: 10.1186/s12885-015-1268-z
56. De Bacco MW, Carvalhal GF, MacGregor B, Marçal JMB, Wagner MB, Sonpavde GP, et al. PD-L1 and p16 Expression in Penile Squamous Cell Carcinoma From an Endemic Region. *Clin Genitourin Cancer* (2020) 18(3):e254–9. doi: 10.1016/j.clgc.2019.10.014

## 9.2 Normas Editoriais: Frontiers

### 1. General standards

#### 1.1. Article Type

Frontiers requires authors to carefully select the appropriate article type for their manuscript and to comply with the article type descriptions defined in the journal's "Article Types" page, which can be seen from the "For Authors" menu on any Frontiers journal page. Please pay close attention to the word count limits.

#### 1.2. Templates

If working with Word please use our Frontiers Word templates. If you wish to submit your article as LaTeX, we recommend our Frontiers LaTeX templates.

For LaTeX files, please ensure all relevant manuscript files are uploaded: .tex file, PDF, and .bib file (if the bibliography is not already included in the .tex file).

During the Interactive Review, authors are encouraged to upload versions using "Track Changes." Editors and reviewers can only download the PDF file of the submitted manuscript.

#### 1.3. Manuscript Length

Frontiers encourages the authors to closely follow the article word count lengths given in the "Article Types" page of the journals. The manuscript length includes only the main body of the text, footnotes, and all citations within it, and excludes the abstract, section titles, figure and table captions, funding statement, acknowledgments, and references in the bibliography. Please indicate the number of words and the number of figures and tables included in your manuscript on the first page.

#### 1.4. Language Editing

Frontiers requires manuscripts submitted to meet international English language standards to be considered for publication.

For authors who would like their manuscript to receive language editing or proofreading to improve the clarity of the manuscript and help highlight their research, Frontiers recommends the language-editing services provided by the external partners

#### 1.8. Title

The title should be concise, omitting terms that are implicit and, where possible, be a statement of the main result or conclusion presented in the manuscript. Abbreviations should be avoided within the title.

Witty or creative titles are welcome, but only if relevant and within measure. Consider if a title meant to be thought-provoking might be misinterpreted as offensive or alarming. In extreme cases, the editorial office may veto a title and propose an alternative.

Authors should try to avoid, if possible:

- titles that are a mere question without giving the answer;
- unambitious titles, for example starting with "Towards," "A description of," "A characterization of," "Preliminary study on;"
- vague titles, for example starting with "Role of...," "Link between...," "Effect of..." that do not specify the role, link, or effect;
- include terms that are out of place, for example the taxonomic affiliation apart from species name.

For Corrigenda, General Commentaries, and Editorials, the title of your manuscript should have the following format:

- "Corrigendum: Title of Original Article"
- General Commentaries
- o "Commentary: Title of Original Article"

- o "Response: Commentary: Title of Original Article"
- "Editorial: Title of Research Topic"

The running title should be a maximum of 5 words in length.

#### 1.9. Authors and Affiliations

All names are listed together and separated by commas. Provide exact and correct author names as these will be indexed in official archives. Affiliations should be keyed to the author's name with superscript numbers and be listed as follows: Laboratory, Institute, Department, Organization, City, State abbreviation (only for United States, Canada, and Australia), and Country (without detailed address information such as city zip codes or street names).

Example: Max Maximus<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Excellence, International University of Science, New York, NY, United States.

Correspondence:

The Corresponding Author(s) should be marked with an asterisk in the author list. Provide the exact contact email address of the corresponding author(s) in a separate section.

Example: Max Maximus  
maximus@iuscience.edu

If any authors wish to include a change of address, list the present address(es) below the correspondence details using a unique superscript symbol keyed to the author(s) in the author list.

Equal contributions:

The authors who have contributed equally should be marked with a symbol (†) in the author list of the doc/latex and pdf files of the manuscript uploaded at submission.

#### 1.11. Abstract

As a primary goal, the abstract should render the general significance and conceptual advance of the work clearly accessible to a broad readership. In the abstract, minimize the use of abbreviations and do not cite references, figures or tables.

For Clinical Trial articles, please include the Unique Identifier and the URL of the publicly accessible website on which the trial is registered.

#### 1.12. Keywords

All article types require a minimum of 5 and a maximum of 8 keywords.

#### 1.13. Text

The entire document should be single-spaced and must contain page and line numbers in order to facilitate the review process. The manuscript should be written using either Word or LaTeX. For templates, see 1.2. Templates.

#### 1.15. Sections

The manuscript is organized by headings and subheadings. The section headings should be those appropriate for your field and the research itself. You may insert up to 5 heading levels into your manuscript (i.e.,: 3.2.2.1.2 Heading Title).

#### 4. References

Frontiers journals use one of two reference styles, either Harvard (Author-Date) or Vancouver (Numbered). Please check this page to find the correct style for your target journal.

- All citations in the text, figures or tables must be in the reference list and vice-versa.
- The names of the first six authors followed by et al. and the DOI (when available) should be provided.
- Given names of authors should be abbreviated to initials (e.g., Smith, J., Lewis, C.S., etc.)
- The reference list should only include articles that are published or accepted.

- Unpublished data submitted manuscripts or personal communications should be cited within the text only, for the article types that allow such inclusions.
- For accepted but unpublished works use "in press" instead of page numbers.
- Data sets that have been deposited to an online repository should be included in the reference list. Include the version and unique identifier when available.
- Personal communications should be documented by a letter of permission.
- Website URLs should be included as footnotes.
- Any inclusion of verbatim text must be contained in quotation marks and clearly reference the original source.
- Preprints can be cited as long as a DOI or archive URL is available, and the citation clearly mentions that the contribution is a preprint. If a peer-reviewed journal publication for the same preprint exists, the official journal publication is the preferred source. See the Preprints section for more information.

#### 4.2. Vancouver Reference Style (Numbered)

Many Frontiers journals use the numbered referencing system, to find the correct reference style and resources for the journal you are submitting to please go to this page.

Reference examples are found below, for more examples of citing other documents and general questions regarding the Vancouver reference style, please refer to Citing Medicine.

##### 4.2.1. In-text Citations

- Please apply the Vancouver system for in-text citations.
- In-text citations should be numbered consecutively in order of appearance in the text—identified by Arabic numerals in the parenthesis (use square brackets for Physics and Mathematics articles).