



Universidade Federal do Maranhão

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto

Mestrado Acadêmico



PERFIL MOLECULAR DO GENE *NOTCH1* EM TUMORES DE PÊNIS

LETICIA MILENE SILVA DA SILVA

São Luís -MA

2025

LETICIA MILENE SILVA DA SILVA

**PERFIL MOLECULAR DO GENE NOTCH1 EM TUMORES
DE PÊNIS**

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: Pesquisas em oncologia e áreas correlatas

Orientador: Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Jaqueline Diniz Pinho

Coordenador: Prof. Dr. Marcelo de Souza Andrade

São Luís

2025

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

Silva, Leticia Milene Silva da.

PERFIL MOLECULAR DO GENE NOTCH1 EM TUMORES DE PÊNIS /
Leticia Milene Silva da Silva. - 2025.

82 f.

Coorientador(a) 1: Jaqueline Diniz Pinho.

Orientador(a): Gyl Eanes Barros Silva.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luis, 2025.

1. Perfil de Notch1. 2. Tumores de Pênis. 3.
Metástase. I. Pinho, Jaqueline Diniz. II. Silva, Gyl
Eanes Barros. III. Título.

LETÍCIA MILENE SILVA DA SILVA

**PERFIL MOLECULAR DO GENE *NOTCH1* EM TUMORES
DE PÊNIS**

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: 29/05/2025

Prof. Dr. Gyl Eanes Barros Silva (Orientador)

Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Jaqueline Diniz Pinho (Coorientadora)

Universidade Estadual do Maranhão

Prof. Dr. André Salim Khayat (1º avaliador)

Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Marcelo Souza de Andrade (2º avaliador)

Universidade Federal do Maranhão

Em especial a Deus, por toda força e ânimo, e
ao meu grande incentivador e amparo, que se
fez presente em meu coração durante toda essa
etapa, meu pai José Martins Silva (*in
memoriam*). Aos meus familiares, mãe e irmãos
pela torcida.
Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo o ânimo, força, por ter me sustentado até aqui, por tudo que faz, tem feito e fará através da minha vida, e que, nos dias difíceis, sempre me faz perceber que há esperança, que cada dia é uma dádiva, e que tem feito coisas inimagináveis na minha vida. Considero este mestrado um presente dado por Deus, algo que Ele quis para mim.

Ao meu eterno pai (José Martins Silva), que me deu os valores e princípios que carregarei por toda a minha vida, que em vida foi exemplo de honestidade e bondade. Foi devido a ele que cheguei até aqui, e vou chegar a locais que nunca poderia imaginar, pois, através da vida do meu pai, foi possível realizar alguns sonhos, e, através disso, permaneço realizando. À minha mãe, Luciana Mendes Silva, e aos meus irmãos, que contribuíram direta ou indiretamente para isto.

À minha tia-cunhada, Lucia Regina de Santos Melo, pelo amparo dado durante esta etapa do mestrado e por todas as outras coisas que já fez por mim. Imensa gratidão.

Ao Vitor Gustavo de França Costa, por ter estado comigo do início ao fim deste processo e, nesses últimos anos, ter acompanhado de perto os meus percalços, tornando este processo mais leve.

Aos meus orientadores Gyl Eanes Barros Silva, Jaqueline Diniz Pinho e António Augusto, pela oportunidade e confiança a mim concedida. Este trabalho foi um presente, e conhecer pessoas inspiradoras foi algo muito mais especial. Agradeço por todo o apoio, paciência e orientação.

Aos meus queridos que tornaram os dias mais leves no laboratório: Ana Gabrielly, João Vitor Carvalho, Denner Rodrigo, Francinete e toda a equipe do GEPAM, que se tornaram especiais e contribuíram e contribuem com minha pesquisa: Kwang, Bruna, Juliana, Arthur, Cruz, Isabella, Gilvan. Além disso, quero agradecer a todos os patologistas, em especial ao Pedro e à Liseana, pelas contribuições através das suas revisões histológicas. Agradeço também ao Victor pelos ensinamentos passados que contribuíram para a realização de algumas etapas deste trabalho.

Especialmente aos pacientes que aceitaram participar e contribuir com esta pesquisa, tudo que é feito é por eles e para eles. Agradeço também à FAPEMA pelo suporte financeiro durante esta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto, pelo qual criei um carinho especial, e a toda a equipe, em especial ao seu José e professor Marcelo da coordenação, pelo suporte e orientações sempre. Agradeço a todos da banca pela disponibilidade e dedicação de tempo em contribuir com meu trabalho para que ficasse melhor.

“O senhor Deus me disse: Eu lhe ensinarei o caminho por onde você deve ir; eu vou guiá-lo e orientá-lo.”

(Salmos 32:8).

RESUMO

O câncer de pênis (CaPe) é uma neoplasia rara, porém frequente em países em desenvolvimento com alta vulnerabilidade socioeconômica. O estado do Maranhão apresenta a maior incidência global já registrada, configurando um grave problema de saúde pública. Pesquisas recentes identificaram o gene *NOTCH1* como um dos mais frequentemente mutados no CaPe, podendo impactar significativamente sua expressão. O *NOTCH1* pode exercer funções distintas, promovendo ou suprimindo o crescimento e a proliferação tumoral, a depender do contexto celular. O objetivo deste estudo foi identificar alterações genômicas no gene *NOTCH1* em amostras de tumor primário e metástase linfonodal de CaPe. Trata-se de um estudo retrospectivo com amostras de pacientes maiores de 18 anos com diagnóstico de CaPe, submetidos a procedimentos cirúrgicos em três hospitais de referência em São Luís, MA. Os dados clínicos e histopatológicos foram obtidos por meio de revisões histológicas, e as análises do número de cópias e da expressão gênica de *NOTCH1* foram realizadas por qPCR, utilizando o método do Δ Ct comparativo. Foram analisados 64 casos de tumores de pênis (30 com metástase e 34 sem metástase linfonodal). A maioria dos pacientes tinham mais de 60 anos, baixa escolaridade, baixa renda, residia na zona rural e apresentava higiene precária. A fimose foi observada em 40% dos casos com metástase e 38,2% nos sem metástase. As lesões estavam predominantemente na glândula (40% no grupo com metástase) e na glândula e prepúcio (41,2% nos casos sem metástase), com grau de diferenciação G3 em 90% dos casos com metástase e 61,8% dos casos sem, e infiltrado linfocitário em 96,6% dos casos com metástase e 96,9% dos casos sem metástase. Observou-se uma alta frequência de HPV, presente em 62,5% dos casos, e o genótipo de alto risco (16, 18 e 31) foi o mais frequente, em ambos os grupos. O hábito de fumar esteve diretamente associado à maior ocorrência de mutações no gene *NOTCH1* ($P=0.010$), e a relação entre o estado de *NOTCH1* e a extensão extranodal foi estatisticamente significativa ($p = 0,048$). A expressão gênica de *NOTCH1* no tumor primário foi significativamente menor em comparação ao tecido saudável ($p = 0.0006$), bem como no tecido de metástase linfonodal ($p = 0.008$). Essa diminuição esteve associada a uma pior sobrevida livre de doença (Log rank $p = 0.03725$) e à presença de transformação sarcomatoide, tanto no tecido do tumor primário ($p = 0.011$) quanto no de metástase linfonodal ($p = 0.006$). Este é o primeiro estudo a realizar análises do gene *NOTCH1* no CaPe, revelando resultados inéditos. Os resultados mostram que o tabagismo esteve associado ao ganho no número de cópias do gene *NOTCH1*, e que a expressão gênica de *NOTCH1* encontra-se reduzida tanto nos tecidos de tumor primário quanto na metástase linfonodal, em comparação ao tecido saudável. Essa redução na expressão esteve relacionada à presença de transformação sarcomatoide e à uma pior sobrevida livre de doença, sugerindo participação deste gene na progressão tumoral do CaPe e com potencial biomarcador

Palavras-chave: Perfil de *NOTCH1*, Tumores de pênis, Metástase

ABSTRACT

Penile cancer (CaPe) is a rare but common neoplasm in developing countries with high socioeconomic vulnerability. The state of Maranhão has the highest global incidence ever recorded, making it a serious public health problem. Recent research has identified the NOTCH1 gene as one of the most frequently mutated genes in CaPe, which can significantly impact its expression. NOTCH1 can perform different functions, promoting or suppressing tumor growth and proliferation, depending on the cellular context. The aim of this study was to identify genomic alterations in the NOTCH1 gene in samples of primary tumor and lymph node metastasis of CaPe. This was a retrospective study with samples from patients over 18 years of age diagnosed with CaPe who underwent surgical procedures at three referral hospitals in São Luís, MA. Clinical and histopathological data were obtained through histological reviews, and NOTCH1 copy number and gene expression were analyzed by qPCR using the comparative Δ Ct method. Sixty-four cases of penile tumors were analyzed (30 with metastasis and 34 without lymph node metastasis). Most of the patients were over 60 years old, had little schooling, a low income, lived in rural areas and had poor hygiene. Phimosis was observed in 40% of the cases with metastasis and 38.2% of those without. The lesions were predominantly on the glans (40% in the group with metastasis) and on the glans and foreskin (41.2% in the cases without metastasis), with a G3 degree of differentiation in 90% of the cases with metastasis and 61.8% of the cases without, and lymphocytic infiltration in 96.6% of the cases with metastasis and 96.9% of the cases without metastasis. There was a high frequency of HPV, present in 62.5% of cases, and the high-risk genotype (16, 18 and 31) was the most frequent in both groups. Smoking was directly associated with a higher occurrence of mutations in the NOTCH1 gene ($P=0.010$), and the relationship between NOTCH1 status and extranodal extension was statistically significant ($p = 0.048$). NOTCH1 gene expression in the primary tumor was significantly lower compared to healthy tissue ($p = 0.0006$), as well as in lymph node metastasis tissue ($p = 0.008$). This decrease was associated with worse disease-free survival (Log rank $p = 0.03725$) and the presence of sarcomatoid transformation, both in the primary tumor tissue ($p = 0.011$) and in the lymph node metastasis tissue ($p = 0.006$). This is the first study to analyze the NOTCH1 gene in CaPe, revealing unprecedented results. The results show that smoking was associated with an increase in the number of NOTCH1 gene copies, and that NOTCH1 gene expression was reduced in both primary tumor tissue and lymph node metastasis, compared to healthy tissue. This reduction in expression was related to the presence of sarcomatoid transformation and worse disease-free survival, suggesting that this gene is involved in the tumor progression of CaPe and is a potential biomarker

Keywords: NOTCH1 profile, Penile tumors, Metastasis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Taxa padronizada por idade (mundial) por 100.000, incidência de câncer de pênis, homens, em 2022	12
Figura 2. Taxa padronizada por idade (mundial) por 100.000, mortalidade do câncer de pênis, homens, em 2022	13
Figura 3. Localização citogenética do gene <i>NOTCH1</i>	20
Figura 4. Estrutura do receptor do Notch1	21
Figura 5. Mecanismo de ativação dependente de ligante da via de sinalização Notch1	22
Figura 6. Visão geral da frequência de diferentes tipos de mutações <i>NOTCH1</i> no câncer de pênis	24
Figura 7. Análise das mutações de substituição observadas no gene <i>NOTCH1</i> no câncer de pênis	25
Figura 8. Frequência de número de cópias normal, ganho e perdas de NOTCH1 nos tumores de pênis e metástase linfonodal.	36
Figura 9. Demonstração da mediana da sobrevida livre de doença e indivíduos em risco	41
Figura 10. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com ganho, perda ou números de cópias gênicas de <i>NOTCH1</i> normal (log- rank p = 0.61)	
Figura 11. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou ausência de HPV (log- rank p = 0.66)	44
Figura 12. Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> nos tecidos de tumor primário em relação à margem	45
Figura 13. Expressão gênica de NOTCH1 em relação ao números de cópias gênicas de <i>NOTCH1</i>	
Figura 14. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com a expressão relativa do gene <i>NOTCH1</i> (log- rank p = 0.03725)	46
Figura 15. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou ausência de transformação sarcomatoide no tumores de pênis (log- rank p = 0,000013)	51

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1 - Subtipos histológicos em câncer de pênis	16
Tabela 2 - Classificação clínica e patológica do câncer de pênis de acordo com o sistema TNM do AJCC e IUAC	17
Tabela 3 - Primers utilizados para detecção do HPV nas amostras de câncer de pênis	29
Tabela 4 - Caracterização do perfil clínico e histopatológico dos pacientes com câncer de pênis com e sem metástase	32
Tabela 5 - Detecção e genotipagem de HPV nos tumores de pênis	35
Tabela 6 - Frequência do Número de cópias gênica do gene <i>NOTCH1</i> nos tecidos de tumores de pênis e metástase Linfonodal	36
Tabela 7 - Perfil clínico-histopatológico dos tumores primários de acordo com o estado mutado ou selvagem de <i>NOTCH1</i>	36
Tabela 8 - Detecção e genotipagem de HPV de acordo com o estado mutado ou selvagem de <i>NOTCH1</i>	
Tabela 9 - Expressão gênica de NOTCH1 no tecido de tumor primário e metástase com o perfil sociodemográfico/clínico-histopatológico e molecular.	47

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CaPe	Câncer de pênis
CEC	Carcinoma de células escamosas
CCR	Câncer colorretal
CECP	Carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço
OSCC	Carcinoma espinocelular oral
COSMIC	<i>Catalogue of Somatic Mutations in Cancer</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EMT	Transição epitélio-mesenquimal
HCAB	Hospital do Câncer Aldenora Bello
HUUFMA	Hospital Universitário Presidente Dutra
HPV	Papilomavírus humano
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LIME	Laboratório de Imunofluorescência e Microscopia Eletrônica
MA	Maranhão
pb	Pares de base
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
SLD	Sobrevida livre de doença
SG	sobrevida global
µL	Microlitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Epidemiologia do câncer de pênis.....	12
1.2 Etiologia e fatores de riscos de câncer de pênis.....	13
1.3 Aspectos Clínicos e Histopatológicos.....	15
1.4 Funções e mecanismos de ativação da via de sinalização NOTCH1.....	20
2. OBJETIVO.....	27
2.1 Geral.....	27
2.2 Específicos.....	27
3 METODOLOGIA.....	27
3.1 Aspectos éticos.....	27
3.2 Caracterização do estudo.....	28
3.3 Período e local.....	28
3.4 Amostras.....	28
3.5 Critérios de inclusão.....	29
3.6 Critérios de exclusão.....	29
3.7 Variáveis avaliadas.....	29
3.8 Etapas do estudo.....	29
3.8.1 Levantamento de casos.....	29
3.8.2 Revisão de lâminas.....	30
3.8.3 Extração de DNA e RNA.....	30
3.8.4 Detecção e genotipagem do Papilomavírus Humano (HPV).....	30
3.8.5 Análise molecular.....	32
3.8.5.1 Ensaio de alterações no número de cópias gênicas.....	32
3.8.5.2 Ensaio de expressão gênica.....	33
3.9 Análise de dados.....	34
4 RESULTADOS.....	34
4.1 Perfil clínico-histopatológico.....	34
4.2 Detecção e genotipagem do papilomavírus humano (HPV).....	37
4.3 Avaliação do número de cópias gênica do gene NOTCH1 em amostras de pacientes com câncer de pênis (tumor primário e metástase linfonodal).....	37
4.4 Perfil de expressão expressão gênica do gene NOTCH1 nos tumores de pênis.....	44
5 DISCUSSÃO.....	51
5.1 Limitações do estudo.....	60
6 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	62
ANEXOS.....	69

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia do câncer de pênis

O câncer de pênis (CaPe) é uma neoplasia rara em países desenvolvidos, com uma taxa de incidência que varia de 0,1 a 1 caso por 100.000 homens. No entanto, trata-se de uma neoplasia frequente em países em desenvolvimento, que apresentam locais com alta vulnerabilidade socioeconômica, como os países asiáticos, africanos e sul-americanos, neles o CaPe pode corresponder a 10% de todas as neoplasias malignas em homens (Kuasne *et al.*, 2021; Thomas *et al.*, 2021).

No Brasil, de acordo com informações da agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) 2022, o CaPe acomete 1,3 a cada 100 mil habitantes (Figura 1), e apresenta uma taxa de mortalidade 0,4 a cada 100 mil habitantes, e corresponde a 0,4% de todos os tipos de câncer que afetam os homens (Figura 2).

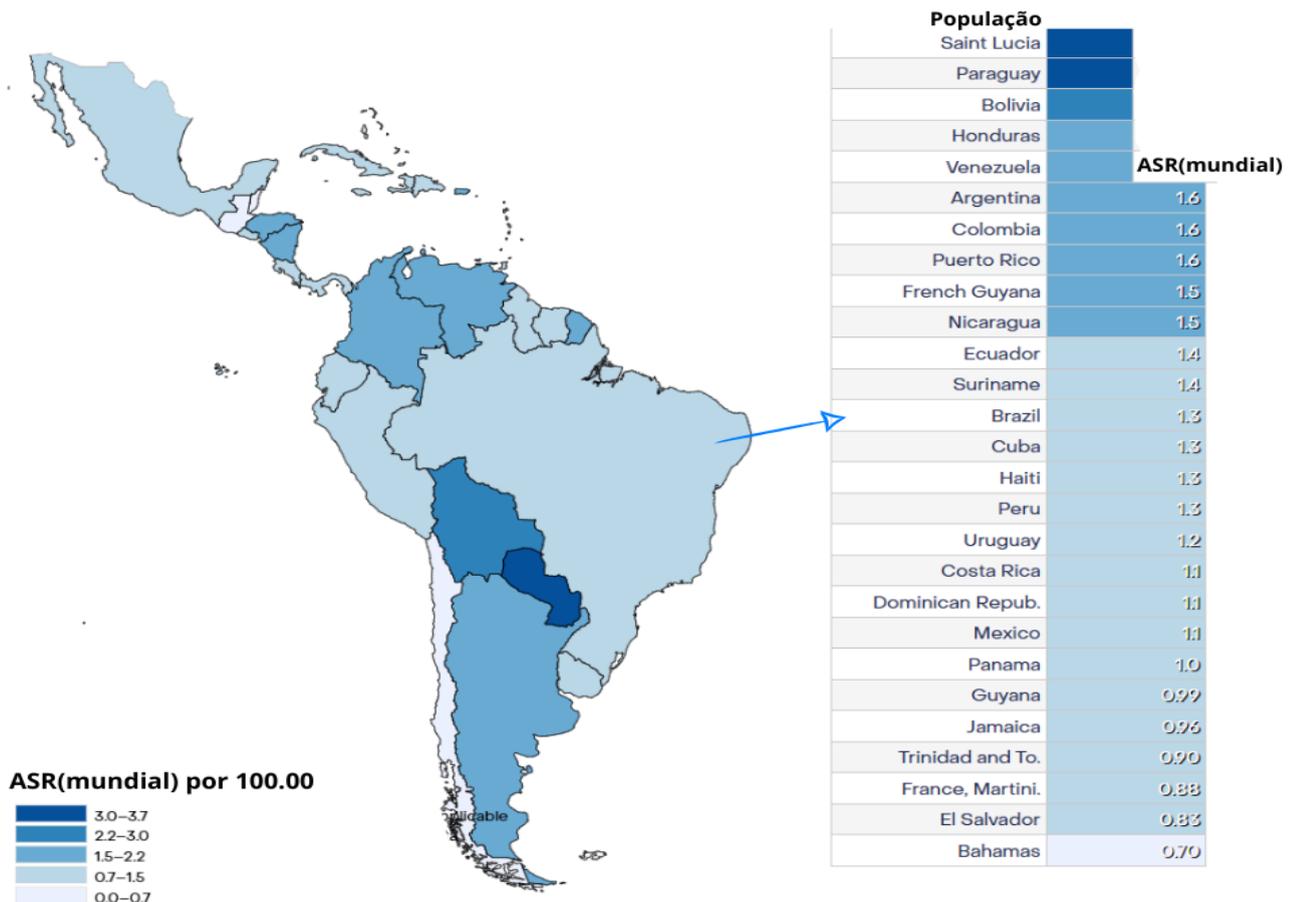


Figura 1. Taxa padronizada por idade (mundial) por 100.000, incidência de câncer de pênis, homens, em 2022.

Fonte: Adaptado (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer, 2022)

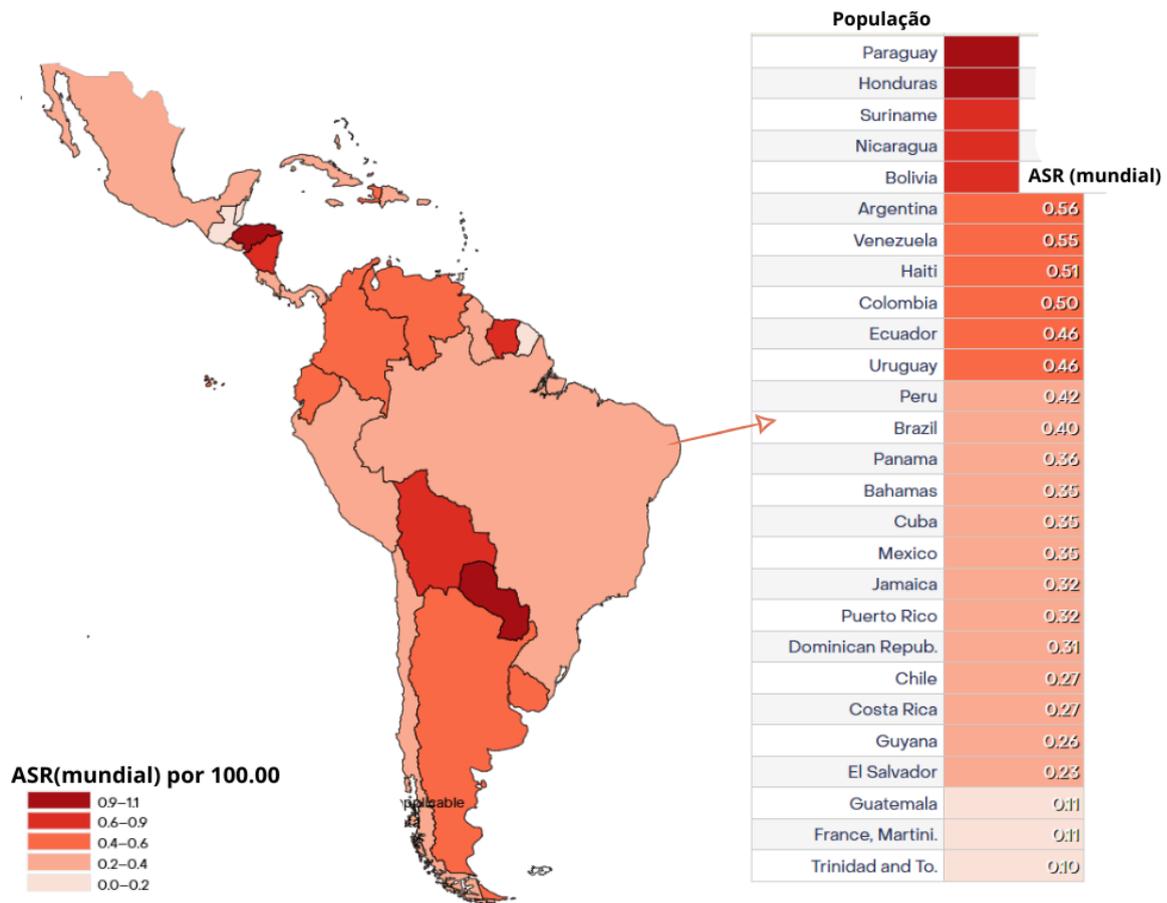


Figura 2. Taxa padronizada por idade (mundial) por 100.000, mortalidade do câncer de pênis, homens, em 2022
 Fonte: Adaptado (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer, 2022).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2022) as regiões Norte e Nordeste são as com maior incidência. Relataram que entre 2007 e 2022, foram feitas 7.790 amputações do órgão genital decorrente de câncer pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e em 2022 foram registrados 1.130 novos casos. Os grupos etários mais afetados são homens de 50 a 70 anos, embora possa ocorrer em indivíduos mais jovens. O Maranhão é o estado com maior incidência de CaPe no Brasil e no mundo, apresentando uma incidência padronizada por idade de 6,15 por 100.000 habitantes e uma incidência anual bruta de 1,18 por 100.00 habitantes (Coelho *et al.*, 2018; INCA, 2022).

1.2 Etiologia e fatores de riscos de câncer de pênis

A origem do câncer de pênis é complexa e envolve vários fatores como: genéticos, ambientais e comportamentais. O CaPe desenvolve-se a partir de células pré-malignas conhecidas como neoplasia intraepitelial peniana. Nos últimos anos, houve uma melhor compreensão dos fatores de risco para CaPe, embora a sua etiologia permaneça desconhecida

e seus mecanismos de desenvolvimento não sejam completamente elucidados. Até o momento, foram identificadas duas vias patogênicas distintas para CaPe, a primeira relacionada à infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV) de alto risco, e a segunda que não está relacionada ao HPV, mas resulta de irritação e inflamação crônicas, devido por exemplo o líquen escleroso balanite (Akers; Holden, 2020; Fernández-Nestosa *et al.*, 2023).

A via associada à infecção pelo HPV representa fator de risco significativo para o CaPe. Sua infecção, frequentemente ligada a fatores sexuais, como ter múltiplos parceiros, é adquirida através da transmissão sexual. Há mais de 100 genótipos diferentes de HPV conhecidos, contudo, 20 deles tendem a afetar o trato genital. São considerados de alto risco os genótipos: 16, 18, 31, 33, 45, 56 e 65 (Gamboa-Hoil, 2023). Em mais de 40% dos casos de CaPe, a infecção pelo HPV está associada, especialmente com genótipos de alto risco HPV 16, 18, 31 e 33. No entanto, o subtipo de HPV mais comumente associado a esta neoplasia é o HPV-16, presente em 33,3% dos casos, seguido pelo subtipo HPV-18 em 29,2% dos casos (Olesen *et al.*, 2019; Schlenker; Schneede, 2019).

A infecção recorrente do HPV pode resultar na superexpressão das oncoproteínas virais E6 e E7, que causam a desregulação do ciclo celular e instabilidade genômica do hospedeiro através de interações com as proteínas p53 e pRb. Também podem ser mediadas por outras moléculas como p21, p27, telomerase, ciclinas, cinases e outros, causando inibição da apoptose, proliferação exacerbada, instabilidade cromossômicas, imortalização e crescimento desregulado (Peyraud *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2022). No Maranhão, a infecção por HPV foi observada em 80,5% dos pacientes com CaPe, demonstrando uma alta taxa de infecção associada a fatores de pior prognóstico clínico, ao contrário do que se observa em outras regiões (Teixeira-Junior, 2022).

As vias não relacionadas ao HPV não são bem compreendidas, no entanto, parece começar a partir de danos ao DNA provocados por condições inflamatórias ou alterações em genes somáticos (Yu *et al.*, 2023). Entre os fatores de risco para o desenvolvimento dessa doença, destacam-se condições como a fimose, que está fortemente associada ao CaPe e não deve ser considerada fisiológica após os seis anos de idade, por poder contribuir para uma ou ambas as vias patogênicas. Pacientes com essas condições não conseguem retrair completamente o prepúcio do pênis, de modo a expor toda a glândula. Estudos como Vieira e colaboradores de 2020, têm destacado a forte ligação entre fimose e CaPe, estudo no qual foi conduzido no nordeste do Brasil, relataram fimose em 66% dos indivíduos com CaPe.

Raramente isto é visto em populações onde a circuncisão é realizada de forma corriqueira. Por isso a circuncisão infantil ou adolescente sempre foi recomendada e incentivada, especialmente por motivos de higiene pessoal e como medida profilática, visto que reduz o risco de condições inflamatórias no pênis, e conseqüentemente o surgimento de tumores, principalmente os invasivos (Ahmed *et al.*, 2020). No entanto, a circuncisão na idade adulta parece não proporcionar nenhum benefício na redução do risco de desenvolver o CaPe. Este procedimento não apenas erradicou o risco de fimose, como também protege contra a infecção peniana pelo HPV, além de prevenir a retenção de esmegma decorrente da falta de higiene (Hakenberg *et al.*, 2018; Giona, 2023). A higiene é um outro fator de risco frequentemente relatado nesta neoplasia. Em outros estudos, a maioria desses pacientes (73%) referiram higiene ruim/ moderada (Vieira *et al.*, 2020).

Ainda há muitos fatores de risco associados a esta neoplasia, incluindo idade superior a 60 anos, onde é observado um pico de incidência nos homens nesta faixa etária; hábitos como tabagismo, representam um risco direto ao CaPe, os fumantes que consomem mais dez cigarros por dia, apresentam o dobro do risco em relação aos não fumantes ou os que consomem menos do que isso; etilismo e baixo nível socioeconômico incluindo seus componentes de baixo nível educacional, baixa renda e residir em áreas rurais. A educação dos homens sobre hábitos adequados de higiene, a redução do tabagismo, a imunização contra o HPV e outras ações na prevenção de infecções sexualmente transmissíveis diminuem o risco de CaPe e devem ser incentivadas, pois uma das principais causas de atraso na procura do profissional de saúde se deve à falta de conhecimento e ao constrangimento (Soares *et al.*, 2020).

1.3 Aspectos Clínicos e Histopatológicos

Os aspectos clínicos do CaPe são fundamentais para a investigação e diagnóstico precoce, visto que esta neoplasia é devastadora fisicamente e psicologicamente para estes pacientes. As manifestações mais comuns que levam o paciente a procurar atendimento é a presença de lesões vegetantes, ulceração peniana. E a medida que a lesão evolui, pode ocorrer dor local, principalmente ao tocar ou ao ter relações sexuais, podendo haver sangramento, mudança na cor da pele do pênis, dificuldades na ereção, problemas urinários, secreção anormal, frequentemente acompanhada de odor desagradável da genitália. Devido à falta de conscientização do público e sentimentos de vergonha, ou por falta de recursos ou medo do tratamento cirúrgico, os pacientes costumam buscar ajuda médica tardiamente (Silva *et al.*,

2023; Pozzo *et al.*, 2022).

Segundo a Sociedade Americana de Oncologia Clínica (2023) o diagnóstico clínico de CaPe, é realizado através da avaliação física do pênis e da palpação dos linfonodos regionais. Um exame físico detalhado do pênis e da genitália externa é essencial, registrando a morfologia, o tamanho e a localização da lesão, bem como a extensão e a invasão das estruturas adjacentes. O diagnóstico pode ser complementado com biópsia excisional. Ressonância magnética (RM) do pênis pode ser indicada quando há incertezas sobre a invasão tecidual ou a viabilidade da cirurgia poupadora de órgãos; caso a RM não esteja disponível, a ultrassonografia (US) pode ser uma alternativa viável. A biópsia pré-tratamento da lesão primária deve ser realizada quando a malignidade não for clinicamente evidente ou quando o tratamento não cirúrgico for planejado, como o uso de agentes tópicos, laser ou radioterapia.

Em relação aos aspectos histológicos, os tipos histológicos mais comuns de câncer de pênis incluem o carcinoma de células escamosa (CEC) (95% dos casos) e o carcinoma *in situ* ou neoplasia intraepitelial peniana (5%). Este último se apresenta na forma de modificações celulares epiteliais não invasivas, mas que podem progredir para invasor. Outros tipos histológicos como sarcomas, melanomas, adenocarcinomas e carcinomas basocelulares são raros (Oliveira *et al.*, 2020).

Existem diferentes subtipos histológicos de CEC do pênis, e são divididos em subtipos associados ao papilomavírus humano (HPV) e não associados a HPV (Tabela 1). O subtipo mais frequente é o usual (49,0%), seguido pelos subtipos condilomatosos (20,7%), sendo o primeiro não associado ao HPV, e o segundo associado ao HPV (Compérat; Moguelet, 2022; Rego *et al.*, 2023).

Tabela 1 - Subtipos histológicos em câncer de pênis

CECs associados ao HPV	CECs não associados ao HPV
CEC basalóide	CEC tipo usual
CEC misto (papilífero-basalóide)	CEC pseudo hiperplásico
CEC Warty-basalóide	CEC pseudoglandular
CEC condilomatoso	CEC verrucoso
CEC misto (condilomatoso-basalóide)	CEC papilífero
CEC de células claras	CEC adenoescamoso

CEC linfoepitelioma	CEC sarcomatóide
	CEC misto

Fonte. Adaptado (WHO, 2022).

O estadiamento é um dos parâmetros avaliados nesses tumores, e descreve aspectos como a localização, a propagação e o impacto nas funções de outros órgãos do organismo. De acordo com o American Joint Committee on Cancer Tumor (AJCC), é realizado a partir do sistema TNM. Tumor (T) indica o tamanho do tumor primário e se disseminou para outras áreas; Linfonodo (N) descreve se existe disseminação do câncer para os linfonodos regionais; Metástase (M) indica se existe presença de metástase em outras partes do corpo. As sequências numéricas ou letras após T, N e M nos dão mais informações sobre cada um desses fatores. Números mais altos indicam um estágio mais avançado da doença (Tabela 2).

Quanto ao acometimento linfonodal regional (N), consideramos linfonodos inguinais e pélvicos no estadiamento. É importante ressaltar que os linfonodos inguinais e pélvicos são estruturas diferentes do sistema linfático, localizadas em diferentes partes do corpo. Os linfonodos inguinais estão localizados no trígono femoral, enquanto os linfonodos pélvicos ficam na pelve (Engelsgjerd; Lagrange, 2023). No que diz respeito à localização do tumor, a glândula é a área mais frequentemente atingida no CaPe, seguida pelo prepúcio. Os tumores no prepúcio apresentam um melhor prognóstico do que os da glândula, pois são de menor grau e mais superficiais, apresentando um menor risco de metástases nodais (Campos *et al.*, 2023).

Tabela 2 - Classificação clínica e patológica do câncer de pênis de acordo com o sistema TNM do AJCC e IUAC

Classificação Clínica	
Tumor Primário (T)	CrITÉrios
TX	Tumor primário não pode ser avaliado
T0	Sem evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma in situ (Neoplasia Intraepitelial Peniana – PeIN)
Ta	Carcinoma verrucoso não invasivo

T1	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial
T1a	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial sem invasão linfovascular ou invasão perineural e não é pouco diferenciado
T1b	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial com invasão linfovascular ou invasão perineural ou é pouco diferenciado
T2	Tumor invade o corpo esponjoso com ou sem invasão da uretra
T3	Tumor invade corpo cavernoso com ou sem invasão da uretra
T4	Tumor invade outras estruturas adjacentes
Linfonodos Regionais (N)	CrITÉRIOS
cNx	Os gânglios linfáticos regionais não podem ser avaliados
cN0	Sem linfonodos inguinais palpáveis ou visivelmente aumentados
cN1	Linfonodo inguinal unilateral móvel palpável
cN2	Linfonodos inguinais múltiplos ou bilaterais móveis palpáveis
cN3	Massa nodal inguinal fixa ou linfadenopatia pélvica, unilateral ou bilateral
Metástase à Distância (M)	CrITÉRIOS
cM0	Sem metástase distante
cM1	Metástase à distância
Classificação Patológica	
Linfonodos regionais (pN)	CrITÉRIOS
pNx	Os gânglios linfáticos regionais não podem ser avaliados
pN0	Sem metástase linfonodal regional
pN1	Metástase em um ou dois linfonodos inguinais
pN2	Metástase em mais de dois linfonodos inguinais

	unilaterais ou linfonodos inguinais bilaterais
pN3	Metástase em linfonodo(s) pélvico(s), extensão unilateral ou bilateral ou extranodal de metástase em linfonodo regional
Metástase à Distância (pM)	Critérios
pM1	Metástase à distância confirmada microscopicamente
Estadiamento	
Ois	Tis, N0, M0
I	Ta,N0, M0
IIA	T1a,N0, M0
IIB	T1b,N0, M0
IIIA	T2,N0, M0
IIIB	T3,N0, M0
IV	T1-3, N1, M0 T1-3, N2, M0 T4, Qualquer N, M0

Fonte: UICC/AJCC 8ª edição TNM Estadiamento clínica e patológica do câncer de pênis.

O grau histológico é um importante fator preditivo de metástases inguinais e disseminação do CaPe. De acordo com AJCC atribuímos GX - a tumores nos quais o grau de diferenciação não pode ser avaliado; classificamos como G1 tumores bem diferenciados; G2 tumores moderadamente diferenciados; G3 são tumores pouco diferenciados e G4 tumores indiferenciados. Quanto maior a semelhança com o epitélio escamoso normal, mais bem diferenciado é o tumor e maior a chance de bom prognóstico. Na análise histológicas ainda pode ser observado a presença ou ausência de coilocitose (parâmetro morfológico indicativo da presença de HPV), invasões como a invasão angiolinfática e a invasão perineural, fatores bem estabelecidos de pior prognóstico, estão presentes em 87,7% e 83% dos casos de CaPe, respectivamente (Silva *et al.*, 2023).

1.4 Funções e mecanismos de ativação da via de sinalização *NOTCH1*

No contexto dos cânceres, mutações no gene *NOTCH1* têm sido frequentemente relatadas em diversos cânceres. Alterações somáticas nos genes que codificam os componentes da sinalização Notch causam vários tipos de câncer humano, como o câncer de mama, de pulmão de pequenas células e a leucemia linfoblástica aguda de células. Alterações gênicas em *NOTCH1* podem ter impacto na função normal da via de sinalização, provocando uma proliferação celular desregulada e favorecendo o desenvolvimento tumoral, podendo atuar como um oncogene ou supressor de tumor, isso devido a mutações específicas em *NOTCH1* (como mutações no exon 26 que afetam a função do receptor *NOTCH1*) ou por outros mecanismos que envolvem sua regulação epigenética. (Katoh *et al.*, 2019; Pancewicz *et al.*, 2022).

Este gene faz parte de uma família gênica, que inclui 4 genes: *NOTCH1*, *NOTCH2*, *NOTCH3* e *NOTCH4*. O gene *NOTCH1* possui 34 éxons e 9.371pb em seu transcrito canônico e está localizado 9q34.3 (braço longo do cromossomo 9, região 3, banda 4 e sub-banda 3) (Figura 3) (NCBI Gene, 2024).

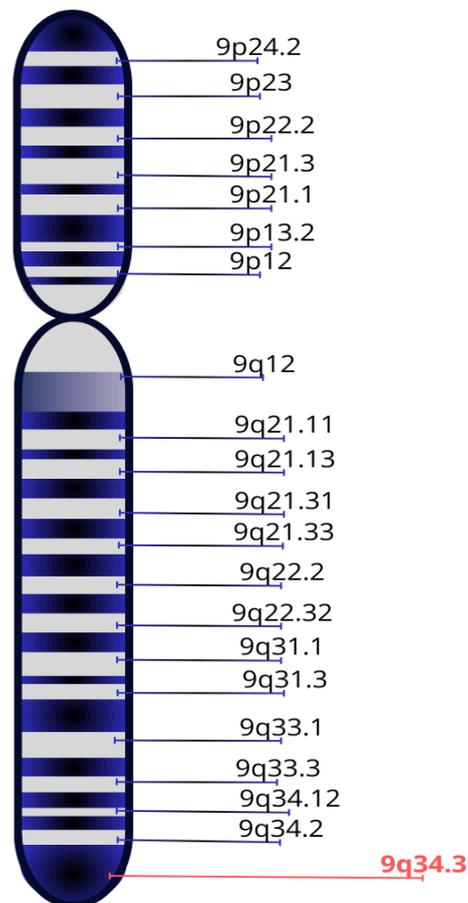


Figura 3. Localização citogenética do gene *NOTCH1*. Fonte: Autora (2025).

O gene *NOTCH1* é responsável por codificar o receptor Notch1, uma proteína transmembrana expressa na superfície celular. O receptor maduro é composto por: um domínio extracelular N-terminal (NOTCH1-EC), um domínio transmembrana e intracelular C-terminal (NOTCH1-TM-IC), unidos por uma porção transmembrana (TM). Esses domínios são mantidos juntos por interações não covalentes. O NOTCH1-EC contém uma série de repetições semelhantes a fatores de crescimento epidérmico (EGF), envolvidas na ligação do ligante, e três repetições LIN-12/NOTCH que estabilizam o domínio de heterodimerização (DH), impedindo a ativação independente do ligante do receptor. O NOTCH1-TM-IC consiste em uma região transmembrana (TM) seguida por diferentes domínios citoplasmáticos que formam o domínio intracelular de Notch1 (NOTCH1-DIC). NOTCH1-DIC inclui um domínio de molécula associado a RBPJ (RAM), uma série de repetições de anquirina (ANQ) envolvidos na ligação CSL/RBP-Jk, flanqueadas por sinais de localização nuclear (SLN), um domínio de transativação (DAT) e um domínio PEST C-terminal, uma região rica em prolina, glutamato, serina e treonina) que regula a estabilidade e a degradação proteossômica do NOTCH1-DIC ativo (Figura 4), e é um hotspot (regiões específicas de proteínas que são suscetíveis a mutações) para mutação na leucemias linfóides crônicas por exemplo (Rosati *et al.*, 2018; Kafafut *et al.*, 2022).

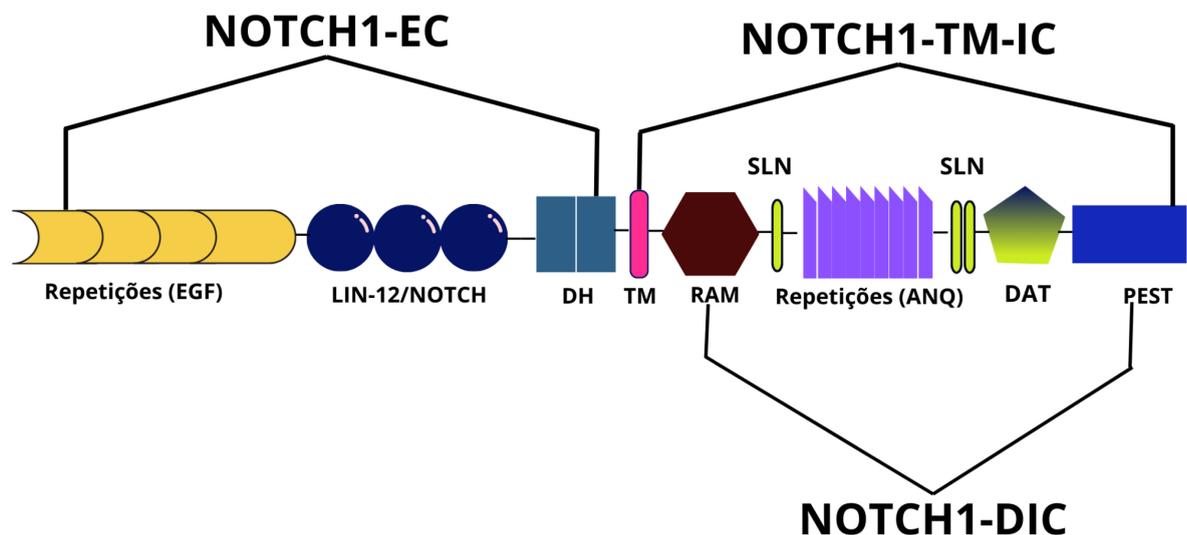


Figura 4. Estrutura do receptor do Notch1. Legendas: EGF (repetições de fatores de crescimento epidérmico); DH (domínio de heterodimerização); TM (domínio de transmembrana); RAM (domínio de molécula associado a RBPJ); SLN (sinais de localização nuclear); ANQ (repetições de Anquirina); DAT (domínio de transativação); PEST (região com prolina, glutamato, serina e treonina). Fonte: Autora (2025).

A sinalização Notch1 é desencadeada quando um dos ligantes, das famílias Delta-like 1 (DLL1), Delta 3, Delta 4, ou Jagged1 (JAG1) e Jagged2 (JAG2), expresso em células vizinhas, estabelece uma ligação com receptor Notch1. Essa interação inicia duas clivagens proteolíticas sucessivas: uma clivagem extracelular justamembrana, por uma desintegrina e metaloproteinase que ocorre na DH e produz o substrato para a clivagem intramembrana, realizada pelo complexo γ -secretase, resultando na liberação do domínio intracelular NOTCH1-DIC ativo que se transloca para o núcleo. No núcleo, NOTCH1-DIC forma um complexo de ativação transcricional com a proteína de ligação ao DNA (CSL)+ coativador transcricional como proteínas mastermind-like (MAML) + proteína de ligação ao sinal de recombinação J κ (RBP-J κ), com isso, ativando a expressão de genes-alvo de *NOTCH1*, como: *BMI1* proto-oncogene, *CCND1*, *CD44*, *HES1*, *HEY1* fatores de transcrição, *MYC* (c-myc), *DLL1*, *P53* (supressor de tumor) entre outros. Os genes-alvo canônicos do Notch1 são regulados positivamente de forma dependente do contexto celular. O sinal é encerrado através da ubiquitinação de sítios no domínio PEST, seguida pela degradação dependente do proteassoma do NOTCH1-DIC ativo. Vale ressaltar que a translocação para o núcleo pode ser associada com repressão transcricional gênica. Acredita-se que esse efeito supressor de *NOTCH1* resulte de modo indireto, mediado pela expressão de repressores transcricionais como *HES1* e *HEY1* (Figura 5) (Gharaibeh *et al.*, 2020; Doyen *et al.*, 2019)

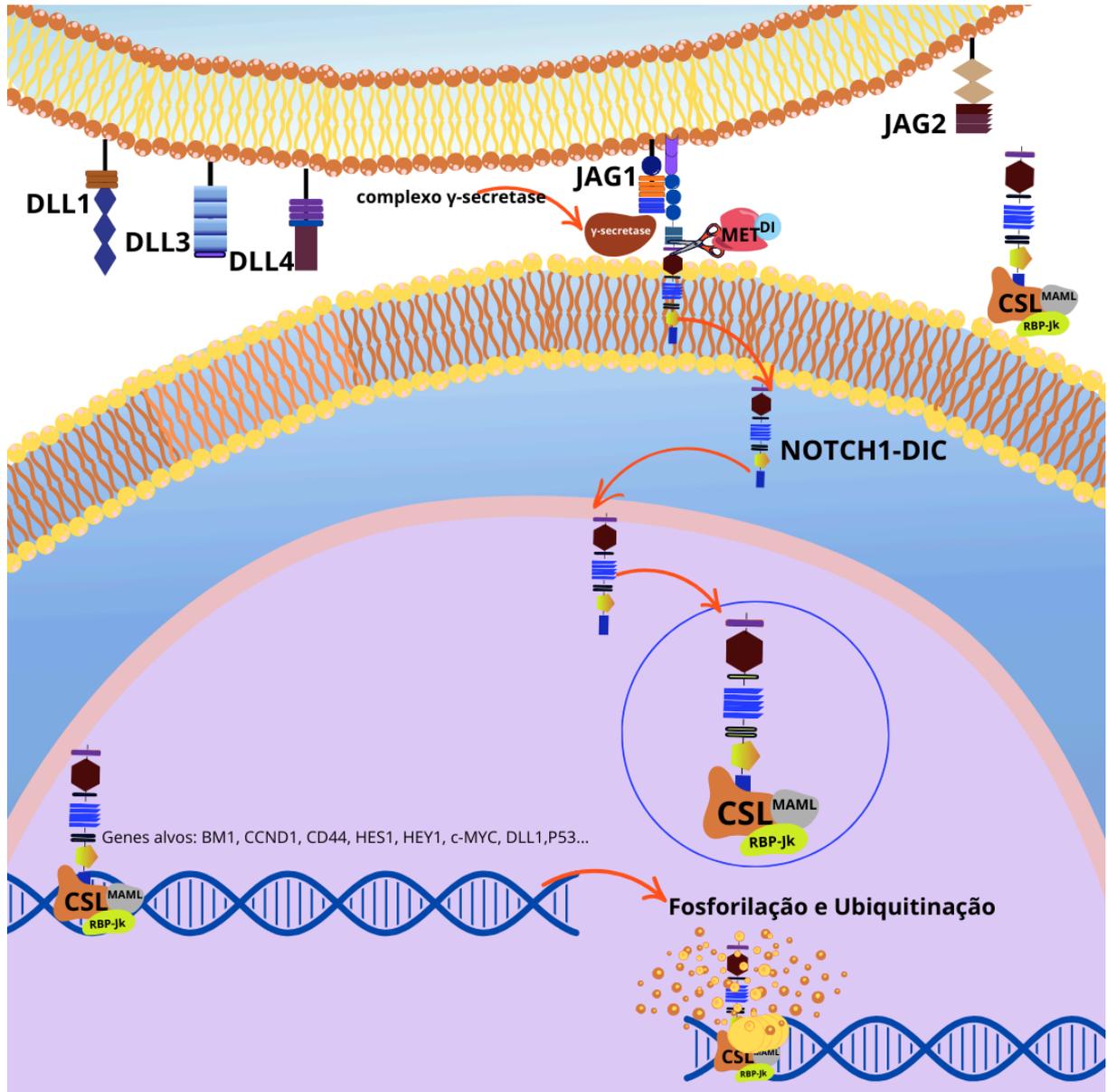


Figura 5. Mecanismo de ativação dependente de ligante da via de sinalização Notch1.

Legenda: DLL1 (Delta-like 1); DLL3 (Delta-like 3); DLL4 (Delta-like 4); JAG1 (Jagged1); JAG2 (Jagged2); (MET (Metaloproteína); DI (Desintegrina); γ -secretase (complexo γ -secretase); NOTCH1-DIC (Domínio intracelular de Notch1 ativo); CSL (proteína de ligação ao DNA); MAML (coativador da família Mastermind); RBPJ (fator de ligação ao DNA - proteína de ligação ao sinal de recombinação para a região κ J da imunoglobulina). Fonte: Autora (2025).

Por outro lado, a sinalização Notch não canônica pode ser desencadeada por um ligante não canônico e pode não exigir clivagem dos receptores Notch. Em algumas maneiras de sinalização não canônica, o RBPJ não está envolvido, o que pode indicar interações com outras vias de sinalização além do complexo NOTCH1-DIC ativo-RBPJ. Considerando os vários papéis da sinalização Notch em diferentes contextos, não é surpreendente que defeitos nos ligantes Notch ou alterações na via geral do Notch estejam associados a distúrbios genéticos e cânceres (Akil *et al.*, 2021).

Estudos sugerem que a sinalização Notch 1 desempenha um papel essencial em diversos processos. Já foi demonstrado ser importante nas interações célula-célula durante o desenvolvimento embrionário, regula a estrutura e proliferação de células epiteliais estabilizando diretamente as junções aderentes e a actina cortical (White *et al.*, 2023). Regula o crescimento de células-tronco hematopoiéticas, maturação das células T, de monócitos e a regulação do destino celular em quase todos os tecidos e órgãos, desde o desenvolvimento embrionário até a idade adulta (Vimalraj, 2022). Além disso, está envolvido na manutenção de células-tronco em adultos; regulação da angiogênese por meio de interações com os ligantes Notch, além de crosstalk com outras vias, como a sinalização do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).

O DLL4, um ligante semelhante ao delta 4, mostrou ser um ligante Notch1 crítico para promover a angiogênese. No entanto, outro ligante Notch, o Jagged1, tem potencial para competir com DLL4 na regulação negativa da angiogênese. Este conceito foi recentemente ilustrado em um estudo *in vitro* mostrando que Jagged1 é um potente regulador pró-angiogênico capaz de antagonizar a sinalização Notch1 mediada por DLL4 na angiogênese (Naito *et al.*, 2020; Akil *et al.*, 2021).

Nos estudos de perfil mutacional do CaPe, mutações neste gene têm sido cada vez mais mencionadas e observadas em 50% dos tumores de pênis. As mutações que interrompem a atividade do receptor Notch1 são as mais comuns no carcinoma espinocelular cutâneo. Por outro lado, nos carcinomas de células escamosas, o *NOTCH1* costuma atuar como um supressor de tumor. No entanto, em um relato de caso, observaram um caso único de carcinoma espinocelular de pênis metastático associado a altos níveis de *NOTCH1* ativado e duas mutações distintas no *NOTCH1*, ambas originalmente identificadas em leucemia/linfoma linfoblástico agudo de células T. Foram mutações de ganho de função, conhecidas por levar à ativação da via de sinalização Notch 1, independente de ligante, em um CaPe metastático, foram elas: F1592S (substituição T para C no nucleotídeo 4775) presente em 5% de 321 leituras, e L1678P (substituição T para C no nucleotídeo 5033). Este relato de caso expõe que, quando mutado, o gene NOTCH1 poderia atuar como oncogene em CaPe (Signoretti e Aster, 2018).

Em outro estudo, relataram que mutações no *NOTCH1* foram encontradas nas quatro populações (latino-americanos, europeus, asiáticos e norte-americanos). Neste mesmo estudo observaram mutação no c.4389 C > A (*NOTCH1*) no CaPe. Os tipos mais comuns de

mutações em *NOTCH1* observados nestes estudos incluem: *frameshift* de inserção (ocorre quando um ou mais nucleotídeos são inseridos na sequência do gene); mutação de *non-synonymous* (mutações não silenciosas, há alteração em um único nucleotídeo, resultando em alteração na sequência de aminoácidos da proteína); e mutações de *Stop Gain* (substituição de um único nucleotídeo, em que leva a um códon de parada). Além do mais através do *Catalogue of Somatic Mutations in Cancer* (COSMIC), que é o maior e mais abrangente banco de dados sobre genes, reúne milhares de informações sobre estes genes nos cânceres, e foi possível observar os tipos de mutações mais frequentes de *NOTCH1* nos tumores de pênis (Figura 6).

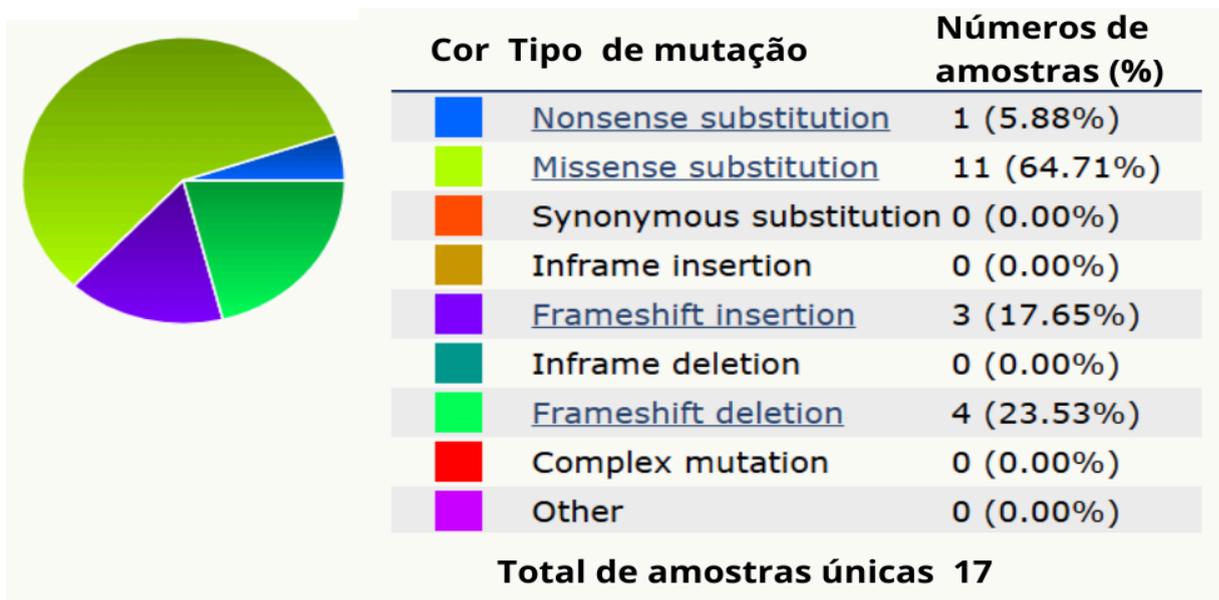


Figura 6. Visão geral da frequência de diferentes tipos de mutações *NOTCH1* no câncer de pênis. Fonte: Adaptado de COSMIC (2025). Legenda: Descrição da incidência dos diferentes tipos de mutações de *NOTCH1*.

Na Figura 7 são mostradas as bases nitrogenadas frequentemente substituídas devido à mutações que ocorrem no gene *NOTCH1* no câncer de pênis (Figura 7), segundo COSMIC.

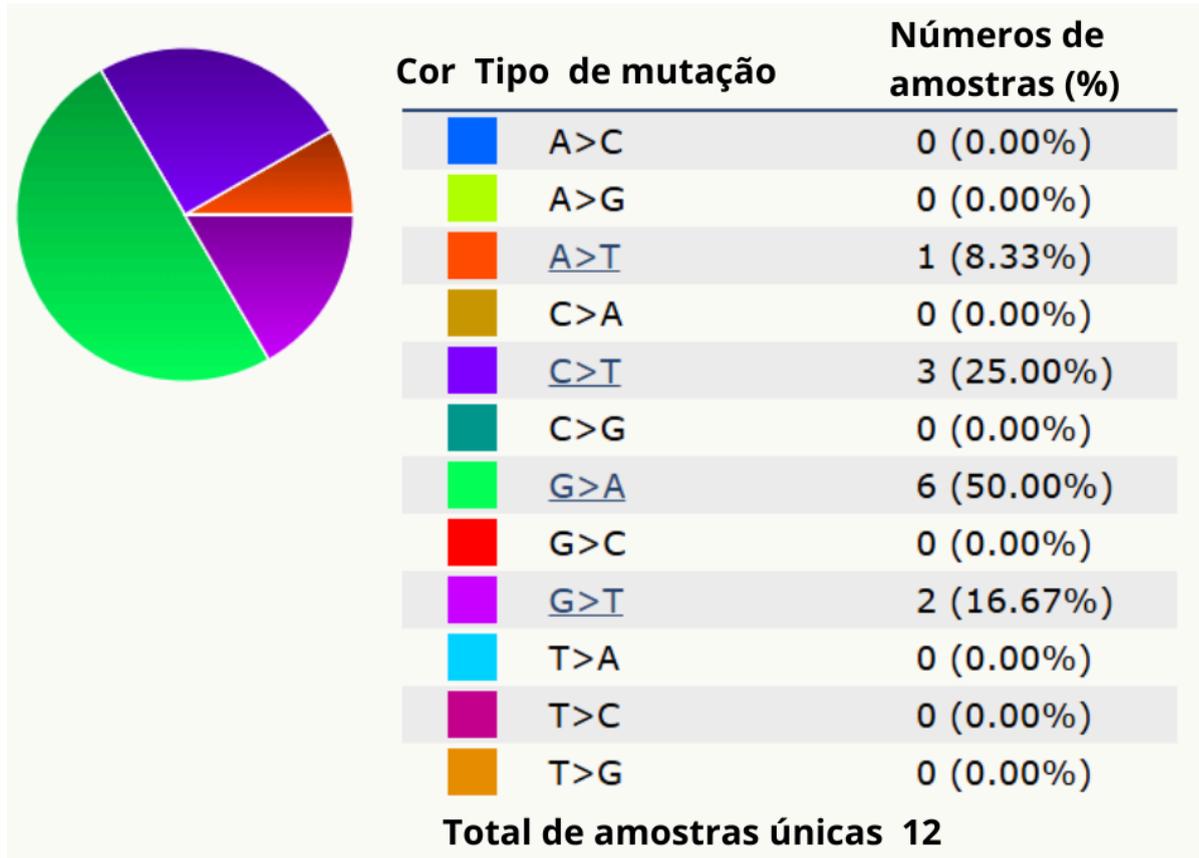


Figura 7. Análise das mutações de substituição observadas no gene *NOTCH1* no câncer de pênis. Fonte: Adaptado de COSMIC (2025).

Além disso, nota-se que o *NOTCH1* apresenta ganhos de números de cópias gênicas em tumores de pênis, sendo notado um número igual ou superior a 3 cópias. As consequências destas mutações envolvem a perda ou ganho de função do receptor Notch1 (Canto *et al.*, 2022). Nos casos de CaPe com metástase linfonodal, além das mutações já citadas, identificou-se mutações no *Splice site* (mutação no local onde o spliceossoma se liga para remover o íntron) (Cao *et al.*, 2021). Em um estudo, as mutações no gene *NOTCH1* foram frequentes em 30% das amostras de CaPe (Wang *et al.*, 2019), enquanto em outro, essa porcentagem foi ainda maior, sendo vista em 44,1% das amostras (Chahoud *et al.*, 2021). A mutação *NOTCH1* foi identificada apenas em pacientes HPV-negativos e foi associada à pior sobrevida global no estudo de Monteiro *et al.*, (2024).

Além do mais, alguns estudos têm demonstrado a relevância do gene *NOTCH1* como possível marcador molecular associado à metástase linfonodal em diferentes tipos de carcinomas escamosos. Em pacientes com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (CECP), por exemplo, a identificação de biomarcadores dentre eles o *NOTCH1* mostrou-se promissor para prever a presença de metástase linfonodal, especialmente em estágios iniciais

do carcinoma espinocelular oral (OSCC) (Meliante *et al.*, 2025). A expressão desses marcadores apresentou associação significativa com a ocorrência de metástases linfonodais. Da mesma forma, pacientes com mutações em *NOTCH1* e metástase linfonodal apresentaram pior sobrevida global (SG) e sobrevida livre de doença (SLD), enquanto aqueles sem metástase e sem mutações em *NOTCH1* tiveram melhor prognóstico (Song *et al.*, 2014). Em estudo com câncer papilar de tireoide, a expressão do receptor Notch1 foi associada a características de mau prognóstico, como maior tamanho tumoral, metástase linfonodal, invasão capsular e extensão extratireoidiana. O *NOTCH1* manteve-se como um preditor independente de metástase linfonodal, reforçando seu papel na progressão tumoral (Park *et al.*, 2012).

2. OBJETIVO

2.1 Geral

Identificar alterações no números de cópias e de expressão do gene *NOTCH1* em amostras de tumor primário e metástase linfonodal de pacientes com câncer de pênis.

2.2 Específicos

2.2.1 Caracterizar o perfil sociodemográfico, clínico e histopatológico de pacientes com câncer de pênis em uma coorte do estado do Maranhão;

2.2.2 Detectar a presença do papilomavírus humano (HPV) em amostras de pacientes com câncer de pênis (tumor primário) e genotipar os principais tipos virais;

2.2.3 Avaliar o número de cópias gênica do gene *NOTCH1* em amostras de pacientes com câncer de pênis (tumor primário e metástase linfonodal);

2.2.4 Avaliar o perfil de expressão gênica do gene *NOTCH1* em amostras de pacientes com câncer de pênis (tumor primário, metástase linfonodal e margem);

2.2.5 Correlacionar os achados de alterações no número de cópias gênicas, perfil mutacional, expressão gênica de *NOTCH1* com os dados de infecção por HPV e perfil sociodemográfico, clínico e histopatológico dos pacientes com câncer de pênis.

3 METODOLOGIA

3.1 Aspectos éticos

Esta pesquisa foi conduzida seguindo as regulamentações previstas na Resolução

CNS/MS n.o 466/2012 para pesquisa com seres humanos, e possui aprovação pela Comissão Científica do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (COMIC-HUUFMA), parecer no 127/2018, pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) parecer 6.743.483, e Comitê Nacional de Ética em pesquisa (CONEP), parecer 6.963.950 (CAAE 57747422.8.0000.5086) (**Anexo A**).

3.2 Caracterização do estudo

Trata-se de uma pesquisa biomédica, retrospectiva e transversal. Foram utilizadas amostras de CaPe (tumor primário e metástase linfonodal) coletadas ao longo do projeto **“PERFIL GENÔMICO E METAGENÔMICO DO CÂNCER DE PÊNIS NO MARANHÃO: IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES DE PROGNÓSTICO”**.

Para o presente estudo, o cálculo amostral foi realizado adotando a fórmula: $n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot (1-p)}{Z^2 \cdot p \cdot (1-p) + e^2 \cdot N - 1}$, onde: n = amostra calculada; N = população; Z = variável normal; p=real probabilidade do evento; e = erro amostral. Para os hospitais no Maranhão, considerando-se que os mesmos prestam atendimento para uma região de 1.443.242 habitantes com estimativa de 6.1/100.00 casos de CaPe, um intervalo de confiança de 99% e um erro amostral de 5%, e que cerca de 49% da população maranhense é masculina, o número mínimo de participantes é de 53. A meta do estudo foi avaliar amostras de 60 pacientes. No momento em que iniciou a pesquisa a coorte do LIME/HU-UFMA contava com 89 casos disponíveis para a análise.

3.3 Período e local

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Imuno-histoquímica e Microscopia Eletrônica (LIME) e no Laboratório Multiusuário de Patologia Molecular e Biobanco do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HU-UFMA), no período 2023 a 2025.

3.4 Amostras

Os pacientes incluídos nesta pesquisa foram diagnosticados no Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HU-UFMA), Hospital do Câncer Aldenora Bello (HCAB) e Hospital de Câncer Dr. Tarquínio Lopes Filho (HCTLF). Todas as amostras utilizadas nas etapas experimentais deste trabalho foram provenientes de tecidos frescos de

tumores de pênis e tecidos adjacentes (margem e adjacentes ao tumor), as amostras foram colocadas em solução RNAlater (Thermo Fisher) e armazenadas a -80°C no Biorrepositório do Laboratório de Imunofluorescência e Microscopia Eletrônica (LIME/HU-UFMA).

3.5 Critérios de inclusão

Foram incluídos somente pacientes com diagnóstico clínico e histopatológico de câncer de pênis, maiores de 18 anos, que realizaram somente o procedimento cirúrgico como primeira opção de tratamento, e que concordaram em participar do estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.6 Critérios de exclusão

Não foram coletadas amostras de pacientes que realizaram tratamento quimioterápico ou radioterápico antes do procedimento cirúrgico, e que não possuíam o diagnóstico de câncer de pênis. Também foram excluídos pacientes que não possuíam tecido fresco para análise molecular.

3.7 Variáveis avaliadas

As variáveis demográficas, clínicas, histopatológicas e moleculares avaliadas neste trabalho foram: idade ao diagnóstico, cor/raça, naturalidade, renda familiar, escolaridade, ocupação principal, estado civil, tabagismo, etilismo, fimose, higiene genital, início dos sintomas, metástase linfonodal, extensão extranodal, topografia da lesão, tamanho da lesão, características macroscópicas do tumor, tipo e subtipo histológico, grau de diferenciação, Infiltrado linfocitário, invasão angiolinfática e perineural, tumor primário, transformação sarcomatoide, estadiamento tumoral, detecção de coilócitos, presença de HPV, genótipo do HPV, expressão gênica de *NOTCH1*, variação no número de cópias gênicas de *NOTCH1*.

3.8 Etapas do estudo

3.8.1 Levantamento de casos

Foi realizado o levantamento de casos com diagnóstico clínico e histopatológico de câncer de pênis no Hospital do Câncer Aldenora Bello (HCAB), Hospital Universitário Presidente Dutra (HUUFMA) e no Hospital de Câncer Dr. Tarquínio Lopes Filho (HCTLF) em São Luís (MA) de pacientes que realizaram a cirurgia no período de 2020 a 2024. As informações clínicas e histopatológicas dos casos selecionados foram retiradas do nosso banco de dados, onde consta todas as informações coletadas durante os questionários

sociodemográficos realizados com os participantes no dia do procedimento, onde o pesquisador acompanha o participante. Para análise de sobrevida, conforme prevista no item 3.9 da metodologia, os dados de seguimento foram levantados nos três hospitais de coleta de amostras (HUUFMA, HCAB E HTLF) através da revisão de prontuários.

3.8.2 Revisão de lâminas

Após a coleta dos fragmentos de tumores de pênis e da peça cirúrgica, os casos selecionados foram submetidos à revisão criteriosa das lâminas de HE de todos os espécimes para confirmação do diagnóstico histológico e classificação dos tumores de acordo com os critérios propostos pela American Joint Committee on Cancer (AJCC), 8ª edição. Todos os tumores foram avaliados por dois patologistas, em caso de discordância, os critérios foram revistos em conjunto.

3.8.3 Extração de DNA e RNA

Inicialmente, as amostras coletadas em RNAlater foram selecionadas a partir da caracterização do percentual de tumor no espécime coletado, o tecido com maior porcentagem de tumor foi utilizado, seguindo protocolo in house do LIME/HUUFMA. Posteriormente, a extração de DNA foi realizada utilizando o kit *QIAamp Fast DNA Tissue kit* (Qiagen) seguindo as recomendações do fabricante. Enquanto a extração de RNA foi realizada usando o kit *PureLink RNA Mini Kit* (Invitrogen) seguindo recomendações do fabricante. A concentração do DNA e RNA foi medida por densidade óptica usando o espectrofotômetro *NanoDrop* (*NanoDrop Technologies, Rockland, DE*), em ondas de 230, 260 e 280 nm. A integridade do DNA e do RNA foi examinada em gel de agarose 1,5%. A síntese de cDNA foi realizada com o kit de transcrição reversa *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (*Applied Biosystems*).

3.8.4 Detecção e genotipagem do Papilomavírus Humano (HPV)

A detecção do HPV foi conduzida por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) convencional em duas etapas (*nested PCR*). Na primeira PCR foi utilizado um conjunto de primers genéricos denominados PGMY09/11, descrito por Gravitt et al. (2002), e que produzem um fragmento de 450 pb da região L1 do capsídeo do HPV, a reação foi executada com um mix final de 25 µL contendo os seguintes reagentes: tampão de PCR (1X), MgCl₂ (1 mM), dNTP (0,08 mM) PGMY09/11 (0,16 µM cada um), *Platinum™ Taq DNA Polimerase* (1U), DNA (~50-100 ng/uL) e água livre de nuclease.

Na segunda PCR foi utilizado o par de primer GP5+/6+ (Jacobs *et al.*, 1997), gerando amplicon de 170 pb, o qual também é correspondente à região L1 do capsídeo viral. Como controle positivo da reação, foi utilizado um par de primers para o gene da β -globina (366 pb). Os amplicons foram separados em gel de agarose a 1,5%, corados com SYBR™ Safe DNA Gel Stain (Thermo Fisher, EUA) e submetidos a uma tensão inicial de 60V por 15 min e depois a 120V por 30 min. Os amplicons foram comparados com o marcador de peso molecular ladder 100 bp (Invitrogen, EUA). As bandas foram visualizadas em transluminador de luz azul. Foram considerados positivos aqueles que possuíam amplificação para os primers PGMY09/11 e/ou GP5+/6+.

O produto de PCR foi purificado por meio do kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega, EUA) e utilizado para genotipagem viral. Os amplicons referentes ao HPV foram sequenciados pelo método de Sanger, por eletroforese capilar. A reação de sequenciamento foi realizada utilizando-se o kit *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit* (Life Technologies, USA) e analisados no equipamento *Seq Studio™ Genetic Analyzer System* (ThermoFisher, EUA). As suas sequências foram importadas para o software *FinchTV v1.4.0* e convertidas em arquivo FASTA, e então, as sequências inseridas no software online BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para identificação do genotipo viral. As sequências dos primers utilizados estão contidas na tabela 3.

Tabela 3 - Primers utilizados para detecção do HPV nas amostras de câncer de pênis

Conjunto de primers	Nome dos primers	Sequência (5'-3')
	PGMY11-A	GCA CAG GGA CATAAC AAT GG
	PGMY11-B	GCG CAG GGC CAC AAT AAT GG
	PGMY11-C	GCA CAG GGA CAT AAT AAT GG
	PGMY11-D	GCC CAG GGC CAC AAC AAT GG
	PGMY11-E	GCT CAG GGT TTA AAC AAT GG
	PGMY09-F	CGT CCC AAA GGA AAC TGA TC
	PGMY09-G	CGA CCT AAA GGA AAC TGA TC
PGMY09/11	PGMY09-H	CGT CCA AAA GGA AAC TGA TC

	PGMY09-I	G CCA AGG GGA AAC TGA TC
	PGMY09-J	CGT CCC AAA GGA TAC TGA TC
	PGMY09-K	CGT CCA AGG GGA TAC TGA TC
	PGMY09-L	CGA CCT AAA GGG AAT TGA TC
	PGMY09-M	CGA CCT AGT GGA AAT TGA TC
	PGMY09-N	CGA CCA AGG GGA TAT TGA TC
	PGMY09-P	G CCC AAC GGA AAC TGA TC
	PGMY09-Q	GA CCC AAG GGA AAC TGG TC
	PGMY09-R	CGT CCT AAA GGA AAC TGG TC
	HMB01	GCG ACC CAA TGC AAA TTG GT
GP5+/6+	GP5+	TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC
	GP6+	GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C

Legenda: A detecção do papilomavírus humano (HPV) em amostras de câncer de pênis foi realizada utilizando o conjunto de primers PGMY09/11, composto por cinco sequências forward (PGMY11A-E) e 13 sequências reverse (PGMY09F-HMB01).

3.8.5 Análise molecular

3.8.5.1 Ensaios de alterações no número de cópias gênicas

Para análise do número de cópias gênicas (CNA), foram utilizadas sondas de hidrólise (*TaqMan® Copy Number Assay* marcadas com corante *FAMTM-MGB-Applied Biosystems*, EUA). Os ensaios dos genes de interesse foram executados simultaneamente com o ensaio de referência (*TaqMan® Copy Number RNase P* marcado com corante *VIC-TAMRATM – Applied Biosystems*) para o controle interno. As reações foram realizadas em triplicatas para cada amostra de interesse de acordo com o protocolo do fabricante, utilizando o termociclador *QuantStudio 7 (Applied Biosystems)*. Duas amostras de DNA Genômico Humano (Promega, EUA) obtidas comercialmente foram utilizadas como calibradores para estimar o número de cópias dos genes alvos. A análise da quantificação relativa foi realizada através do Software *CopyCaller (Applied Biosystems)*. Não foram consideradas na análise amostras que apresentaram valor de CT > 33 ciclos e valor de *z-score* ≤ 2.65.

O número de cópias de *NOTCH1* foram calculados pelo software *CopyCaller*, o qual

considera ganho quando o número de cópias é igual ou superior a 2.51, e perda quando é igual ou menor a 1.49, considera-se normal quando está entre 1.50 e 2.50. As análises foram realizadas nas amostras de tumor primário e de metástase linfonodal.

3.8.5.2 Ensaio de expressão gênica

Para análise da expressão do gene *NOTCH1*, os produtos da transcrição reversa (item 3.8.4) foram submetidos à qPCR utilizando-se o kit *TaqMan® Universal Master Mix (Applied Biosystems)*, Foi utilizado 1000 ng de RNA total para síntese de DNA complementar (cDNA) através do kit *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, EUA)*. Para controle qualitativo do cDNA confeccionado a partir do RNA extraído do material fresco, as amostras de cDNA foram submetidas à PCR convencional para o gene *GAPDH* utilizando-se o par de primers forward 5'-TTAGCACCCCTGGCCAAGG-3' e reverse 5'-TTACTCCTTGGAGGCCATG-3', obtendo-se um fragmento de aproximadamente 540 pares de base (pb), quando amplificado apenas cDNA a reação foi realizada conforme protocolo descrito para o gene da β -globina humana. A reação de RT-qPCR foi realizada utilizando-se o cDNA diluído em água livre de nuclease em proporção de 1:25, *TaqMan™ Fast Advanced Master Mix for qPCR (Applied Biosystems, EUA)* e *TaqMan® Gene Expression Assays (Applied Biosystems, EUA)*, segundo o protocolo da fabricante. As reações foram realizadas em triplicata tanto para o gene *NOTCH1* (Hs01062014_m1) quanto para os genes endógenos (*GUSB*; Hs000939627_m1 e *HMBS*; Hs00609297_m1).

As placas foram montadas, de modo que foram realizadas pelo menos uma replicata de branco (controle negativo) para cada gene (*NOTCH1*) e controle endógeno (*GUSB* e *HMBS*) nas placas. A reação foi realizada em equipamento *QuantiStudio 5 (Life Technologies, EUA)*. Os dados de amplificação foram inseridos em planilha excel (Microsoft, EUA) para cálculo do desvio-padrão (DP) e da média geométrica das triplicatas do gene *NOTCH1*, *GUSB* e *HMBS*, sendo considerados confiáveis valores de desvio-padrão $\leq 0,5$. Os dados foram analisados por quantificação relativa. A expressão relativa dos genes foi calculada utilizando o método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, conforme descrito por Livak e Schmittgen (2001). foi obtida a média das triplicatas dos Cts, assim estes dados foram considerados juntos para o cálculo de quantificação. Cada amostra foi normalizada a partir da subtração do Ct médio do seu correspondente menos Ct médio do controle endógeno ($nCt = Ct \text{ amostra} - Ct \text{ endógeno}$). As análises foram realizadas nas amostras de tumor primário e de metástase linfonodal. Para considerarmos aumento ou diminuição na expressão do gene, tiramos a média da expressão

gênica de *NOTCH1* ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) observado no tecido saudável (margem) que foi igual a 18,9, todos valores menores do que essa média foi considerado aumento na expressão e todo valor menor que esta média consideramos uma diminuição na expressão.

3.9 Análise de dados

Os dados foram tabulados usando Excel (*Microsoft Office 2023*) e analisados estatisticamente no *software SPSS® v. 26 (IBM)*. As análises de associação foram realizadas por testes bivariados (teste do Qui-quadrado, teste exato de *Fisher*, teste *t student*, *Mann Whitney*). O método de *Kaplan-Meier* foi utilizado para determinar a sobrevida livre de doença, e o teste *log-rank* foi aplicado para comparação entre as curvas de sobrevida. Para todas as análises foram aceitos resultados significantes aqueles com $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Perfil clínico-histopatológico

A tabela 4 demonstra o perfil clínico e histopatológico dos pacientes deste estudo, mostrando a frequência de variáveis como faixa etária, cor/ raça, subtipos histológicos dos tumores, localização das lesões etc.

Tabela 4- Caracterização do perfil sociodemográfico, clínico e histopatológico dos pacientes com câncer de pênis com e sem metástase

Variável	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Variável	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Faixa etária			Escolaridade		
18 – 40 anos	3 (10 %)	2 (5,8 %)	Nenhuma escolaridade ou Fundamental incompleto	19 (63,3%)	27 (79,4 %)
41 – 60 anos	15 (50 %)	13 (38,2%)	Fundamental completo / Ensino Médio Incompleto	7 (23,3 %)	3 (8,9%)
> 60 anos	12 (40 %)	19 (56 %)	Ensino médio completo	4 (13,3 %)	4 (11,7%)
Cor/ Raça			Ocupação		
Pardos	20 (66,7%)	17 (50%)	Lavrador/ Ex lavrador/ Pescador	12 (40%)	25 (73,5%)
Branco	5 (16,7%)	9 (26,5%)	Pedreiro	3 (10%)	1 (2,9%)

Pretos	4 (13,3 %)	6 (17,6%)	Minerador/mecânico/ outros	12 (40%)	7 (20,6%)
Sem informações	1 (3,3%)	2 (5,9%)	Sem informações	3 (10%)	1 (2,9%)
Área de Habitação	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Acesso à saneamento básico	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Rural	12 (40 %)	25 (73,5%)	Sim	19 (63,3 %)	20 (58,8%)
Urbano	16 (53,3%)	7 (20,6 %)	Não	9 (30%)	13 (38,2%)
Suburbana	0(0 %)	1 (2,9%)	Sem informações	2 (6,7%)	1 (2,9%)
Sem informações	2(6,7 %)	1 (2,9%)			
Renda Familiar	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Histórico de câncer na família	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
< 1,00 sm/mês	11 (36,7%)	13 (38,2%)	Refere	8 (26,7%)	15 (45,5%)
1,00 sm/mês	6 (20%)	7 (20,6%)	Nega	19 (63,3 %)	17 (51,5%)
> 1,00 sm/mês	11 (36,7%)	12(35,3%)	Sem informações	3 (10 %)	1(3%)
Sem informações	2 (6,6%)	2(5,9%)			
Tabagismo	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Etilismo	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Refere	10 (33,3%)	17 (50%)	Refere	22(73,3 %)	24(70,6 %)
Nega	17 (56,7%)	16 (47,1)	Nega	6 (20 %)	9 (26,5%)
Sem informações	3 (10%)	1 (2,9%)	Sem informações	2 (6,7%)	1 (2,9%)
Higiene genital	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Zoofilia	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Pobre	8 (26,7%)	11 (32, 4%)	Refere	6 (20%)	14 (41,2%)
Regular	6 (20%)	10 (29,4%)	Nega	18 (60%)	16 (47,1%)
Boa/ Moderada	8 (26,7%)	10 (29,4%)	Sem informações	6 (20%)	4 (11,8%)
Sem informações	8 (26,7%)	3 (8,8%)			
Início dos sintomas	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Características do prepúcio	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
0 - 12 meses	18 (60%)	15 (44,1%)	Fimótico	12 (40%)	13 (38,2%)
12 - 24 meses	5 (16,7%)	10 (29,4%)	Circuncisão	4 (13,3%)	9 (26,5%)
> 24 meses	4 (13,3%)	7 (20,6 %)	Longo	6 (20%)	7 (20,6%)
Sem informações	3 (10%)	2 (5,9%)	Destruído	1 (3,3%)	1 (2,9%)

			Sem informações	7 (23,3%)	4 (11,8 %)
Topografia da lesão	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Característica da lesão	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Glande	12 (40 %)	12 (25,3%)	Ulcerada	10 (33,3%)	5 (14,7%)
Glande e prepúcio	7 (23,3%)	14 (41,2 %)	Úlcero-vegetante	13 (43,3 %)	14(41,2%)
Glande, prepúcio e corpo	11 (36,7%)	8 (23,5%)	Vegetante/ Verrucosa	4 (13,3%)	10 (29,4%)
			Outros	3 (10%)	5 (14,7%)
Tipo histológico	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Subtipo histológico	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Carcinoma de Células Escamosas	30 (100%)	34 (100%)	Associados ao HPV	8 (26,6 %)	16(47 %)
			Não associados ao HPV	20 (66,6 %)	18 (52,9 %)
			Sem informação	2(6,6%)	0(0%)
Grau de diferenciação	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Invasão vascular sanguínea	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
G1	0 (0%)	1 (2,9%)	Presente	16 (53,3%)	2 (5,9%)
G2	3(10%)	12(35,2%)	Ausente	12 (40%)	31 (91,2 %)
G3	27 (90%)	21 (61,8%)	Sem informação	2 (6,7%)	1 (2,9 %)
Invasão vascular linfática	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Invasão perineural	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Presente	13 (44,8%)	3 (8,8 %)	Presente	20 (66,7 %)	8 (23,5 %)
Ausente	14 (48,3%)	31 (91,2 %)	Ausente	8 (26,7 %)	26 (76,5%)
Sem informação	2 (6,9%)	0 (0%)	Sem informação	2 (6,7%)	0 (0%)
Infiltrado linfocitário	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Coilocitose	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Presente	27 (90,%)	32 (94,1 %)	Presente	18 (62,1 %)	20 (58,8%)
Ausente	1 (3,3%)	1 (2,9%)	Ausente	9 (31%)	12 (35,3%)
Sem informação	2 (6,7%)	1 (2,9 %)	Sem informação	3 (6,9 %)	2 (5,9%)
Tumor primário	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Estadiamento Clínico	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
pT1	3 (10%)	9 (26,5 %)	I	2 (3,3%)	7 (20,6%)
pT2	5(16,7%)	12 (35,3%)	II	16 (53,3%)	25 (73,5%)

pT3 – pT4	20 (66,7%)	12 (35,3,%)	III - IV	11 (36,7%)	1 (2,9,6)
Complementação	2 (6,7%)	1 (2,9%)	Complementação	1 (6,7%)	1 (2,9%)
Transformação sarcomatoide	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Extensão Extranodal	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)
Presente	14 (46,7 %)	4(11,8 %)	Presente	21 (70 %)	0 (0%)
Ausente	13 (43,30%)	28 (82,4 %)	Ausente	6 (20 %)	34 (100%)
Sem informação	3 (10%)	2 (5,9%)	Sem informação	3 (13,3%)	0 (0%)

4.2 Detecção e genotipagem do papilomavírus humano (HPV)

A Tabela 5 demonstra a frequência de detecção do HPV e distribuição dos diferentes genótipos identificados em amostras de tumores de pênis.

Tabela 5 - Detecção e genotipagem de HPV nos tumores de pênis

Detecção de HPV	Grupo com Metástase N (%)	Grupo sem Metástase N (%)	Genótipo de HPV	Grupo com Metástase (N=17)	Grupo sem Metástase (N=23)
Positivo	17 (56,6%)	23 (67,6%)	Alto risco (16, 18,31)	10 (58,8%)	14 (60,8%)
Negativo	13 (43,3%)	11 (32,3%)	Baixo risco (30,44,62,67)	3 (11,7%)	4 (17,3%)
Total=	30 (100%)	34 (100%)	S/ sequenciamento	5 (29,4%)	4(17,3%)

4.3 Avaliação do número de cópias gênica do gene *NOTCH1* em amostras de pacientes com câncer de pênis (tumor primário e metástase linfonodal)

A tabela 6 apresenta a distribuição da frequência das alterações no número de cópias gênicas de *NOTCH1* em amostras de tumor primário e metástase linfonodal.

Tabela 6 - Frequência do Número de cópias gênica do gene *NOTCH1* nos tecidos de tumores de pênis e metástase linfonodal.

Nº de cópias gênicas	Tumor primário N (%)		Metástase N (%)	
	Nº	%	Nº	%
1 cópia	18	(28,6%)	6	(23%)
	32	(50,8%)	14	(53,9%)

	3 cópias	13 (20,6%)	5 (19,2%)
	4 cópias		1 (3,8%)

A figura 8 mostra a distribuição de *NOTCH1* mutado que são todos os casos que apresentaram mais ou então menos de 2 cópias do gene *NOTCH1* e considerado normal aqueles casos que tiveram somente 2 cópias do gene. No tumor primário 50,8% tiveram a presença de *NOTCH1* selvagem (2 cópias) e 49,2% dos casos de tumor primário apresentava *NOTCH1* mutado sendo 28,6% tinham apenas uma cópia (perda) e 20,6% tiveram ganho no número de cópias. No tecido de metástase linfonodal foram visto que 53,9% tinham *NOTCH1* selvagem e 23% tiveram perda no número de cópias gênicas de *NOTCH1* e 23% ganho no número cópias gênica .

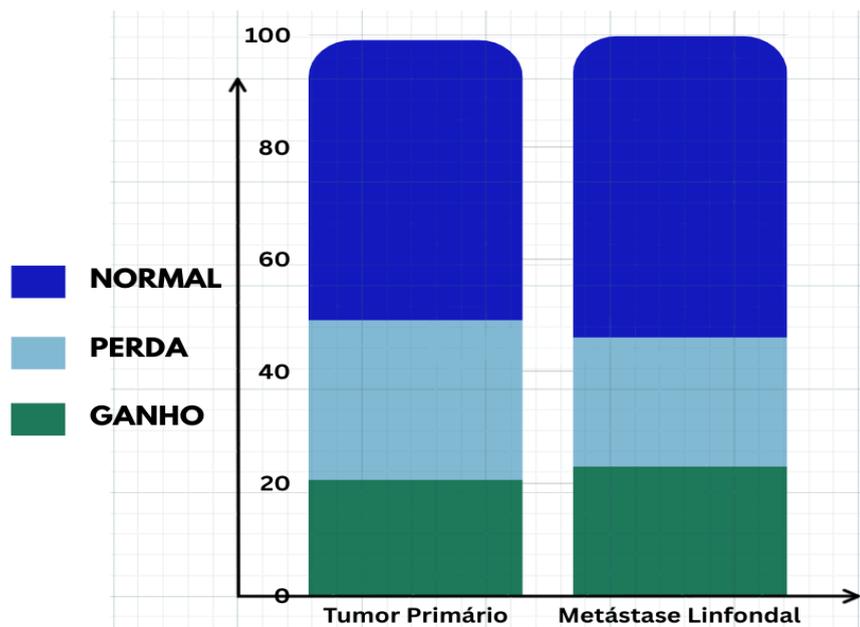


Figura 8. Frequência de número de cópias normal, ganho e perdas de *NOTCH1* nos tumores de pênis e metástase linfonodal.

A tabela 7 apresenta o perfil clínico-histopatológico dos tumores primários e metástase linfonodal de acordo com o número de cópias gênicas de *NOTCH1*, permitindo observar associações ou não.

Tabela 7 - Perfil sociodemográfico, clínico- histopatológico dos tumores primários e metástase linfonodal de acordo com o número de cópias gênicas de *NOTCH1*.

Variável	CNA <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	CNA <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=27)	p-value
----------	---	---------	---	---------

Histórico de câncer na família	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Refere	13 (46,4%)	10(33,3%)	P=0.308	2 (22,2%)	5 (35,7%)	P=0.493
Nega	15 (53,6%)	20 (66,7%)		7 (77,8%)	9 (64,3%)	
Tabagismo	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Refere	18 (62,1%)	9 (29%)	P =0.010	4 (40%)	5 (35,7%)	P=0.831
Nega	11 (37,9%)	22 (71%)		6 (60 %)	9 (64,3%)	
Etilismo	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Refere	23 (79,3%)	23 (71,9%)	P=0.501	8 (72,7%)	11 7(8,6%)	P=0.734
Nega	6 (20,7%)	9 (28,1%)		3 (27,3%)	3 (21,4%)	
Higiene genital	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Precária	10 (41.7%)	9 (30%)	P=0.647	1 (16,7%)	6 (46,2%)	P=0.422
Regular	6(25%)	10(33,3%)		2 (33,3%)	2 (15,4%)	
Boa/ Moderada	8(33.3%)	11(36.7%)		3 (50 %)	5 (38,5%)	
Zoofilia	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Refere	9(34,6%)	11(39,3%)	P=0.723	1 (11,1%)	4 (33,3%)	P=0.237
Nega	17(65,4%)	17 (60,7%)		8 (88,9%)	8 (66,7%)	
Início dos sintomas	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
0 - 12 meses	14 (51,9%)	18(58,1%)	P=0.438	6 (66,7%)	10 (71,4%)	P=0.520
12 - 24 meses	6 (22,2%)	9 (29%)		2 (22,2%)	1 (7,1%)	
> 24 meses	7 (25,9%)	4 (12,9%)		1 (11,1%)	3 (21,4%)	
Características do prepúcio	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Fimótico	12 (52,2%)	15 (53,6%)		5 (55,6%)	7 (70%)	

Circuncisão	7 (30,4%)	4 (14,3%)	P=0.271	3 (33,3%)	0 (0%)	P=0.117
Longo	4 (17,4%)	9 (32,1%)		1 (11,1%)	3 (30%)	
Topografia da lesão	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Glande	12(38,7%)	11 (34,4%)		4 (33,3%)	4 (28,6%)	
Glande e prepúcio	6(19,4%)	10 (31,3%)	P=0.550	2 (16,7%)	4 (28,6%)	P=0.773
Glande, prepúcio e corpo	13(%)	11(34,4%)		6 (50 %)	6 (42,9%)	
Característica da lesão	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Ulcerada	5 (23,8%)	8 (25,8%)		2 (25 %)	4 (33,3%)	
Úlcero-vegetante	10 (47,6%)	15 (48,4%)		4 (50 %)	7 (50%)	
Vegetante/ Verrucosa	6 (28,6%)	8 (25,8%)	P=0.975	2 (25 %)	2 (16,7%)	P=0.870
Subtipo histológico	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Associados ao HPV	14(46,7%)	12(37,5%)		6 (54,5%)	4 (28,6%)	
Não associados ao HPV	16(53,3%)	20(62,5%)	P=0.465	5 (45,5%)	10 (71,4%)	P=0.188
Grau de diferenciação	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
G1	1 (3,2%)	0(0%)		0 (0%)	0 (0%)	
G2	7(22,6%)	8(25%)	P=0.585	1 (8,3%)	2 (14,3%)	P=0.636
G3	23 (74,2%)	24 (75%)		11 (91,7%)	12 (85,7%)	
Invasão vascular sanguínea	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Presente	9 (31%)	9 (28,1%)	P=0.804	9 (81,8%)	7 (50%)	
Ausente	20 (69%)	23 (71,9%)		2 (18,9%)	7 (50%)	P=0.100

Invasão vascular linfática	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Presente	8 (26,7%)	9 (28,1%)	P=898	6 (54,5%)	8 (57,1%)	P=0.897
Ausente	22 (73,3%)	23 (71,9%)		5 (45,5%)	6 (42,9%)	
Invasão perineural	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Presente	15 (50%)	13 (40,6%)	P= 0.459	8 (72,7%)	11 (78,6%)	P=0.734
Ausente	15 (50%)	19 (59,4%)		3 (27,3%)	3 (21,4%)	
Infiltrado linfocitário	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Presente	28 (96,6%)	31 (96,9%)	P= 0.944	11 (100%)	13 (92,9%)	P=0.366
Ausente	1 (3,4%)	1 (3,1%)		0 (0%)	1 (7,1%)	
Coilocitose	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Presente	22 (73,3%)	18 (56,3%)	P=0.160	8 (72,7%)	10 (71,4%)	P=0.943
Ausente	8 (26,7%)	14 (43,8%)		3 (27,3%)	4 (28,6%)	
Tumor primário	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
pT1	6 (21,4%)	6 (18,8%)	P=0.959	1 (10%)	2 (14,3%)	P=0.254
pT2	8 (28,6%)	9 (28,1%)		0 (0%)	3 (21,4%)	
pT3-pT4	14 (50%)	17 (53,1%)		9 (90%)	9 (64,3%)	
Estadiamento Clínico	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
I	3 (10,7%)	5 (15,6%)	P=0.433	2 (18,2%)	0 (0%)	P=0.243
II	21 (75%)	19 (59,4%)		5 (45,5%)	7 (50%)	
III - IV	4 (14,3%)	8 (25%)		4 (36,4%)	7 (50%)	
Transformação sarcomatóide	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Presente	9 (32,1%)	10 (32,3%)	P=0.992	7 (63,6%)	7 (53,8%)	P=0.628

Ausente	19 (67,9%)	21 (67,7 %)		4 (36,4%)	6(%)	
Extensão Extranodal	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Presente	7 (22,6 %)	14 (46,7%)	P=0.048	9 (71%)	11 (91,7%)	P=0.273
Ausente	24 (77,4%)	16 (53,3%)		3 (25%)	1 (8,3%)	
Status geral	Mutado n (%)	Selvagem n (%)				
Com metástase	12 (38,7%)	17 (53,1 %)	P=0.251			
Sem metástase	19 (61,3%)	15 (46,9%)				

A figura 9 demonstra a mediana da sobrevida livre de doença, indicando o tempo em que 50% dos casos tiveram metástase, sendo observado uma mediana de 2,3 meses.

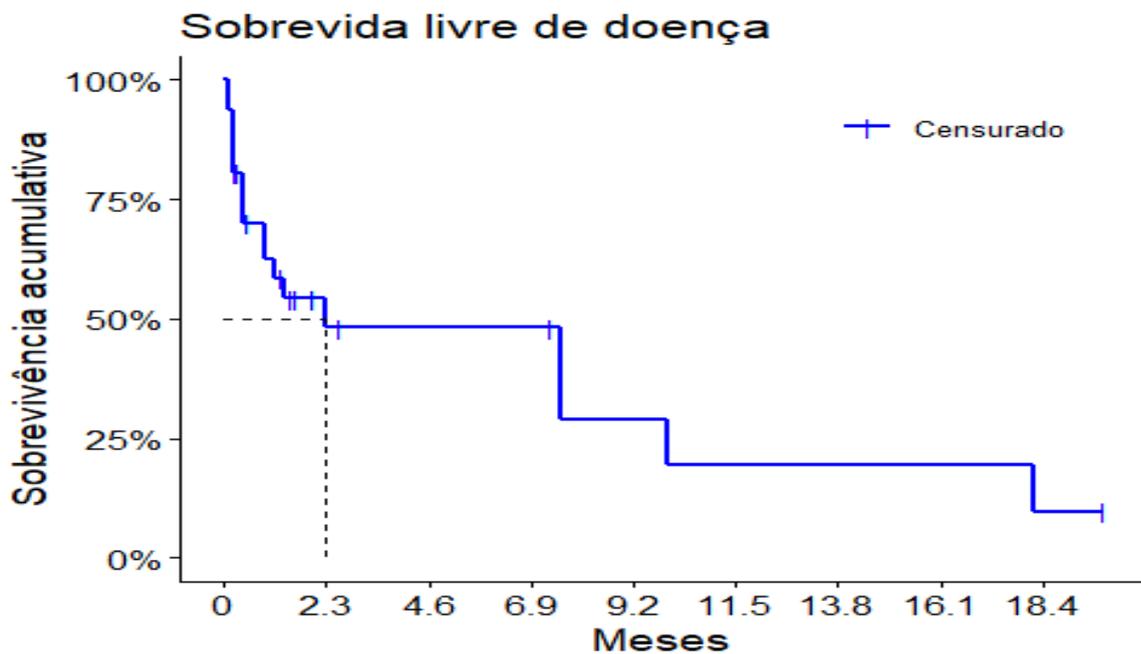


Figura 9. Demonstração da mediana da sobrevida livre de doenças e indivíduos em risco. Fonte:

Na figura 10 é observado a análise de sobrevida livre de doença de acordo com o ganho, perda ou número normal de cópias gênicas de *NOTCH1* em tumores de pênis (log-rank $p = 0,61$).

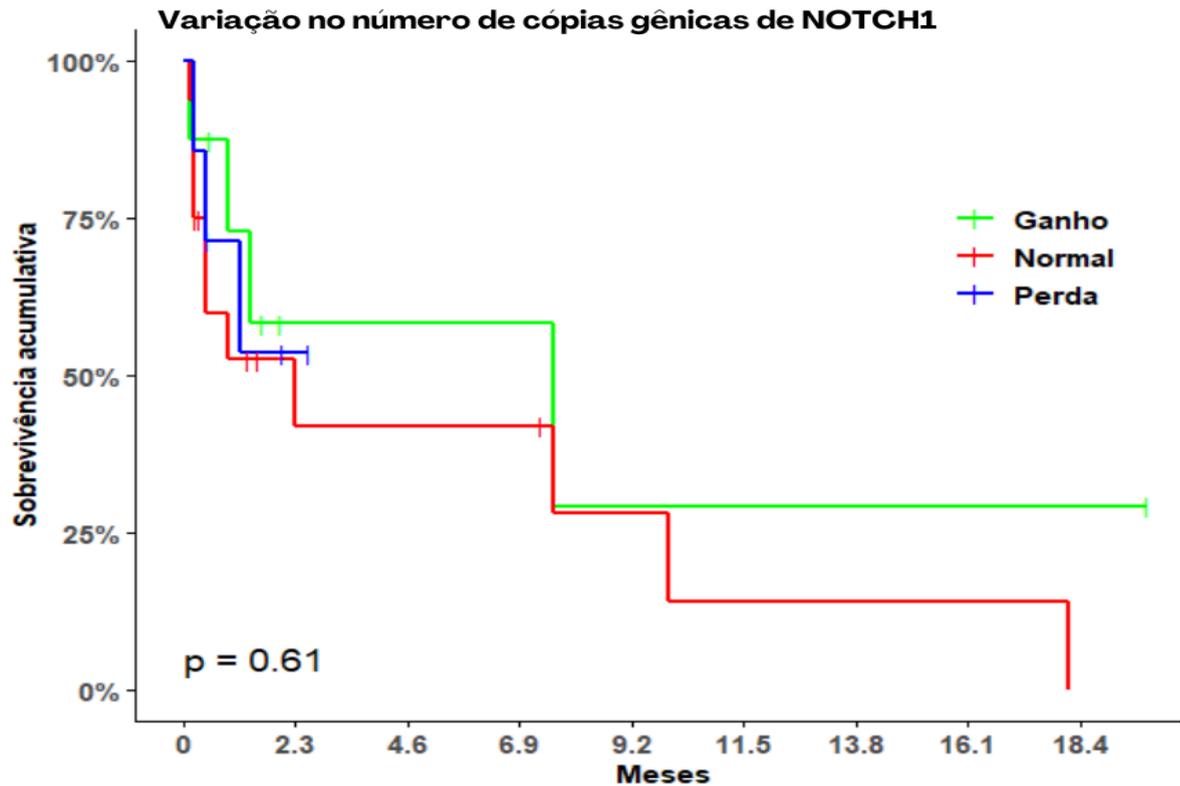


Figura 10. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com ganho, perda ou números de cópias gênicas de *NOTCH1* normal (log-rank $p = 0.61$). Fonte: autora (2025).

Na tabela 8 observamos que não houve diferença estatisticamente significativa quando relacionado à presença ou ausência de HPV e seu genótipos (alto e baixo risco) com o estado de *NOTCH1* mutado ou selvagem.

Tabela 8 - Detecção e genotipagem de HPV de acordo com o estado mutado ou selvagem de *NOTCH1*.

Variável	CNA <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		p-value	CNA <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=27)		p-value
Detecção de HPV	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Positivo	19 (61,3%)	21 (65,6%)	P=0.721	6 (50%)	10 (71,4%)	P=0.263
Negativo	12 (38,7%)	11 (34,4%)		6 (50%)	4 (28,6%)	
Genótipo de HPV (N=40)	Mutado n (%)	Selvagem n (%)		Mutado n (%)	Selvagem n (%)	
Alto risco	12 (75 %)	12 (80%)	P=0.739	2 (50%)	6 (85,7%)	P=0.201
Baixo risco	4 (25%)	3 (20 %)		2 (50 %)	1 (14,3%)	

A figura 11 demonstra análise de sobrevida livre de doença dos pacientes com CaPe em relação a presença ou ausência de HPV, observa-se que não houve associação (log-rank $p = 0.66$).

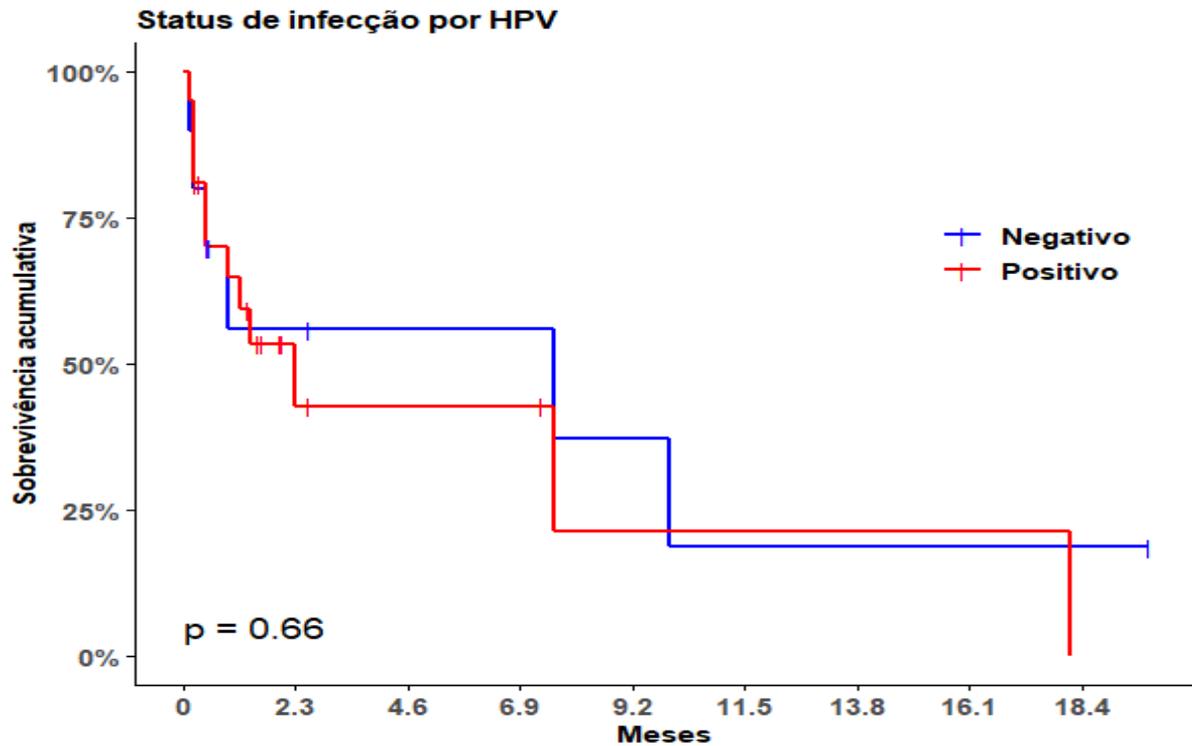


Figura 11. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou ausência de HPV (log-rank $p = 0.66$). Fonte: autora (2025).

4.4 Perfil de expressão gênica do gene *NOTCH1* nos tumores de pênis

A Figura 12 apresenta a expressão gênica de *NOTCH1* nos tecidos de tumor primário e margem. Utilizando o teste t de Student, observou-se que a média da expressão de *NOTCH1* no tumor primário foi de 2,8, enquanto na margem (tecido saudável) foi de 5,1 ($p = 0,0006$), indicando uma diferença estatisticamente significativa entre os dois tecidos. A expressão de *NOTCH1* entre o tecido de metástase linfonodal e a margem também foi avaliada. A média da expressão gênica na metástase foi de 2,84, enquanto na margem foi de 5,52, com valor de $p = 0,008$, também demonstrando diferença estatisticamente significativa. Também comparamos a expressão de *NOTCH1* entre o tumor primário e a metástase. Embora a mediana tenha sido de 2,0 no tumor primário e 1,0 na metástase, essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0,4207$), conforme análise pelo teste de Mann-Whitney.

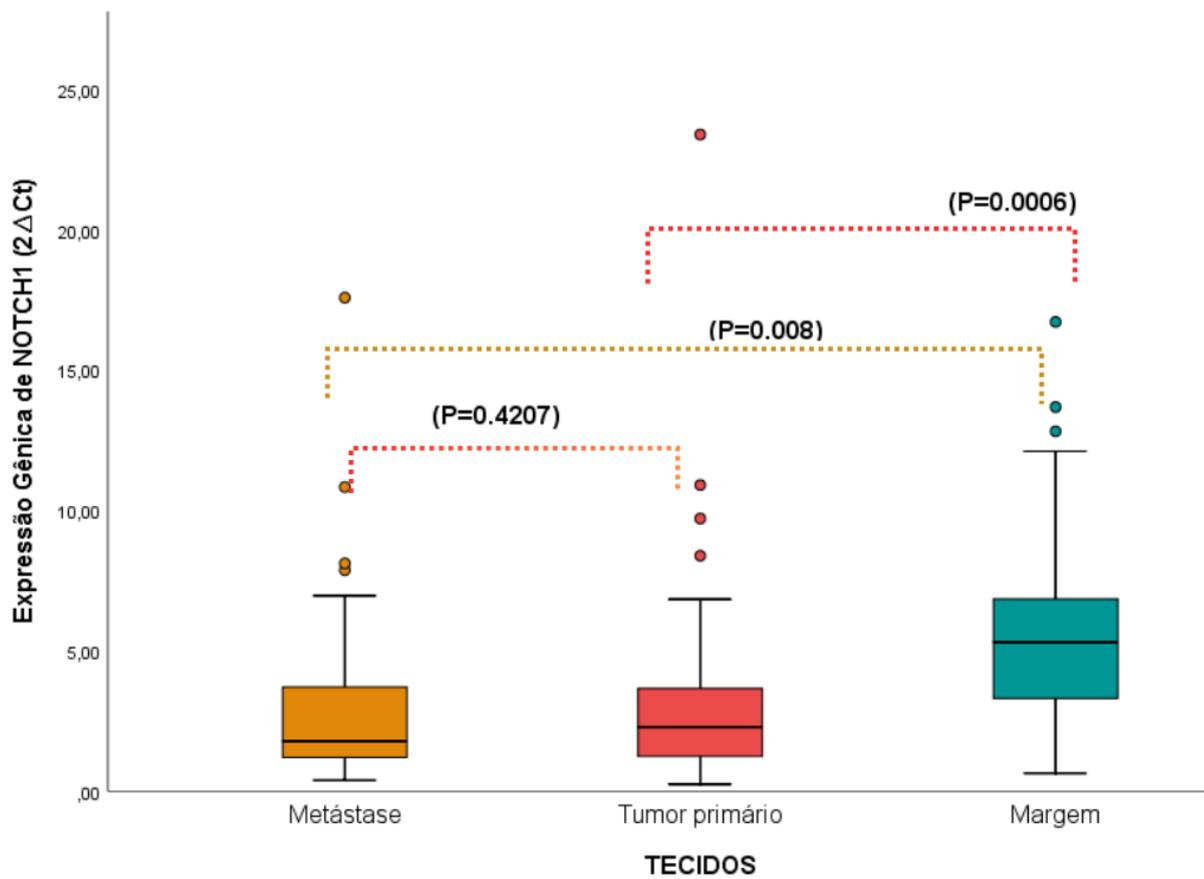


Figura 12. Expressão gênica de *NOTCH1* nos tecidos de tumor primário e metástase linfonodal em relação à margem e tumor primário em comparação com metástase linfonodal. Fonte: autora (2025). Legenda: linha tracejada na cor vermelha=comparação de tumor x margem; linha tracejada laranja=comparação de metástase x margem; linha tracejada de cor mista vermelho e laranja=comparação de tumor x metástase.

A figura 13 apresenta a distribuição da expressão gênica de *NOTCH1* em relação ao número de cópias gênicas de *NOTCH1*, dividido em normal aqueles que apresentaram apenas 2 cópias do gene, ganho aqueles que apresentaram >2 do gene, e perda os que apresentaram <2 cópias de *NOTCH1*. Foi realizado o teste T student para observar a associação, no entanto neste trabalho, não apresentou uma diferença estatisticamente significativa (p-valor =0.324). Apesar de não apresentar uma diferença estatisticamente significativa, observamos que a média de expressão do gene foi maior naqueles que tiveram ganho no número de cópias, e menor naqueles que tiveram perda no número de cópias do gene.

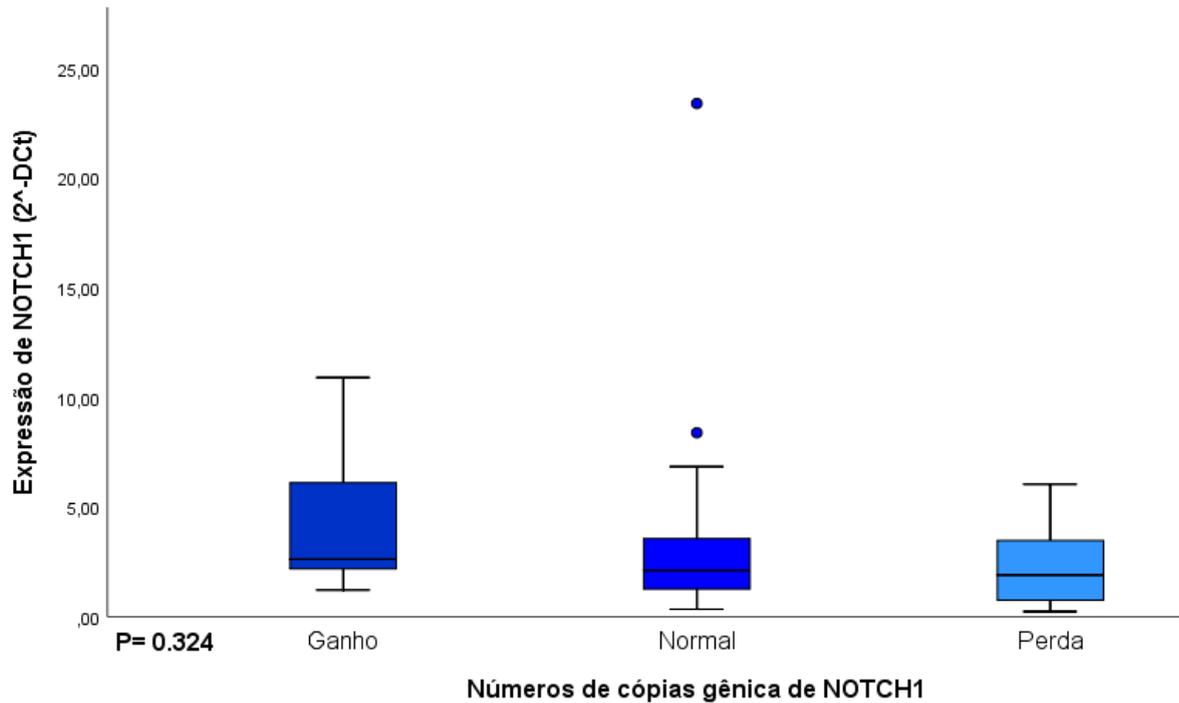


Figura 13. Expressão gênica de *NOTCH1* em relação ao números de cópias gênicas de *NOTCH1*. Fonte: autora (2025).

A figura 14 apresenta a análise de sobrevida livre de doença de acordo com a expressão relativa do gene *NOTCH1* em tumores de pênis (log-rank $p = 0.03725$).

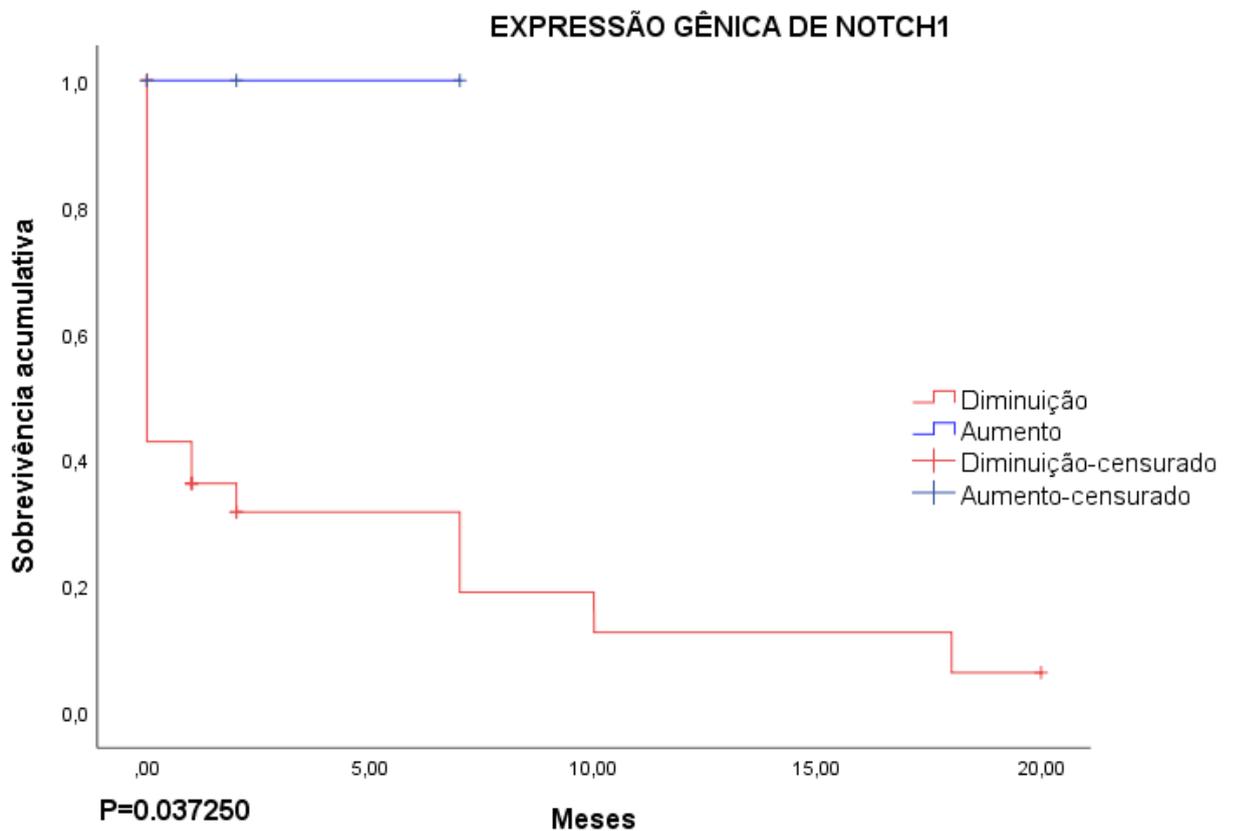


Figura 14. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com a expressão relativa do gene *NOTCH1* (log-rank $p = 0.03725$). Fonte: autora (2025).

Na tabela 9 apresenta comparações de médias da expressão relativa do gene *NOTCH1* com o perfil sociodemográfico, clínico-histopatológico e molecular dos casos de tumores primários e metástase linfonodal.

Tabela 9 - Expressão gênica de *NOTCH1* no tecido de tumor primário e metástase com o perfil sociodemográfico/clínico-histopatológico e molecular.

Variável	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Números de cópias gênica				
Normal=2	3.32 ±4.37		2.96 ± 4.30	
Perda=<2	2.24 ±1.70	P=0.324	2.25 ± 1.22	P=0.580
Ganho=>2	4.41 ±3.34		4.73 ± 4.39	
Detecção de HPV	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Positivo	3.28 ± 4.21	P=.0994	2.44 ± 2.14	P=0.084
Negativo	3.27 ± 2.29		5.32 ± 5.77	
Genótipo de HPV	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Alto	2.39 ± 1.66	P=0.070	2.20 ± 1.92	P=0.497
Baixo	6.44 ± 2.69		3.32 ± 4.00	
Tabagismo	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Refere	2.81 ± 2.14	P=0.449	2.60 ± 2.18	P=0.523
Nega	3.59 ±2.69		3.70 ± 4.74	
Início dos sintomas	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
0 - 12 meses	2.67 ± 2.08	P=0.325	3.81 ± 4.46	P=0.793
12 - 24 meses	4.40 ± 6.28		4.34 ± 5.64	
> 24 meses	4.08 ± 2.90		2.35 ± 1.13	

Características do prepúcio	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Fimótico	2.42 ± 1.46		2.64 ± 2.83	
Circuncisão	4.62 ± 2.77	P=0.126	2.85 ± 2.76	P=0.180
Longo	5.00 ± 7.02		5.50 ± 8.07	

Topografia da lesão	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Glande	3.99 ± 5.45		3.06 ± 2.91	
Glande e prepúcio	2.53 ± 1.41	P=0.519	2.26 ± 0.52	P=0.592
Glande, prepúcio e corpo	3.04 ± 2.12		4.37 ± 5.43	

Característica da lesão	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Ulcerada	3.78 ± 6.27		2.35 ± 1.02	
Úlcero-vegetante	3.23 ± 2.38	P=0.868	4.08 ± 3.65	P=0.344
Vegetante/ Verrucosa	3.00 ± 2.83		1.59 ± 0.65	

Subtipo histológico	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
Associados ao HPV	4.14 ± 4.95		4.50 ± 5.26	
Não associados ao HPV	2.66 ± 2.09	P=0.327	2.90 ± 3.12	P=0.345

Grau de diferenciação	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value
G2	3.09 ± 1.49		2.41 ± 0.32	
G3	3.35 ± 4.10	P=0.821	3.57 ± 4.15	P=0.703

Invasão vascular sanguínea	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)		Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	
	Média ±dp	p-value	Média ±dp	p-value

Presente	3.15 ± 2.46	P=0.983	3.34 ± 3.15	P=0.808
Ausente	3.13 ± 3.93		3.77 ± 5.63	
Invasão vascular linfática	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Presente	3.08 ± 2.75	P=0.792	3.02 ± 2.77	P=0.526
Ausente	3.36 ± 3.93		4.06 ± 5.25	
Invasão perineural	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Presente	3.07 ± 2.75	P=0.703	3.08 ± 2.98	P=0.334
Ausente	3.45 ± 4.23		5.05 ± 7.04	
Infiltrado linfocitário	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Presente	3.33 ± 3.66	P=0.610	3.46 ± 4.07	P=0.898
Ausente	1.43 ±		4.00 ±	
Coilocitose	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Presente	3.73 ± 4.22	P=0.206	3.47 ± 4.19	P=0.992
Ausente	2.43 ± 1.79		3.49 ± 3.81	
Estadiamento patológico	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
pT1	4.84 ± 7.04	P=0.400	2.41 ± 0.32	P=0.304
pT2	2.97 ± 2.26		6.96 ± 9.19	
pT3-pT4	3.03 ± 2.74		3.13 ± 3.04	
Estadiamento Clínico	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
I	4.86 ± 7.54	P=0.413	1.20 ±	P=0.768

II	3.12 ± 2.58		3.93 ± 4.78	
III-IV	2.77 ± 2.34		3.13 ± 3.14	
Transformação sarcomatoide	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Presente	1.83 ± 1.10	P=0.011	1.68 ± 0.98	P=0.006
Ausente	4.12 ± 4.24		6.23 ± 5.19	
Corpo esponjoso	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Comprometido	2.94 ± 2.51	P=0.056	3.68 ± 4.22	P=0.682
Livre	5.78 ± 7.82		2.41 ± 0.32	
Albugínea	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Comprometido	3.01 ± 2.64	P=0.494	3.16 ± 3.05	P=0.324
Livre	3.73 ± 4.83		6.05 ± 7.70	
Corpo cavernoso	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Comprometido	2.90 ± 2.32	P=0.434	2.88 ± 1.72	P=0.085
Livre	3.69 ± 4.63		6.46 ± 6.73	
Uretra	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Comprometido	2.97 ± 2.74	P=0.422	3.61 ± 4.27	P=0.940
Livre	3.79 ± 4.67		3.46 ± 3.63	
Extensão extranodal	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Metástase Linfonodal (N=25)	p-value
	Média ±dp		Média ±dp	
Presente	2.54 ± 1.78	P=0.342	2.63 ± 2.56	P=0.796
Ausente	3.54 ± 4.33		3.02 ± 3.35	
Status geral	Expressão gênica de <i>NOTCH1</i> Tumor primário (N=64)	p-value		

Com metástase	2.87 ± 2.42	P=0.391
Sem metástase	3.71 ± 4.54	

Legenda: **dp**= desvio padrão

A figura 15 reforça a relação da sobrevida livre de doença de pacientes com CaPe de acordo com a presença ou ausência de transformação sarcomatoide nos tumores de pênis (log-rank $p = 0,000013$). E observamos que aqueles que tiveram a presença de transformação sarcomatoide tiveram uma pior sobrevida livre de doença em relação aqueles que não apresentaram essa transformação.

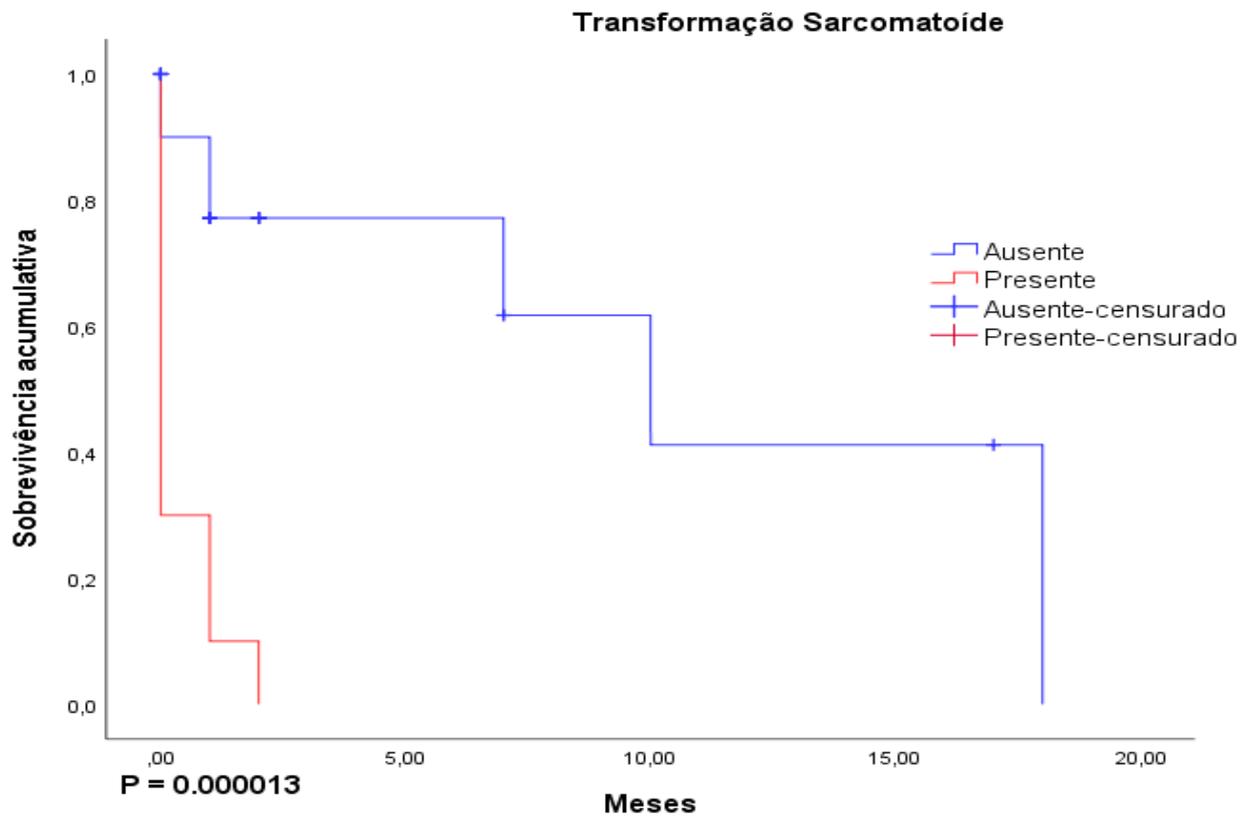


Figura 15. Análise de sobrevida livre de doença de acordo com a presença ou ausência de transformação sarcomatoide no tumores de pênis (log-rank $p = 0,000013$). Fonte: autora (2025).

5 DISCUSSÃO

Neste estudo foram avaliados 64 casos de tumores de pênis, sendo 30 com metástase e 34 sem metástase linfonodal. Além do tumor primário, o tecido de metástase linfonodal neste estudo também foi analisado quanto ao número de cópias e expressão gênica de *NOTCH1*. Nossa população de estudo é do estado do Maranhão, nordeste do Brasil, onde a incidência de câncer de pênis é a mais alta do mundo (Coelho et al.,2018). Estes participantes

foram recrutados de três principais hospitais de São Luís- MA, nos quais atendem pacientes de todo o estado do Maranhão.

O perfil clínico e histopatológico desses pacientes, apresentou-se semelhante ao perfil demonstrado em estudos anteriormente realizados no Maranhão (Vieira *et al.*, 2020). Sendo observado neste estudo que a maioria dos casos com tumores de pênis, tanto o grupo com metástase e sem metástase possuíam idade acima de 60 anos, tinham nenhuma escolaridade ou fundamental incompleto em ambos os grupos, e em 73,5% dos casos sem metástase eram da zona rural, no entanto, quando observamos o grupo com metástase em sua maioria (53,3%) eram pessoas da zona urbana, porém isso pode se dar porque em diversos casos os pacientes vêm dos municípios, mas no momento de informar o endereço de residência, muitos informam o endereço onde se encontra na hospedado na capital (São Luís) invés do seu endereço de moradia, isso pode ser por pensamentos de que tragam alguma facilidade de acesso ao atendimento. Quanto à ocupação, a maior parte eram lavradores ou ex-lavradores, recebiam <1,00 salário mínimo/mês, o que condiz com os perfis anteriores que vêm caracterizando esses indivíduos como pessoas de baixa renda e baixa escolaridade em sua maioria, o que está relacionado principalmente com a falta de conhecimento e acesso à informações influenciando no desenvolvimento do CaPe (Vieira *et al.*, 2020; Teixeira-Junior *et al.*, 2022).

Eram tabagistas e etilistas a maior parte dos casos, estes são fatores de risco bem estabelecidos para o desenvolvimento de CaPe, devido a exposição ao tabaco e consumo excessivo de álcool como já observado nos estudos (Garcia *et al.*, 2021; Hensley *et al.*, 2021). Referiram higiene pobre 26,7% dos casos com metástase e 32,4% dos casos sem metástase, os estudos já demonstraram que a falta de higiene ou a higiene inadequada provoca o acúmulo de substâncias químicas e aumento de microrganismos na região genital estando associado ao aumento de casos de CaPe, e demonstram que homens que não pratica uma higiene adequada tem risco maior de desenvolver esta doença (Bologna *et al.*, 2024; Larsson *et al.*, 2020; Rumgay *et al.*, 2021). A presença de fimose foi de 40% nos casos com metástase e 38,2% nos sem metástase. A correlação entre fimose e CaPe foi realizada pela primeira vez em Wolbarst em 1932, no qual ele observou que nenhum dos pacientes eram judeus, apesar de 3% da população ser judaica, é visto na cultura dos judeus a realização da circuncisão neonatal como prática comum e a incidência de CaPe nos judeus é baixa devido a prática frequente da circuncisão neonatal, hoje observamos essa prática como uma medida preventiva para o

desenvolvimento de CaPe, porque facilita e permite higienização adequada do pênis, evitando assim acúmulo de esmegma por causa da dificuldade de retração do pênis pela fimose.

Zoofilia é um achado interessante, apesar de não ter sido a maioria dos nossos casos a referir, vimos que 20% dos casos com metástase e 41,2% dos casos sem metástase referiram zoofilia, essa negação pela maioria muitas vezes pode ser entendida pela vergonha e timidez. É observado através de relatos dos pacientes que segundo eles é uma prática comum a relação sexual com animais principalmente por aqueles pacientes de zona rural, segundo o estudo de Zequi (2012) que também observou que dos indivíduos que praticavam a zoofilia 44,9% tinham CaPe. E nesse mesmo estudo eles concluíram que homens que praticam zoofilia têm duas vezes mais chances de desenvolver câncer de pênis. Eles acreditam que os microtraumas gerados no pênis e o contato com secreções de animais sejam os fatores causais, consideramos assim um fator de risco.

Em relação à topografia da lesão foi nesses casos principalmente na glândula no grupo com metástase (40%) e na glândula e prepúcio nos casos sem metástase (41,2%), estes resultados são semelhantes aos que foram vistos no estudo de Teixeira-Júnior e colaboradores (2022), que observou que maioria dos pacientes com CaPe tinham lesões localizadas na glândula em 91,9% dos casos, assim como no estudo de Coelho e seus colaboradores (2018) que observou em sua maioria lesão na glândula em 27,3% na glândula e prepúcio dos pacientes, outros estudos relatam essas regiões como principais sítios de origem de lesões (Thumma *et al.*, 2024). As lesões eram úlceras vegetantes em ambos os grupos com e sem metástase (43,3% e 41,2%) corroborando com achados de outros estudos em que se observou aspecto ulcerado em 30,8%, ou úlcera-vegetante em 25,8% dos pacientes com CaPe, que são considerados lesões agressiva de mau prognóstico.

Todos os casos deste estudo eram carcinoma de células escamosas, com o subtipo usual (subtipo não associado ao HPV) apresentando uma frequência de 66,6% e 52,9% no grupo com e sem metástase respectivamente. Eram tumores pouco diferenciados classificados com grau de diferenciação G3 em 90% dos pacientes com metástase e em 61,8% dos pacientes sem metástase, sendo diferente dos resultados visto em outros estudos como de Silva e seus colaboradores de 2023 que observou em seu trabalho que 80,9% dos tumores tinham grau histológico G2. Enquanto neste estudo observou um grau histológico maior e que estão associados com prognóstico desfavorável, em comparação com os graus de diferenciação mais baixos (G1 e G2) (Horenblas *et al.*, 2018; Pizzocaro *et al.*, 2019).

Acreditamos que esse grau de diferenciação avançado se dar pelo fato da maioria dos casos serem pacientes que já chegam em estágios bem avançados, devido a demora na busca de atendimento seja por estigma, vergonha e falta de informação principalmente, além da falta de acesso à saúde em sua própria localidade, tendo que se deslocar para fora de sua localidade o que atrasa o diagnóstico e favorece ainda mais a evolução do tumor. Invasão vascular sanguínea foi presente na maioria dos casos com metástase e ausente nos sem metástase, assim como a invasão vascular linfática foi presente na maioria dos casos com metástase e ausente na maioria dos casos sem metástase, a invasão sanguínea e linfática é indicativo de invasão do tumor para vasos sanguíneos ou linfáticos próximo ao tumor e levam a casos de metástase, a invasão sanguínea vascular e linfática estão associadas a pior prognóstico, e a presença dessas invasão são preditivos de metástase e pode exigir um tratamento mais agressivo (Malik *et al.*, 2021; Fankhauser *et al.*, 2022; Zekan *et al.*, 2021).

Houve infiltrado linfocitário em 96,6% dos casos com metástase e 96,9% dos casos sem metástase, o infiltrado cria um ambiente inflamatório que pode está associado a inibição do tumor ou em estímulo ao crescimento, Fridman e colaboradores (2017) realizaram estudos em vários cânceres, porém ainda pouco se sabe o papel do infiltrado inflamatório em CaPe. A coilocitose (achado sugestivo de presença de HPV) foi visto na maioria dos grupos. Foi realizado também a detecção de HPV que neste estudo é feito por três métodos: avaliação da coilocitose, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e avaliação dos subtipos histológicos que são divididos em associado a HPV e não a associados. Observou-se uma alta frequência de HPV nos tumores de pênis sendo observado na totalidade dos casos 62,5% dos casos deste estudo, tanto grupo com e sem metástase apresentou na sua maioria presença de HPV no tumor primário, o genótipo de HPV mais frequente foram os de alto risco, sendo o genótipo 16, 18 e 31, além dos tipos 6 e 11, outras infecções por HPV de baixo risco contribuem para a CaPe em menor grau. A presença do vírus está relacionada a sua capacidade de levar a formação de lesões precursoras como a neoplasia intraepitelial peniana, que pode levar ao carcinoma invasivo (Yu *et al.*, 2019; Olesen *et al.*, 2019; Mannam *et al.*, 2024).

Nos casos com metástase, 66,7% dos pacientes apresentaram estadiamentos pT3 e pT4, indicando tumores mais avançados, com possível invasão linfática e maior propensão a espalharem-se para outras regiões (Khalil *et al.*, 2021; Sali *et al.*, 2023). Já no grupo sem metástase, o estadiamento mais comum foi pT2, sugerindo tumores localizados e menos agressivos, com melhores prognósticos se tratados precocemente. Quanto ao estadiamento

clínico, o estágio II foi o mais prevalente, representando 53,3% dos casos com metástase e 73,5% dos casos sem metástase. Esse estágio corresponde a tumores que invadem tecidos adjacentes, mas sem comprometimento de linfonodos. Esses resultados são consistentes com o estudo de Silva *et al.* (2023), que também observou o estágio II como o mais prevalente no câncer de pênis (CaPe), representando 46,8% dos casos.

Analisamos o número de cópias do gene *NOTCH1* em 64 tumores primários e 27 casos de metástase linfonodal. No total, haviam 30 casos de metástase, porém, 3 casos não puderam ser analisados devido à falta do material no biobanco. Nos tumores primários, observamos que 50,8% dos casos apresentavam apenas 2 cópias do gene, sendo considerados pacientes com *NOTCH1* selvagem (pacientes saudáveis), enquanto 49,2% tinham 1 ou 3 cópias do gene, sendo classificados como pacientes com *NOTCH1* mutado. Nas 27 amostras de metástase linfonodal, 53,9% dos casos eram *NOTCH1* selvagem, e 46,1% tinham 1, 3 ou 4 cópias, sendo que apenas um caso apresentou 4 cópias do gene, o que caracteriza a presença de *NOTCH1* mutado em todos esses 46,1% dos casos. Estes dados colaboram com diversos estudos que vem mostrando o gene *NOTCH1* como um dos genes frequentemente mutados no CaPe, sendo relatado uma possível relação com a progressão do CaPe (Signoretti; Aster, 2018; Cao; Jian *et al.*, 2021), porém isto ainda não é bem compreendido, este é o primeiro trabalho robusto e voltado diretamente para o perfil deste gene no CaPe. Alguns estudos relatam o gene *NOTCH1* dentre vários outros genes citados (Zhang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2019; Pagliaro *et al.*, 2024), mas nenhum estudo atualmente esteve voltado especialmente para entender o perfil deste gene que tanto é citado no CaPe.

Esse estudo observou que o hábito de fumar esteve diretamente associado à maior ocorrência de mutações no gene *NOTCH1*, apresentando p-value=0.010. Os resultados indicaram que os participantes fumantes apresentaram mais mutações no *NOTCH1* em comparação aos não fumantes, sendo que a maioria dos não tabagistas (71%) não apresentou nenhuma alteração no número de cópias gênicas de *NOTCH1*. Essa associação pode estar relacionada ao efeito carcinogênico das substâncias como por exemplo o tabaco presentes no cigarro, que geram estresse oxidativo, modificações na metilação e danos ao DNA, contribuindo para a instabilidade genômica e alterações em genes importantes para a regulação celular (Lushniak *et al.*, 2014; Reitsma *et al.*, 2021), como é o caso do *NOTCH1*. Como este gene está envolvido em vários processos celulares como: proliferação, apoptose e diferenciação celular, pode apresentar algum impacto na progressão tumoral. No trabalho de

Herzog em colaboradores de 2024 relataram que Loci hipermetilados em células epiteliais bucais de fumantes relacionados à sinalização do receptor *NOTCH1* exibiram metilação elevada no tecido canceroso e lesões progressivas de carcinoma de pulmão in situ, e a hipermetilação desses locais previu o desenvolvimento de câncer de pulmão em amostras bucais coletadas de tabagistas até 22 anos antes do diagnóstico, sugerindo um papel potencial na condução da carcinogênese.

Um outro resultado observado neste estudo foi a relação entre o estado do gene *NOTCH1* com extensão extranodal, com uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,048$). A extensão extranodal, que se caracteriza pela disseminação de células cancerígenas para além do linfonodo (Koifman *et al.*, 2022) foi ausente principalmente na maioria dos casos mutados, sugerindo uma possível influência do gene no comportamento invasivo, a depender do tipo de tecido o *NOTCH1* já se mostrou supressor ou oncogene (Baker *et al.*, 2018; Gharaibeh *et al.*, 2020; Tyagi *et al.*, 2020), as mutações pode esta relacionada com efeito inibitório na capacidade invasiva das células, porém, mais estudos são necessárias para uma melhor compressão disto.

O perfil de números de cópias do gene *NOTCH1* foi analisado em tecido de metástase linfonodal de 27 pacientes. Quanto à frequência, observamos que a maior parte dos casos de *NOTCH1* mutado no tecido de metástase, estava entre os pacientes etilistas. No entanto, este estudo não demonstrou uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,73$) com essa variável, nem com as demais avaliadas, como tabagismo, coilocitose, subtipos histológicos, grau de diferenciação e estadiamento do tumor primário. O perfil de números de cópias de *NOTCH1* não parece ter influência no tecido de metástase linfonodal outros métodos devem ser realizados para avaliar se há ou não relação com o gene *NOTCH1*. O mesmo foi observado no estudo de Wu-Chou e seus colaboradores de 2021, observou que a mutação de *NOTCH1* não se correlacionou com o status de metástase loco-regional ($p = 0,098$) ou à distância ($p = 0,301$).

Em relação à sobrevida livre de doença (SLD) com o status de mutação do *NOTCH1*, observamos que, em 2 meses e 3 dias, 50% dos pacientes já apresentavam metástase ou outro evento. A análise de SLD não apresentou diferença estatisticamente significativa (*log-rank* $p = 0,61$) entre o grupo com ganho ou perda de cópias gênicas de *NOTCH1* e o grupo com 2 cópias normais do gene. Em contraste com esses resultados, no estudo de Monteiro e colaboradores (2024), observou-se que a SLD dos pacientes com CaPe que apresentava

mutações no gene *NOTCH1* estava associada com uma pior sobrevida livre de doença. No entanto, notamos que foram utilizados métodos diferentes: no estudo de Monteiro e colaboradores (2024), a mutação foi analisada por sequenciamento de nova geração, permitindo identificar mutações pontuais nas bases nitrogenadas análise esta que ainda iremos fazer, enquanto neste estudo a análise foi focada no números de cópias do gene, e associação feita foi entre o número de cópias gênicas, considerando mutações indivíduos que possuíam mais de 2 cópias do gene *NOTCH1*. Porém, a presença de 2 cópias gênicas não exclui a possibilidade de mutações pontuais a nível de nucleotídeos como deleções, trocas ou inserções de nucleotídeos. Então a nível de números de cópias gênicas não teve associação com a sobrevida livre de doenças de nossos pacientes com CaPe.

A detecção e genótipo de HPV foram avaliados em relação ao estado mutado ou selvagem de *NOTCH1* no tecido de tumor primário. No entanto, não apresentou diferença estaticamente significativa ($p= 0.721$). Além disso, os genótipos classificados em alto risco e baixo risco também não demonstraram diferença estatística ($p=0.739$), assim como na metástase onde também não apresentou associação ($p= 0.201$). Ao analisar a SLD nos casos de CaPe em relação à presença ou ausência de HPV, apesar da alta prevalência de casos positivos, não houve associação significativa da SLD com a infecção por HPV (*log-rank* $p = 0,66$). Esses dados corroboram com o estudo Teixeira-júnior e colaboradores (2022), que analisou pacientes com CaPe no estado do Maranhão e também observou uma alta prevalência de HPV, sem diferença significativa entre os grupos HPV positivo e HPV negativo em relação à SLD (*log-rank* $p = 0,31$).

A expressão gênica de *NOTCH1* no tecido de tumor primário de pênis em comparação com o tecido saudável (margem), apresentou uma associação estatisticamente significativa ($p= 0.0006$). Da mesma maneira, a expressão de *NOTCH1* nos tecidos de metástase linfonodal foi significativamente menor em relação à margem ($p= 0.008$). No entanto, ao comparar tecido de tumor primário com o tecido metastático, não houve diferença estatística ($p=0.4207$). Observamos que essa associação esteve relacionada com uma menor expressão de *NOTCH1* tanto no tumor primário quanto na metástase em relação ao tecido saudável.

No trabalho de Nyman e colaboradores (2018), observaram a via de sinalização Notch 1 inibida em carcinoma de cabeça e pescoço, e puderam observar que mutações que inativam a função de *NOTCH1* resultam na perda da sua sinalização canônica e isto favoreceu a tumorigênese via aumento na expressão nuclear de β -catenina. O *NOTCH1* pode atuar como

um regulador negativo da via Wnt/ β -catenina, inibindo sua ativação. Quando o *NOTCH1* está inativo ou com expressão reduzida entende-se que essa inibição pode ser perdida. Em condições normais, *NOTCH1* ativa genes como *HES1*, que suprime proteínas da via Wnt, porém quando essa repressão não ocorre, a via Wnt ativada permite que a β -catenina se acumule no núcleo e ativa a transcrição de diversos genes envolvidos na proliferação celular, sobrevivência e diferenciação celular como os genes *c-myc* e *cyclin-D1* (Riemer *et al.*, 2017; Ishiguro *et al.*, 2017), dessa maneira promovendo proliferação exacerbada (Moraes, 2020). Entendemos que este pode ser um dos mecanismos de tumorigênese induzido pela inativação da sinalização Notch 1, contribuindo para o desenvolvimento de CaPe. Podemos considerar esta explicação visto que no estudo de Chahoud e colaboradores (2021) no qual fizeram sequenciamento de exoma completo no carcinoma de células escamosas do pênis e revelaram que a maioria da amostras de CaPe apresentou alterações na via de *NOTCH1* (70,6%) sendo comparável ao carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, e afirmaram que o CaPe compartilham semelhança molecular e histológica com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, envolvendo especificamente a via Notch 1.

Ao correlacionar o número de cópias do gene *NOTCH1* com sua expressão, não foi observada uma associação estatisticamente significativa (p-valor = 0,324). No entanto, foi possível identificar que a média de expressão gênica de *NOTCH1* foi menor nos casos com perda no número de cópias gênicas e maior naqueles com ganho de cópias do gene.

Também foi analisada a sobrevida livre de doença desses pacientes em relação à expressão gênica do gene *NOTCH1*. Esta análise revelou um resultado inédito na literatura, sendo a primeira investigação abrangente da expressão desse gene especificamente no CaPe, onde *NOTCH1* é demonstrado como um dos genes mais frequentemente mutados. Observamos que a baixa expressão de *NOTCH1* esteve estatisticamente associada a uma pior sobrevida livre de doença (Log-rank p = 0,03725). Visto que um dos papéis do *NOTCH1* é a regulação da diferenciação celular, a baixa expressão deste gene pode estar possivelmente relacionada à desdiferenciação celular, um fator associado a tumores mais agressivos e com maior chance de recidivas, devido a transição epitélio mesenquimal (Maraver *et al.*, 2015). Em um estudo em que avaliaram a expressão de *NOTCH1* em tecidos tumorais e linhagens celulares de casos com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, foi observado que a alta expressão do gene estava associada a uma melhor sobrevida. Por outro lado, a redução na expressão de *NOTCH1* esteve relacionada a uma menor sobrevida livre de doença

($p = 0,082$) (Wirth *et al.*, 2018).

Quando correlacionado com outras variáveis histológicas. Foi possível observar que a média menor da expressão gênica de *NOTCH1* no tecido tumoral apresentou uma associação estatisticamente significativa ($p = 0,011$) com a presença de transformação sarcomatoide no tumor primário. O mesmo padrão foi observado no tecido de metástase linfonodal, sendo visto que a baixa expressão do gene no tecido de metástase, também esteve relacionada com presença de transformação sarcomatoide identificada no tumor primário, demonstrando uma relação estatisticamente significativa ($p = 0,006$). Sugerindo um possível papel de *NOTCH1* na progressão e invasividade tumoral, a transformação sarcomatoide está associada à formação de tumores mais agressivos, com maior propensão à metástase linfonodal e pior sobrevida, indicando um prognóstico desfavorável (Duarte *et al.*, 2024). Em nosso estudo, também realizamos uma análise de sobrevida livre de doença, vimos que os casos com transformação sarcomatoide apresentaram de fato estatisticamente uma pior Sobrevida livre de doença (*log-rank* $p = 0,000013$). Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos, e relataram que a presença de transformação sarcomatoide está associada a uma pior sobrevida livre de doença (Santos *et al.*, 2021 Bovolim *et al.*, 2017; Pang *et al.*, 2023).

A relação entre a menor expressão gênica de *NOTCH1* e a transformação sarcomatoide também pode ser justificada pelo fato de que essa transformação está frequentemente associada a um aumento nos casos de metástases (Xue *et al.*, 2024). E o processo de metástase pode ocorrer durante a transição epitélio-mesenquimal (EMT), processo celular em que as células epiteliais perdem suas características (adesão, polaridade) e adquire fenótipos mesenquimais (mobilidade e invasão) (Sun *et al.*, 2024). Estudos demonstraram que a expressão de *NOTCH1* está relacionada à regulação da EMT em cânceres escamosos e na manutenção da diferenciação celular, a perda do controle da desdiferenciação favorece a EMT, mediada por outras vias. Embora diversos estudos associam a ativação de *NOTCH1* à indução da EMT, até o momento não há relatos que relacionam a redução de sua expressão à EMT em CaPe, sendo este o primeiro estudo a sugerir essa possível associação.

A via *NOTCH1* pode influenciar a EMT tanto por sua ativação direta, ou indiretamente devido sua inibição ou baixa expressão, já que, como discutido anteriormente, esse gene inibido está relacionado ao aumento da tumorigênese via Wnt/ β -catenina. Seguindo essa linha, um estudo recente sobre câncer colorretal (CCR) observaram que a sinalização frequente da via Wnt/ β -catenina favorece a EMT ao permitir que a β -catenina no núcleo, se

acumule no núcleo e ativa genes associados à invasão e metástase via TCF/LEF (Família de fatores de células T/ intensificadores linfóides). Além disso, o estudo relatou que a via Notch também participa da regulação da EMT, suprimindo a expressão de marcadores epiteliais (como E-caderina) e promovendo a expressão de marcadores mesenquimais (como N-caderina e vimentina), o que resulta na perda da adesão célula-célula e na aquisição de um fenótipo mais invasivo (Sun *et al.*, 2024). Enfatizamos a importância clínica da relação entre a transformação sarcomatoide no CaPe e a expressão do gene *NOTCH1*, visto que esses tumores tendem a ser mais agressivos, com alta taxa metastática e pior prognóstico (Chaux; Cubilla, 2012; Thomas *et al.*, 2021).

5.1 Limitações do estudo

Este estudo apresenta algumas limitações. Muitos dos tumores analisados estavam em estágios avançados, o que dificultou a comparação com casos em estágios iniciais e afetou a significância estatística de algumas variáveis clínicas e patológicas. Além disso, nem todas as análises puderam ser realizadas em todos os 64 casos devido à falta de amostras adequadas ou à qualidade do tecido disponível. Algumas análises complementares, essenciais para confirmar os resultados, ainda não foram conduzidas devido a problemas técnicos, mas estão previstas para etapas futuras da pesquisa.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, neste estudo tivemos dados relevantes para caracterização do perfil do gene *NOTCH1* no CaPe, sendo este estudo o com maior número amostral e diferentes análises foram feitas. Revelamos uma associação do gene *NOTCH1* com o tabagismo no CaPe, visto que o hábito de fumar esteve diretamente associado à maior ocorrência de mutações no número de cópias do gene *NOTCH1* neste carcinoma. Também observado neste trabalho, que extensão extranodal foi ausente principalmente nos pacientes com mutações. Descrevemos também, pela primeira vez, a expressão gênica de *NOTCH1* no CaPe em 64 amostras, e mostramos que foi significativamente menor nos tecidos de tumor primário e metástase linfonodal em comparação ao tecido saudável. Além de que a baixa expressão de *NOTCH1* no tecido de tumor primário e metástase linfonodal esteve relacionada com a presença de transformação sarcomatoide, e com uma pior sobrevida livre de doença (*Log-rank* $p = 0,03725$). Visto uma relação com a tumorigênese de CaPe possivelmente via β -catenina e aumento da transição epitélio mesenquimal, este resultado mostra um potencial de

aplicabilidade do gene *NOTCH1* como biomarcador. No entanto, estudos adicionais são necessários para reforçar estas ideias.

REFERÊNCIAS

- AHMED, Mohamed E. et al. Progress on Management of Penile Cancer in 2020. **Current Treatment Options in Oncology**, v. 22, n. 1, p. 1-2, 2020.
- AKERS, Clare; HOLDEN, Fiona. An overview of the diagnoses and treatments for penile cancer. **British Journal of Nursing**, v. 29, n. 9, p. S6-S14, 2020.
- AKIL, Abdellah et al. Notch Signaling in Vascular Endothelial Cells, Angiogenesis, and Tumor Progression: an update and prospective. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, p. 1-2, 2021.
- BOLOGNA, Eugenio et al. Characteristics, trends, and management of penile cancer in the United States: a population-based study. In: **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, p. 334. e11-334. e18, 2024.
- BOVOLIM, Grazielle et al. Mixed papillary-sarcomatoid carcinoma of the penis: report of an aggressive subtype. **Virchows Archiv**, v. 471, p. 815-818, 2017.
- BROUWER, Oscar R. et al. European Association of Urology-American Society of Clinical Oncology collaborative guideline on penile cancer: 2023 update. **European urology**, v. 83, n. 6, p. 548-560, 2023.
- CAMPOS, Marcos Adriano Garcia et al. Predictive histopathological factors of nodal metastasis in penile cancer. **International braz j urol**, v. 49, n. 5, p. 628-636, 2023.
- CANTO, Luisa Matos et al. Mutational Signature and Integrative Genomic Analysis of Human Papillomavirus-Associated Penile Squamous Cell Carcinomas from Latin American Patients. **Cancers**, v. 14, n. 14, p. 3514, 2022.
- CHAHOUD, Jad et al. Whole-exome Sequencing in Penile Squamous Cell Carcinoma Uncovers Novel Prognostic Categorization and Drug Targets Similar to Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. **Clinical Cancer Research**, v. 27, n. 9, p. 2560-2570, 2021.
- CHAUX, Alcides; CUBILLA, Antonio L. Advances in the pathology of penile carcinomas. **Human pathology**, v. 43, n. 6, p. 771-789, 2012.
- COELHO, Ronald Wagner Pereira et al. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally? **BMC Urology**, v. 18, n. 1, p. 1-1, 2018.
- COMPÉRAT, Eva; MOGUELET, Philippe. Penile carcinomas: a review of the different histological types. **Annales de Pathologie**, v. 42, n. 1, p. 20-30, 2022.
- DE OLIVEIRA, Renato Tavares Vieira et al. Prevenção do câncer de pênis e a valorização da saúde do homem. **Brazilian journal of health review**, v. 3, n. 2, p. 1527-1530, 2020.

- DOYEN, Cecile et al. NOTCH assembles a transcriptional repressive complex containing NuRD and PRC1 to repress genes involved in cell proliferation and differentiation. **bioRxiv**, p. 513549, 2019.
- DUARTE, Wesleyan Everton et al. Cyclin D1 expression in penile cancer. **Oncotarget**, v. 15, p. 302, 2024.
- ENGELSGJERD, J. S.; LAGRANGE, C. A. Penile Cancer.[Updated 2022 Jul 19]. **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.
- FANKHAUSER, Christian D. et al. Lymphovascular and perineural invasion are risk factors for inguinal lymph node metastases in men with T1G2 penile cancer. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 148, n. 9, p. 2231-2234, 2022.
- FERNÁNDEZ-NESTOSA, María José et al. Penile intraepithelial neoplasia: Distribution of subtypes, HPV genotypes and p16INK4a in 84 international cases. **Human Pathology**, v. 131, p. 1-8, 2023.
- FRIDMAN, Wolf H. et al. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 14, n. 12, p. 717-734, 2017.
- GAMBOA-HOIL, Sergio Isidro. Human papillomavirus in men. *Revista Internacional de Andrología*, v. 21, n. 1, p. 100325, 2023.
- GAO, Yuan; BAI, Lunhao; SHANG, Guanning. Notch-1 promotes the malignant progression of osteosarcoma through the activation of cell division cycle 20. **Aging (Albany NY)**, v. 13, n. 2, p. 2668, 2020.
- GARCIA, Lina; REIS, Leonardo Oliveira; GARCÍA-PERDOMO, Herney Andrés. Living in a rural area as a risk factor for worst outcomes in penile cancer. **International braz j urol**, v. 47, n. 6, p. 1259-1263, 2021.
- GHARAIBEH, L. et al. Notch1 in Cancer Therapy: possible clinical implications and challenges. **Molecular Pharmacology**, v. 98, n. 5, p. 559-576, 2020.
- GRILLI, Gianluigi et al. Impact of notch signaling on the prognosis of patients with head and neck squamous cell carcinoma. **Oral Oncology**, v. 110, p. 105003, 2020.
- HAKENBERG, Oliver Walther et al. The diagnosis and treatment of penile cancer. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 115, n. 39, p. 646, 2018.
- HENSLEY, Patrick J. et al. Demographic disparities of penile cancer in Appalachian Kentucky. **The Canadian journal of urology**, v. 28, n. 3, p. 10713, 2021.

HERZOG, Chiara et al. Cigarette smoking and e-cigarette use induce shared DNA methylation changes linked to carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 84, n. 11, p. 1898-1914, 2024.

HORENBLAS, S. et al. Cancer of the penis: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of Oncology**, v. 29, n. Suppl 4, p. iv241-iv245, 2018.

IARC. **Age-standardized incidence rates estimated (World) in 2020, worldwide, all ages**. 2022.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Câncer de pênis**. 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/assuntos/cancer-de-penis>.

KALAFUT, Joanna. et al. Optogenetic control of NOTCH1 signaling. **Cell Communication and Signaling**, v. 20, n. 1, p. 67, 2022.

KATOH, Masuko; KATOH, Masaru. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation. *International journal of molecular medicine*, v. 45, n. 2, p. 279-297, 2020.

KHALIL, Mahmoud I. et al. O que você precisa saber: atualizações no estadiamento do câncer de pênis. **Revista Mundial de Urologia**, v. 39, p. 1413-1419, 2021.

KUASNE, Hellen et al. Penile Cancer-Derived Cells Molecularly Characterized as Models to Guide Targeted Therapies. **Cells**, v. 10, n. 4, p. 814, 2021.

LARSSON, Susanna C. et al. Smoking, alcohol consumption, and cancer: A mendelian randomisation study in UK Biobank and international genetic consortia participants. **PLoS medicine**, v. 17, n. 7, p. e1003178, 2020.

LIVAK, Kenneth J.; SCHMITTGEN, Thomas D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. **methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LUSHNIAK, Boris D. et al. **The health consequences of smoking—50 years of progress: A report of the surgeon general**. 2014.

MALIK, Kanuj. et al. Factors Predicting Nodal Metastasis in Penile Cancer: Analysis from a Tertiary Center. **Urologia Internationalis**, v. 106, n. 7, p. 716-721, 2022.

MANNAM, Gowtam. et al. HPV and Penile Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and

Clinical Insights. **Pathogens**, v. 13, n. 9, p. 809, 2024.

MARAVAR, Antonio *et al.* NOTCH pathway inactivation promotes bladder cancer progression. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 125, n. 2, p. 824-830, 9 jan. 2015. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci78185>.

MELIANTE, Piero Giuseppe *et al.* Molecular markers of occult lymph node metastasis in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) patients. **FRONTIERS IN BIOSCIENCE**, v. 2, n. 30, p. 1-21, 2025.

MONTEIRO, Fernando Sabino Marques *et al.* Molecular characterization of metastatic penile squamous cell carcinoma in developing countries and its impact on clinical outcomes: LACOG 2018 translational study. **The Oncologist**, v. 30, n. 2, p. oya220, 2025.

MORAES, Cassio Dejair Fleming de; DÍAZ, José Andrés Morgado. **Avaliação da interação da via WNT/B-Catenina e da sinalização de IGF1 na progressão do câncer colorretal**. 2020.

NATSUIZAKA, Mitsuteru *et al.* Interplay between Notch1 and Notch3 promotes EMT and tumor initiation in squamous cell carcinoma. **Nature communications**, v. 8, n. 1, p. 1758, 2017.

NYMAN, Patrick E. *et al.* Loss of Function of Canonical Notch Signaling Drives Head and Neck Carcinogenesis. **Clinical Cancer Research**, [S.L.], v. 24, n. 24, p. 6308-6318, 13 dez. 2018. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-17-3535>.

NCBI GENE. **NOTCH1 gene**. 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4851>.

OLESEN, Tina Bech *et al.* Prevalence of human papillomavirus DNA and p16INK4a in penile cancer and penile intraepithelial neoplasia: a systematic review and meta-analysis. **The lancet oncology**, v. 20, n. 1, p. 145-158, 2019.

OLIVEIRA, Renato Tavares Vieira *et al.* Prevenção do câncer de pênis e a valorização da saúde do homem. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 1527-1530, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv3n2-016>.

PAGLIARO, Lance C. *et al.* Therapeutic targets in advanced penile cancer: from bench to bedside. **Cancers**, v. 16, n. 11, p. 2086, 2024.

PANCEWICZ, Joanna; NIKLINSKA, Wiesława; ELJASZEWICZ, Andrzej. Anti-Jagged-1 immunotherapy in cancer. **Advances in Medical Sciences**, v. 67, n. 2, p. 196-202, 2022.

PANG, Karl H. *et al.* Outcomes of penile sarcomatoid squamous cell carcinoma from a single tertiary referral centre: a matched cohort study. **BJU international**, v. 132, n. 3, p. 337-342,

2023.

PARK, Hyung Seok et al. Notch1 receptor as a marker of lymph node metastases in papillary thyroid cancer. **Cancer Science**, v. 103, n. 2, p. 305-309, 2012.

PEYRAUD, Florent. et al. Current management and future perspectives of penile cancer: An updated review. **Cancer Treatment Reviews**, v. 90, p. 102087, 2020.

PIZZOCARO, G. et al. Penile cancer: a review of the literature. **Urology**, v. 129, p. 105-113, 2019.

POZZO, Federico et al. Multiple mechanisms of NOTCH1 activation in chronic lymphocytic leukemia: NOTCH1 mutations and beyond. **Cancers**, v. 14, n. 12, p. 2997, 2022.

REGO, Carlos Eduardo Macedo et al. Aspectos clínicos, histopatológicos e prognósticos do câncer de pênis em pacientes de uma instituição pública de tratamento, em Goiânia, Goiás. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 23, n. 9, p. e13764-e13764, 2023.

REITSMA, Marissa B. et al. Spatial, temporal, and demographic patterns in prevalence of smoking tobacco use and attributable disease burden in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 397, n. 10292, p. 2337-2360, 2021.

ROSATI, Emanuela et al. NOTCH1 aberrations in chronic lymphocytic leukemia. **Frontiers in oncology**, v. 8, p. 229, 2018.

RUMGAY, Harriet et al. Global burden of cancer in 2020 attributable to alcohol consumption: a population-based study. **The Lancet Oncology**, v. 22, n. 8, p. 1071-1080, 2021.

SALI, Akash P et al. Updates in staging of penile cancer: the evolution, nuances, and issues. **Human Pathology**, v. 133, p. 76-86, 2023.

SCHLENKER, Boris; SCHNEEDE, Peter. The role of human papilloma virus in penile cancer prevention and new therapeutic agents. **European urology focus**, v. 5, n. 1, p. 42-45, 2019.

SHARMA, P. K. et al. Association of human papillomavirus in penile cancer: a single-center analysis. **Indian Journal of Urology**, v. 38, n. 3, p. 210-215, 2022

SIGNORETTI, Sabina; ASTER, Jon C. Metastatic penile carcinoma associated with convergent gain-of-function mutations in NOTCH1. **Human Pathology: Case Reports**, v. 11, p. 19-20, 2018.

SILVA, Thais Cristina Loyola da et al. Epidemiological study of penile cancer in a

northeastern state-Brazil. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 50, p. e20233586, 2023.

SILVA, Thais Cristina Loyola da et al. Epidemiological study of penile cancer in a northeastern state-Brazil. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 50, p. e20233586, 2023.

SOARES, Andrey et al. Penile cancer: a Brazilian consensus statement for low-and middle-income countries. **Journal of cancer research and clinical oncology**, v. 146, p. 3281-3296, 2020.

SORRENTINO, Claudia; CUNEO, Antonio; ROTI, Giovanni. Therapeutic targeting of notch signaling pathway in hematological malignancies. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, v. 11, n. 1, p. e2019037, 2019.

SUN, Luanbiao et al. Wnt/ β -catenin signalling, epithelial-mesenchymal transition and crosslink signalling in colorectal cancer cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 175, p. 116685, 2024.

TEIXEIRA JÚNIOR, Antonio Augusto Lima et al. A comprehensive analysis of penile cancer in the region with the highest worldwide incidence reveals new insights into the disease. **BMC cancer**, v. 22, n. 1, p. 1063, 2022.

THOMAS, Anita et al. Penile cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1-1, 2021.

THUMMA, N. et al. A comprehensive review of current knowledge on penile squamous cell carcinoma. **Frontiers in Oncology**, v. 14, 2024.

VIEIRA, C. B. et al. Profile of patients with penile cancer in the region with the highest global incidence. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 2965, 2020.

VIMALRAJ, Selvaraj. A concise review of VEGF, PDGF, FGF, Notch, angiopoietin, and HGF signalling in tumor angiogenesis with a focus on alternative approaches and future directions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 221, p. 1428-1438, 2022.

WANG, Yonghua et al. Mutational landscape of penile squamous cell carcinoma in a Chinese population. **International Journal of Cancer**, v. 145, n. 5, p. 1280-1289, 2019.

WHITE, Matthew J. et al. Notch1 cortical signaling regulates epithelial architecture and cell-cell adhesion. **Journal of Cell Biology**, v. 222, n. 12, 2023.

WOLBARST, Abraham L. **Circumcision and penile cancer**. 1932.

WU-CHOU, Yah-Huei et al. NOTCH1 mutations as prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. **Pathology-Research and Practice**, v. 223, p. 153474, 2021.

YU, Alice et al. The evolving landscape of viral, immune, and molecular biomarkers in penile cancer. **Urologic Clinics**, v. 50, n. 1, p. 145-150, 2023.

YU, Yong-Bo et al. The relationship between human papillomavirus and penile cancer over the past decade: a systematic review and meta-analysis. **Asian journal of andrology**, v. 21, n. 4, p. 375-380, 2019.

SANTOS, Joana dos et al. Squamous cell carcinoma with sarcomatous transformation of the penis. **Autopsy and Case Reports**, v. 11, p. e2021303, 2021.

SONG, Xiaomeng et al. Common and complex Notch1 mutations in Chinese oral squamous cell carcinoma. **Clinical cancer research**, v. 20, n. 3, p. 701-710, 2014.

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

WIRTH, Markus et al. High NOTCH1 mRNA expression is associated with better survival in HNSCC. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 830, 2018.

XUE, Wenhua et al. Wnt/ β -catenin-driven EMT regulation in human cancers. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 81, n. 1, p. 79, 2024.

ZEKAN, David S. et al. Prognostic predictors of lymph node metastasis in penile cancer: a systematic review. **International braz j urol**, v. 47, p. 943-956, 2021.

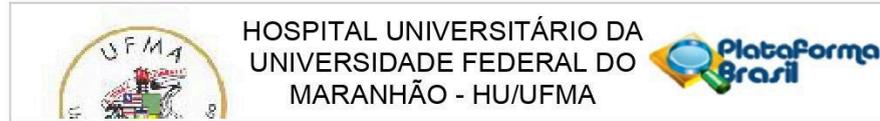
ZEQUI, Stênio de Cássio et al. Sex with animals (SWA): behavioral characteristics and possible association with penile cancer. A multicenter study. **The journal of sexual medicine**, v. 9, n. 7, p. 1860-1867, 2012.

ZHANG, Min et al. Does Notch play a tumor suppressor role across diverse squamous cell carcinomas?. **Cancer medicine**, v. 5, n. 8, p. 2048-2060, 2016.

ANEXOS
ANEXO A- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO SUBMETIDO
 REVISTA= Experimental and Molecular Pathology

Experimental and Molecular Pathology NOTCH1 GENE AND ITS SIGNALING PATHWAY IN THE ONCOGENESIS AND PROGRESSION OF CARCINOMAS: AN INTEGRATIVE LITERATURE REVIEW --Manuscript Draft--	
Manuscript Number:	EMP-D-25-00381
Article Type:	Review Article
Keywords:	NOTCH1; Signaling pathway; Carcinogenesis; Tumor progression; Oncogenic pathway
Corresponding Author:	Gyl Eanes Barros Silva HU-UFMA - Hospital Universitário da UFMA BRAZIL
First Author:	Leticia Milene Silva da Silva
Order of Authors:	Leticia Milene Silva da Silva Ana Gabrielly de Melo Matos Kwang Il Marciaga Teófilo João Victor Carvalho Denner Rodrigo Diniz Duarte Bruna Larissa Nólêto Sousa Juliana Martins da Guia Ribeiro do Carmo Joyce Santos Lages Rita da Graça Carvalhal Frazão Corrêa Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior Jaqueline Diniz Pinho Gyl Eanes Barros Silva
Abstract:	The NOTCH1 gene belongs to a gene family that encodes transmembrane receptors involved in transcriptional regulation, differentiation, angiogenesis, apoptosis, and cell proliferation. Mutations in this gene have been frequently reported and are associated with various types of cancer, including carcinomas. In this context, the aim of this study was to describe the role of the NOTCH1 gene and its signaling pathway in different carcinomas. This study was conducted through a literature review, selecting articles published between 2017 and 2023 in Portuguese and English, from the following databases: PubMed, SciELO, Google Scholar, and the Virtual Health Library (VHL), using the descriptors: Receptor, notch1. Most of the studies included in this review reported that the NOTCH1 gene and its signaling pathway were mutated, either overexpressed or inhibited. Among the selected papers, a total of 14 (66.6%) studies suggested an oncogenic role for NOTCH1 and its signaling pathway. Conversely, 5 (23.8%) studies suggested a tumor suppressor role, and in most of these cases, the Notch1 signaling pathway was inhibited. Overall, the NOTCH1 gene was considered an oncogene in the majority of studies reviewed. Furthermore, NOTCH1 activation appears to favor tumor metastasis, as observed in penile cancer (CaPe). Thus, inhibition of the Notch1 signaling pathway is a potential therapeutic option in tumors with NOTCH1 gain-of-function mutations.
Opposed Reviewers:	

ANEXO B – PARECER DE APROVAÇÃO EM COMITÊ DE ÉTICA (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: PERFIL GENÔMICO E METAGENÔMICO DO CÂNCER DE PÊNIS NO MARANHÃO: IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES DE PROGNÓSTICO

Pesquisador: Gyl Eanes Barros Silva

Área Temática: Genética Humana:

(Haverá envio para o exterior de material genético ou qualquer material biológico humano para obtenção de material genético, salvo nos casos em que houver cooperação com o Governo Brasileiro;);

Versão: 3

CAAE: 57747422.8.0000.5086

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

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.743.483

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2286816_E1.pdf. 15/02/2024.

INTRODUÇÃO:

O câncer de pênis é uma neoplasia rara em países desenvolvidos, principalmente da América do Norte e Europa Ocidental, sendo mais incidente em países em desenvolvimento, principalmente na Ásia, África e América do Sul (FAVORITO et al., 2008; CHRISTODOULIDOU et al., 2015). Na América do Sul, o Brasil representa a localidade com maior incidência da doença, com índices oscilando entre 2,9 e 6,8 afetados a cada 100.000 homens (FAVORITO et al., 2008). Essa neoplasia maligna representa cerca de 2,1% de todos os tumores que afetam os homens no país, sendo mais comumente relatado em estados da região Norte e Nordeste (53,2%), regiões com menores índices socioeconômicos (INCA). Em um estudo realizado pela Sociedade Brasileira de Urologia (SBU), em 2007, o estado do Maranhão concentrou 10,66%

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227 4º andar
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **Fax:** (98)2109-1002 **E-mail:** cep@huufma.br

PRODUÇÕES CIENTÍFICAS (2023-2025)

PREMIAÇÃO

Premiação: 3° Lugar no **PRÊMIO CANTANHEDE MOREIRA**

Evento: Congresso Maranhense de Urologia/ I jornada Maranhense de cirurgia Robótica/ I jornada Latino-americana de câncer de Pênis

Ano: 2023

1º CMU
 CONGRESSO MARANHENSE DE UROLOGIA
 I Jornada Maranhense de Cirurgia Robótica
 I Jornada Latino-americana de Câncer de Pênis

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho com o tema **ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DO GENE NOTCH1 EM PACIENTES COM CÂNCER DE PÊNIS NO ESTADO DO MARANHÃO**, autores: Leticia Milene Silva da Silva, Antonio Augusto Lima Teixeira Junior, Jaqueline Diniz Pinho, Gyl Eanes Barros Silva, ficou em 3° lugar no **PRÊMIO CANTANHEDE MOREIRA** sobre forma de tema livre apresentado no **I CONGRESSO MARANHENSE DE UROLOGIA, I Jornada Maranhense de Cirurgia Robótica e I Jornada Latino-americana de Câncer de Pênis**.

Sérgio Moura
 Sérgio Moura
 Presidente do Congresso

Roclides Lima
 Roclides Lima
 Presidente da Jornada Robótica

José Calixto
 José Calixto
 Presidente da Jornada Câncer de Pênis

Realização

 SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA
 MARANHÃO

Organização

 Realiza
 Um novo conceito em eventos

CAPÍTULOS DE LIVRO

47

ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS NAS ANÁLISES DE MATERIAIS BIOLÓGICOS: URINÁLISE

Leticia Milene Silva da Silva

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (LIME-HUUFMA)

Renata Medeiros Lobo Muller

Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

João Victor Carvalho

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (LIME-HUUFMA)

Denner Rodrigo Diniz Duarte

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (LIME-HUUFMA)

Marta Regina de Castro Belfort

Universidade Federal do Maranhão (PPGCS)

Juliana Martins da Guia Ribeiro do Carmo

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (LIME-HUUFMA)

Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior

Universidade de São Paulo (USP)

Jaqueline Diniz Pinho

Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)

Gyl Eanes Barros Silva

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (LIME-HUUFMA)

FREQUÊNCIA DE ANOMALIAS CONGÊNITAS NO ESTADO DO MARANHÃO NOS ANOS DE 2012 A 2022

OPEN ACCESS



CODE: 240917619



DOWNLOADS 18

VIEWS 196

Título

FREQUÊNCIA DE ANOMALIAS CONGÊNITAS NO ESTADO DO MARANHÃO NOS ANOS DE 2012 A 2022

Autores:

Antonia Cláudia Da Conceição Palmeira

Igor Da Cruz Pinheiro

Francisco Das Chagas Da Silva Evangelista

Maiza De Souza Palmeira

Bruno Ferreira Sousa

Júlio César Carvalho De Oliveira

Leticia Milene Silva Da Silva

Rakel Gomes Mendonça

Matheus Silva Alves

Jaqueline Diniz Pinho

DOI



10.37885/240917619

Publicado em

30/09/2024



TRABALHO APRESENTADOS E PUBLICADOS EM ANAIS

Evento: II Congresso Internacional de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma / X Congresso Nacional de Saúde e Bem-estar

Trabalho intitulado: AVALIAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO EM PACIENTES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DO PÊNIS.

Ano: 2023

Verifique o código de autenticidade 28563901.0546432.389669.8.869713536090727819918 em <https://www.even3.com.br/documentos>



UNIVERSIDADE CEUMA CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **AVALIAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO EM PACIENTES COM CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DO PÊNIS**, de autoria de João Victor Carvalho, Leticia Milene silva da silva, Juliana Martins da Guia Ribeiro do Carmo, Denner Rodrigo Diniz Duarte, Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior, Gyl Eanes Barros Silva e Liseana de Oliveira Barbosa, foi submetido, aprovado e apresentado no **II CONGRESSO INTERNACIONAL DE SAÚDE E BEM-ESTAR E X CONGRESSO DE SAÚDE E BEM-ESTAR DA UNIVERSIDADE CEUMA**, realizado de 18/10/2023 a 20/10/2023, no estado do Maranhão, contabilizando carga horária de 4 horas.

São Luís, 20 de outubro de 2023.


Prof. Ma. Fabiana Mendes Lobato
Pró-Reitora de Graduação e Extensão
Universidade CEUMA

Credenciada pela Portaria Ministerial nº 239, de 27 de março de 2012, publicada no DOU nº 62, Seção I, de 29 de março de 2012.



Evento:International Congress of the Brazilian Genetics Society

Trabalho intitulado: EPIDEMIOLOGICAL PROFILE OF CONGENITAL ANOMALIES AMONG NEWBORNS IN THE STATE OF MARANHÃO, BRAZIL.

Ano: 2024

Papéis emergentes do RNA
Emerging roles of RNA

Genética ^{69^o CBG} **2024**
International Congress of the Brazilian Genetics Society
20a23|08|2024 ★ Campos do Jordão Convention Center|SP
HONORED: Maria Paula Cruz Schneider

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **EPIDEMIOLOGICAL PROFILE OF CONGENITAL ANOMALIES AMONG NEWBORNS IN THE STATE OF MARANHÃO, BRAZIL**, de autoria de **Leticia Milene Silva da Silva; Antonia Claudia da Conceição Palmeira; Eldevan da Silva Barbosa; Júlio Cesar Carvalho de Oliveira; Igor da Cruz Pinheiro; Maiza de Souza Palmeira; Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior; Jaqueline Diniz Pinho**, foi apresentado na sessão de **Pôsteres** durante o **69^a Congresso Brasileiro de Genética**, evento realizado de 20 à 23 de Agosto 2024, na cidade de Campos do Jordão - SP.

Célia Maria de Almeida Soares
Presidente da SBG

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA

Ana Maria Benko Iseppon
Primeira Secretária da SBG

Evento:International Congress of the Brazilian Genetics Society

Trabalho intitulado: ESTABLISHMENT OF A AMPLICON-BASED SEQUENCING FOR IDENTIFYING HIGH-RISK APOL1 GENE VARIANTS IN A RENAL PATHOLOGY CENTER IN NORTHEAST BRAZIL.

Ano: 2024

Papéis emergentes do RNA
Emerging roles of RNA

69° CBG
Genética 2024
International Congress of the Brazilian Genetics Society
20a23|08|2024 ★ Campos do Jordão Convention Center|SP
HONORED: Maria Paula Cruz Schneider

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **Establishment of amplicon-based sequencing for identification of high-risk apol1 gene variants in a national reference center in renal pathology.** de autoria de **João Victor Carvalho** ,; **Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior** ,; **Leticia Milene Silva da Silva**; **Denner Rodrigo Diniz Duarte**; **Kwang II Marciaga Teófilo**; **João Pedro Cruz Nascimento**; **Precil Diego Miranda de Menezes Neves**; **Bruna Larissa Nolêto Sousa**; **Andressa Monteiro Sodrê**; **Marcos Adriano Garcia Campos**; **Rayane Araújo Pessoa**; **Victor Eduardo Maulen Contreras**; **Aryadna Lima de Araújo**; **Arismar Almeida Tavares Junior**; **Natalino Salgado Filho**; **Gyl Eanes Barros Silva** ,,, foi apresentado na sessão de **Pôsteres** durante o **69ª Congresso Brasileiro de Genética**, evento realizado de 20 à 23 de Agosto 2024, na cidade de Campos do Jordão - SP.

Célia Maria de Almeida Soares
Presidente da SBG

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA

Ana Maria Benko Iseppon
Primeira Secretária da SBG

Evento:International Congress of the Brazilian Genetics Society

Trabalho intitulado: DIVERGENT HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) DETECTION AND GENOTYPING ACROSS IN SITU AND INVASIVE TUMOR REGIONS IN PENILE SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Ano: 2024

Papéis emergentes do RNA
Emerging roles of RNA

69° CBG
Genética 2024
International Congress of the Brazilian Genetics Society
20a23|08|2024 ★ Campos do Jordão Convention Center|SP
HONORED: Maria Paula Cruz Schneider

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **Divergent Human Papillomavirus (HPV) detection and genotyping across in situ and invasive tumor regions in penile squamous cell carcinoma** de autoria de **Bruna Larissa Nolêto Sousa ; Juliana Martins da Guia Ribeiro do Carmo; Denner Rodrigo Diniz Duarte; Isabella Barreto Froz; João Pedro Cruz Nascimento; João Victor Carvalho; Leticia Milene Silva da Silva; Arthur Duarte de Sousa; Kwang Il Marciaga Teófilo; Nallanda Vittoria Ricarte Mariano; Thúlio Furtado Theodoro; Heitor Martins Rezende; Gyl Eanes Barros Silva; Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior**, foi apresentado na sessão de **Pôsteres** durante o **69ª Congresso Brasileiro de Genética**, evento realizado de 20 à 23 de Agosto 2024, na cidade de Campos do Jordão - SP.

Célia Maria de Almeida Soares
Presidente da SBG

SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA

Ana Maria Benko Iseppon
Primeira Secretária da SBG

Evento:International Congress of the Brazilian Genetics Society

Trabalho intitulado: EXPLORING INFLAMMATORY INFILTRATE IN PENILE SQUAMOUS CELL CARCINOMA ACCORDING TO MOLECULAR HPV-DETECTION

Ano: 2024



Papéis emergentes do RNA
Emerging roles of RNA

69^o CBG
Genética 2024
International Congress of the Brazilian Genetics Society
20a23|08|2024 ★ Campos do Jordão Convention Center|SP
HONORED: Maria Paula Cruz Schneider

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **Exploring inflammatory infiltrate in penile squamous cell carcinoma according to molecular HPV-detection**, de autoria de **Kwang Il Marciaga Teófilo; Juliana Martins da Guia Ribeiro do Carmo; Bruna Larissa Nolêto Sousa; Leticia Milene Silva da Silva; João Victor Carvalho; João Pedro Cruz Nascimento; Denner Rodrigo Diniz Duarte ; Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior; Gyl Eanes Barros Silva**, foi apresentado na sessão de **Pôsteres** durante o **69^a Congresso Brasileiro de Genética**, evento realizado de 20 à 23 de Agosto 2024, na cidade de Campos do Jordão - SP.


Célia Maria de Almeida Soares
Presidente da SBG

 **SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA**

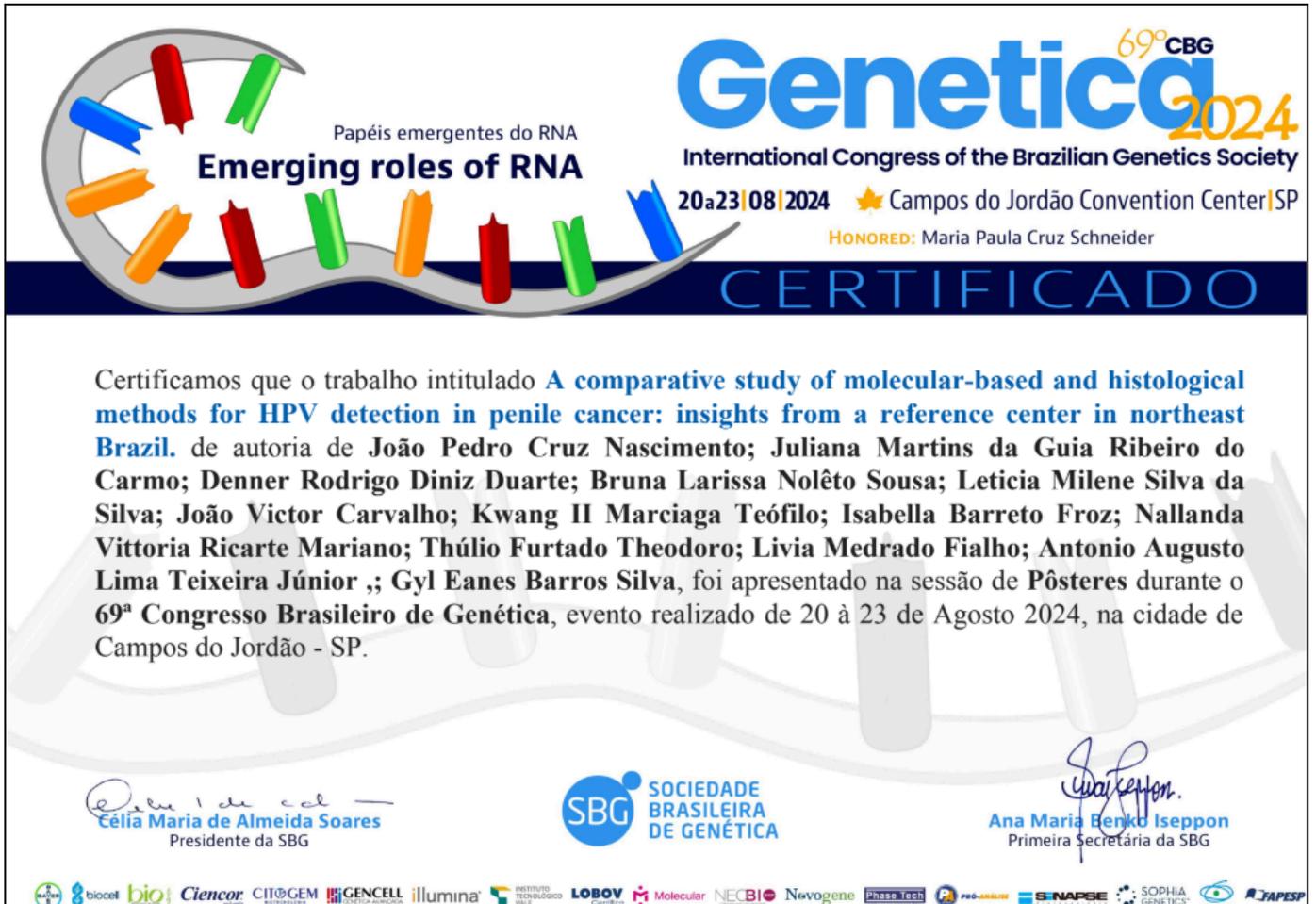

Ana Maria Benko Iseppon
Primeira Secretária da SBG



Evento:International Congress of the Brazilian Genetics Society

Trabalho intitulado: A COMPARATIVE STUDY OF MOLECULAR-BASED AND HISTOLOGICAL METHODS FOR HPV DETECTION IN PENILE CANCER: INSIGHTS FROM A REFERENCE CENTER IN NORTHEAST BRAZIL.

Ano: 2024



Papéis emergentes do RNA
Emerging roles of RNA

69º CBG
Genética 2024
International Congress of the Brazilian Genetics Society
20a23|08|2024 ★ Campos do Jordão Convention Center|SP
HONORED: Maria Paula Cruz Schneider

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **A comparative study of molecular-based and histological methods for HPV detection in penile cancer: insights from a reference center in northeast Brazil.** de autoria de João Pedro Cruz Nascimento; Juliana Martins da Guia Ribeiro do Carmo; Denner Rodrigo Diniz Duarte; Bruna Larissa Nolêto Sousa; Leticia Milene Silva da Silva; João Victor Carvalho; Kwang II Marciaga Teófilo; Isabella Barreto Froz; Nallanda Vittoria Ricarte Mariano; Thúlio Furtado Theodoro; Livia Medrado Fialho; Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior; Gyl Eanes Barros Silva, foi apresentado na sessão de Pôsteres durante o **69º Congresso Brasileiro de Genética**, evento realizado de 20 à 23 de Agosto 2024, na cidade de Campos do Jordão - SP.


Célia Maria de Almeida Soares
Presidente da SBG

 **SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA**

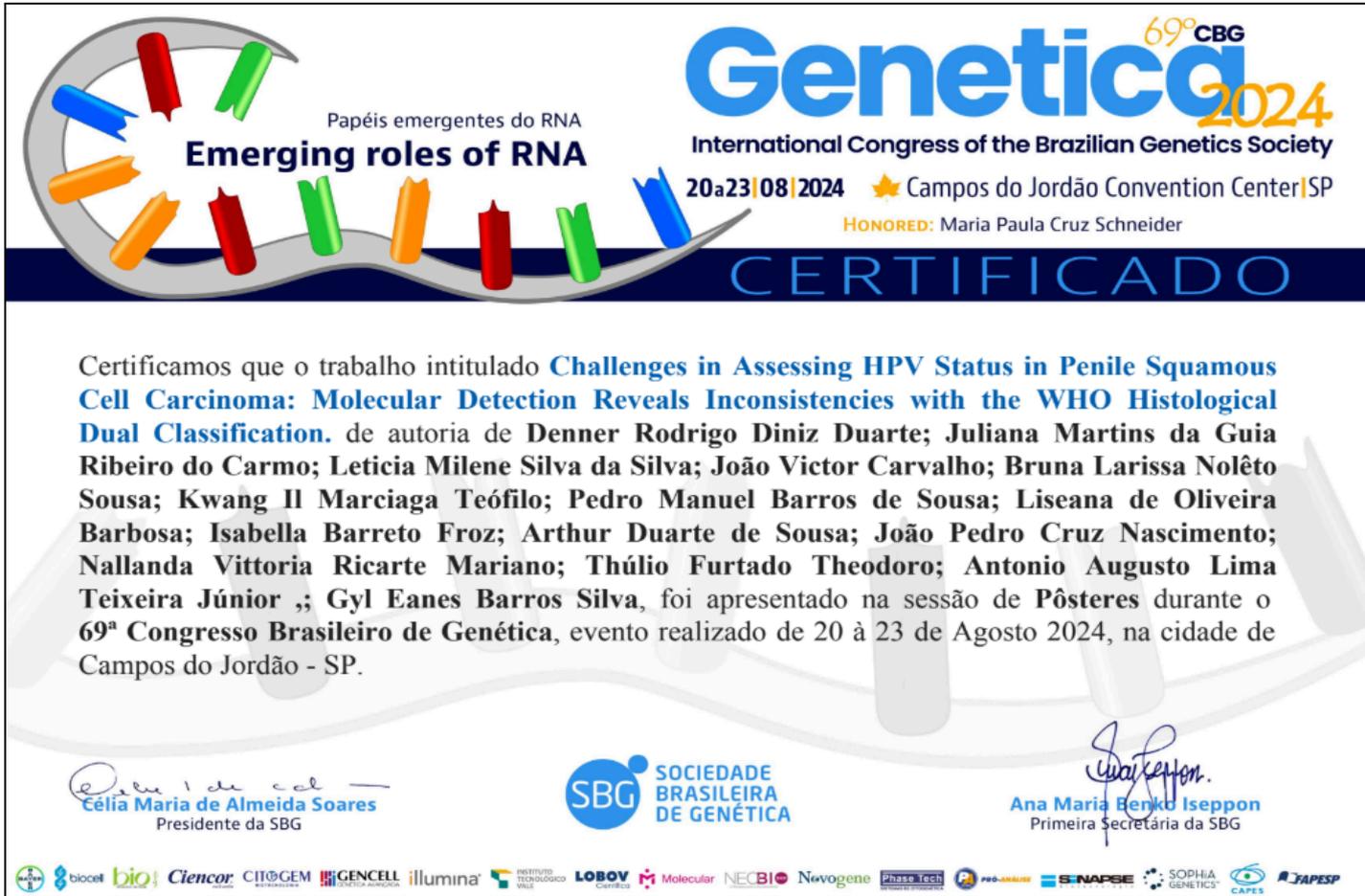

Ana Maria Benko Iseppon
Primeira Secretária da SBG



Evento: International Congress of the Brazilian Genetics Society

Trabalho intitulado: CHALLENGES IN ASSESSING HPV STATUS IN PENILE SQUAMOUS CELL CARCINOMA: MOLECULAR DETECTION REVEALS INCONSISTENCIES WITH THE WHO HISTOLOGICAL DUAL CLASSIFICATION

Ano: 2024



69º CBG
Genética 2024
International Congress of the Brazilian Genetics Society
20a23|08|2024 🌟 Campos do Jordão Convention Center|SP
HONORED: Maria Paula Cruz Schneider

CERTIFICADO

Papéis emergentes do RNA
Emerging roles of RNA

Certificamos que o trabalho intitulado **Challenges in Assessing HPV Status in Penile Squamous Cell Carcinoma: Molecular Detection Reveals Inconsistencies with the WHO Histological Dual Classification**, de autoria de **Denner Rodrigo Diniz Duarte; Juliana Martins da Guia Ribeiro do Carmo; Leticia Milene Silva da Silva; João Victor Carvalho; Bruna Larissa Nolêto Sousa; Kwang Il Marciaga Teófilo; Pedro Manuel Barros de Sousa; Liseana de Oliveira Barbosa; Isabella Barreto Froz; Arthur Duarte de Sousa; João Pedro Cruz Nascimento; Nallanda Vittoria Ricarte Mariano; Thúlio Furtado Theodoro; Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior ; Gyl Eanes Barros Silva**, foi apresentado na sessão de **Pôsteres** durante o **69º Congresso Brasileiro de Genética**, evento realizado de 20 à 23 de Agosto 2024, na cidade de Campos do Jordão - SP.

Célia Maria de Almeida Soares
Célia Maria de Almeida Soares
Presidente da SBG

SBG SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA

Ana Maria Benko Iseppon
Ana Maria Benko Iseppon
Primeira Secretária da SBG

bioceet bio Ciencor CIT@GEM GENCELL illumina INSTITUTO TECNOLÓGICO WU LOBOV Molecular NECBI Novogene Phase Tech PRO-ANALISE SINAPSE SOPHIA GENETICS CAPES FAPESP