

Papilomavírus Humanos (HPV) e Câncer Peniano em Pacientes Atendidos no Instituto de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB) em São Luís-Maranhão.

José E. Batista^{1*}; Nathália de P. Batista²; Emanuela F. L. Ribeiro³; Andrew Y. A. da Silva³; Caio da C. Cunha³; Anderson P. de Oliveira³; Breno F. Bonfim⁴; Reydson R. R. Reis⁵; Walder J. de M. Lobão^{6*}

1. Prof. Dr. Medicina Tropical – DEPAT/UFMA*,
2. Graduanda em Biomedicina pela Universidade UNICEUMA
3. Graduando em Farmácia pela Universidade Federal do Maranhão/UFMA
4. Mestrando em Ciências da Saúde/UFMA
5. Prof. Msc em Genética e Biologia Molecular – Instituto Federal do Ceará
6. Prof. Msc Ciências da Saúde – DEPAT/UFMA*

Introdução: A infecção pelo Papilomavírus Humanos (HPV) tem papel central na origem do câncer. No Brasil, o câncer de pênis representa cerca de 2% de todos os casos de câncer. **Objetivo:** Identificar a prevalência e os tipos virais do Papilomavírus humanos em amostras de carcinomas penianos de 76 pacientes atendidos em um hospital filantrópico no Maranhão no período de 2015 a 2016.. **Materiais e Métodos:** Foram aplicados questionários sociodemográficos aos pacientes. Amostras tumorais retiradas durante cirurgia de penectomia e submetidas à extração de DNA, foram feitas reações de PCR para detecção do HPV. Foi utilizada a técnica de PCR Nested e os primers utilizados foram PGMY09/11 e GP+5/6 para primeiro e segundo round. **Resultados e Discussão:** A presença do vírus HPV foi detectado em (68%). O tipo 16 foi mais prevalente (29%). **Conclusão:** Criação de programas de vacinação direcionadas aos homens contra o HPV e elucidação dos meios de propagação do vírus e das doenças associadas ao câncer de pênis.

Aspectos Éticos: Segue as normas da Resolução 466/2012, foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMA tendo parecer positivo sob nº 1.250.233.

Palavras chaves: DSTs, pênis, genotipagem.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão (FAPEMA) e Laboratório do Banco de Tumores da UFMA.

INTRODUÇÃO:

A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) é uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns em todo o mundo e sua infecção tem papel central na origem do câncer (Alberio et al., 2013). Atualmente existem mais de 100 tipos de vírus HPV identificados sendo mais de 30 deles transmitidos pelo contato sexual, (Akogbe et al., 2013).

O HPV tem sido reconhecido como potencial agente causador do carcinoma peniano, (Romero et al., 2013, Silva et al., 2014). Segundo Smith e colaboradores (2010), em um ensaio clínico randomizado em 2700 homens não circuncidados na faixa etária 17 a 18 anos e residentes no Quênia, avaliaram que 46% dos homens apresentavam infecção pelo HPV na glândula e 19,1% presente na haste do pênis, sendo os tipos 16 e 18 os mais frequentes (Smith et al., 2010).

No Brasil o câncer de pênis representa cerca de 2% de todos os casos de câncer que acometem homens, sendo mais frequentes nas regiões Norte e Nordeste. A região Nordeste possui o maior número de casos, com taxas de aproximadamente 6%, superando as taxas de câncer de bexiga e câncer de próstata (Silva et al., 2014). Segundo dados do Ministério da Saúde, o Maranhão é o Estado que possui o maior número de casos de câncer de pênis do país, justificando portanto a necessidade de aprofundamento nas pesquisas. Além disso, estima-se que 850 cirurgias de penectomia parcial ou completa são realizadas no Brasil, sendo aproximadamente 50% dos casos realizados nas regiões Norte e Nordeste (Favorito et al., 2006 e Feller et al., 2009).

Fatores de riscos reconhecidos incluem fimose, tabagismo, maus hábitos de higiene, retenção de esmegma, processos inflamatórios e a infecção pelo HPV (Diorio et al., 2016). Além destes fatores, atividade

sexual sem uso de preservativo e a infecção por outras doenças sexualmente transmissíveis também podem contribuir para o desenvolvimento do câncer de pênis (Grabowsk et al., 2016).

O câncer peniano ocorre principalmente em homens maiores de 60 anos e está associado a um alto risco de metástase e morbidade, sendo o principal fator que leva a alta mortalidade por essa doença e demora por tratamento (Diorio; Leone; Spiess, 2016). O objetivo do estudo foi identificar a prevalência do Papilomavírus humano em carcinomas penianos em pacientes atendidos em um hospital filantrópico e descrever as características sócio-demográficas da população estudada e possíveis fatores de riscos associados à mesma.

O objetivo do estudo foi identificar a prevalência e os tipos virais do Papilomavírus humano em amostras de carcinomas penianos em 76 pacientes atendidos em um hospital filantrópico no Maranhão no período de 2015 a 2016.

Metodologia:

Foi realizado um estudo do tipo analítico e prospectivo de série de casos de carcinoma penianos. A pesquisa foi realizada no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016. O método de amostragem foi por conveniência, totalizando 76 casos de indivíduos diagnosticados com carcinoma epidermóide de pênis. As amostras foram coletadas no Instituto de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB), no estado do Maranhão.

O estudo foi realizado em pacientes submetidos às cirurgias de penectomia parcial ou total mediante autorização e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecidos para pesquisa. Foram adotados critérios de inclusão e exclusão, aplicação de um questionário sociodemográfico e obtenção de dados clínicos e patológicos do paciente diretamente do prontuário médico dos pacientes.

As amostras foram coletadas durante a cirurgia realização no Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello (IMOAB). Um fragmento de tecido tumoral foi acondicionado em RNA Later (Life Technologies) e armazenado a 4°C. Após 24 horas, a amostra foi retirada do RNA later e armazenada em freezer a -80°C até o uso. Somente material tumoral foi analisado nos experimentos.

A extração do DNA foi realizada a partir de tecido fresco e seguindo protocolo descrito pelo manual de uso de Kit Dneasy Blood abd Tissue (Quiagen Ltda, UK).

Para identificação do DNA do HPV nas amostras de tumores peniano, foi utilizada a técnica de amplificação PCR-Nested. A técnica consiste na amplificação do DNA de interesse em dois rounds e utilizando *primers* específicos para cada um. O primeiro rounds utiliza os primers PGMY09/11, amplificando sequências de 450pb da região L1 do DNA viral, no segundo round são utilizados os primers GP+5 e GP+6 que amplificam sequências de 190pb da região L1 do DNA viral (Vidal et al., 2012). Como controle positivo da reação, utilizamos amostras conhecidamente positivas.

Para visualização dos produtos das reações foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão TBE 1X. Os fragmentos de DNA amplificados foram separados de acordo com o número de pares de bases no gel e visualizados em um transluminador de luz ultravioleta (Bio-Rad Laboratories, EUA).

A determinação dos genótipos do HPV foi realizada por sequenciamento automático do produto de PCR utilizando o sequenciador MegaBACE 1000 (GE Healthcare, UK). As reações foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão, localizado no Centro de Estudos Superiores de Caxias (CESC, UEMA). O sequenciamento foi realizado com o Kit *ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kit*.

A análise estatística foi feita no programa SPSS (versão 17.0). (IBM, Chicago, IL, USA). Inicialmente foi realizada estatística descritiva dos dados por meio de medidas de frequência, média e desvio-padrão. Foi utilizado o teste Qui-quadrado e o teste exato de Fisher, sendo os resultados considerados estatisticamente significante quando $p < 0,05$.

Resultados e Discussão:

Foram avaliadas biópsia tumorais de câncer de pênis de 76 pacientes na faixa etária de 26 a 97 anos de idade, com média de 60,7 anos, +/- 17,10 e mediana 62, tendo prevalência na faixa etária acima de 66 anos

de idade.

Entre as 76 amostras, 15 tiveram como material de diagnóstico a biópsia e, 61 foram representados por peças cirúrgicas. Em relação aos aspectos clínico-patológicos (Tabela 1), a lesão predominantemente encontrada foi a vegetante de forma isolada (34,21%), seguida de ulceração (22,37%), e lesões com múltiplas ulceração associado (43,42%). Tab.1. A glândula isolada ou associada a outras regiões esteve acometida em maior proporção dos casos. O tamanho das lesões variou de 0,6 a 5,1 cm com predominância no intervalo de 2,1 – 5,0 cm em 52,63% (40/76) das amostras.

As amostras positivas foram enviadas ao INCA onde se procedeu a genotipagem para os tipos virais por sequenciamento automático. O procedimento revelou que, dentre as amostras, 35% estavam infectadas com tipos virais de alto risco oncogênicos, 13% com vírus de baixo risco oncogênicos e 52% mostraram-se tipos indeterminados. Gráfico 1

Dentre os tipos virais de alto risco, estavam presentes os tipos 6, 18, 45 e 69. O tipo 16 foi o mais prevalente, presente em 10 casos (20,83%), seguido dos tipos 18 (8,33%), 45 (2,08%) e 69 (4,16%). Gráfico 2. O HPV do tipo 11 foi o único de baixo risco encontrado, estão frequentemente ligados ao aparecimento de verrugas genitais ou condilomas e a infecção benignas do trato genital (Scheiner et al., 2008). Nossos achados corroboram com diversos estudos na literatura, onde os HPVs 16 e 18, considerados de alto risco, são geralmente os mais prevalentes (Lont *et al.*, 2006).

A tabela 2 demonstra que não houve associação ($p < 0,05$) entre a infecção pelo vírus do HPV com as variáveis clínico-histopatológicas (localização, lesão predominante, tamanho da lesão, tipo histológico).

Conclusões:

Considerando a prevalência do HPV em carcinomas penianas é necessário a criação de programas de vacinação direcionadas aos homens contra o HPV e elucidação dos meios de propagação do vírus e das doenças associadas ao câncer de pênis.

Estudos epidemiológicos associados a infecção por HPV e as neoplasia penianas são fundamentais para esclarecer como esses vírus podem interagir com mecanismos celulares e contribuir para o desenvolvimento do câncer de pênis

Não houve relação entre a presença de HPV com os tipos histopatológicos apresentados pelos tumores

Referências bibliográficas

Albero, G, et al. Male circumcision and prevalence of genital human papillomavirus infection in men: a multinational study **BMC Cancer**, v.13, n.18. p. 1-10, 2013

Romero, F. R, et al. Prevalence and risk factors for penile lesions / anomalies in a cohort of Brazilian men > 40 years of age. **IBJU**, v.39, n.1. p.55-62. 2013.

(Smith et al., 2010 SMITH, J. S.; LINDSAY, L.; HOOTS, B. et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesion: a meta-analysis update. **In J Cancer** borderline. Infect. Agent Cancer 4,8, 2009.

Silva, R. S. et al. Aspectos demográficos e epidemiológicos da mortalidade por câncer o pênis. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.27, n.1, p.44-47, 2014

Favorito, L. A. et al. Epidemiologic Study on Penile Cancer in Brazil. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 34, n.5, p. 587-793, 2008.

Diorio, G. J. D; Leone, A. R; Spiess, P, E. **Management of Penile Cancer. Urology**, v 96, p. 15-21, 2016

Grabowski, M, K, et al. Partner Human Papillomavirus Viral Load and Incident Human Papillomavirus Detection in Heterosexual Couples. **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, p. 948-956, 2016.

Vidal, F, C, B. et al. Análise crítica dos métodos moleculares para detecção do papilomavírus humano: revisão de literatura. **Femina**, v.40, n.5, p.264-267.2012

Scheiner, M. A; Campos, M. M; Ornellas, A.A; Chin, E. W; Ornellas, M.H; Andrada-Serpa, M.J. Human Papillomavirus and Penile Cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV Typing and Clinical Features. **International Braz J Urol** Vol. 34 (4): 467-476, July - August, 2008