



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA

NÚCLEO DE PESQUISAS REPLICON

**ASSOCIAÇÃO DE HPV EM CARCINOMAS ESPINOCELULARES DE PÊNIS: UMA
META-ANÁLISE**

LARISSA FERNANDES DE CARVALHO

- MESTRANDA -

GOIÂNIA – GOIÁS – BRASIL

- MAIO DE 2010 –

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA

NÚCLEO DE PESQUISAS REPLICON

ASSOCIAÇÃO DE HPV EM CARCINOMAS ESPINOCELULARES DE PÊNIS: UMA

META-ANÁLISE

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA DA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS COMO REQUISITO PARCIAL E OBRIGATÓRIO PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM GENÉTICA.

Orientanda: *Larissa Fernandes de Carvalho*

Orientador: *Dr. Aparecido Divino da Cruz, Ph.D.*

Co-Orientador: *Prof. Dr. Cláudio Carlos da Silva.*

GOIÂNIA – GOIÁS – BRASIL

- MAIO DE 2010 -

C331a Carvalho, Larissa Fernandes de
Associação de HPV em carcinomas espinocelulares de pênis:
uma meta-análise / Larissa Fernandes de Carvalho. – Goiânia,
2010.
76 p.: il.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de
Goiás, Departamento de Biologia, 2010.

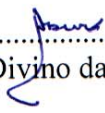
“Orientador: Dr.^a Aparecido Divino Cruz”

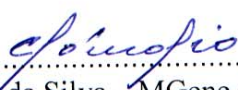
1. Câncer peniano. 2. Papiloma Vírus Humana (HPV) – meta-
análise. 3. Virologia médica. I.Título.


CDU: 616.66-006.6: 578.828 HPV (043.3)

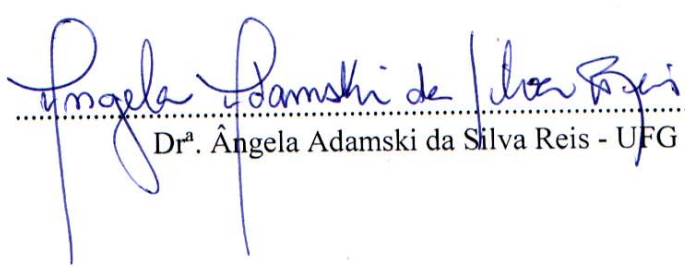
**TRABALHO REALIZADO JUNTO AO MESTRADO EM GENÉTICA DA
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS, SOB
ORIENTAÇÃO DO PROF. DOUTOR APARECIDO DIVINO DA CRUZ**

BANCA EXAMINADORA


.....
Dr. Aparecido Divino da Cruz, PhD – MGene / PUC Goiás


.....
Dr. Cláudio Carlos da Silva – MGene / PUC Goiás


.....
Dr^a. Daniela de Melo e Silva - MGene / PUC Goiás


.....
Dr^a. Ângela Adamski da Silva Reis - UFG

Goiânia, 31 de maio de 2010

"Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive."

Fernando Pessoa

Aos meus pais e meu irmão,
mesmo acompanhando de longe,
sempre me apoiaram a realizar um
sonho que poucos conseguem, mas que
muitos admiram, que é a *Genética*.

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente à **Deus**, que me permitiu chegar ao final de uma etapa árdua com sucesso e por eu ter aprendido com os melhores que eu poderia.

- Agradeço com um amor incalculável aos meus pais **Maria Sandra de Carvalho Fernandes e José Fernandes** e ao meu irmão **Diogo Fernandes de Carvalho**, que por várias vezes acompanharam minhas lágrimas e, mesmo sem muito o que fazer, esboçavam um simples olhar de apoio incondicional que me enchiam de esperança e não me deixavam desistir. Eu amo vocês demais !

- Ao meu namorado, **Douglas Antônio de Lima**, pelo companheirismo, pela paciência (muita paciência), pelo amor que me dedicou nas horas mais complicadas e pelo incentivo maior a cada abraço ou gesto de carinho quando eu mais precisava. Você é indispensável !

- Aos demais familiares, que sempre souberam da minha luta, sempre desejando e rezando para que eu pudesse conseguir alcançar meus objetivos. Tenho a melhor família que Deus poderia me dar !

- À **Dr^a. Delair Inácia Tosta**, mais do que gratidão e respeito pela pessoa maravilhosa que é, que acreditou em meu potencial e me viu capaz de ser uma *Mestre em Genética*, apostando de olhos fechados em meu sucesso. Muito obrigada, parte do meu sonho não seria possível sem sua ajuda !

- À minha maior inspiração na área da *Genética*, meu orientador, **Prof. Dr. Aparecido Divino da Cruz**, Ph.D, pelo exemplo de pessoa dedicada e orgulhosa da

profissão que escolheu, por conseguir transmitir com tamanha paixão e perfeição àqueles que sonham em chegar aos seus pés. Peixoto, agradeço de coração por toda sua confiança depositada em mim e por ser tão maravilhoso naquilo que faz, você é muito melhor que eu pudesse imaginar encontrar na vida e agradeço a Deus todos os dias por isso, muitíssimo obrigada!

- Ao meu Co-orientador, **Dr. Cláudio Carlos da Silva**, pelas maravilhosas e engraçadas aulas de *Genética* na graduação, que me fizeram perceber quão linda é a área que escolhi. Obrigada também pelo incentivo em nossas conversas de corredor, que sempre me animavam, mesmo quando a maior vontade era sair correndo. Claudio, você é uma pessoa que estará sempre em minhas orações, espero poder retribuir tudo que fez por mim !

- À minha grande especialista em HPV, **Dra. Angela Adamski da Silva Reis**, que me apresentou a esse vírus que eu não sabia que pudesse ser tão interessante de estudar. Nunca vou me esquecer dos conselhos e gargalhadas durante as aulas de *Microbiologia* quando ela ficava vermelha ao falar da transmissão sexual do *Papilomavírus*. Angela, você como madrinha de turma foi uma forma de agradecimento à pessoa maravilhosa que é, mas além disso gostaria de agradecer pela disponibilidade de me aconselhar e incentivar durante a graduação e visitas ao Replicon, quero ser igual você quando crescer !

- À **Dra. Daniela de Melo e Silva**, que sempre foi a alegria das aulas matutinas de *Embriologia* com suas risadas e conversas sem cunho científico abrindo um sorriso em todos, pela organização e limpezas realizadas no laboratório que me ensinaram a nunca mais esquecer de rotular meus materiais. Dani, mesmo na correria do dia-a-dia, sempre soube que você era alguém a ser seguida não só pela profissional, mas, também, pela pessoa incrível que é ! Obrigada !

- Às minhas amigas **Paulene Alves Rios** e **Natália Loyola Junqueira** por não me deixarem desistir de um sonho. Só elas sabem o quanto as perturbei durante todos os anos de amizade e, sem querer, acabei incentivando-as a trabalhar com *Genética*. Meninas, vocês são as melhores amigas que Deus poderia me dar, se fosse pra escolher não seriam tão perfeitas, amo vocês !

- À minha amiga **Thaís Guimarães de Castro**, que nunca se recusou a me ajudar e, sem ao menos me conhecer, já dava indícios que nossa amizade não iria se restringir ao laboratório e às conversas na internet durante a madrugada de estudos. Thaís, você tem um futuro brilhante compatível com aquilo que irradia nas pessoas, você é muito especial! Obrigada !

- Ao meu amigo **Jonas Garcia de Almeida**, que ainda estando na graduação colaborava com tudo que estava ao alcance, além da amizade que sempre guardarei com muito carinho !

- Às minhas colegas de Mestrado **Emília Oliveira Alves Costa** e **Caroline Oliveira de Araújo Melo**, que por várias vezes me ajudaram nas práticas do laboratório e pela companhia indispensável, pelas conversas, risadas e planos durante as aulas. Vocês ainda vão dominar o mundo, vocês são as melhores naquilo que fazem, desejo sucesso sempre !

- Aos diversos estagiários e funcionários do Replicon/LaGene que se disponibilizaram a me ajudar, mesmo quando tinham outras coisas para fazer, muito obrigada mesmo !

- Aos professores do Mestrado pelas aulas incentivadoras sempre e por me deixarem cada vez mais apaixonada pela *Genética*.

- A todos os demais, mesmo aqueles que não foram citados, que puderam contribuir de alguma forma para que esse projeto pudesse ser concretizado.
Obrigada !

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
LISTA DE ANEXOS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO e REFERENCIAL TEÓRICO	18
1.1. Câncer	18
1.2. Anatomia e histologia peniana.....	22
1.3. Papilomavírus Humano (HPV).....	24
1.4. Papilomavírus Humano e sua provável associação ao Câncer de Pênis.....	32
1.5. Identificação de Papilomavírus Humano através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	35
1.6. Meta-análise	37
2. OBJETIVOS	39
2.1 Objetivo geral	39
2.2. Objetivos específicos	39
3. MATERIAL e MÉTODOS	40
3.1. Origem dos dados.....	40
3.2. Critérios de inclusão e exclusão	40
3.3. Extração dos dados	41

3.4. Métodos estatísticos	41
4. RESULTADOS e DISCUSSÃO	43
5. CONCLUSÃO	55
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
7. ANEXOS	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais diferenças entre oncogenes e genes supressores de tumor	19
Tabela 2. Prevalência de DNA de HPV em carcinomas penianos detectados por PCR convencional	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organização do Genoma do HPV inserido na célula hospedeira	24
Figura 2. Ação da proteína p53 sobre o ciclo celular. A - A proteína p53 é codificada pelo gene p53 localizado no cromossomo 17p13. A proteína p53 tem a função de parar o ciclo celular no caso de identificação de danos ao DNA, dessa forma o ciclo para até que o dano seja resolvido. No caso de danos extensos a p53 pode induzir a apoptose. B – A proteína viral E6 se liga a E6AP que funciona como uma ubiquitina, degradando p53. GMR: Genes do mecanismo de reparo	29
Figura 3. Ação da proteína pRb sobre o ciclo celular. A – A proteína pRb é codificada pelo gene RB1, localizado no cromossomo 13q14. A ligação da proteína pRb ao fator de transcrição E2F resulta na parada do ciclo celular. A fosforilação de pRb libera E2F que ativa a transcrição de genes alvos para a replicação do genoma. B - A proteína viral E7 se liga a proteína pRb, isso libera E2F, causando um estímulo constante para a divisão celular	31
Figura 4. Critérios de identificação, inclusão e exclusão, dos estudos da meta-análise	41
Figura 5. Gráfico de distribuição dos <i>primers</i> utilizados para a detecção de DNA do HPV	45
Figura 6. Gráfico da prevalência dos subtipos de HPV 16 e 18	48
Figura 7. <i>Odds ratios</i> (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) entre detecção de HPV e genotipagem para HPV de alto risco oncogênico 16 e 18 nos estudos com o teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativos (Teste de <i>DerSimonian –Laird</i>).....	51
Figura 8. <i>Odds ratios</i> (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para o HPV 16 nos estudos analisados com o teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativos (Teste de <i>DerSimonian-Laird</i>)	53
Figura 9. Gráfico <i>forest plot</i> para meta-análise para verificar a associação entre o tipo viral 18 e o câncer de pênis nos 19 estudos analisados. Visto que foram excluídos 20 artigos, por não apresentarem genotipagem do HPV 18	54

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

INCA – Instituto Nacional do Câncer

HPV – Papilomavírus Humano

PCR – Reação em cadeia da polimerase do inglês, *Polymerase Chain Reaction*.

LCR - Longa Região de Controle, do inglês *Long Control Region*

CDK - Quinases dependentes de ciclinas

pRb – Proteína do Retinoblastoma

p53 - Proteína p53

DST – Doenças Sexualmente Transmissíveis

TNM - Sistema de classificação por estadiamento: Tumor, nódulos linfáticos e metástases à distância

PUC-GO – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

NCBI - *National Center for Biotechnology Information*

SciELO - *Scientific Eletronic Library Online*

OR – *Odds Ratio*

IC – Intervalo de Confiança

RR – Risco Relativo

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Termo de ciência e autorização para utilização da figura 1	74
Anexo 2. Resultados de Odds Ratios (OR), Intervalo de confiança e valor de p para cada um dos estudos isolados	75
2.1. Meta-análise de efeito aleatório (HPV 16 e 18).....	75
2.2. Meta-análise de efeito aleatório (HPV 18).....	76
2.3. Meta-análise de efeito aleatório (HPV 16).....	77

RESUMO

O HPV atua como uma importante causa de câncer cervical, em cerca de 99,7% dos casos em todo mundo. Como ocorre em toda infecção de transmissão sexual, o homem é o principal elo na cadeia epidemiológica do HPV e tem sido bastante discutido a associação deste vírus aos carcinomas penianos. O câncer de pênis é uma doença rara, sendo o carcinoma de células escamosas responsável por 95% dos casos. Assim, a infecção por HPV em homens, promove modificações bioquímicas e moleculares, alterando significativamente a população de células, através da interação do genoma viral com o genoma da célula hospedeira ou de proteínas virais com proteínas celulares necessárias ao controle do ciclo celular, como as proteínas supressoras de tumor pRb e p53, podendo desencadear a progressão para o processo maligno. Dentre as técnicas moleculares para detecção de DNA do HPV, a PCR é a mais sensível, pois é capaz de identificar o tipo do HPV. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo, investigar a associação entre o HPV e os pacientes com câncer de pênis através de uma meta-análise. Um procedimento destinado a examinar, de modo simultâneo, os resultados de várias investigações sobre um mesmo tópico, de forma a gerar conclusões com maior segurança e confiabilidade. De um total de quarenta e quatro (44) artigos encontrados, foram incluídos na meta-análise, trinta e nove (39) artigos e duas (2) dissertações entre os anos de 1989 a 2009 que estabeleciam a co-relação e utilizavam as mesmas técnicas e *primers* para detecção e genotipagem do HPV. Na presente meta-análise, observou-se que os artigos analisados apresentaram heterogeneidade quando avaliados os tipos de HPV 16 e 18, em conjunto. O HPV do tipo 18 isolado não apresentou significância, enquanto o HPV 16 demonstrou estar significativamente relacionado ao carcinoma espinocelular de pênis. Pelo teste de *DerSimonian-Laird* os resultados dos estudos combinados demonstram que os mesmos são significativos e heterogêneos em relação a IC 95%. Assim, pode-se concluir que a associação entre câncer de pênis e HPV se confirma por meta-análise, demonstrando assim a importância da força estatística da meta-análise diante dos estudos isolados na tentativa de desenvolvimento de novas estratégias de prevenção do HPV.

Palavras-chave: HPV, Carcinoma Peniano, PCR, Meta-análise.

ABSTRACT

Cancer has been a major public health problem both in developed and developing countries . Each year, cancer is responsible for more than six million deaths, imposing a population burden that claims about 12% of all causes of that worldwide. Under a genetic perspective, there are two major classes of gene that hold an important role on cancer development: the proto-oncogenes and the tumor suppress genes. Mutations in these genes are the underlying cause of uncontrolled cell proliferation. Under the spectrum of male urological tumors, penile carcinoma is the one that most resembles cervical carcinoma in women. Epidemiological studies have frequently implicated HPV genome as a potential initiator factor for carcinomas of different anatomical sites. HPV role in cancer induction is well documented for cervical carcinomas and a significant association has been found in up to 99,7% of all cases worldwide. The occurrence of HPV in both male and female genital areas has increased the scientific interest around the potential association of HPV genome and penile carcinomas. The HPV genome is made of one copy of the double-stranded circular DNA molecule, organized in three distinct regions: a Long Control Region (LCR), an Early (E) and a Late (L) protein coding regions. Following viral insertion in a cell genome, the viral LCR becomes the target of an intracellular regulatory mechanism. When infected cells lose this control mechanism, tumor progression towards malignancy and increased viral gene expression occur. Penile cancer is a rare disease, however by far the most common type is the squamous cell carcinoma which is found in about 95% of the penile malignancies. As any other Sexually Transmitted Disease, men are the major link in the chain of infection of HPV. The Polymerase Chain Reaction is the most sensitive procedure to detect and genotype HPV DNA in human biological samples. The current study is a meta-analysis which comprised the result of several studies that using PCR detected and genotyped HPV genome in association with penile cancers. Herein we report on the results of 39 research articles published from 1989 to 2009. We found the published data had large heterogeneity, tending to significance when combined within the 95% confidence interval. The *DermonSaimonian-Laird* analysis indicated significance between HPV infection and penile cancer development.

Key-words: Human Papillomavirus, association penile cancer, HPV 16 and 18, PCR.

1. INTRODUÇÃO e REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Câncer

O câncer corresponde a um importante problema de saúde pública em países desenvolvidos e em desenvolvimento. A cada ano, os cânceres são responsáveis por mais de seis milhões de óbitos, representando cerca de 12% de todas as causas de morte no mundo. Embora as maiores taxas de incidência de câncer sejam encontradas em países desenvolvidos, dos dez milhões de casos novos anuais de câncer, cinco milhões e meio são diagnosticados nos países em desenvolvimento (*World Health Organization, 2002*).

O termo câncer é dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Estas células tendem a ser muito agressivas e de crescimento contínuo, determinando a formação de tumores pelo acúmulo de células cancerosas, caracterizado como neoplasias malignas. Por outro lado, um tumor benigno significa simplesmente uma massa localizada de células que se assemelham ao seu tecido original, raramente constituindo um risco de vida (*INCA, 2010*).

As causas de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural. As causas internas são na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Esses fatores causais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais (*INCA, 2010*).

O câncer em geral resulta de mutações em células somáticas e/ou germinativas. Sua progressão envolve a expressão de uma série de genes, dentre eles, os oncogenes, os quais transcrevem produtos protéicos que estimulam positivamente o ciclo celular. Os mecanismos de

ativação dos genes, que participam na oncogênese, incluem translocações cromossômicas, mutações de ponto, deleções, inversões e ampliações do DNA (Silva CC *et al*, 2003, Aires MM, 1999).

Duas classes de genes, pequenas em relação ao total de genes, têm papel chave no desenvolvimento do câncer: os genes supressores de tumor (GST) e proto-oncogenes. Em suas configurações normais, elas dirigem o ciclo celular em uma intrincada seqüência de eventos, pelos quais as células crescem e se dividem. Proto-oncogenes estimulam, enquanto genes supressores inibem os processos de divisão celular (Rivoire WA *et al*, 2006). Coletivamente, essas duas classes de genes são responsáveis pela proliferação descontrolada, encontrada nos cânceres em humanos (Weinberg RA *et al*, 1996; Chen YC *et al*, 2005).

As principais diferenças entre as duas classes de genes citadas, pode ser definida através de seu efeito mutacional, mecanismo genéticos envolvidos e a função biológica em atividade normal, como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais diferenças entre oncogenes e genes supressores de tumor. Adaptado de Genética Médica (Young ID, 2007).

Principais diferenças entre oncogenes e genes supressores de tumor		
	Oncogenes	Genes supressores de tumor
Efeito mutacional	Ganho de função	Perda de função
Mecanismo Genético celular	Dominante	Recessivo
Função biológica normal	Promoção e proliferação da divisão celular	Supressão da divisão celular; parada do ciclo celular; promoção da apoptose.

Um oncogene é uma forma mutante de um proto-oncogene, que resulta em estimulação aumentada dos processos celulares normais de divisão e proliferação. As mutações nos proto-oncogenes exercem um efeito de ganho de função. A maioria das mutações oncogênicas ocorre

espontaneamente em células somáticas, sendo que alguns poucos tumores humanos podem ser causados por transformação viral, como o Papilomavírus Humano – HPV (Young, 2007).

A ativação ou inativação desses genes, que controlam o ciclo celular, ocorre por meio de translocações cromossômicas, amplificações gênicas ou mutações de ponto, de maneira que alterações em um único alelo são suficientes para transformá-los em oncogenes e contribuir para a transformação maligna. Como consequência das alterações, a expressão dos oncogenes leva a uma proliferação celular anormal, resultando na formação do tumor (Silva *et al*, 2003).

A divisão e a proliferação celular, de modo geral, podem ser vistas representando um balanço entre as ações dos proto-oncogenes, que exercem um efeito positivo, e um grupo de genes que exercem um efeito regulatório negativo: genes supressores de tumor, podendo dizer que os mesmos são envolvidos nos mesmos processos que os proto-oncogenes, mas com efeitos opostos. Existem aproximadamente 30 genes supressores tumorais identificados que codificam para proteínas reguladoras dos *checkpoints* celulares e inibem a progressão do ciclo celular, caso o DNA esteja danificado. Uma vez que estes genes controlam negativamente a proliferação e a sobrevivência celulares, mutações que levam à perda das funções por eles reguladas podem contribuir para o desenvolvimento de um tumor. Conseqüentemente, mutações inativadoras liberariam a célula da inibição imposta pelos GSTs, levando à proliferação desordenada, característica das células cancerosas (Silva *et al*, 2003).

Mutações herdadas na linhagem germinativa em vários genes supressores tumorais resultam em síndromes específicas de câncer herdado. O gene do Retinoblastoma (pRb) e o gene TP53, são exemplos de GSTs que frequentemente apresentam-se associadas à Síndromes decorrentes de mutações germinativas como o Retinoblastoma e a Síndrome de Li-Fraumeni, respectivamente (Young, 2007).

A carcinogênese é um processo de múltiplas etapas que envolvem mudanças genéticas e epigenéticas, culminando na ativação de proto-oncogenes e/ou inativação dos genes supressores de tumor, que modifica o fenótipo celular. Uma célula maligna se difere de uma célula normal principalmente pela sua independência no controle do ciclo celular (Cunha *et al*, 2007).

No âmbito da carcinogênese, as análises epidemiológicas moleculares têm fornecido evidências contundentes da contribuição efetiva do ambiente no surgimento do câncer humano e também sobre as situações de risco fortemente influenciadas pela suscetibilidade genética. A principal ferramenta molecular na atualidade, é a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), os modelos laboratoriais *in vitro* e *in vivo* e as técnicas imunobioquímicas, possibilitam a definição de diagnóstico e de prognóstico e permitir a estimativa dos riscos populacionais de neoplasias. Neste contexto, o conhecimento da história natural da doença possibilita a intervenção precoce e a implementação de estratégias eficazes para se evitar o surgimento dos cânceres, além de fornecer bases para o seu tratamento, assegurando ao paciente um bom prognóstico (Hussain *et al*, 1998).

1.2. Anatomia e histologia Peniana

O pênis é considerado o principal órgão do aparelho sexual masculino, sendo formado por dois tipos de tecidos cilíndricos: dois corpos cavernosos e um corpo esponjoso que envolve e protege a uretra. Na extremidade do pênis encontra-se a glândula, onde pode ser visualizada a abertura da uretra. A glândula é revestida pelo prepúcio que deve ser retraído para garantir higienização adequada da glândula, com remoção do esmegma (uma secreção sebácea espessa e esbranquiçada, com forte odor, que consiste principalmente em células epiteliais descamadas que se acumulam debaixo do prepúcio). A fimose é definida pela incapacidade de exposição da glândula devido ao estreitamento do prepúcio (Gowdak *et al*, 1989).

Histologicamente, o CE de pênis é similar a outros carcinomas epidermóides de outras áreas do corpo, demonstrando, normalmente, tumores bem ou moderadamente diferenciados, com perda de polaridade e maturação das células da camada basal em direção à camada apical, com núcleos celulares hipercromáticos e com tamanhos variáveis. As células tumorais normalmente invadem tecido adjacente, podendo destruir a lâmina basal e invadir estruturas profundas. Podem ainda sofrer degeneração e hialinização, vindo a formar pérolas córneas (Gil *et al*, 2001).

Apesar da natureza vascular do pênis, as metástases do CE de pênis são na grande maioria das vezes por via linfática e, raramente, por via hematogênica (Cabanas, 1997; Droller, 1980). O sistema linfático do pênis drena, inicialmente, para os linfonodos inguinais superficiais e profundos, e, desta forma, as metástases para esses linfonodos são as primeiras a ocorrer, seguidas dos linfonodos ilíacos e então metástases a distância (Catalona, 1980; Fraley *et al*, 1985).

O Sistema Reprodutor Masculino tem função fundamental na reprodução e tem sido bastante estudado nas últimas décadas devido ao desenvolvimento de tumores malignos associados aos diferentes tecidos que compõem o Sistema. De todos os tumores urológicos, o

carcinoma peniano constitui a analogia mais próxima ao câncer de colo uterino. Estudos epidemiológicos demonstram estreita correlação entre o HPV e os carcinomas cervicais. Observações recentes estimam que mulheres parceiras de homens que apresentaram carcinoma peniano possuíam risco relativo de 2,8 a 3,2 vezes mais elevado para desenvolver câncer cervical (Reis, 2005).

A compreensão da histologia do tumor permite uma melhor avaliação para o prognóstico e terapêutica. No câncer de pênis, o tratamento é quase sempre cirúrgico com amputação total ou parcial para a retirada da lesão, em geral acompanhada da ressecção dos glânglios da região inguinal, para a prevenção de metástase da doença. Em tumores penianos, o diagnóstico precoce é fundamental para se evitar o desenvolvimento da doença e a amputação do órgão, que apresenta graves conseqüências físicas, sexuais e psicológicas para o paciente e seus parceiros (as) (Reis, 2005).

1.3. Papilomavírus Humano (HPV)

HPV é a abreviatura utilizada para o Papilomavírus Humano, patógeno que pode causar o condiloma acuminado (do grego *kondilus* = tumor redondo, e do latim *acuminare* = tornar pontudo), também conhecido como crista de galo ou verruga venérea (Castro *et al*, 2004; Camargos *et al*, 2001; Sarru *et al*, 1997). Em 1996, o *World Health Association* já considerava o HPV como uma importante causa de câncer cervical, em cerca de 99,7% dos casos, em todo mundo (Burd, 1996).

Os HPVs são vírus de DNA, epiteliotrópicos. A proliferação ocorre apenas na camada basal dos epitélios (Scully, 2002). Os HPVs possuem capsídeos não-envelopados, contendo um genoma circular de fita dupla com cerca de 8 mil pares de base. O capsídeo viral mede 55 nm de diâmetro, aproximadamente. O genoma do HPV pode ser dividido em três regiões: uma região longa de controle (*long control region* [LCR]) e as regiões precoce (E - *early*) e tardia (L - *late*), que codificam as proteínas virais. LCR é uma região não-codificante (Rocha *et al*, 2007; Sugerman *et al*, 1997). A região E

compreende cerca de 45% do genoma viral e contém os genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7, que são expressos logo após a infecção do tecido. Do ponto de vista da transformação celular pelo HPV,

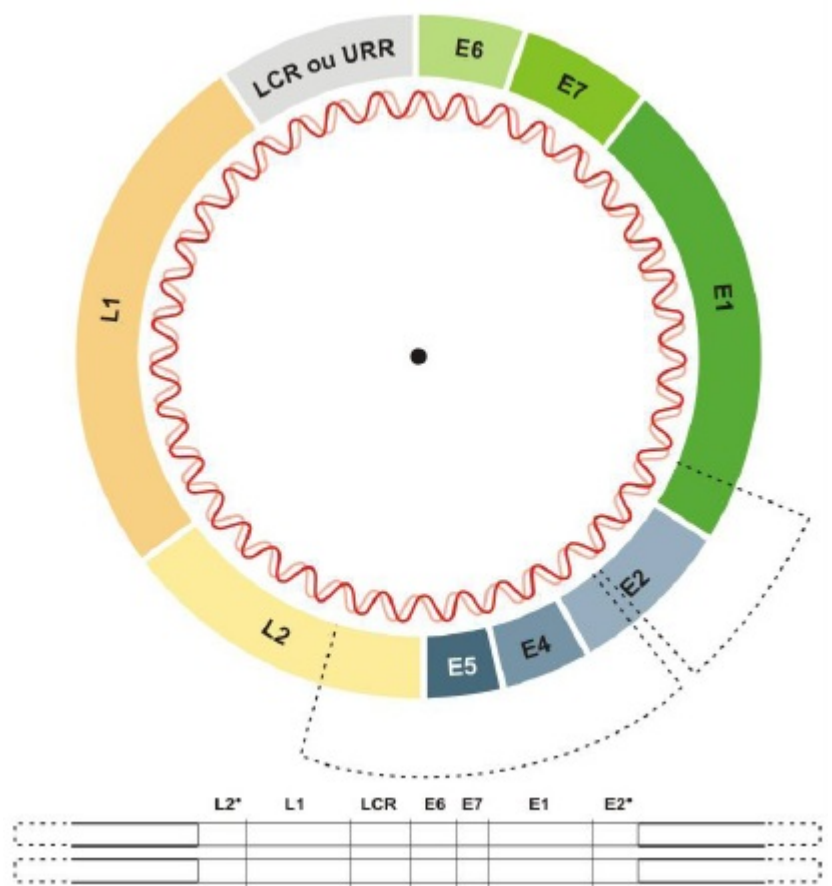


Figura 1 – Organização do Genoma do HPV inserido na célula hospedeira (Reis, 2005)

virais. LCR é uma região não-codificante (Rocha *et al*, 2007; Sugerman *et al*, 1997). A região E compreende cerca de 45% do genoma viral e contém os genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7, que são expressos logo após a infecção do tecido. Do ponto de vista da transformação celular pelo HPV,

os genes E5, E6 e E7 são as de maior importância (Hausen, 2000; Villa, 1997). A região E codifica principalmente proteínas relacionadas à conservação do genoma, replicação do DNA e ativação do ciclo lítico. A região L possui os genes L1 e L2, representando aproximadamente 40% do genoma viral. A expressão de L1 e L2 ocorre em estágios tardios da infecção, pois eles codificam proteínas estruturais relacionadas ao capsídeo viral (Scully, 2002; Terai *et al.*, 2001; Hausen, 1997).

A LCR situa-se entre o fim de L1 e o começo de E6. Esta região contém muitas seqüências regulatórias *cis* que controlam a transcrição e a replicação viral. Acredita-se que as LCRs são alvo direto de um mecanismo regulatório intracelular. A perda desse mecanismo intracelular de inspeção contribui na progressão para a malignidade, correlacionando-se com a abundante expressão gênica viral (Hausen, 1996).

O estabelecimento e a manutenção do genoma do HPV integrado ao genoma da célula hospedeira estão também associados à expressão dos genes E5, E6 e E7. A interação de fatores celulares do hospedeiro com a região LCR do genoma do HPV promove a transcrição dos genes virais E6 e E7. Uma vez expressos, as proteínas virais interferem nas vias de regulação do ciclo celular e modificam o ambiente celular para facilitar a replicação do vírus dentro da célula. Resumidamente a ligação de E6 e E7 às proteínas supressoras de tumor ou às ciclinas celulares e quinases dependentes de ciclinas (CDK) resultam em inativação ou alteração das proteínas celulares (Kanodia *et al.*, 2007; Fehrman & Laimins, 2003).

Para a integração do genoma circular ao DNA da célula hospedeira, esse deve ser linearizado, pela quebra do DNA viral entre a região E1 e L1, resultando na ruptura ou perda do gene E2, sendo encontrado nas lesões de maior gravidade, como o carcinoma “in situ” e invasivo (Pereyra & Parellada, 2003). Após a integração dos HPVs de alto risco no genoma celular, esses passam a codificar as oncoproteínas E6 e E7 que promovem o processo maligno. A célula hospedeira possui os genes supressores de tumores *RB* e *TP53*. O gene pRb é o principal

regulador do ciclo celular e o gene *TP53* é chamado de “guardião do genoma”, pois tem a finalidade de supervisionar se todos os genes estão íntegros (Luciana *et al*, 2006).

O HPV pode transformar e imortalizar as células hospedeiras, iniciando assim um processo maligno. Os produtos dos genes *E6* e *E7* são importantes para a transformação e imortalização celular. A proteína *E6* tem uma grande afinidade pelo DNA e é encontrada tanto no núcleo como na membrana plasmática. A proteína *E7* é uma fosfoproteína encontrada no citoplasma e, provavelmente, no núcleo (Silva, 2003).

No epitélio estratificado queratinizado, durante a divisão celular, as células basais deixam a camada basal, migram para a região supra-basal e começam a se diferenciar. Uma vez diferenciados, os queratinócitos terminam seu ciclo celular logo que são destacados do pavimento membranal. As células epiteliais infectadas por HPV quando atingem a camada supra-basal, entram na fase S do ciclo celular. A entrada na fase S resulta na amplificação do genoma viral. Paralelamente a amplificação do DNA viral, ocorre a síntese das proteínas *E1* e *E4* das proteínas do capsídeo: *L1* e *L2*. Nesta fase ocorre a formação dos vírions infectivos. Subsequentemente, os vírions são liberados para o ambiente na camada superior, quando o epitélio é descamado (Sousa, 2008).

Embora a estratégia da infecção pelo HPV envolva as células da camada basal, a produção de vírions é restrita à camada supra-basal, mais diferenciada. A infecção dependente da diferenciação também é uma estratégia do vírus para a manutenção do seu estoque e promove a infecção através da produção de vírions nas células maduras, mas garante a manutenção persistente do HPV nas camadas basais por períodos de até vários anos (Aaltonen *et al*, 2002; Stubenrauch *et al*, 1999).

Das proteínas codificadas pelo genoma do HPV, principalmente as produzidas pela expressão dos genes *E6* e *E7* estão relacionadas com a carcinogênese do vírus HPV. Em

particular, foi demonstrado que *E6* interage com a proteína p53 e *E7* com a proteína pRb, causando desregulação do ciclo celular (Kelley *et al*, 2005). O papel de p53 e pRb é prevenir a transformação celular, interferindo com a capacidade de divisão e proliferação das células (Pinto *et al*, 2002; Beutner & Tyring, 1997).

O E6 é um dos primeiros genes virais a serem expressos na infecção do HPV. Trata-se de uma proteína de 150 aminoácidos, que possui um papel importante na imortalização celular. A proteína E6 é fundamental no processo de transformação celular. As propriedades de ativação transcricional de E6 indicam que esta proteína dos HPVs de alto risco inativa o p53 por meio de degradação rápida pela via da ubiquitina (Kelley *et al*, 2005). A expressão concomitante de E6 e E7 propicia o ambiente celular para a replicação viral. A proteína E6 sozinha não é capaz de imortalizar os queratinócitos humanos primários, mas sua interação com a proteína E7 induz mudanças no comportamento celular, que resulta na imortalização das células infectadas. A proteína E6 não possui atividade enzimática intrínseca. Portanto se utiliza de interações com proteínas celulares para que exerça suas funções. Uma função bastante importante da proteína E6 dos subtipos virais de alto-risco é sua ligação à proteína p53 (Sousa, 2008), regulando indiretamente o controle do ciclo celular, o reparo, a síntese do DNA e a diferenciação celular. Consequentemente, esta regulação interfere com a capacidade de apoptose pelas células infectadas pelo HPV (Lam *et al.*, 1995; Rosenblatt *et al*, 2005; Kanodia *et al.*, 2007).

Quando o DNA do HPV é integrado ao DNA da célula hospedeira, seguindo-se à integração, o produto do gene E6 liga-se com alta afinidade a p53 promovendo uma rápida degradação desta proteína via uma ubiquitina-ligase celular. Esta degradação simula o mesmo efeito da inativação resultante de mutação do gene da p53. Além disso, a degradação da p53 é também provocada pela ativação da telomerase, através das proteínas E6 dos HPVs de alto-risco (Elenbaas *et al.*, 2001).

Quando ocorrem erros no DNA, a proteína p53 interage com outras proteínas para que o DNA seja reparado. Se isto não for possível, a p53 sinaliza para proteínas reguladoras induzirem a apoptose, a fim de eliminar as células mutantes, como o *bax*, *bcl-2* e *c-myc* (Juan *et al*, 2000; Pillai & Nair, 2000; Moll & Schramm, 1998; Cadewell & Zambetti, 2001; Levine, 1997; Giaccia & Kastan 1998; Bates & Vousden, 1996). A inativação da p53 leva à regulação repressora da ciclina B, proteína que forma um complexo com a CDK1 e apresenta um papel de fator promotor de mitose, regulando a transição de G2 para a fase M no ciclo celular normal. Logo, a inativação da p53 resulta na perda dessas funções (Fehrmann & Laimins, 2003) (figura 2).

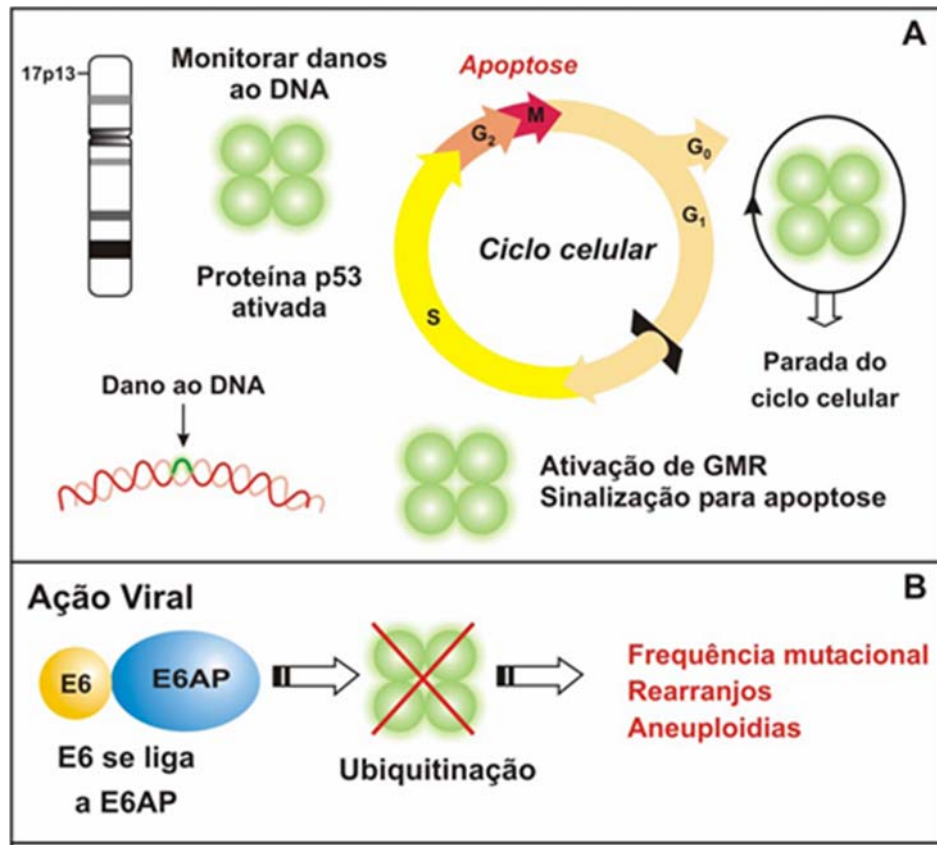


Figura 2 - Ação da proteína p53 sobre o ciclo celular. A - A proteína p53 é codificada pelo gene p53 localizado no cromossomo 17p13. A proteína p53 tem a função de parar o ciclo celular no caso de identificação de danos ao DNA, dessa forma o ciclo para até que o dano seja resolvido. No caso de danos extensos a p53 pode induzir a apoptose. B – A proteína viral E6 se liga a E6AP que funciona como uma ubiquitina, degradando p53. GMR: Genes do mecanismo de reparo (Silva *et al*, 2009).

A proteína E7 induz síntese de DNA em células em repouso. A proteína E7 se liga à forma hipofosforilada da proteína do Retinoblastoma (pRb), resultando em sua inativação funcional. A inativação de pRb permite a progressão funcional para a fase S (síntese) do ciclo celular. A proteína E7 dos tipos de HPV de baixo risco (HPV- 6 e 11) se liga menos eficientemente do que a proteína E7 dos tipos de HPV de alto risco (HPV- 16 e 18) (Rivoire *et al*, 2006).

A expressão da E7, sozinha induz imortalização de queratinócitos humanos. Porém, na presença da proteína E6 ocorre um aumento na frequência do evento. A função principal do

gene E7 dos HPVs de alto risco é desregular o ciclo celular da célula infectada. As proteínas E7 de HPVs de alto-risco são nucleares, contendo aproximadamente 100 aminoácidos e ligam-se às proteínas da família do gene pRb (Sousa, 2008). Essa interação permite que o fator de alongação E2F atue na ativação constitutiva dos fatores transcricionais, o que levaria à progressão do ciclo celular. E7 também forma complexos com ciclinas A e E, bem como provoca inativação de p21 e p27 (Souto *et al*, 2005). A atividade inicial da E7 e sua associação a membros da família do gene Rb facilita a progressão do ciclo celular dentro da fase S. As proteínas pRb apresentam papel importante na regulação do ciclo celular, promovendo a transição da fase G1 a S. Em células normais, a Rb é hipofosforilada durante as fases G0 e G1 e torna-se altamente fosforilada durante as fases S, G2 e M (Sousa, 2008).

A proteína pRb na forma hipofosforilada se liga ao fator de transcrição E2F e reprime a transcrição de promotores contendo sítios E2F. Muitos genes necessários à síntese de DNA, como as que codificam para a DNA polimerase e a timidina-quinase, são transcritos de uma maneira dependente do ciclo celular e regulados por E2F (Grinstein *et al*, 2006). Através da ligação da pRb hipofosforilada, a E7 impede que esta se ligue ao E2F, e, portanto, promove a continuação do ciclo celular. Quando a E7 se liga a pRb, ela impede que essa proteína se ligue ao fator de transcrição E2F, e, com E2F livre, o ciclo celular fica sem controle. Em epitélio normal, a parada do ciclo celular ocorre através do sinal de diferenciação, que é altamente regulado pela proteína pRb. A ligação da E7 com a pRb, promove a continuação do ciclo celular de células epiteliais já diferenciadas, permitindo a replicação de genes do HPV (Rosenblatt *et al*, 2005) (Figura 3).

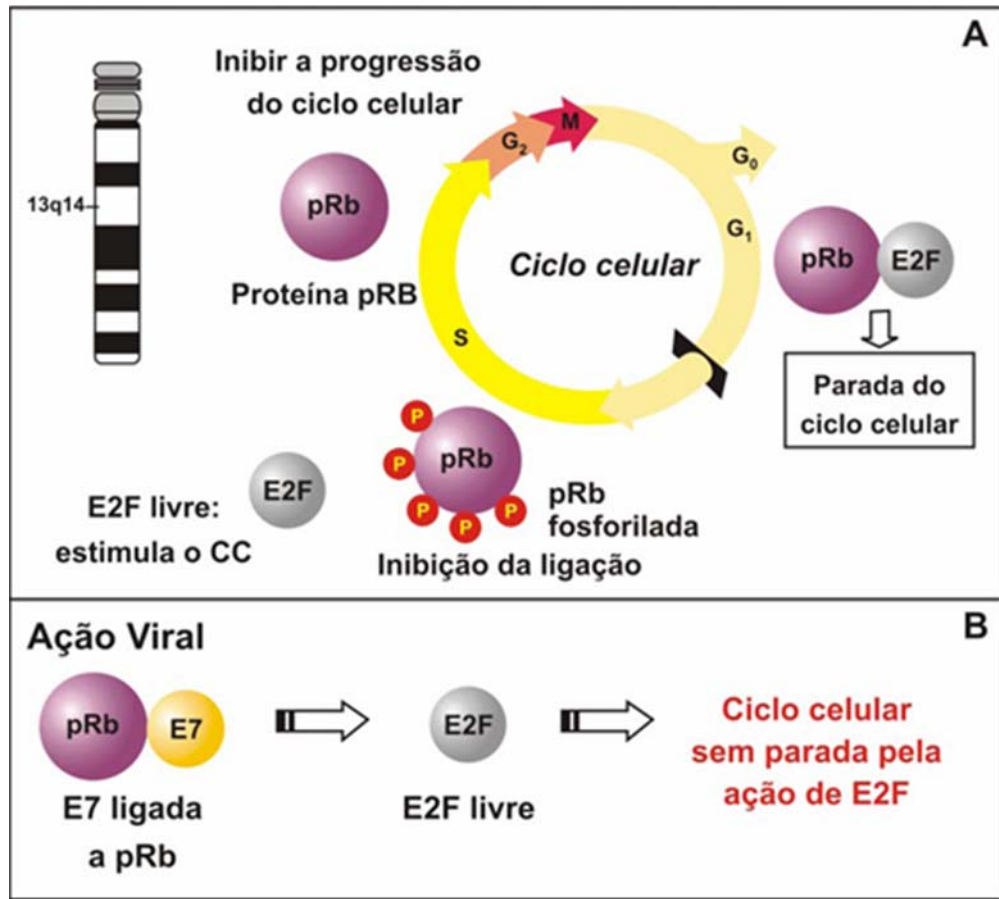


Figura 3 - Ação da proteína pRb sobre o ciclo celular. A – A proteína pRb é codificada pelo gene RB1, localizado no cromossomo 13q14. A ligação da proteína pRb ao fator de transcrição E2F resulta na parada do ciclo celular. A fosforilação de pRb libera E2F que ativa a transcrição de genes alvos para a replicação do genoma. B - A proteína viral E7 se liga a proteína pRb, isso libera E2F, causando um estímulo constante para a divisão celular (Silva *et al.*, 2009).

Em conclusão, a infecção viral promove modificações bioquímicas e moleculares em seus hospedeiros, necessárias para o desenvolvimento e reprodução viral, alterando significativamente a população dos hospedeiros ou a população de células por eles parasitadas, através da interação do genoma viral com o genoma da célula hospedeira ou de proteínas virais com proteínas celulares necessárias ao controle do ciclo celular, desencadeando a morte celular ou agindo como um fator de iniciação e progressão de processos malignos. Este fenômeno pode ocorrer no epitélio peniano e, conseqüentemente, pode ser o mecanismo subjacente ao desenvolvimento de CEC (Carcinoma de Células Escamosas) de pênis em homens infectados por HPV, sobretudo quando os subtipos de alto risco participam da infecção neste sítio anatômico.

1.4. Papilomavírus Humano e sua provável associação ao CEC de Pênis

O câncer de pênis é uma doença rara, sendo o carcinoma de células escamosas (CEC) responsável por 95% dos casos de neoplasias malignas do pênis. Trata-se de uma patologia muito freqüente no Brasil. Dados levantados pelo DATASUS sugerem que o país esteja em segundo lugar no *ranking* mundial da doença, atrás apenas da África. Segundo os dados divulgados pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA), o tumor representa 2% de todos os casos de câncer no homem, sendo mais freqüente nas regiões Norte e Nordeste que nas regiões Sul e Sudeste. Nas regiões de maior incidência, os casos de câncer de pênis superam os casos de cânceres de próstata ou bexiga (Carvalho *et al*, 2007).

A análise epidemiológica dos casos de câncer de pênis indica que, em relação ao perfil sócio-econômico-cultural dos portadores, a neoplasia acomete principalmente homens da classe social e nível de instrução baixos. Os dados publicados sugerem que as áreas de maior incidência mundial estão concentradas nas regiões mais carentes dos países em desenvolvimento. A demora na procura pelo atendimento médico é muito provavelmente em decorrência do baixo nível cultural e sócio-econômico dos pacientes. O diagnóstico tardio da doença é uma variável comum que prejudica o resultado do tratamento. Adicionalmente, a presença de fimose nos portadores do câncer de pênis contribui para a manutenção do HPV como parte da microbiota da glândula, facilitando a infecção do epitélio. Por si só, a presença do prepúcio aumenta o risco de infecção peniana por HPV (De Paula *et al*, 2005).

Atualmente, o Papilomavírus Humano (HPV) é o agente viral mais freqüente no grupo das doenças sexualmente transmissíveis (DST). Como ocorre em toda infecção de transmissão sexual, o homem atua como um vetor importante de transmissão do HPV. A infecção da região genital masculina ocorre quase exclusivamente por via sexual, podendo em certos casos ser devida a fômites – objetos capazes de reter ou transportar agentes contagiantes ou infecciosos – e em muitos casos a infecção masculina é subclínica. O HPV pode permanecer como flora

microbiota no pênis, sem causar infecção aparente em até 10% dos homens sexualmente ativos. Atuando como “portadores” de HPV de alto risco oncogênico, os homens contribuem para aumentar de forma substancial o risco de ocorrência do câncer cervical em suas parceiras. Ainda que menos freqüente, os homens podem desenvolver câncer de pênis ou de ânus (Castellsague *et al*, 2003).

Para se compreender a participação do HPV no desenvolvimento dos carcinomas penianos, as infecções masculinas devem ser avaliadas não apenas em termos de prevalência das infecções sintomáticas, mas também do potencial oncogênico das lesões assintomáticas, pois cerca de 10% dos homens sexualmente ativos na população geral apresentam HPV como parte da microbiota do pênis e até 65% dos parceiros de mulheres HPV positivas ou com alterações no Papanicolau apresentam HPV em associação com amostras teciduais do pênis (Hippeläinen *et al*, 1991).

Apesar de não haver provas inequívocas da associação da infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) e carcinoma de pênis, Gil e colaboradores (2001) relataram que há alguns trabalhos publicados na literatura demonstrando uma taxa de associação de 30% a 50% de HPV, principalmente o tipo 16. Adicionalmente, há relatos demonstraram uma associação do genoma do HPV com lesões benignas e malignas (Pow-Sang *et al*, 2002; Gil *et al*, 2001), levantando considerações sobre o papel do HPV na etiologia do carcinoma peniano.

Pacientes infectados com os tipos virais do HPV 16, 18, 31 e 33 evidenciam que possa haver uma predisposição para o desenvolvimento do carcinoma escamoso de pênis (Reis, 2005), e apesar dos homens serem portadores assintomáticos do vírus, outros podem abrigar lesões intrauretral desconhecidas ao paciente, tornando-se fonte potencial de transmissão aos parceiros (as) sexuais (Teixeira *et al*, 2002; Reis, 2005).

Existem dois (2) tipos de classificação dos tumores penianos, como a graduação de Broders (Micali *et al.*, 2006; Cabanas, 1977) e o estadiamento de Jackson - sistema TNM (Jackson, 1966; Micali *et al.*, 2006). Segundo a graduação de Broders, os tumores são classificados histologicamente em: grau I - bem diferenciado; grau II - moderadamente diferenciado; e grau III – indiferenciado. O sistema TNM leva em consideração o tamanho do tumor e seu grau de infiltração em profundidade (T), a situação dos linfonodos regionais (N), e a presença ou ausência de metástases a distância (M) (Micali *et al.*, 2006).

O índice de associação do carcinoma de pênis com a infecção pelo HPV varia de acordo com a técnica utilizada para a detecção do vírus, uma vez que algumas técnicas podem ser mais sensíveis ou específicas. Em geral, o genoma do HPV é encontrado em aproximadamente 5% a 11% dos casos avaliados pela hibridização *in situ*, 25 a 51% quando se usa a técnica de *Southern blotting* e em até 82% dos casos avaliados por PCR (Sousa, 2008).

1.5. Identificação de Papilomavírus Humano (HPV) através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Os avanços no campo da Genética e Biologia Molecular têm contribuído decisivamente para o estudo desses vírus. O diagnóstico da infecção da mucosa oral por HPV pode ser atingido pelo exame clínico, citológico, biópsia, imunohistoquímica, hibridização do DNA, captura híbrida ou PCR (Oliveira *et al*, 2003; Lancellotti *et al*, 2000). No entanto, de todas as técnicas possíveis, a detecção de DNA do HPV pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é a mais sensível (Oliveira *et al*, 2003). Por PCR é possível identificar e genotipar o tipo do HPV presente em uma amostra biológica com elevadas sensibilidade e especificidade (Tavares *et al*, 2000; Lancellotti *et al*, 2000; Alvarenga *et al*, 2000). A sensibilidade da técnica de PCR permite a detecção de 1 genoma viral em 100.000 genomas celulares (Castro *et al*, 2004).

A PCR é uma técnica *in vitro* que permite a amplificação de seqüências específicas de DNA ou RNA, sendo este último realizado a partir da síntese de ácido desoxirribonucléico complementar (cDNA - .complementary deoxyribonucleic acid.) (Mesquita *et al*, 2001). A PCR foi originalmente descrita por Saiki *et al* (1985) e desde então tem sido utilizada em vários campos da ciência. Esta técnica foi nomeada por Mullis e colaboradores em 1985, apesar de o princípio ter sido descrito com detalhes por Khorana e colaboradores quase dez anos antes (Sousa, 2008).

É uma técnica com alta especificidade e aplicabilidade, com centenas de métodos descritos. A importância deste procedimento está na possibilidade de amplificar o DNA inteiro ou fragmentado por meio de uma reação. Por meio da técnica se tornou possível a amplificação de seqüências de DNA específicas de vários tamanhos e de forma rápida (Sousa, 2008). Esta técnica pode ser utilizada na realização de estudos de DNA obtidos a partir de material fixado em formol e embebidos em parafina, possibilitando assim o seu uso como técnica auxiliar no diagnóstico de rotina e a realização de estudos retrospectivos (Mesquita *et al*, 2001).

A aplicação dos testes moleculares, em especial a PCR, tem auxiliado bastante nos casos de difícil diagnóstico de infecção por HPV. No entanto, a sua aplicação prática na detecção do HPV ainda é discutível, face aos desafios de interpretação de sua positividade e do significado clínico da presença do vírus em amostras biológicas de epitélios mucosos.

Nas últimas décadas, tem sido observado um crescente aumento no número de infectados pelo HPV, tanto em homens quanto em mulheres (Castro *et al*, 2004). Atualmente no Brasil e no mundo, o câncer é considerado um problema de saúde pública. A preocupação da população e, especialmente, dos profissionais e gestores das políticas públicas de saúde, acerca desta doença justifica-se pelas suas elevadas estimativas anuais de incidência, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima para o ano de 2010 cerca de 489.270 casos novos de câncer no Brasil.

Embora as maiores taxas de incidência de câncer sejam encontradas em países desenvolvidos, dos dez milhões de casos novos anuais, cinco milhões e meio são diagnosticados nos países em desenvolvimento, de acordo com Organização Mundial da Saúde (OMS) (Guerra *et al*, 2005). O processo de reorganização global determinou grande modificação nos padrões de distribuição da saúde-doença no mundo. Tal modificação, conhecida como transição epidemiológica, foi caracterizada pela mudança no perfil de mortalidade com diminuição da taxa de doenças infecciosas e aumento concomitante da taxa de doenças crônico-degenerativas, especialmente as doenças cardiovasculares e o câncer (Guerra *et al*, 2005).

A distribuição epidemiológica do câncer no Brasil se enquadra no modelo de transição em andamento, pois, de um lado, tem ocorrido um aumento entre os tipos de câncer normalmente associados aos padrões sócio-econômico elevados (câncer de mama, próstata e cólon e reto) e, simultaneamente, a ocorrência de taxas de incidência persistentemente elevadas de tumores geralmente associados com a pobreza populacional (câncer de colo de útero, pênis, estômago e cavidade oral) (Guerra *et al*, 2005; Koifman & Koifman, 2003).

1.6. Meta-análise

Nas últimas três décadas a produção científica mundial evoluiu de forma exponencial. No Brasil, essa evolução foi mais tardia e, embora não tenha sido homogênea, existem áreas das ciências que ela seguiu o comportamento mundial. Em qual, a produtividade científica é resultado do interesse contínuo global para o desenvolvimento de novas tecnologias, que instigam as ciências básicas a compreender cada vez mais detalhadamente os pressupostos mecanismos e os conceitos subjacentes aos fenômenos científicos. Nesse contexto, o elevado número de publicações se transformou num problema para a seleção, análise e interpretação qualificada da literatura. Por outro lado, a profusão de material cientificamente embasado é necessária, benéfica e fundamental para a evolução do conhecimento (Lovatto *et al*, 2007).

Diante da extensa produção de informação, várias alternativas foram sugeridas para analisá-la e sistematizá-la. Há mais de duas décadas foi proposta a meta-análise como uma estratégia útil para se compreender o significado da informação. A meta-análise pode ser compreendida para além do método, pois trás em si um paradigma, a partir do qual o pesquisador adota um novo enfoque ao reunir resultados e conclusões alheias. Trata-se de um procedimento que combina resultados de vários estudos para compor uma síntese reproduzível e quantificável dos dados. A síntese melhora a potência estatística sobre os resultados das pesquisas isoladas e, portanto torna-se mais precisa na estimação e tamanho do efeito. Assim, a meta-análise permite, em caso de resultados aparentemente discordantes, obter uma visão geral acerca das hipóteses comuns, porém separadamente testadas (Silva, 2009).

O grande volume de informações disponíveis para consulta acaba por dificultar a contextualização do problema e a interpretação enviesada da informação decorrente dos erros da experimentação e análise (Lovatto *et al*, 2007). Ela se distingue da usual revisão bibliográfica, comum na atividade científica, porque nela as técnicas quantitativas assumem lugar de destaque (Luiz, 2002).

O termo "*meta-analysis*" foi incluído entre os descritores em ciências da saúde em 1992. Atualmente o uso do termo permite a identificação de meta-análises publicadas nas bases de dados do *MedLine* e do *Lilacs*, porque, a meta-análise examina, de modo simultâneo, os resultados de várias investigações sobre um mesmo tópico, tornando-se bastante utilizada na área médica na qual, geralmente, geralmente muitos estudos são conduzidos sobre grupos populacionais pequenos, decorrentes ou da raridade do evento ou da reduzida adesão de participantes voluntários para compor o grupo amostral. O emprego de meta-análise também se justifica porque muitos estudos sobre um mesmo tema podem apresentar concordância, enquanto outros são discordantes, gerando desconforto e insegurança acerca das conclusões apresentadas.

No contexto discutido acima, justifica-se a presente meta-análise de estudos de associação entre o HPV e o carcinoma peniano. Por se tratar de um doença rara, há um nível de insegurança grande acerca das inferências estatísticas e as controvérsias apontadas nos estudos isolados. Adicionalmente, devido às limitações psicológicas impostas aos pacientes, em decorrência da doença, a participação nos estudos é bem reduzida, tendo conseqüências diretas na redução dos tamanhos amostrais nos estudos de associação. Assim, no caso específico de CEC peniano e sua correlação com a infecção do epitélio peniano por HPV, uma meta-análise possibilitaria vencer o desafio imposto pela reduzida força estatística próprias dos estudos isolados nesta área de atenção à saúde da população.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Usar a estratégia da meta-análise para sumarizar a evidência de associação entre a infecção por Papilomavírus Humano (HPV) e a ocorrência de Carcinoma Espinocelular (CEC) de pênis.

2.2. Objetivos Específicos:

- Estimar a partir de dados previamente publicados a prevalência de genoma de HPV em CEC de pênis.

- Determinar a frequência percentual dos tipos virais associados aos carcinomas de células escamosas do pênis.

- Realizar uma meta-análise com dados de artigos publicados entre 1989 e 2009 que determinaram a presença de genoma HPV em associação com amostras de CEC de pênis por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).

3 . MATERIAL e MÉTODOS

3.1. Origem dos dados

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica no banco de dados SciELO (*Scientific Electronic Library Online*) e da PubMed do NCBI (*National Center for Biotechnology Information, USA*), entre os anos de 1989 a 2009, combinando os unitermos *penile cancer* (carcinoma peniano) e HPV. No total, foram encontrados 357 artigos que mencionavam a correlação de genoma HPV e o carcinoma de pênis. Do total de artigos encontrados, 37 artigos foram incluídos na presente meta-análise. Foram incluídos, também, 2 dissertações de Mestrado publicamente defendidas e aprovadas em programas de pós-graduação reconhecido nacionalmente pela CAPES (Reis, 2005; Souza, 2008).

3.2. Critérios de Inclusão e Exclusão

A seleção dos artigos seguiu os seguintes critérios de inclusão e exclusão: (1) foram publicados no período de 1989 a 2009, sendo que um artigo foi incluído no estudo devido ao tamanho amostral (Cubilla *et al*, 2010) , (2) eram estudos com pacientes com câncer de pênis confirmados, (3) o tipo de coleta do material a ser investigado era de tecido fresco (biópsia) ou tecido parafinado (fixado em formalina), (4) para a detecção do HPV foram utilizados os *primers* GP5+/6+ ou MY09/11 utilizando-se da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e (5) para a genotipagem foram utilizados *primers* específicos para os HPVs 16 e 18 (alto risco em carcinomas cervicais), também utilizando a técnica de PCR. Além disso, foram excluídos, também, artigos que eram estudos de caso.

A figura 4 ilustra os passos e as tomadas de decisão que resultavam na inclusão ou exclusão de um estudo na presente meta-análise.

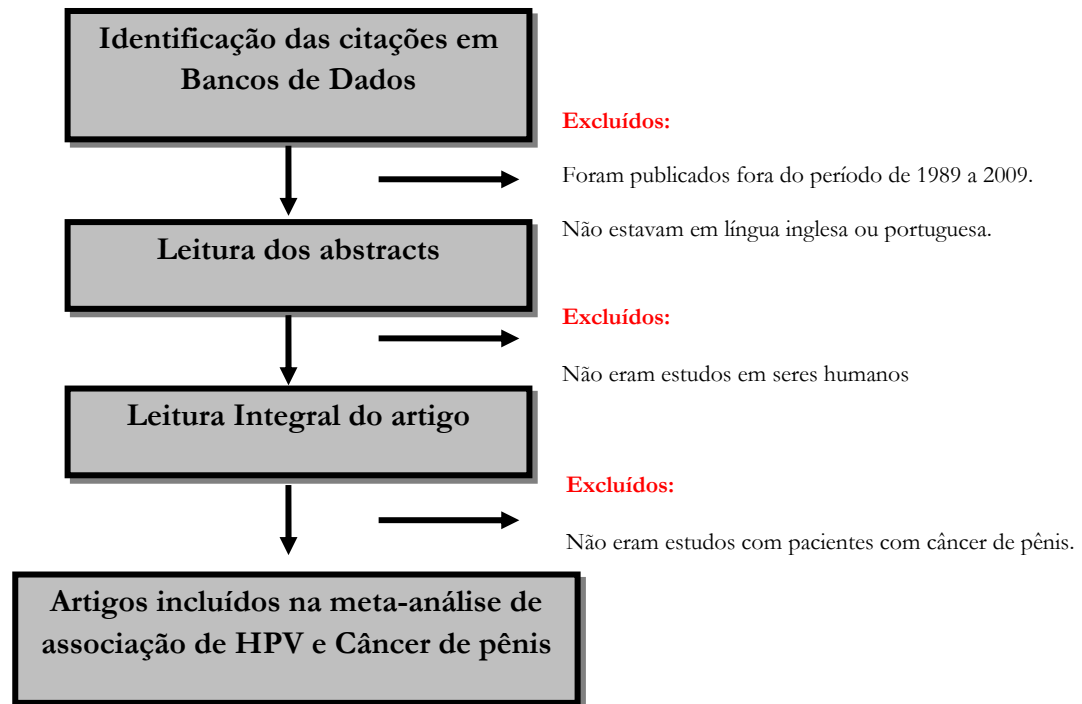


Figura 4 - Critérios de identificação, inclusão e exclusão, dos estudos da meta-análise.

3.3. Extração dos dados

Foram coletados os dados relacionados a seguir: local de realização do estudo, ano e local de publicação, período de coleta das amostras, sítio anatômico estudado, número total de casos, metodologia de detecção e genotipagem, idade dos participantes, estimativas de OR (*Odds Ratios*) com 95% de IC (Intervalo de Confiança).

3.4. Métodos Estatísticos

A heterogeneidade é definida como a diversidade entre os estudos, podendo interferir fortemente nos resultados (Silva, 2009). A diversidade então pode ser avaliada pelo teste do χ^2 (Qui-Quadrado) de heterogeneidade. Assim, as frequências dos tipos de HPVs de todos os artigos foram agrupadas para a comparação das diferentes *Odds Ratios* (ORs), com intervalo de confiança de 95%, determinadas em seus respectivos estudos.

Caso o teste do χ^2 de heterogeneidade revele um *p-valor* > 0,05, a hipótese nula é confirmada, ou seja, os estudos são homogêneos. Recomenda-se então utilizar os testes de efeito fixo que pressupõem que todos os estudos apontam em uma mesma direção (Higgins *et al.*, 2008). Neste contexto, o mais utilizado é o teste de *Mantel-Haenszel* (Ayres *et al.*, 2007). Por outro lado, se o teste do χ^2 de heterogeneidade resultar em um *p-valor* < 0,05, isso indica diversidade e heterogeneidade entre os estudos. Desta forma, recomenda-se o uso de testes de efeito randômico ou aleatório (Zhanga *et al.*, 2008), como os testes de *DerSimonian-Laird* (Jackson *et al.*, 2009; Berman & Parker, 2002).

Os OR e os 95% de IC combinados foram calculados como se fossem dados de um único estudo usando o método de *Mantel-Haenszel*, como modelo de efeito fixo e pelo método de *DerSimonian-Laird*, como modelo de efeito aleatório. Quando os estudos mostravam heterogeneidade significativa, o modelo aleatório era empregado.

Testes globais de associação foram, então, utilizados para avaliar a significância da correlação entre o Papilomavírus Humano e o Câncer de pênis para todos os estudos combinados. Para se estimar o efeito desta associação do vírus com o câncer, os valores de cada estudo foram combinados com testes de efeitos fixo e randômico utilizando o *software* BioEstat® 5.0 (Ayres M *et al.*, 2007).

4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Foram encontrados na literatura um total de quarenta e quatro (44) artigos publicados entre os anos de 1989 e 2009, incluindo 2 dissertações (Cubilla *et al*, 2010; Scheiner *et al*, 2009; Poblet *et al*, 2008; Tornesello *et al*, 2008; Yumura *et al*, 2009; Krustrup *et al*, 2009; Yanagawa *et al*, 2008; Pascual *et al*, 2007; Dorfman *et al*, 2007; Senba *et al*, 2006; Guerrero *et al*, 2008; Prowse *et al*, 2008; Ferreux *et al*, 2003; Lont *et al*, 2006; Gentile *et al*, 2006; Madsen *et al*, 2008; Protzel *et al*, 2007; Salazar *et al*, 2005; Daling *et al*, 2005; Liegl *et al*, 2004; Nasca *et al*, 1999; Nascimento *et al*, 2004; Dianzani *et al*, 2004; Perceau *et al*, 2003; Humbey *et al*, 2003; Rubin *et al*, 2001; Ding *et al*, 1996; Bezerra *et al*, 2001; Picconi *et al*, 2000; Levi *et al*, 1998; Cupp *et al*, 1995; Gregoire *et al*, 1995; Chan *et al*, 1994; Suzuki *et al*, 1994; Maden *et al*, 1993; Iwasawa *et al*, 1993; Wiener *et al*, 1992; Sarkar *et al*, 1992; Varma *et al*, 1991; Kiyabu *et al*, 1989; Shibata *et al*, 1989; Heidman *et al*, 2007; Reis, 2005; Sousa, 2009). Para a presente meta-análise, do total de quarenta e quatro (44) estudos, cinco (5) estudos foram excluídos, pois seus resultados não incluíam os HPVs 16 e/ou 18 entre os tipos virais genotipados (Dianzani *et al*, 2004; Yanagawa *et al*, 2008; Dorfman *et al*, 2007; Yumura *et al*, 2009; Guerrero *et al*, 2008).

Todos os artigos incluídos nesta meta-análise relataram a ocorrência de genótipos tipo-específicos de HPV em casos com diagnósticos confirmados de CEC de pênis. Não foram incluídos na meta-análise artigos que não haviam confirmação do carcinoma, o tipo de obtenção do material para análise não era tecido fresco ou parafinado, exceto em casos em que o material havia sido arquivado nos locais de pesquisa (Hospitais ou Institutos) (Krustrup *et al*, 2009; Prowse *et al*, 2008; Ferreux *et al*, 2003). Outro critério de exclusão foi o uso de uma metodologia diferente da Reação em Cadeia da Polimerase para se detectar a presença do genoma viral na amostra dos tumores, principalmente os tipos de HPV 16 e 18.

Dos trinta e nove (39) estudos totais da presente meta-análise, incluindo as duas (2) dissertações, trinta e seis (36) artigos citaram o tipo de amostra a ser avaliada, 25% (9/36 estudos)

utilizaram material de tecido fresco para análise, enquanto 75% (27/36) utilizaram material de tecido parafinado. Porém, o tipo de biópsia não demonstra associação para a positividade do HPV (Backes *et al*, 2009).

Dos trinta e nove (39) estudos avaliados, dezenove (19) não especificavam os *primers* utilizados na detecção do DNA do HPV, afirmando apenas que havia sido utilizada técnica de PCR com *primers* genéricos para a detecção, sendo incluindo ainda assim nesta meta-análise (Krustrup *et al*, 2009; Prowse *et al*, 2008; Ferreaux *et al*, 2003; Madsen *et al*, 2008; Protzel *et al*, 2007; Salazar *et al*, 2005; Liegl *et al*, 2004; Nasca *et al*, 1999; Ding *et al*, 1996; Gregoire *et al*, 1995; Chan *et al*, 1994; Suzuki *et al*, 1994; Maden *et al*, 1993; Iwasawa *et al*, 1993; Wiener *et al*, 1992; Sarkar *et al*, 1992; Varma *et al*, 1991, Kiyabu *et al*, 1989; Shibata *et al*, 1989).

Outros quatro (4) artigos utilizaram ambos *primers* genéricos MY09/11 e GP5+/6+ para a detecção de DNA do HPV (Scheiner *et al*, 2009; Tornesello *et al*, 2008; Pascual *et al*, 2007; Gentile *et al*, 2006). Enquanto cinco (5) estudos revelaram utilizar somente o *primer* MY09/11 (Daling *et al*, 2005; Nascimento *et al*, 2004; Levi *et al*, 1998; Cupp *et al*, 1995; Reis, 2005), outros cinco (5) estudos utilizaram somente o *primer* GP5+/6+ (Poblet *et al*, 2008; Lont *et al*, 2006; Perceau *et al*, 2003; Sousa, 2009; Heidman *et al*, 2007).

Alguns artigos utilizaram os *primers* GP5/6, sabendo que os *primers* GP5+/6+ é tida como versão extendida ou modificada dos mesmos (Bezerra *et al*, 2001; Picconi *et al*, 2000). Os demais artigos utilizaram outros *primers* para a detecção de DNA de HPV, a saber: o *primer* SPF10 (Cubilla *et al*, 2010; Senba *et al*, 2006; Rubin *et al*, 2001) e o *primer* FAP59/64 (Humbey *et al*, 2003).

A figura 5 ilustra a distribuição percentual dos *primers* utilizados para a detecção de DNA de HPV associado ao genoma de células de CEC de pênis.

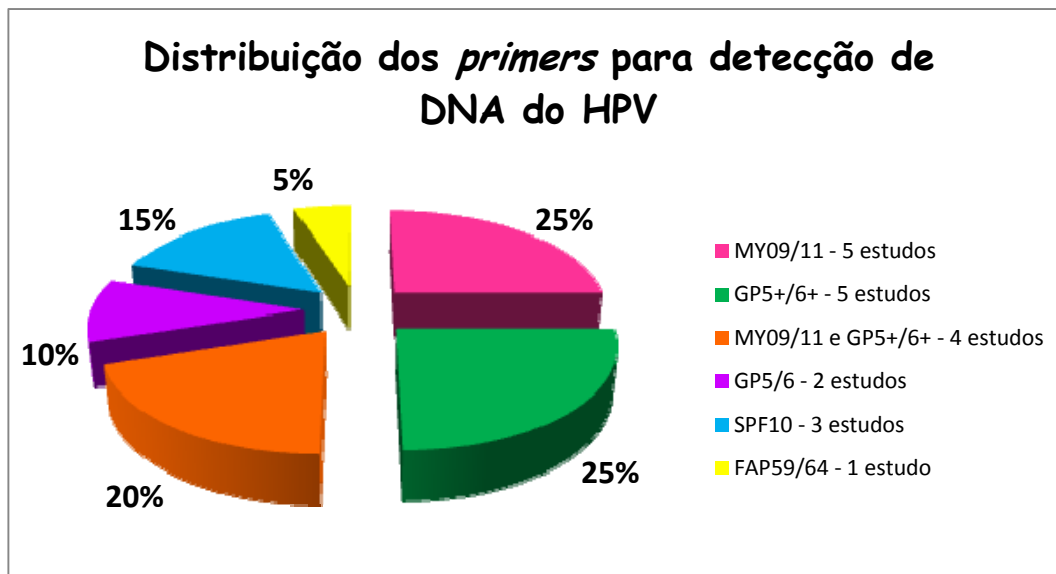


Figura 5 - Gráfico de distribuição percentual dos *primers* utilizados para a detecção de DNA do HPV associado ao genoma de célula de CEC de pênis.

Poblet e colaboradores (2008) discutem que a utilização dos *primers* GP5+/GP6+ ou MY09/11 apresentam maior eficiência na amplificação de DNA de HPV em relação ao *primer* SPF10. Enquanto Pascual e colaboradores (2007) sugerem que os *primers* MY09/11 são ainda mais sensíveis em relação ao conjunto GP5+/6+. No entanto, os mesmos autores afirmam que a combinação dos dois conjuntos de *primers* promove um aumento na eficácia de detecção do número total de casos de HPV por PCR. Além disso, o conjunto de *primers* MY09/11, utilizados como *primers* externos por Tornesello e colaboradores (2008), demonstrou ser significativamente mais sensível na genotipagem de HPV em amostras de mucosas e, em particular, na detecção de HPV 16 considerado de alto risco carcinogênico.

A presença de DNA do HPV em carcinomas penianos detectados por PCR convencional (Tabela 4) foi demonstrada em 1269 casos de CEC de pênis de um total de 2230 pacientes avaliados, representando o equivalente a 57% dos casos. A Tabela 4 mostra, ainda, a prevalência dos HPVs de alto risco oncogênico 16 e/ou18 - totalizarem 802 casos de 1269 casos positivos

para HPV, correspondendo a 63,2%. O HPV 16 foi o genótipo mais comum entre os casos detectados, representando 88,4% (709/802). A prevalência dos genótipos de HPV encontrados em associação com as amostras de CEC peniano encontra-se descrita na Figura 6.

Prevalência de DNA de HPV em CEC penianos detectados por PCR convencional.

Estudo (nome do 1º autor)	Amostra	n HPV	HPV Alto risco oncogênico	HPV 16	HPV 18
Cubilla	202	64/202	50	46	4
Krustrup	145	86/145	78	78	-
Madsen	71	37/71	22	22	-
Scheiner	80	58/80	13	12	1
Protzel	19	19/19	5	5	-
Poblet	2	2/2	1	1	-
Prowse	26	14/26	7	7	-
Tornesello	43	41/43	19	18	1
Pascual	49	38/49	36	32	4
Senba	88	77/88	43	1	42
Lont	171	171/171	40	37	3
Gentile	11	8/11	7	5	2
Salazar	57	38/57	38	38	-
Daling	137	109/137	75	75	-
Liegl	5	5/5	5	5	-
Nascimento	16	6/16	1	1	-
Ferreux	53	16/53	15	15	-
Perceau	17	6/17	3	3	-

Humbey	45	30/45	9	9	-
Rubin	142	60/142	38	36	2
Bezerra	82	25/82	13	13	-
Picconi	34	24/34	19	8	11
Nasca	4	3/4	3	3	-
Levi	84	47/84	18	15	3
Ding	28	17/28	17	14	3
Gregoire	117	26/117	23	23	-
Cupp	45	23/45	19	17	2
Chan	41	6/41	6	4 (2 co- infecção com HPV 18)	4 (2 co-infecção com HPV 16)
Suzuki	13	7/13	4	4	-
Maden	67	33/67	23	23	-
Iwasawa	111	70/111	70	68	2
Wiener	29	9/29	9	8	1
Sarkar	12	9/12	9	9	-
Varma	23	20/23	15	15	-
Kiyabu	5	2/5	2	2	-
Shibata	6	6/6	6	4	2
Reis	38	1/35	1	1	-
Sousa	29	10/29	13	10	3
Heideman	83	46/83	27	24	3
TOTAL:	2230	1269 (57%)	802 (63,2%)	709 (88,4%)	93 (11,6%)

Tabela 2 - Prevalência de DNA de HPV em carcinomas penianos detectados por PCR convencional.

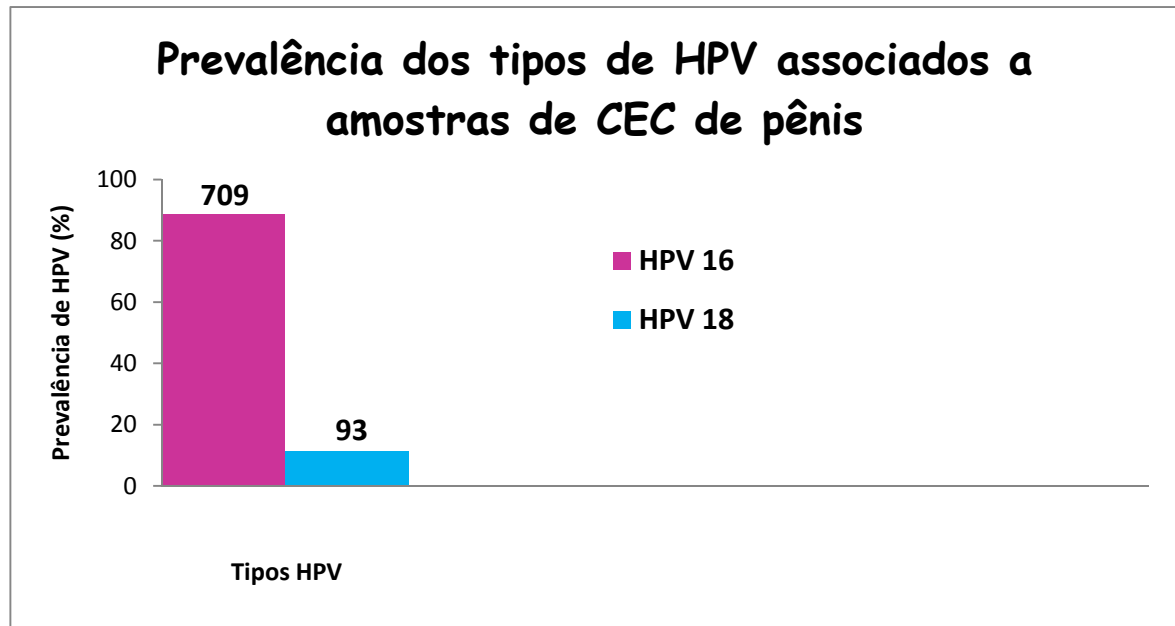


Figura 6 – Gráfico da Prevalência dos tipos de HPV 16 e 18 associados a amostras de CEC de pênis.

Observa-se, na figura 6, que apenas os tipos de HPV 16 e 18 foram descritos seguindo os critérios de inclusão para a meta-análise. Entretanto, outros tipos de HPV foram relatados e discutidos pelos autores, não demonstrando presença exclusiva daqueles tipos.

Como pôde ser observado, o HPV do subtipo 16, considerado de alto risco oncogênico em mucosas, demonstra forte presença nos carcinomas penianos, quando detectados pela técnica de PCR, representando um total de 88,4% de todas as infecções relatadas pelos artigos avaliados na meta-análise.

Heidman e colaboradores (2007) descrevem como sendo bastante evidente o papel do HPV 16 no desenvolvimento do carcinoma peniano. Discute, ainda, que o HPV 16 presente nas infecções penianas por HPV, é observada a partir da análise da expressão gênica característica da região expressa pelo HPV 16 e também pela alta carga viral. Embora os indivíduos que desenvolvem carcinoma peniano mostram ter maior exposição prévia aos demais tipos de HPV,

não há evidências suficientes que determinam que outros tipos de HPV superem o papel desenvolvido pelo HPV 16 na carcinogênese de pênis.

É notável a importância do HPV 16 na etiologia do carcinoma peniano, visto que a transmissão sexual do HPV evidencia uma grande contaminação pelos subtipos de alto risco oncogênico, representado pelo HPV 16 em 92%, como o trabalho de Madsen e colaboradores (2008). Assim também foi observado em outros trabalhos, como o de Daling e colaboradores (2005), onde encontraram a presença do HPV 16 em 69% dos tumores infectados pelo HPV, e os achados de Pascual e colaboradores (2007), cuja infecção por HPV 16 representou o equivalente a 65% do total de HPVs de alto risco oncogênico.

Prowse e colaboradores (2008), enfatizam que os HPVs de alto risco estão relacionados a pelo menos 50% dos processos tumorais envolvendo câncer de pênis, principalmente o HPV 16. Além disso, ele sugere a implantação de estratégias que envolvem vacinas baseadas nos genes expressos por esses subtipos, de forma a prevenir os cânceres cervicais.

Já o HPV 18 foi observado em maior quantidade no trabalho de Senba e colaboradores (2006), apesar de relatos prévios da prevalência do HPV 16. Da mesma forma, o HPV 18 esteve mais presente nos resultados observados por Picconi e colaboradores (2000), embora a diferença em relação ao grupo amostral não tenha sido muito significativa, onde de um total de vinte e quatro (24) amostras com HPV detectados, oito (8) estavam infectados pelo HPV 16 e outros onze (11) pelo HPV 18.

Assim, após realizada análise dos artigos, os mesmos foram submetidos à avaliação de *Odds Ratio* (OR) com os intervalos de confiança de 95% (IC 95%). Os gráficos gerados na meta-análise são do tipo *forest plot*. Neste tipo de gráfico, cada linha representa um estudo, sendo que a última, no formato de um losango, representa a combinação dos resultados. O resultado de cada estudo é descrito nas formas gráfica e numérica. Na forma gráfica, os *quadrados* centrais

representam o risco relativo (RR) ou a razão de riscos e os *traços*, os intervalos de confiança (IC). Quando o IC não ultrapassa a linha de nulidade (posição 1.0 no gráfico), pode-se afirmar que o estudo é estatisticamente significativo, tanto isoladamente quanto para o valor combinado. Quanto maior for o grupo amostral considerado no estudo, mais estreitos serão os ICs e maiores serão as áreas dos quadrados, evidenciando resultados mais precisos e maior contribuição para a meta-análise (Silva AMTC, 2009).

No contexto das meta-análises, é importante avaliar a heterogeneidade entre os estudos agrupados, pois a natureza distinta dos diferentes estudos, em termos de delineamento e em relação aos métodos empregados em cada um é o principal obstáculo na combinação de resultados (DerSimonian & Laird, 1986). Assim, a heterogeneidade pode ser de três tipos: clínica, metodológica ou estatística. Com o intuito de minimizar estes parâmetros, definem-se com alargada precisão os critérios de inclusão e exclusão (Silva, 2009).

Para infecção com os tipos de HPV 16 e 18, obteve-se o gráfico *forest plot* para meta-análise para verificar a associação entre os tipos virais 16 e 18 e o carcinoma de pênis nos 39 estudos analisados.

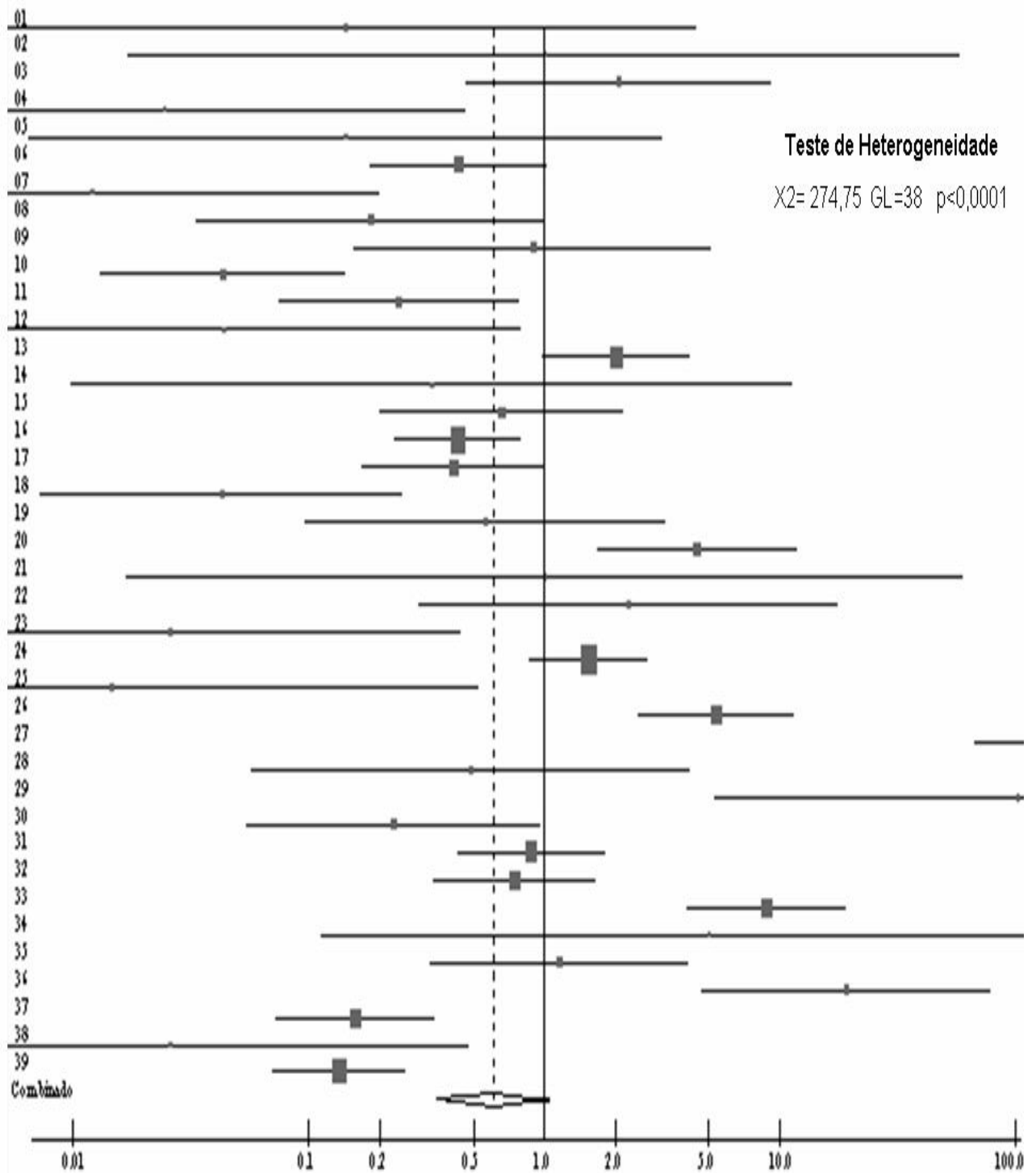


Figura 7 - Odds ratios (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) entre detecção de HPV e genotipagem para HPVs de alto risco oncogênico 16 e 18 nos estudos com o teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativos (Teste de DerSimonian-Laird).

Legenda:

- | | | |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| 1- Kiyabu et al., 1989 | 2- Shibata et al., 1989 | 3- Varma et al., 1991 |
| 4- Wiener et al., 1992 | 5- Sarkar et al., 1992 | 6- Maden et al., 1993 |
| 7- Iwasawa, 1993 | 8- Chan et al., 1994 | 9- Suzuki et al., 1994 |
| 10- Gregoire et al., 1995 | 11- Cupp et al., 1995 | 12- Ding et al., 1996 |
| 13- Levi et al., 1998 | 14- Nasca et al., 1999 | 15- Picconi et al., 2000 |
| 16- Rubin et al., 2001 | 17- Bezerra et al., 2001 | 18- Meijer et al., 2003 |
| 19- Perceau et al., 2003 | 20- Humbey et al., 2003 | 21- Lieg et al., 2004 |
| 22- Nascimento et al., 2004 | 23- Salazar et al., 2005 | 24- Daling et al., 2005 |
| 25- Reis et al., 2005 | 26- Senba et al., 2006 | 27- Lont et al., 2006 |
| 28- Gentile et al., 2006 | 29- Protzel et al., 2007 | 30- Pascual et al., 2007 |
| 31- Heideman et al., 2007 | 32- Madsen et al., 2008 | 33- Scheiner et al., 2008 |
| 34- Poblet et al., 2008 | 35- Prowse et al., 2008 | 36- Tornesello et al., 2008 |
| 37- Krustrup et al., 2009 | 38- Sousa et al., 2009 | 39- Cubilla <i>et al</i> et al., 2010 |

A Figura 7 mostra um resumo de todos os artigos, com seus respectivos testes do χ^2 de heterogeneidade, indicando o *p-valor*, que determina o tipo de teste utilizado na meta-análise. Os testes de verificação da associação entre o HPV e o carcinoma peniano, foram de efeito randômico de *DerSimonian-Laird*. Todos os valores de *p*, na meta-análise, revelaram presença de associação significativa entre as variáveis estudadas ($p < 0,0001$), em relação aos tipos de HPV 16 e 18.

Quando analisados os subtipos de HPV de alto risco oncogênico isolados, sobre mesma avaliação de *Odds Ratios* com IC 95%, não se percebe a mesma correlação entre o carcinoma peniano e a presença do HPV. O HPV 16 evidencia, diante da meta-análise, uma forte correlação na etiologia e alta prevalência nos HPV's presentes nos carcinomas penianos, observado na figura 8. Porém, a prevalência do HPV 18, também considerado de alto risco oncogênico em mucosas,

não demonstrou correlação direta ao carcinoma peniano nos estudos analisados, como demonstrado na figura 9.

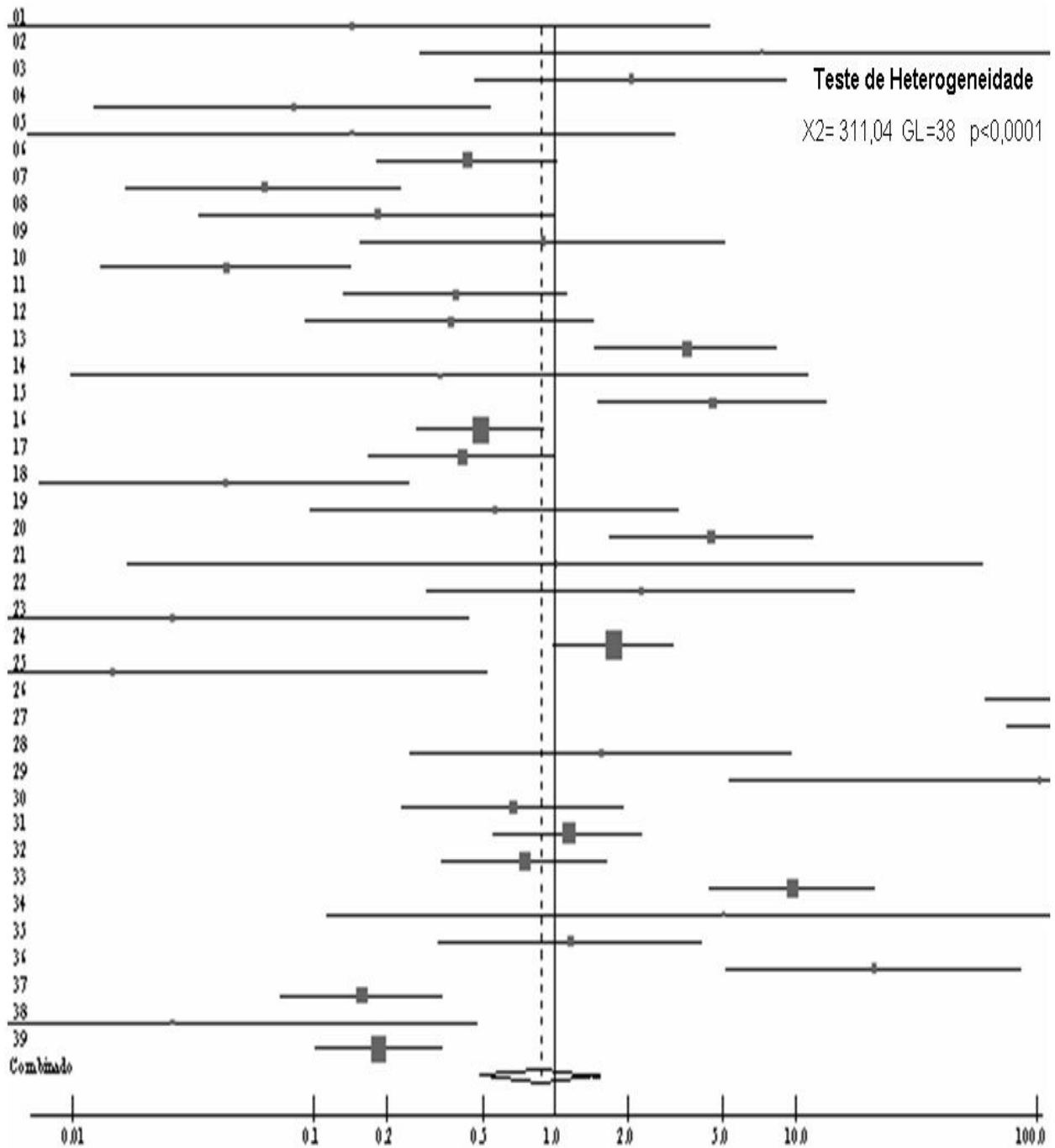


Figura 8 - Odds ratios (OR) e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para o HPV 16 nos estudos analisados com o teste do Qui-quadrado de heterogeneidade significativos (Teste de *DerSimonian-Laird*).

Larissa Fernandes de Carvalho - 2010

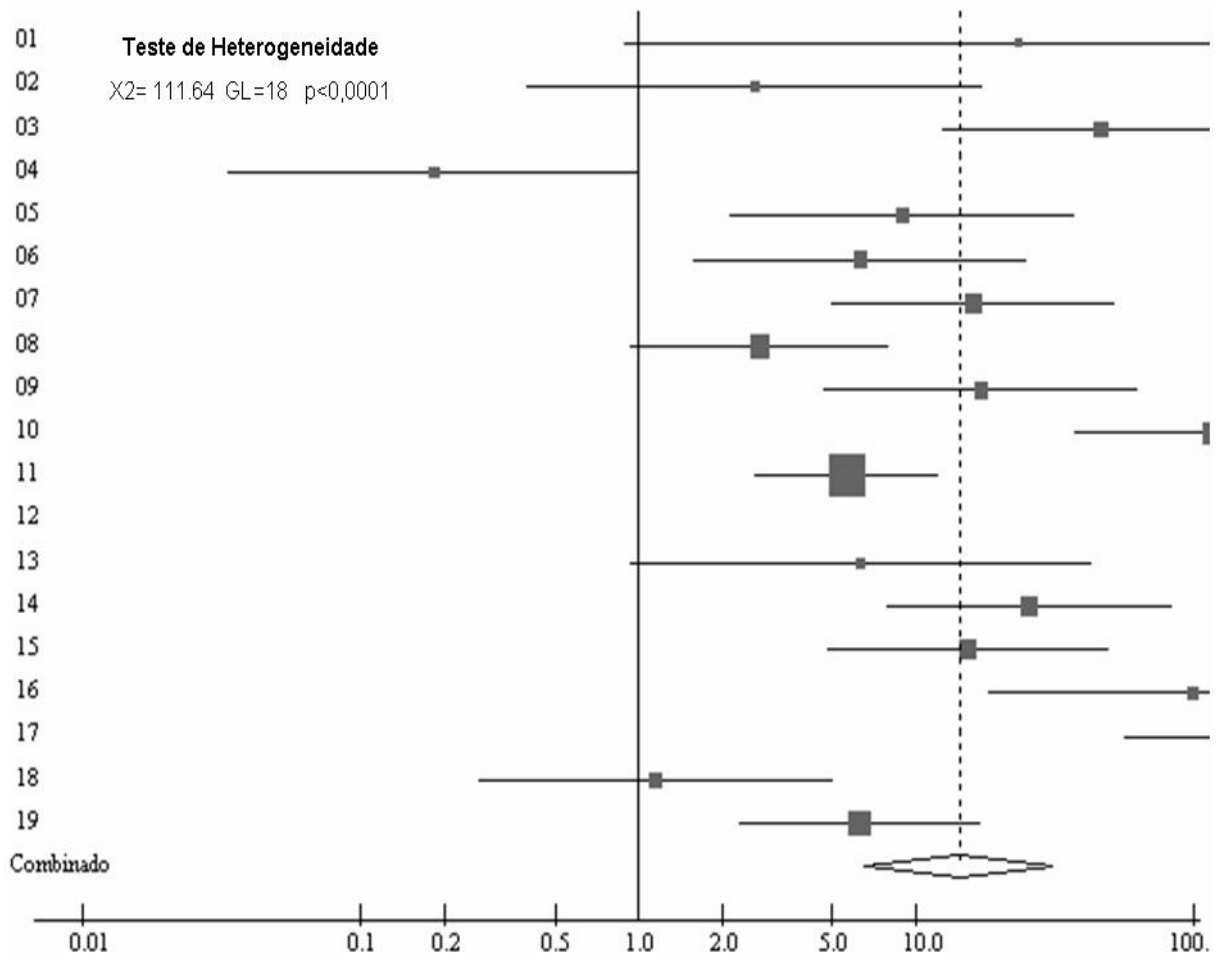


Figura 9 - Gráfico forest plot para meta-análise para verificar a associação entre o tipo viral 18 e o câncer de pênis nos 19 estudos analisados. Visto que foram excluídos 20 artigos, por não apresentarem genotipagem do HPV 18.

A meta-análise demonstra que os dados combinados indicam diferença entre os grupos estudados pelo teste do Qui-quadrado de heterogeneidade, sendo o valor de $p<0,0001$. Pode-se observar que o IC dos estudos combinados não ultrapassa a linha de nulidade, permitindo assim afirmar que os estudos foram considerados estatisticamente significativos. Neste contexto, os dados apresentados combinados (HPV 16 e 18, de alto risco oncogênico) demonstram a associação entre o HPV e o risco relativo ao desenvolvimento de câncer.

5. CONCLUSÃO

Apesar de sua reconhecida utilidade, como qualquer método ou técnica, a meta-análise pode ser mal utilizada, levando a conclusões errôneas ou tendenciosas. Ela tem o seu nicho de aplicação e nele deve ser utilizada, pois oferece vantagens óbvias quanto à relação custo/benefício na pesquisa.

O importante é ter em mente que, apesar de não ser possível, no estrito sentido do termo, aleatorizar os dados que comporão uma meta-análise, deve-se procurar garantir que a forma de escolha dos ensaios a serem incluídos, a ocorrência de dados discrepantes, a heterogeneidade associada ao ambiente de coleta e a presença de causas de variação não controladas, não contaminem de forma tendenciosa o conjunto a ser estudado.

É importante ressaltar, neste contexto, que as instituições e empresas de pesquisa devem se ocupar do armazenamento, sobretudo correto e seguro, dos seus maiores patrimônios, os dados brutos gerados pelos seus projetos de pesquisa. Isso porque, os dados brutos representarão uma riquíssima fonte de matéria-prima para futuras investigações que poderão levar a novas ou diferentes conclusões.

No presente estudo de associação entre o HPV e o carcinoma peniano, observa-se que os artigos em questão apresentam heterogeneidade, embora tendem a ser significativos quando combinados em relação a IC 95%. Assim, pode-se concluir que a associação entre Câncer de pênis e HPV não se confirmam pelo teste de *DermonSaimonian-Laird* (meta-análise).

Diante da presente meta-análise e da avaliação dos estudos, é possível concluir que o HPV está fortemente associado ao carcinoma peniano, principalmente o HPV do tipo 16 de alto risco oncogênico em mucosas. Fica claro, também, que estudos isolados apresentam certa insegurança nos resultados das inferências estatísticas, devido ao fato de ser tratar de uma doença rara e por apresentarem um grupo amostral reduzido. Além disso, é importante que se façam

valer os achados no presente estudo por apresentar uma força estatística maior em relação aos estudos isolados, visando o desenvolvimento de alternativas e estratégias de prevenção e cuidados com o câncer.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Aaltonen LM, Rihkanen H, Vaheri A.: *Human papillomavirus in larynx. Laryngoscope* 2002; 112:700-7.
- 2 - Aires MM.: *Fisiologia Guanabara Koogan*, 1999.
- 3 - Alvarenga GC, Sá EMM, Passos MRL, Pinheiro VMS.: *Papilomavírus humano e carcinogênese no colo do útero. J Bras Doenças sex transm* 2000; 12 (1):28-38.
- 4 - Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL, Santos AS.: *BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá* 2007; p.132-214.
- 5 - Baccard-Longère M, Alpha-Bazin B, Chypre C, Sauvaigo S, Téoule R, Bernard P, Seigneurin JM.: *Fast solid support detection of human papillomavirus in in vitro amplified DNA using a DNP-anti DNP monoclonal antibody couple. J Virol Methods.* 1994; 46(1):29-38.
- 6 - Backes DM, Kurman RJ, Pimenta JM, Smith JS. *Systematic review of human papillomavirus prevalence in invasive penile cancer. Cancer Causes Control* 2009; 20:449-457.
- 7 - Bates S, Vousden KH.: *p53 in Signalling checkpoint arrest or apoptosis. Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 12-19.

- 8 - Berman NG, Parker RA.: *Meta-analysis: neither quick nor easy. BMC Medical Research Methodology* 2002; 2:10.
- 9 - Beutner KR, Tyring S.: *Human papillomavirus and human disease. Am J Med* 1997; 102: 9-15.
- 10 - Bezerra AL, Lopes A, Santiago GH, Ribeiro KC, Latorre MR, Villa LL. *Human papillomavirus as a prognostic factor in carcinoma of the penis: analysis of 82 patients treated with amputation and bilateral lymphadenectomy. Cancer* 2001; 91:2315–2321.
- 11 - Burd EM.: *Human Papillomavirus expression in oral mucosa premalignant conditions and squamous cell carcinoma: a retrospective review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82:57-68.
- 12 - Cabanas RM.: *An approach for the treatment of penile carcinoma. Câncer* 1977; 39: 456-66.
- 13 - Cadwell C, Zambetti GP.: *The effects of wild-type p53 tumor suppressor activity and mutant p53 gain of function on cell growth. Gene* 2001; 277: 15-30.
- 14 - Camargos AF, Hugo de Melo V.: *Ginecologia ambulatorial. Coopamed Belo Horizonte* 2001; p. 397-400.
- 15 - Carvalho NS, Kannenberg AP, Munaretto C, Yoshioka Danila, Absy MCV, Ferreira MA, Filho RT.: *Associação entre HV e câncer peniano: revisão de literatura. J bras Doenças Sex Transm* 2007; 19(2): 92-9.

- 16 - Castellsague X, Bosch FX, Muñoz N.: *The male role in cervical cancer. Salud pública Méx* 2003; 45 (3): 345-353.
- 17 - Castro TMPG, Neto CER, Scala KA, Scala WA.: *Manifestações Oraís associada ao papilomavírus humano (HPV) conceitos atuais: revisão bibliográfica. Rev Bras Otorrinolaringol* 2004; 70(4): 546-50.
- 18 - Catalona WJ. *Role of lymphadenectomy in carcinoma of the pênis. Urol Clin North Am* 1980; 7: 785-92.
- 19 - Chen YC, Hunter DJ.: *Molecular epidemiology of cancer. CA Cancer J Clin* 2005; 55: 45-54; quiz 57.
- 20 - Chan KW, Lam KY, Chan AC, Lau P, Srivastava G. *Prevalence of human papillomavirus types 16 and 18 in penile carcinoma: a study of 41 cases using PCR. J Clin Pathol* 1994; 47:823– 826.
- 21 - Cubilla AL, Lloveras B, Alejo M, Clavero O, Chaux A, Kasamatsu E, Velazquez EF, Lezcano C, Monfuleda N, Tous S, Alemany L, Klaustermeier J, Muñoz N, Quint W, de Sanjose S, Bosch FX. *The basaloid cell is the best tissue marker for human papillomavirus in invasive penile squamous cell carcinoma: a study of 202 cases from Paraguay. Am J Surg Pathol.* 2010; 34(1):104-14.
- 22 - Cunha DMC, Silva AMTC, Curado MP, da Silva CC, da Cruz AD.: *Detecção do genoma de HPV em pacientes com carcinoma espino-celular da laringe: Comparação entre os ensaios de PCR convencional e em tempo real. RBAC* 2007; 39(4): 255-257.

23 - Cupp MR, Malek RS, Goellner JR, Smith TF, Espy MJ. *The detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in intraepithelial, in situ, verrucous and invasive carcinoma of the penis. J Urol* 1995; 154:1024–1029.

24 - Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG et al. *Penile cancer: importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in in situ and invasive disease. Int J Cancer* 2005; 116:606– 616.

25 - De Paula AAP, Netto JCA, da Cruz AD, Junior RF.: *Carcinoma epidermóide do pênis: considerações epidemiológicas, histopatológicas, influência viral e tratamento cirúrgico. Revista Brasileira de Cancerologia* 2005; 51(3): 243-252.

26 - DerSimonian R, Laird N.: *Meta-analysis in clinical trials. Controlled Clinical Trials* 1986; 7:177-88.

27 - Dianzani C, Calvieri S, Pierangeli A, Degener AM. *Identification of human papilloma viruses in male dysplastic genital lesions. New Microbiol* 2004; 27:65–69.

28 - Ding Q, Zhang Y, Sun S. *Role of PCR and dot bolt hybridization in the detection of human papillomavirus of the penile cancer. Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 1996; 34(1):19-21.

29 - Dorfman S, Cavazza M, Cardozo J. *Penile cancer associated with so-called low-risk human papilloma virus. Report of five cases from rural Venezuela. Trop Doct* 2006; 36:232–233.

30 - Droller MJ. *Carcinoma of the pênis an overview. Urol Clin North Am* 1980; 7: 783-4.

- 31 - Elenbaas B, Spirio L, Koerner F, Fleming MD, Zimonjic DB, Donaher JL, Popescu NC, Hahn WC, Weinberg RA.: *Human breast cancer cells generated by oncogenic transformation of primary mammary epithelial cells. Genes Dev* 2001; 15:50-65.
- 32 - Fehrmann F, Laimins LA.: *Human Papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. Oncogene* 2003; 22: 5201–5207.
- 33 - Ferreux E, Lont AP, Horenblas S, Gallee MP, Raaphorst FM, von Knebel Doeberitz M, Meijer CJ, Snijders PJ. *Evidence for at least three alternative mechanisms targeting the p16INK4A/cyclin D/Rb pathway in penile carcinoma, one of which is mediated by high-risk human papillomavirus. J Pathol.* 2003; 201(1):109-18.
- 34 - Fraley EE, Zhang G, Sazama R, Lange PH. *Câncer of the pênis Prognosis and treatment plans. Câncer* 1985; 55: 1618-24.
- 35 - Gentile V, Vicini P, Giacomelli L, Cardillo MR, Pierangeli A, Degener AM. *Detection of human papillomavirus DNA, p53 and ki67 expression in penile carcinomas. Int J Immunopathol Pharmacol* 2006; 19:209–215.
- 36 - Giaccia AJ, Kastan MB.: *The Complexity of p53 modulation: emerging patterns from divergent signals. Genes Dev* 1998; 12: 2973-2983.
- 37 - Gil AO, Pompeo ACL, Goldstein PJ, Saldanha LB, Mesquita JLB, Arab S.: *Analysis of the association between Human Papillomavirus with penile carcinoma. Braz J Urol* 2001; 27: 461-468.

38 - Gowdak D, Gowdak LH.: *Atlas de Anatomia Humana*. Ed. FTD 1989.

39 - Gregoire L, Cubilla AL, Reuter VE, Haas GP, Lancaster WD. *Preferential association of human papillomavirus with high-grade histologic variants of penile-invasive squamous cell carcinoma. J Natl Cancer Inst* 1995; 87:1705–1709.

40 - Grinstein E, Shan Y, Karawajew L, Snijder JFP, Meijer JLMC, Royer H-D, Liebermann.: *p53 Involvement in control of G2 exit of the Cell Cycle: Role in DNA Damage – Induced Apoptosis. Oncogene* 1995; 10: 2263-2270.

41 - Guerra MR, Gallo CVM, Mendonça GAS.: *Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. Revista Brasileira de Cancerologia* 2005; 51(3): 227-234.

42 - Guerrero D, Guarch R, Ojer A, Casas JM, Ropero S, Mancha A, Pesce C, Lloveras B, Garcia-Bragado F, Puras A. *Hypermethylation of the thrombospondin-1 gene is associated with poor prognosis in penile squamous cell carcinoma. BJU Int.* 2008; 102(6):747-55.

43 - Hausen HZ.: *Papillomavirus infection: a major cause of human cancers. Bioch Biophys Acta* 1996; 1288(2): F55-F78, 1996.

44 - Hausen HZ.: *Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. J Natl Canc Inst* 2000; 92:690-8.

45 - Heideman DAM, Waterboer T, Pawlita M, Diemen PD, Nindl I, Leijte JA, Bonfrer JMG, Horenblas S, Meijer CJLM, Snijders PJF. *Human Papillomavirus-16 Is the Predominant Type Etiologically Involved in Penile Squamous Cell Carcinoma. J Clin Oncol* 2005; 25:4550- 556.

46 - Higgins JPT, White IR, Wood AM.: *Imputation methods for missing outcome data in meta-analysis of clinical trials. Clinical Trials* 2008; 5:225-39.

47 - Hippeläinen M, Yliskoski M.: *Genital human Papilomavirus lesions of male sexual partners: the diagnostic accuracy of peniscopy. Genitourin Med* 1991; 67:291-296.

48 - Humbey O, Cairey-Remonnay S, Guerrini JS et al. *Detection of the human papillomavirus and analysis of the TP53 polymorphism of exon 4 at codon 72 in penile squamous cell carcinomas. Eur J Cancer* 2003; 39:684–690.

49 - Hussaim, SP, Harris, CC.: *Molecular epidemiology of human cancer: contribution of mutation spectra studies of tumor suppressor genes. Cancer Res* 1998; 58: 4023-4037.

50 - Instituto Nacional do Câncer - INCA.: *Estimativa da Incidência e Mortalidade por Câncer no Brasil 2008. (<http://www.inca.gov.br/conteudo>)*. Acessado em 20/05/2009.

51 - Iwasawa A, Kumamoto Y, Fujinaga K. *Detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in penile carcinoma by polymerase chain reaction and in situ hybridization. J Urol* 1993; 149:59–63

52 - Jackson D, White IR, Thompson SG.: *Extending DerSimonian and Laird's methodology to perform multivariate random effects meta-analyses. Statistics in Medicine* 2009

- 53 - Jackson SM.: *The treatment of carcinoma of the pênis. Br J Surg* 1966; 53: 33-5.
- 54 - Juan LJ, Shia WJ, Chen MH, Yang NM, Seto E, Lin YS, Wu CW.: *Histone Deacetylases Specifically Down – Regulated p53 – Dependent Gene Activation. J Biol Chem* 2000; 275(27): 20436-20443.
- 55 - Kanodia S, Fahey LM, Kast WM.: *Mechanisms Used by Human Papillomaviruses to Escape the Host Immune Response. Current Cancer Drug Targets* 2007; 7: 79-89.
- 56 - Kelley ML, Keiger KE, Lee CJ, Huibregtse JM.: *The global transcriptional effects of the human papillomavirus E6 protein in cervical carcinoma cell lines are mediated by the E6AP ubiquitin ligase. J Virol* 2005; 79: 3737-47.
- 57 - Kiyabu MT, Shibata D, Arnheim N, Martin WJ, Fitzgibbons PL. *Detection of human papillomavirus in formalin-fixed, invasive squamous carcinomas using the polymerase chain reaction. Am J Surg Pathol* 1989; 13:221–224.
- 58 - Koifman S, Koifman R.: *Environment and cancer in Brazil: an overview from a public health perspective. Mutat Res* 2003; 544(2-3):305-11.
- 59 - Krustrup D, Jensen HL, van den Brule AJ, Frisch M. *Histological characteristics of human papilloma-virus-positive and –negative invasive and in situ squamous cell tumours of the penis. Int J Exp Pathol.* 2009; 90(2):182-9.
- 60 - Lam KY, Chan ACL, Chan KW, Leung ML, Srivastava G.: *Expression of p53 and its relationship with human papiliomavirus in penile carcinomas. European Journal / Surgical Oncoloq* 1995; 21 : 613-616.

- 61 - Lancellotti CLP, Levi JE, Silva MALG, Schwarzschild M, Nicolau SM. In: Carvalho JJM, Oyakawa N.: *I Consenso Brasileiro do HPV. BG Cultural* 2000; 4:45-60.
- 62 - Levi JE, Rahal P, Sarkis AS, Villa L. *Human papillomavirus DNA and p53 status in penile carcinomas. Int J Cancer* 1998; 76:779–783.
- 63 - Levine AJ.: *p53 the Cellular Gatekeeper for growth and division. Cell* 1997; 88: 323-331.
- 64 - Liegl B & Regauer S. *Penile clear cell carcinoma: a report of 5 cases of a distinct entity. Am J Surg Pathol.* 2004; 28(11):1513-7.
- 65 - Lovatto P.A.; Lehnen C.R.; Andretta I.; Carvalho A.D.; Hauschild L.: *Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. R. Bras. Zootec* 2007; 36 (0).
- 66 - Lont AP, Kroon BK, Horenblas S et al. *Presence of highrisk human papillomavirus DNA in penile carcinoma predicts favorable outcome in survival. Int J Cancer* 2006; 119:1078–1081.
- 67 - Luciana A, Jaime EB, Vera RAV. *O câncer do colo do útero, o Papilomavírus Humano (HPV) e seus fatores de risco e as mulheres indígenas Guarani: estudo de revisão. RBAC* 2006; 38(2): 87-90.
- 68 - Luiz AJB.: *Meta-análise: definição, aplicações e sinergia com dados espaciais. Cadernos de Ciência & Tecnologia* 2002; 19(3): 407-428.

69 - Maden C, Sherman KJ, Beckmann AM, Hislop TG, Teh CZ, Ashley RL, Daling JR. *History of circumcision, medical conditions, and sexual activity and risk of penile cancer. J Natl Cancer Inst.* 1993; 85(1):19-24.

70 - Madsen BS, van den Brule AJ, Jensen HL, Wohlfahrt J, Frisch M. *Risk factors for squamous cell carcinoma of the penis--population-based case-control study in Denmark. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008; 17(10):2683-91.

71 - Mesquita RA, Anzai EK, Oliveira RN, Nunes FD. *Avaliação de três métodos de extração de DNA de material parafinado para amplificação de DNA genômico e a técnica da PCR. Pesqui Odontol Bras* 2001; 15 (4): 314-319.

72 - Micali G, Nasca MR, Innocenzi D, Schwartz RA.: *Penile Cancer* 2006; 54: 369-91

73 - Moll UM, Schramm LM.: *p53: Na acrobat in tumorigenesis. Crit Ver Oral Biol Med* 1998; 9: 23-37.

74 - Nasca MR, Innocenzi D, Micali G. *Penile cancer among patients with genital lichen sclerosus. J Am Acad Dermatol* 1999; 41:911-914.

75 - Nascimento PS, Ornellas AA, Campos MM, Scheiner MA, Fiedler W, Alves G. *Bax and bcl-2 imbalance and HPB infection in penile tumors and adjacent tissues. Prog Urol* 2004; 14:353-359.

76 - Nishikawa T, Kobayashi H, Shindoh M, Yamashita T, Fujinaga K, Ohkawara A.: *A case of verrucous carcinoma associated with human papillomavirus type 16 DNA. J Dermatol* 1993; 20(8):483-8.

77 - Oliveira MC, Soares RC, Pinto LP, Costa A. de L.L.: *HPV e carcinogênese oral: revisão bibliográfica. Rev Bras Otorrinolaringologia* 2003; 69(4): 553-9.

78 - Pascual A, Pariente M, Godínez JM et al. *High prevalence of human papillomavirus 16 in penile carcinoma. Histol Histopathol* 2007; 22:177–183

79 - Perceau G, Derancourt C, Clavel C et al. *Lichen sclerosus is frequently present in penile squamous cell carcinomas but is not always associated with oncogenic human papillomavirus. Br J Dermatol* 2003; 148:934–938.

80 - Pereyra EAG & Parellada CI. *Entendendo melhor a infecção pelo Papilomavírus Humano. Manual Schering* 2003.

81 - Picconi MA, Eijan AM, Distefano AL et al. *Human papillomavirus (HPV) DNA in penile carcinomas in Argentina: analysis of primary tumors and lymph nodes. J Med Virol* 2000; 61:65–69.

82 - Pillai MR, Kang MK.: *Development of a condemned mucosa Syndrome and pathogenesis of Human Papillomavirus – associated upper aerodigestive tract and uterine cervical tumors. Exp Mol Pathol* 2000; 69(3): 233-241.

83 - Pinto AP, Tulio S, Cruz OR.: *HPV cofactors in cervical carcinogenesis. Rev Assoc Med Bras* 2002; 48: 73-8.

84 - Poblet E, Pascual A, Godínez JM, Pariente-Martín M, Escario E, García-Olmo DC.: *Human papillomavirus-associated penile sarcomatoid carcinoma. J Cutan Pathol* 2008; 35(6):559-65.

85 - Pow-Sang MR, Benavente V, Pow-Sang JE, Morante C, Meza L, Baker M, Pow-Sang JM. *Cancer of the penis. Cancer Control* 2002, 9 (4): 305-314.

86 - Protzel C, Kakies C, Kleist B, Poetsch M, Giebel J. *Down-regulation of the metastasis suppressor protein KAI1/CD82 correlates with occurrence of metastasis, prognosis and presence of HPV DNA in human penile squamous cell carcinoma. Virchows Arch.* 2008; 452(4):369-75.

87 - Prowse DM, Ktori EN, Chandrasekaran D, Prapa A, Baithun S. *Human papillomavirus-associated increase in p16INK4A expression in penile lichen sclerosus and squamous cell carcinoma. Br J Dermatol.* 2008; 158(2):261-5.

88 - Reis AAS.: *O papel do Papiloma Vírus Humano na carcinogênese dos tumores de pênis: uma abordagem epidemiológica e molecular.* (Dissertação de Mestrado em Genética) Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, 2005 – Goiânia.

89 - Rivoire WA, Corleta HVE, Brum IS, Capp E.: *Biologia molecular do câncer cervical. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant* 2006; 6(4): 447-451.

90 - Rocha DAP, de Souza LB, Pinto LP.: *Análise comparativa da proliferação celular entre carcinomas de células escamosas orais HPV-positivos e HPV-negativos. J Bras Patol Med Lab* 2007; 43 (4):269-274.

91 - Rosenblatt C, Wroclawski ER, Lucon AM, Pereyra EAG.: *HPV na Prática Clínica. Ed Atheneu* 2005. 7-23.

- 92 - Rothman K. *Modern Epidemiology*; 1986. Boston/Toronto: Little, Brown and Company.
- 93 - Rubin MA, Kleter B, Zhou M, Ayala G, Cubilla AL, Quint WGV, Pirog EC.: *Detection and Typing of Human Papillomavirus DNA in Penile Carcinoma: Evidence for Multiple Independent Pathways of Penile Carcinogenesis. American Journal of Pathology* 2001; 159(4).
- 94 - Saiki RK, Scharf S, Faloona FA. *Enzymatic amplification of b globin sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anaemia. Science* 1985; 230 (4732): 1350-1354.
- 95 - Salazar EL, Mercado E, Calzada L. *Human papillomavirus hpv-16 DNA as an epitheliotropic virus that induces hyperproliferation in squamous penile tissue. Arch Androl.* 2005; 51(4):327-34.
- 96 - Sarkar FH, Miles BJ, Plieth DH, Crissman JD. *Detection of human papillomavirus in squamous neoplasm of the penis. J Urol* 1992; 147:389-392
- 97 - Sarruf MBJ, Dias EP.: *Avaliação Citopatológica da cavidade bucal em pacientes portadores de infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV). J Bras Doenças Sex Trans* 1997; 9(2):4-18.
- 98 - Scheffner M, Whitaker NJ.: *Human papillomavirus-induced carcinogenesis and the ubiquitin-proteasome system. Cancer Biology* 2003; 13:59-67.

99 - Scheiner MA, Campos MM, Ornellas AA, Chin EW, Ornellas MH, Andrada-Serpa MJ. *Human papillomavirus and penile cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV typing and clinical features. Int Braz J Urol.* 2008; 34(4):467-74.

100 - Scully C.: *Oral squamous cell carcinoma: from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. Oral Oncol* 2002; 38:227-34.

101 - Shibata DK, Arnheim N, Martin WJ. *Detection of human papilloma virus in paraffin-embedded tissue using the polymerase chain reaction. J Exp Med.* 1988; 167(1):225-30.

102 - Silva AMTC.: *O polimorfismo do gene p53^{72(RP)} no câncer de cabeça e pescoço: estudo de associação e meta-análise.* (Dissertação de Doutorado em Genética) Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, 2009 – Goiânia.

103 - Silva CC; da Silva Jr. RL; Silva AMTC, da Cruz AD.: *Análise do Polimorfismo do Gene TP53 e Infecção por HPV em Pacientes com Carcinoma das Células Escamosas da Laringe* 2003.

104 - Senba M, Kumatori A, Fujita S et al. *The prevalence of human papillomavirus genotypes in penile cancers from northern Thailand. J Med Virol* 2006; 78:1341–1346.

105 - Sousa AFM.: *Detecção e genotipagem de Papilomavírus Humano em tumores de pênis.* (Dissertação de Mestrado em Genética) Departamento de Biologia da Universidade Católica de Goiás, 2008 – Goiânia.

106 - Souto R, Falhari JPB, Cruz AD.: *O Papilomavírus Humano: um fator relacionado com a formação de neoplasias. The Human papillomavirus: a factor related with the formation of neoplasias. Revista Brasileira de Cancerologia* 2005; 51(2): 155-160

107 - Sugermann PB, Shillitoe EJ.: *The high risk human papillomaviruses and oral câncer; evidence for and against a causal relationship. Oral Dis* 1997; 3(3): 130-47.

108 - Suzuki H, Sato N, Kodama T *et al.* *Detection of human papillomavirus DNA and state of p53 gene in Japanese penile cancer. Jpn J Clin Oncol* 1994; 24:1-6

109 - Stubenrauch F, Laimins LA.: *Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. Cancer Biol* 1999; 9:379-86.

110 - Tavares RR, Passos MRL, Cavalcanti SMB, Pinheiro VMS, Rubinstein I.: *Condiloma genital em homens e soropositividade para HIV. DST- J Bras Doenças sexualmente transmissíveis* 2000; 12(1): 4-27.

111 - Teixeira JC, Derchain SFM, Teixeira LC, dos Santos CC, Panetta K, Zeferino LC.: *Avaliação do parceiro sexual e risco de recidivas em mulheres tratadas por lesões geniais por HPV. Revista Bras de ginecologia e obstetrícia* 2002; 24(5): 315-320.

112 - Teraï M, Takagi M.: *Human papillomavirus in the oral cavity. J Oral Med Pathol* 2001; 6:1-12.

113 - Tornesello ML, Duraturo ML, Losito S *et al.* *Human papillomavirus genotypes and HPV16 variants in penile carcinoma. Int J Cancer* 2008; 122:132-137.

- 114 - Varma VA, Sanchez-Lanier M, Unger ER et al. *Association of human papillomavirus with penile carcinoma: a study using polymerase chain reaction and in situ hybridization. Hum Pathol* 1991; 22:908–913.
- 115 - Villa LL.: *Human papillomaviruses and cervical cancer. Adv Canc Res.*1997; 71:321-41.
- 116 - Tornesello ML, Duraturo ML, Losito S, Botti G, Pilotti S, Stefanon B, De Palo G, Gallo A, Buonaguro L, Buonaguro FM.: *Human papillomavirus genotypes and HPV16 variants in penile carcinoma. Int J Cancer.* 2008; 1;122(1):132-7.
- 117 - Weinberg RA.: *How cancer arises. Sci Am* 1996; 275: 62-70.
- 118 - Wiener JS, Effert PJ, Humphrey PA, Yu L, Liu ET, Walther PJ. *Prevalence of human papillomavirus types 16 and 18 in squamous-cell carcinoma of the penis: a retrospective analysis of primary and metastatic lesions by differential polymerase chain reaction. Int J Cancer* 1992; 50:694–701.
- 119 - World Health Organization (Organização Mundial da Saúde).: *Policies and managerial guidelines for national cancer control programs. Rev Panam Salud Publica* 2002; 12(5):366-70.
- 120 - Yanagawa N, Osakabe M, Hayashi M, Tamura G, Motoyama T. *Detection of HPV-DNA, p53 alterations, and methylation in penile squamous cell carcinoma in Japanese men. Pathol Int.* 2008; 58(8):477-82.
- 121 - Young ID.: *Genética Médica. Guanabara Koogan* 2007.

122 - Yumura Y, Hattori Y, Noda H, Kondo K, Noguchi K, Sasaki T, Kasuga J, Kubota Y. *The relationship between human papillomavirus (HPV) infection and penile cancer. Hinyokika Kyo* 2009; 55(11):671-5.

123 - Zhanga Z, Fud G, Wanga M, Tongc N, Wangb S, Zhanga Z.: *P53 codon 72 polymorphism and ovarian cancer risk: a meta-analysis. Journal of Nanjing Medical University* 2008; 22(5):279-85.

7. ANEXOS

Anexo 1 - Termo de ciência e autorização para utilização da figura 1



Serviço Público Federal

Universidade Federal de Goiás

Programa de Pós-Graduação em Biologia



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS FIGURAS DE DISSERTAÇÃO DEFENDIDA NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COM ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GENÉTICA NA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG)

Na qualidade de titular dos direitos de autora, autorizo LARISSA FERNANDES DE CARVALHO a utilizar as figuras que compõe a dissertação: ***O papel do papilomavírus humano na carcinogênese dos tumores de pênis: uma abordagem epidemiológica e molecular***, defendida no Programa de Pós-Graduação em Biologia (Mestrado) com Área de Concentração em Genética pelo Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Goiás (UFG), gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, citação bibliográfica, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Angela Adamski da Silva Reis				
E-mail:	angeladamski@gmail.com				
Agência de fomento:	Não houve				
País:	Brasil			Sigla:	--
Título:	UF:	GO	CNPJ:	-----	
O Papel do papilomavírus humano na carcinogênese dos tumores de pênis: uma abordagem epidemiológica e molecular					
Palavras-chave: HPV, PCR, Câncer de Pênis, Sobrevida, Educação, DST					
Área de concentração: Genética					
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	12/05/2005				
Programa de Pós-Graduação:	BIOLOGIA (ICB)				
Orientador (a):	Aparecido Divino da Cruz				
E-mail:	acruz@pucgoias.edu.br				

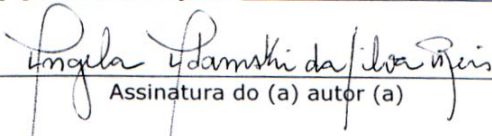
3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização? total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

Capítulos. Especifique: _____

Outras restrições: _____


Assinatura do (a) autor (a)

Data: 12/05/2010

Anexo 2 - Resultados de Odds Ratios (OR), Intervalo de confiança e valor de p para cada um dos estudos isolados.

2.1. Meta-análise de efeito aleatório (HPV 16 e 18)

- Meta-análise: Efeito Aleatório -				
Amostra	Odds	IC Inf.	IC Sup.	Peso
01	0.1430	0.0050	4.4690	0.3240
02	1.0000	0.0170	58.4390	0.2320
03	2.0780	0.4670	9.2570	1.7220
04	0.0240	0.0010	0.4640	0.4430
05	0.1430	0.0060	3.1610	0.4010
06	0.4340	0.1820	1.0350	5.0860
07	0.0120	0.0010	0.2000	0.4870
08	0.1830	0.0330	1.0040	1.3270
09	0.8970	0.1560	5.1530	1.2580
10	0.0430	0.0130	0.1440	2.6530
11	0.2410	0.0740	0.7820	2.7740
12	0.0430	0.0020	0.7970	0.4540
13	2.0200	0.9810	4.1580	7.3710
14	0.3330	0.0100	11.3400	0.3090
15	0.6580	0.2000	2.1650	2.7090
16	0.4290	0.2310	0.7940	10.0940
17	0.4110	0.1670	1.0100	4.7470
18	0.0430	0.0070	0.2510	1.2220
19	0.5650	0.0970	3.3060	1.2310
20	4.4530	1.6740	11.8440	4.0150
21	1.0000	0.0170	59.9980	0.2290
22	2.2700	0.2910	17.6920	0.9110
23	0.0260	0.0010	0.4400	0.4750
24	1.5420	0.8600	2.7640	11.2730
25	0.0140	0.0000	0.5270	0.2970
26	5.3450	2.4900	11.4710	6.5860
27	1113.6910	67.8490	18280.4910	0.4910
28	0.4860	0.0570	4.1700	0.8310
29	102.8180	5.2550	2011.7980	0.4340
30	0.2290	0.0540	0.9690	1.8510
31	0.8790	0.4270	1.8110	7.3630
32	0.7490	0.3380	1.6590	6.0750
33	8.7630	4.0250	19.0790	6.3460
34	5.0000	0.1130	220.6370	0.2680
35	1.1600	0.3280	4.1040	2.4060
36	19.1540	4.6620	78.7000	1.9240
37	0.1570	0.0720	0.3440	6.2990
38	0.0260	0.0010	0.4820	0.4460
39	0.1340	0.0690	0.2570	8.9690
Combinado	0.6130	0.3510	1.0700	

2.2. Meta-análise de efeito aleatório (HPV 18)

- Meta-análise: Efeito Aleatório HPV 18 -				
Amostra	Odds	IC Inf.	IC Sup.	Peso
01	23.4000	0.8930	613.0200	0.3600
02	2.6260	0.3930	17.5330	1.0660
03	46.5470	12.4470	174.0720	2.2080
04	0.1830	0.0330	1.0040	1.3270
05	8.9820	2.1460	37.5950	1.8740
06	6.3040	1.5790	25.1660	2.0050
07	16.1050	5.0020	51.8530	2.8100
08	2.7390	0.9410	7.9720	3.3660
09	17.1600	4.6370	63.5070	2.2430
10	116.9100	37.3250	366.1830	2.9470
11	5.6290	2.6250	12.0730	6.5980
12	16513.0000846.4450	322146.4360		0.4350
13	6.3140	0.9280	42.9660	1.0450
14	25.6670	7.8650	83.7580	2.7460
15	15.4110	4.7790	49.6990	2.8020
16	99.6670	18.3460	541.4500	1.3410
17	448.2000	56.5530	3552.1030	0.8960
18	1.1540	0.2640	5.0380	1.7680
19	6.2610	2.2980	17.0580	3.8240
Combinado	14.3350	6.5160	31.5340	

2.3. Meta-análise de efeito aleatório (HPV 16)

- Meta-análise: Efeito Aleatório risco HPV 16 -				
Amostra	Odds	IC Inf.	IC Sup.	Peso

01	0.1430	0.0050	4.4690	0.3240
02	7.2220	0.2760	189.2040	0.3600
03	2.0780	0.4670	9.2570	1.7220
04	0.0820	0.0120	0.5460	1.0660
05	0.1430	0.0060	3.1610	0.4010
06	0.4340	0.1820	1.0350	5.0860
07	0.0620	0.0170	0.2320	2.2080
08	0.1830	0.0330	1.0040	1.3270
09	0.8970	0.1560	5.1530	1.2580
10	0.0430	0.0130	0.1440	2.6530
11	0.3880	0.1330	1.1310	3.3560
12	0.3670	0.0920	1.4660	2.0050
13	3.5120	1.4610	8.4400	4.9960
14	0.3330	0.0100	11.3400	0.3090
15	4.5290	1.5090	13.5910	3.1820
16	0.4920	0.2670	0.9060	10.3240
17	0.4110	0.1670	1.0100	4.7470
18	0.0430	0.0070	0.2510	1.2220
19	0.5650	0.0970	3.3060	1.2310
20	4.4530	1.6740	11.8440	4.0150
21	1.0000	0.0170	59.9980	0.2290
22	2.2700	0.2910	17.6920	0.9110
23	0.0260	0.0010	0.4400	0.4750
24	1.7560	0.9870	3.1240	11.5670
25	0.0140	0.0000	0.5270	0.2970
26	343.6960	60.8970	1939.7920	1.2830
27	1230.2270	74.8560	20218.3800	0.4900
28	1.5450	0.2480	9.6260	1.1480
29	102.8180	5.2550	2011.7980	0.4340
30	0.6700	0.2300	1.9500	3.3610
31	1.1390	0.5570	2.3300	7.4940
32	0.7490	0.3380	1.6590	6.0750
33	9.6720	4.3830	21.3420	6.1330
34	5.0000	0.1130	220.6370	0.2680
35	1.1600	0.3280	4.1040	2.4060
36	21.0860	5.1260	86.7440	1.9200
37	0.1570	0.0720	0.3440	6.2990
38	0.0260	0.0010	0.4820	0.4460
39	0.1850	0.1000	0.3430	10.1750
Combinado	0.8740	0.4900	1.5570	
