

DETECÇÃO DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO E VÍRUS EPSTEIN-BARR EM LESÕES MALIGNAS DO TRATO GENITAL MASCULINO

DETECTION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS AND EPSTEIN-BARR VIRUS IN MALIGNANT LESIONS OF THE MALE GENITAL TRACT

Aluna: Larissa Alves Afonso – **Orientadora:** Dra. Sílvia Maria Baeta Cavalcanti – **Banca:** Dra. Ledy do Horto dos Santos Oliveira – MIP/UFF, Dra Alcina Nicol – IOC/FIOCRUZ, Dr. Mauro Romero Leal Passos – Setor de DST/UFF

Curso: Mestrado em Microbiologia da Universidade Federal Fluminense – **Dia da defesa:** 28/02/2011

RESUMO

O câncer de pênis é um tumor raro. Entretanto, seu curso, física e psicologicamente mutilante, e os decepcionantes resultados terapêuticos situam-no entre os mais perigosos tumores humanos. Nos últimos anos, evidências se acumularam definindo o HPV como agente etiológico do câncer cervical. Entretanto, poucos estudos sobre a etiologia do câncer de pênis vêm sendo conduzidos em todo o mundo. Alguns genótipos do HPV têm sido encontrados em cerca de 40 a 70% dos carcinomas penianos, com maior prevalência de HPV 16 e 18. Acredita-se que a presença de cofatores, em especial o HIV e o vírus Epstein-Barr (EBV), possa ter um papel na progressão a esta neoplasia. O EBV é associado a diversas doenças malignas na população humana e especula-se sobre seu envolvimento na carcinogênese anogenital. O objetivo desse projeto foi determinar a prevalência do HPV em lesões malignas de pênis provenientes de pacientes atendidos no Hospital do INCA. Simultaneamente, avaliamos a presença do EBV como possível agente associado ao câncer de pênis. Para tanto, utilizamos a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e de polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição (RFLP). Foram selecionados 135 pacientes entre os anos de 2005 e 2010 do INCA. A média de idade foi de 58,5 anos. A infecção pelo HPV foi detectada pela PCR usando *primers* genéricos MY09/MY11. As amostras foram em seguida submetidas à PCR tipo-específica para detecção dos HPV 16, 18, 33, 35, 45 e 58 e as não tipadas foram então submetidas à técnica de RFLP. Das 135 amostras de carcinoma de pênis, 82 foram MY-positivas (60,7%): 27 apresentaram HPV 16 (29,7%), cinco, HPV 18 (5,5%), 21, HPV 45 (23,1%) e nove, HPV 6 (9,9%). Foram observadas sete infecções mistas (9,2%). Onze casos foram indeterminados (HPV X) (13,4%). Em relação ao EBV, 46,7% das amostras de carcinoma foram positivas, sendo o EBV 1 o mais prevalente (74,6%). Trinta e seis amostras de carcinoma foram positivas tanto para HPV como para EBV (34,1%). Foi analisado o grau de diferenciação do câncer, mas sua relação com o *status* ou tipo de HPV e/ou EBV não teve significância estatística ($p > 0,05$). Também não foi verificada significância estatística entre a idade dos pacientes e a prevalência viral. As taxas de detecção do HPV 16 descritas nesse estudo estão de acordo com a literatura mundial, que o descreve como o HPV mais prevalente, tanto no câncer de pênis quanto no câncer cervical. Uma alta frequência do HPV 45 e uma queda na frequência do HPV 18, aqui descritas, também têm sido vistas em estudos de prevalência de HPV em câncer cervical, apontando uma nova tendência de circulação destes genótipos no mundo. A possibilidade de sinergismo entre o EBV e o HPV para iniciar os eventos da carcinogênese já foi sugerida para o câncer cervical. Em nossas amostras, o EBV foi detectado em todos os tipos de lesões estudadas, inclusive em carcinomas *in situ* e não invasivos, o que sugere que sua presença não é decorrente de uma infecção/reactivação tardia, mas sim acompanha a história natural do câncer. Vale ressaltar que a etiologia do câncer de pênis ainda não foi totalmente elucidada, e o HPV e o EBV continuam sendo considerados agentes controversos; assim, mais estudos são necessários para comprovar ou refutar essa possível associação, especialmente agora que há vacinas profiláticas para o HPV comercialmente disponíveis.

Palavras-chave: câncer de pênis, HPV, EBV, PCR, DST

ABSTRACT

Penile cancer is an uncommon and potentially mutilating disease. Although its occurrence is relatively rare worldwide, it can be high in some developing countries. In the last years, evidence has accumulated pointing an etiological oncogenic role for HPV in cervical cancer. Nevertheless, few studies have been conducted concerning HPV involvement in penile carcinoma. Specific HPV genotypes have been described in 40 to 70% of penile malignant lesions, with a higher prevalence of HPV 16 and 18. It is assumed that the presence of cofactors, mainly coinfections with HIV or Epstein-Barr virus (EBV) can play a role in the progression of penile neoplasia. EBV has been linked to several human malignancies and studies have proposed its involvement in anogenital carcinogenesis. The objective of this study was to determine HPV prevalence in penile malignant lesions obtained from patients attended at the National Cancer Institute. Simultaneously, we evaluated the presence of EBV as a possible agent associated with penile carcinoma. To achieve results, Polymerase Chain Reaction (PCR) and the Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP) were used. A hundred thirty-five samples were selected from 135 patients attended at INCA between 2005 and 2010. Patients mean age was 58.5 years old. HPV infection was demonstrated by using generic MY09/11 PCR. Samples were then typed by specific PCR using primers for HPV 16, 18, 33, 35, 45 and 58. Undetermined types were submitted to RFLP analysis. From the 135 samples, 82 were MY(+) (60.7%): 27 presented HPV 16 (29.7%), 5 HPV 18 (5.5%), 21 HPV 45 (23.1%) and 9 HPV 6 (9.9%). Seven mixed infections were detected (9.2%). Eleven cases remained untyped (HPVX) (13.4%). Regarding EBV, 46.7% samples presented EBV DNA, EBV-1 was the most prevalent type (74.6%). Thirty-six samples were coinfecting by both HPV and EBV (34.1%). We investigated the possible correlation between the histological grade of the lesions with HPV and EBV DNA, but no statistical significance was found ($p > 0.05$). Concerning the age of the studied patients, no clear association was observed for either HPV or EBV. HPV 16 prevalence rates here described are in agreement with worldwide literature, that places HPV 16 as the most frequent HPV in cervical as well as in penile cancer. A high HPV 45 prevalence associated to a small HPV 18 detection were observed by our group, showing a new trend in these viruses circulation, a data recently described also for cervical cancer cases worldwide. The possible synergistic action of HPV and EBV viruses in carcinogenesis establishment has been suggested for cervical carcinoma. In our samples, EBV was equally detected in all lesions subtypes, including *in situ* carcinoma and non-invasive verrucous carcinomas, suggesting that its presence might not be due to a late infection/reactivation, but can accomplish cancer natural history. It is worth noting that penile carcinoma etiology has not been fully elucidated and HPV and EBV are still controversial agents. Hence more studies are needed to confirm or refuse their possible role in carcinogenesis, mainly nowadays when prophylactic HPV vaccines are available.

Keywords: penile cancer, HPV, EBV, PCR, STD