



UFG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

LARISSE SILVA DALLA LIBERA

**DETECÇÃO E DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA DO
PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM CARCINOMAS ANAIS**

**Goiânia
2016**

LARISSE SILVA DALLA LIBERA

**Detecção e distribuição genotípica do Papilomavírus humano
(HPV) nos carcinomas anais**

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Goiás para
obtenção do Título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientador: Vera Aparecida Saddi

**Goiânia
2016**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Silva Dalla Libera, Larisse

Detecção e distribuição genotípica do Papilomavírus humano (HPV) em
carcinomas anais [manuscrito] / Larisse Silva Dalla Libera. - 2016.
CXIV, 114 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade
de Medicina (FM), Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de
tabelas.

1. Papillomaviridae. 2. Neoplasias do ânus. 3. Câncer anal. 4. Sondas
de DNA de HPV. I. Aparecida Saddi, Vera, orient. II. Título.

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

Aluno(a): Larisse Silva Dalla Libera

Orientador(a): Vera Aparecida Saddi

Membros:

1. (Presidente) Vera Aparecida Saddi

2. Rosane Ribeiro Figueiredo Alves

3. Silvia Helena Rabelo Santos

OU

4. Cesar Augusto Sam Tiago Vilanova Costa

Data: 29/03/2016

EPIGRAFE

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King).

*“Permita que o médico o toque, para que você continue a tocar o mundo.”
Juscelino Vieira Mendes*

Dedico este trabalho ao meu pai (in memoriam), minha mãe, irmão e amado Leonardo, que com muita dedicação, não mediram esforços para que eu chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu a oportunidade de cursar o mestrado, me abrindo tantas portas, de conhecer lugares novos e trabalhar com pessoas incríveis. A ele sou eternamente grata.

Ao meu amado companheiro Leonardo, por estar sempre ao meu lado, me dando todo apoio necessário, sendo meu porto seguro nos momentos mais difíceis, tornando mais fáceis alguns momentos de dificuldade, através do seu humor e de seu equilíbrio diante dos fatos. Por toda compreensão da minha ausência por várias vezes, por ser o melhor amigo e namorado do mundo, despertando o que há de melhor em mim e nunca me deixando desistir, me dizendo sempre que eu sou capaz. Obrigada meu anjo, Te amo!

A toda minha família, Em especial a minha mãe Marlene Josefa da Silva, meu Pai Vilson Dalla Libera (in memória), meu irmão Vilson Dalla Libera Júnior e a família Bisollo: Inês, Rogério e Jacqueline pelo amor, cuidados, apoio, incentivo e pela confiança que em mim sempre depositaram, assim como pela compreensão pelos momentos de ausência, por vezes de impaciência, comuns àqueles que necessitam dedicar-se a trabalhos de pesquisa.

A Prof. Dr^a. Vera Aparecida Saddi, pelo privilégio da sua orientação e amizade, pela dedicação e empenho a mim concedidas inúmeras vezes, durante o desenvolvimento do nosso trabalho e pelo apoio constante. Agradeço pelas conversas, pela atenção e pelo incentivo. Por acolher uma aluna desconhecida com toda a sua generosidade e humildade e por acreditar em mim. E finalmente, agradeço por receber um pouquinho da sua experiência durante os nossos dias de trabalho. Isso certamente contribuiu para a minha conquista e crescimento pessoal.

À todos aqueles que de alguma forma influenciaram no desenvolvimento desse trabalho. Em especial, aos colegas Jéssica Enocêncio, Alyne Cabral, Keila Carvalho, Jéssica Cáceres, Nathália Nogueira, Ricardo Amorin, Cesár Vilanova, Jodie Amaral, Ana Karolina Lopes, Ana Lúcia Munaro, que dividiram comigo vários momentos felizes e difíceis da nossa trajetória. Obrigada!

Aos pacientes que indiretamente participaram do estudo, sem eles não haveria um ponto de partida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Goiás (FAPEG), pelo auxílio financeiro ao referido projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao Hospital Araújo Jorge e seus funcionários pelo serviço prestado na elaboração das listas de casos específicos para a pesquisa, separação de prontuários e, seleção e preparação dos blocos histopatológicos para análise, em especial à Karla e à Marilene, sem os quais não seria possível este trabalho.

Aos professores da Pós-Graduação em Ciências da Saúde pela dedicação ao ensino e à pesquisa.

À Pontifícia Universidade Católica de Goiás, pelo empréstimo de seus laboratórios para as extrações de DNA das amostras.

A Dr^a. Luísa Villa e toda sua equipe do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira (ICESP), que tornaram possível a metodologia de detecção e genotipagem do HPV.

Aos meus amigos, Renata, Wederson, Andressa, Haynslaine, Gracyely, Lígia, Morganna e Lauriane. Pelo incentivo, pela amizade e pelo apoio, mas principalmente pelos bons momentos que vivemos e por estarem sempre dispostos à ajudar.

A todos que de alguma forma me ajudaram a chegar até aqui, o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS.....	XI
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	XIV
RESUMO	XVI
ABSTRACT	XVII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Câncer anal	3
2.2. Anatomia do canal anal	3
2.3. Epidemiologia	5
2.4. Fatores de risco	8
2.5. História natural do câncer anal	9
2.6. Classificação histopatológica	11
2.7. Diagnóstico e aspectos prognósticos do câncer anal	13
2.8. Classificação e estrutura genômica do HPV	17
2.9. Ciclo celular e HPV	20
2.10. Câncer anal e HPV	25
3. JUSTIFICATIVA.....	31
4. OBJETIVOS	32
4.1 Objetivo geral	32
4.2 Objetivo específicos	32
5. MÉTODO(S).....	333

5.1. Considerações éticas.....	33
5.2. Tipo do estudo	33
5.3. Seleção da amostra	33
5.5. Procedimento de coleta de dados.....	35
5.6. Preparação das amostras e confirmação do diagnóstico.....	36
5.7. Análise molecular.....	36
5.7.1. Extração de DNA.....	36
5.7.2. Detecção e genotipagem do HPV.....	38
5.8. Análise dos resultados.....	42
6. RESULTADOS	44
6.1. Características da amostra	44
6.2. Prevalência geral do HPV	46
6.3. Distribuição genotípica do HPV	48
6.4. Prognóstico: Análise de sobrevida.....	53
7. DISCUSSÃO.....	57
8. CONCLUSÕES.....	71
8.1 Considerações finais.....	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS	95
Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética	95

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

Tabela 1. Prevalência do HPV nos cânceres anais no mundo	29
Tabela 1 (continuação). Prevalência do HPV nos cânceres anais no mundo.....	30
Tabela 2. Características sócio-demográficas e clinicopatológicas dos pacientes com cânceres anais (n81)	44
Tabela 3. TNM clínico dos cânceres anais por tipo histológico.....	45
Tabela 4. Associação do DNA do HPV e os cânceres anais, de acordo com aspectos sócio-demográficos e clinicopatológicos.....	47
Tabela 5. Associação entre as infecções simples e múltiplas pelo HPV e os cânceres anais, de acordo com aspectos sócio-demográficas e clinicopatológicas.	49
Tabela 6. Distribuição genotípica do HPV em cânceres anais e análise da associação entre o HPV 16 e os demais genótipos em relação às variáveis sócio-demográficas e clinicopatológicas.....	52
Tabela 9. Eficácia esperada das vacinas contra o HPV nos cânceres anais, na presença de infecções simples e múltiplas.....	69
Quadro 1. Estadiamento clínico TNM do câncer anal.....	15
Quadro 2 Função das proteínas virais do HPV.....	20
Quadro 3. Programa de ciclagem de PCR para detecção do genoma do HPV.....	39
Figura 01. Anatomia do canal anal	04
Figura 02. Número de casos diagnosticados com câncer anal por sexo na cidade de Goiânia de acordo com o Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia entre anos de 1989 a 2008. Fonte: Registro de câncer de base populacional da cidade de Goiânia –GO	07
Figura 03. Classificação histopatológica das lesões anais.....	10

Figura 04. Classificação dos cânceres anais de acordo com a extensão do tumor primário.....	15
Figura 05. Classificação dos cânceres anais de acordo com o comprometimento metastático de linfonodos regionais.....	16
Figura 06. Árvore filogenética da família Papillomaviridae e seus respectivos gêneros.....	17
Figura 07. Organização genômica do Papilomavírus	19
Figura 08. Curso da infecção pelo HPV na mucosa anal	23
Figura 09. Fluxograma da seleção de amostra	34
Figura 10. Metodologia de detecção e genotipagem do DNA do HPV.....	40
Figura 11. Posição das diferentes sondas oligonucleotídicas do kit comercial INNO LiPA	40
Figura 12. Esquema de interpretação para detecção e genotipagem do HPV por meio do Kit comercial INNO LiPA	41
Figura 13. Fluxograma metodológico da pesquisa.....	43
Figura 14. Frequência absoluta dos 11 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos cânceres anais.....	48
Figura 15. Frequência absoluta dos 10 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos carcinomas de células escamosas anais.....	50
Figura 16. Frequência absoluta dos 5 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos adenocarcinomas anais.....	50
Figura 17. Frequência absoluta dos 5 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos outros tipos histológicos de carcinoma anal.....	51
Figura 18. Sobrevida global em 60 meses para os pacientes com câncer anal (método de Kaplan-Meier)	53
Figura 19. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com o sexo	53

Figura 20. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com a detecção de HPV.....	54
Figura 21. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com o tipo histológico do tumor.....	54
Figura 22. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com a extensão do tumor.....	55
Figura 23. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com o comprometimento metastático dos linfonodos.....	56
Figura 24. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com metástase a distância.....	56

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ACCG: Associação de Combate ao Câncer em Goiás

SIDA: síndrome da imunodeficiência adquirida

AJCC: *American Joint Committee on Cancer*

CCE: Carcinoma de Células Escamosas

Cm: Centímetro

DNA: Ácido desoxirribonucleico

dNTPs: Deoxinucleotídeo 5' -trifosfatos

DST: Doença sexualmente transmissível

E: Região de expressão precoce do genoma do HPV, incluindo os genes E1 a E8.

EUA: Estados Unidos da América

ICESP: Instituto do Câncer do Estado de São Paulo

IM: Infecção por mais de um tipo de HPV

IS: Infecção por um único tipo de HPV

HAI: Hospital Araújo Jorge

HIV: Vírus da imunodeficiência humana

HPV: Papilomavírus humano

HSH: Homens que fazem sexo com homens

HSIL: Lesão intraepitelial de alto grau

L: Região de expressão tardia do genoma do HPV, incluindo os genes L1 e L2.

JEC: Junção escamo colunar

LCR: *Long control region*

LSIL: Lesão intraepitelial de baixo grau

NIA: Neoplasia intraepitelial anal

OMS: Organização Mundial da Saúde

ORF: *Open reading frame*

PUC: Pontifícia Universidade Católica de Goiás

SAP: Setor de Anatomia Patológica

SEER: *Surveillance, Epidemiology and End Results*

SUS: Sistema Único de Saúde

TNM: T - Extensão do tumor primário; N – linfonodos; M – metástase a distância.

UNG: Uracil-N-glicosilase

A incidência do câncer anal vem aumentando significativamente, principalmente quando associado ao Papilomavírus humano (HPV). O objetivo deste estudo foi avaliar os aspectos clinicopatológicos dos cânceres anais e suas associações com a detecção e distribuição genotípica do HPV. Trata-se de um estudo epidemiológico transversal retrospectivo, com a utilização dos dados clinicopatológicos secundários e análises moleculares de espécimes de cânceres anais contidos em blocos de parafina, diagnosticados em uma instituição de referência no tratamento de câncer na região Centro-Oeste em um período de dez anos (2000-2010). Inicialmente foi consultada uma lista com 140 casos de cânceres anais mas apenas 81 cumpriram os critérios de inclusão e exclusão e foram incluídos no estudo. A análise molecular incluiu a amplificação de um fragmento do genoma viral por PCR (reação em cadeia da polimerase) e hibridização reversa, com o uso do kit comercial INNO LiPA. A análise dos dados foi feita por estatística descritiva, análise univariada e de sobrevida. Do número de casos avaliados (n 81), 53,1% tinham mais que 61 anos de idade e a maior parte (63%) foram mulheres; 51,9%(n 42) apresentavam câncer anal de células escamosas (CCE). Metástases linfonodais foram descritas em 25,9%, metástases a distância em 8,6% sendo o fígado e o pulmão os órgãos mais acometidos e o óbito foi registrado em 45 casos (55,6%). A detecção de DNA do HPV foi positiva em 69% dos casos. Na análise por tipo histológico, 88,1% dos carcinomas de células escamosas (CCE) e 43,8% dos adenocarcinomas foram positivos para o DNA viral. O CCE foi associado ao HPV (p 0,0001) assim como o sexo feminino (p 0,01). Infecções múltiplas foram detectadas em 14,3% dos casos. Os genótipos mais prevalentes foram o HPV16, 33 e 18. O HPV 16 esteve presente em 100% das infecções múltiplas. A sobrevida global em 60 meses foi de 44,3%, os fatores de pior prognósticos foram o sexo feminino (p 0,008), o carcinoma de células escamosas (p 0,01) e a presença de metástase à distância (p 0,01). A sobrevida não foi influenciada pela presença do HPV (p 0,54). A agressividade dos cânceres anais descritos neste trabalho reforça a necessidade de estratégias de prevenção para esses cânceres, incluindo a vacina contra HPV.

Palavras chave: Papillomaviridae; Neoplasias do Ânus; Câncer Anal; Sondas de DNA de HPV.

ABSTRACT

Anal cancer incidence is increasing significantly, especially when associated with the Human papillomavirus (HPV). The objective of this study was to evaluate the clinicopathological aspects of anal cancers and their association with HPV detection and genotypic distribution. It was a retrospective epidemiological study, with the use of the clinicopathological secondary data and molecular analyses of specimens of anal cancers embedded in paraffin blocks, diagnosed in a reference institution in the treatment of cancer at the Centro-Oeste region in a period of ten years (2000-2010). It was initially consulted a list of 140 cases of anal cancers but only 81 were included in the study. Molecular analysis included the amplification and detection of a viral genome fragment, by using PCR (polymerase chain reaction), and genotyping by reverse hybridization, using the commercial kit INNO LiPA. Data analysis was performed by descriptive statistics, univariate analysis and survival. According to the cases evaluated (n 81), 53.1% were more than 61 years of age, and the majority (63%) were females; 51.9% (n 42) presented squamous cells carcinoma (SCC). Lymph node metastases were described in 25.9%, distant metastases in 8.6% being the liver and the lung the most affected organs, the death was recorded in 45 cases (55.6%). HPV DNA was positive in 69% of cases. In the analysis by histologic type, 88.1% of squamous cell carcinomas (SCC), and 43.8% of adenocarcinomas was positive for viral DNA. The ECC was associated with HPV (p 0.0001) as well as females (p 0.01). Multiple infections were detected in 14.3% of the cases. The most prevalent genotypes were HPV16, HPV33 and HPV18. HPV 16 was found in 100% of multiple infections. After five years, overall survival was 44.3% for the group, the prognostic factors worse were female sex (p 0.008), squamous cell carcinoma (p 0.01) and the presence of distant metastasis (p 0.01). Survival was not influenced by the presence of HPV (p 0.54). The aggressiveness of anal cancer described in this study reinforces the need of prevention strategies for this type of disease, including the HPV vaccine.

Keywords: Human papillomavirus; Anus Neoplasms; Anal Cancer; HPV DNA probes.

1. INTRODUÇÃO

A associação entre a infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) e o câncer cervical já é bem estabelecida (WALBOOMERS et al., 1999; BOSCH et al., 2001; CLIFFORD et al., 2003). De forma similar o câncer anal também está fortemente associado ao HPV (MUNOZ et al., 2006; SHUKLA et al., 2009). Cerca de 27.000 novos casos de câncer anal são diagnosticados por ano em todo mundo, com um pico de incidência na faixa etária entre 58 e 64 anos (DE MARTEL et al., 2012). A porcentagem global de câncer anal atribuída ao HPV é de 90%, com destaque para os genótipos 16 e 18 que são encontrados em mais de 70% desses cânceres, enfatizando a importância da vacina profilática contra o HPV na prevenção do câncer anal (DALING et al., 2004; PARKIN e BRAY, 2006; ABRAMOWITZ et al., 2011).

O HPV é o agente etiológico mais prevalente nas infecções do trato anogenital (NADAL e MANZIONE, 2006). Mais de 200 tipos de HPV já foram identificados e classificados como de baixo risco oncogênico (principalmente HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54 e 73), risco intermediário (principalmente HPV 26, 30, 53, 66, 67, 69, 70, 71, 74, 97) e alto risco oncogênico (principalmente HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82) (DOORBAR, 2006; SERUP- ABRAMOWITZ et al., 2011; HANSEN et al., 2014; ALEMANY et al., 2015).

A detecção e a genotipagem do HPV são fundamentais para avaliar o a ação do vírus na epidemiologia da infecção, bem como a associação dos genótipos de alto risco com a carcinogênese anal, possibilitando estabelecer

e monitorar a eficácia da vacina contra o HPV e seu impacto futuro na incidência desses cânceres (TOTA et al. 2011; HARTWIG et al. 2012).

Uma vez que o HPV é considerado o principal fator etiológico para o câncer anal e que o HPV-16 é o genótipo mais comum nos cânceres anais, a vacina contra o HPV-16 e HPV-18 pode reduzir o número de indivíduos afetados por neoplasias e cânceres anogenitais em até 80% dos casos (JOHNSON et al., 2004; VUYST et al., 2009). A prevalência da infecção pelo HPV e a distribuição de seus genótipos no câncer anal varia em diferentes países e dentro do mesmo país nas diferentes regiões (VUYST et al., 2009). Desse modo, a epidemiologia da infecção necessita ser avaliada em cada região geográfica (SANTOS JR, 2007; HARTWIG et al., 2012).

A prevenção é o caminho mais adequado para minimizar os efeitos do câncer anal, contudo, esse tipo de conduta ainda não foi implementada para o câncer anal no Brasil. A carência de estudos demográficos específicos sobre os cânceres associados ao HPV no Brasil e uma melhor compreensão da patologia tumoral relacionada aos diferentes genótipos de HPV detectados em cânceres anais em Goiás, motivaram a realização do presente estudo, sob a hipótese de que diferentes tipos de HPV podem estar associados com diferentes características clinicopatológicas, prognósticas e moleculares em cânceres anais associados ao vírus.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Câncer anal

O câncer anal primário é um tumor raro, embora sua incidência esteja aumentando em vários países (PLESEC e OWENS, 2015). Os cânceres anais são definidos como cânceres que ocorrem no canal anal e/ou borda externa do ânus (ROSSI et al., 2004). Sua origem está fortemente relacionada à infecção e à persistência do Papilomavírus humano (HPV) (MUNOZ et al., 2006; SHUKLA et al., 2009). O tipo histológico mais comum e com maior importância clínica para este câncer é o carcinoma espinocelular ou carcinoma de células escamosas (CCE) (FRISCH et al., 1999; PARKIN e BRAY, 2006; SANTOS JR, 2007; PLESEC e OWENS, 2015).

2.2. Anatomia do canal anal

O canal anal é a porção final do intestino grosso, onde há o estreitamento da luz distal do reto, medindo aproximadamente quatro centímetros no adulto (figura 01) (PLESEC e OWENS, 2015). A estrutura mais característica do canal anal é a linha pectínea ou dentada (WENDELL-SMITH, 2000). A parte superior à linha pectínea é caracterizada por pregas em forma de colunas, cujo epitélio é de padrão colorretal, ou seja, de revestimento colunar (DEVITA, HELLMAN, ROSENBERG, 2008).

A parte inferior à linha pectínea e que se estende até a borda anal, é revestida por epitélio escamoso estratificado, que pode ser ou não

queratinizado e que contém folículos pilosos e numerosas glândulas apócrinas (PLESEC e OWENS, 2015). A transição entre o epitélio colunar e o estratificado, que reveste um centímetro acima da linha pectínea, contém epitélio especializado que varia em epitélio colunar, cuboide, escamoso e transicional. A referência anatômica aparente é a parte inferior das válvulas anais (WENDELL-SMITH, 2000).

A junção escamo-colunar (JEC) do canal anal é muito semelhante à encontrada no colo do útero (CLIFFORD et al., 2003). Esta estrutura é de grande importância para a infecção pelo HPV, já que o HPV apresenta tropismo pelas células dessa área (PATEL, et al., 2008; SHUKLA et al., 2009). A margem anal caracteriza-se por revestimento epidérmico com presença de anexos cutâneos (DEVITA, HELLMAN, ROSENBERG, 2008).

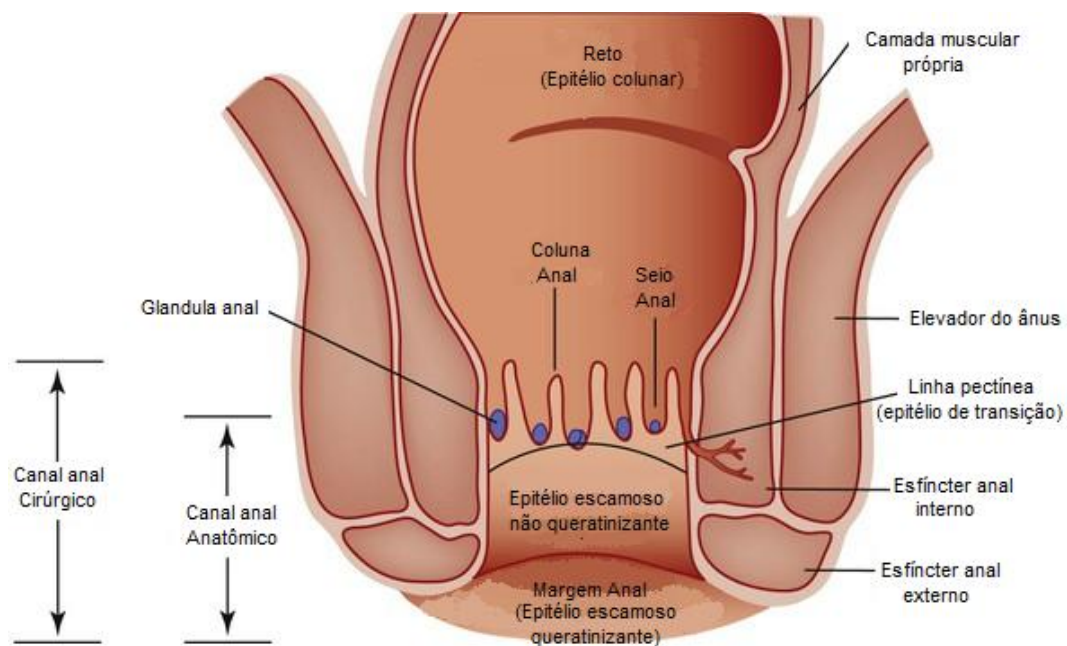


Figura 01. Anatomia do canal anal. (adaptado de Plesec e Owens, 2015).

A parte superior do canal anal é irrigada pelas artérias retais superiores e drenada pelas veias retais superiores. Já a parte inferior do canal anal, que começa na linha pectínea, é alimentada pela artéria retal

inferior e drenada pelas veias retais inferiores. Quando presentes vasos retais médios se anastomosam com os vasos retais superiores e inferiores (GAMI, KUBA, ZIPRIN, 2014). As anastomoses entre os plexos venosos retais, que encontram-se predominantemente na parede do canal anal, estabelecem uma conexão entre a veia porta do fígado (veia mesentérica inferior, plexo venoso interno) e a veia cava inferior (veia ilíaca interna, plexo venoso externo) (HANKIN; MORSE; CLARKE, 2015). Como as veias não possuem válvulas, o fluxo sanguíneo é dependente de pressão e pode fluir em qualquer direção (HANKIN; MORSE; CLARKE, 2015).

A linha pectínea limita os dois sistemas de drenagem linfática do canal anal (HANKIN; MORSE; CLARKE, 2015). O primeiro, acima da linha, faz a drenagem linfática para os linfonodos mesentéricos inferiores e paraórticos, via linfáticos retais superiores. Já abaixo da linha pectínea, a drenagem linfática segue para os linfonodos perianais e inguinais (DEVITA, HELLMAN, ROSENBERG, 2008; GAMI, KUBA, ZIPRIN, 2014). Na mulher, a drenagem linfática também pode fluir para o fundo-de-saco, ovário e parede vaginal (HANKIN; MORSE; CLARKE, 2015)

2.3. Epidemiologia

O câncer anal tem etiologia multifatorial e muito similar à do câncer cervical (WALBOOMERS et al., 1999; BOSCH et al., 2001; CLIFFORD et al., 2003). São aproximadamente 27.000 casos a cada ano no mundo (DE MARTEL et al, 2012).

Nos Estados Unidos, dados do programa “*Surveillance, Epidemiology and End Results*” – SEER (USA) mostram que o número de novos casos de câncer anal, entre 2008 a 2012, foi de 1,8/100.000 habitantes ao ano,

enquanto que o número de óbitos foi de 0,2/100.000 habitantes ao ano, sendo que a sobrevida em cinco anos para este câncer é de 65,7% (USA, 2015). Nos Estados Unidos foram estimados 7.270 novos casos de câncer anal para o ano de 2015 (USA, 2015).

O carcinoma de células escamosas anal é o tipo histológico de tumor anal mais comum, um estudo de prevalência realizado na Inglaterra, entre 1990 e 2010, demonstra um aumento de 69% dos casos de CCE anal em homens, que correspondem à incidência de 0,43/100.000 habitantes, no período de 1990 a 1994, para 0,73/100.000 habitantes, no período de 2006 a 2010. Para as mulheres, as taxas foram de 0,50/100.000 habitantes, no período 1990-1994, e 1,13/100.000 habitantes, no período de 2006 a 2010, com um aumento de 126% (WILKINSON et al., 2014).

No Brasil, dados mais específicos sobre o câncer anal não estão disponíveis, porém, estima-se que correspondam a 1 a 2% de todos os cânceres de cólon (INCA, 2013). Em 2010, foram registradas no país 274 mortes por câncer anal, sendo 98 em homens e 176 em mulheres (INCA, 2011). Em 2013, foram registradas 348 mortes, sendo 106 em homens e 242 em mulheres (INCA, 2015). Em 2014, foram estimados 1.100 novos casos de câncer anal no Brasil (INCA, 2015). Em uma análise retrospectiva (1993-2005) no estado de Sergipe, a incidência de novos casos de câncer anal por ano foi de 0,39/100.000 habitantes, sendo que o CCE anal foi responsável por 68% dos casos (NETO JR, et al., 2007). De acordo com o Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia, entre os anos de 1989 a 2008, um total de 117 casos foram diagnosticados com câncer anal na região (figura 02).

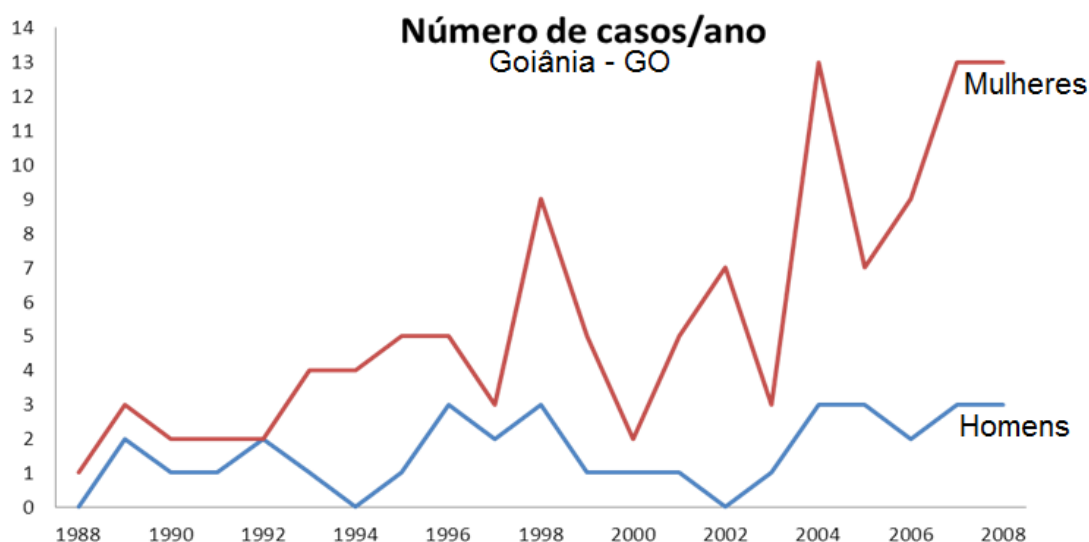


Figura 02. Número de casos diagnosticados com câncer anal por sexo na cidade de Goiânia de acordo com o Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia entre anos de 1989 a 2008. Fonte: Registro de câncer de base populacional da cidade de Goiânia –GO.

Um trabalho realizado em Goiânia reuniu 42 casos de câncer anal, dos quais, 38 foram testados para o DNA do HPV e 76% foram positivos para a presença do vírus (AGUIAR et al., 2014).

O câncer anal acomete principalmente pessoas acima dos 50 anos, sendo o pico de incidência entre 58 e 64 anos de idade e a idade média de diagnóstico de 62 anos (LICITRA et al., 2002). Nos últimos anos, uma precocidade vem sendo observada para o surgimento do câncer anal, com faixas mais jovens em homens (HILLMAN et al., 2014). Os estudos entre os homens geralmente se concentram em indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), ou em homens que fazem sexo com homens (HSH) e bissexuais HIV positivos e a incidência de câncer anal para esse grupo pode chegar a 131/100.000 habitantes, diferente de outros homens que fazem sexo com homens não portadores de HIV (46/100.000 habitantes), e mulheres, 30/100.000 habitantes, (SILVERBERG, et al.,

2012). As mulheres mais jovens apresentam incidência mais baixa de câncer anal em relação aos homens, entretanto, este quadro se inverte após os 45 anos de idade (INSINGA et al., 2009; WEBB e LEE, 2011). Esta mudança pode estar relacionada ao histórico de neoplasia cervical, vulvar ou vaginal por HPV ou à ação hormonal na mucosa (KLENCLE e PALEFSKY, 2003). A diminuição de estrogênio e de progesterona durante a menopausa predispõe ao aparecimento de abscessos, fístulas e à incontinência anal (MENSAH-BROWN, et al., 2004; RIZK et al., 2005; RIZK et al., 2007; ELBANNA et al., 2010).

2.4. Fatores de risco

O principal fator de risco para o câncer anal é a infecção persistente pelo HPV que ocorre principalmente por transmissão sexual (JOHNSON et al., 2004; DALING et al., 2004; ABRAMOWITZ et al., 2007). Nos cânceres anais, o DNA do HPV é detectado na grande maioria dos casos (88-94%) e o HPV-16 é o genótipo mais prevalente, seguido pelos genótipos 18, 31 e 33 (MUNOZ et al., 2006; VUYST et al., 2009).

Vários cofatores também influenciam na carcinogênese anal, como, aspectos comportamentais que incluem práticas sexuais, intercurso anal, múltiplos parceiros sexuais, tabagismo, etilismo, uso prolongado de corticoides, dieta pobre em fibras, bem como aspectos relacionados ao hospedeiro, que incluem idade, resposta imune, histórico de transplante, predisposição genética, infecção com o vírus da imunodeficiência adquirida e fístula anal crônica (MANZIONE et al., 2004; DALING et al., 2004; SHUKLA et al., 2009; GRULICH et al., 2010) . Aspectos relacionados ao

HPV, como genótipos de alto risco, variante do genótipos, carga viral e integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira, também interferem na carcinogênese induzida pelo vírus, já que a maioria das infecções pelo HPV é transitória e regride naturalmente (MANZIONE et al., 2004; DALING et al., 2004; JOHNSON et al., 2004; ABRAMOWITZ et al., 2007; SHUKLA et al., 2009).

2.5. História natural do câncer anal

A história natural do câncer anal começou a ser entendida mais recentemente. A maioria das infecções pelo HPV é transitória, mas a infecção persistente por HPV de alto risco oncogênico pode levar ao desenvolvimento de lesões precursoras do câncer anal, denominadas neoplasias intraepiteliais anais (NIA). Uma vez não eliminadas pelo sistema imunológico as NIA podem evoluir para o câncer anal (MANZIONE, et al., 2004; HARIRI, et al., 2011).

As NIA podem ocorrer tanto na zona de transição quanto na mucosa pluriestratificada do canal anal (NADAL e MANZIONE, 2009). Histologicamente, estas lesões apresentam atipias, como perda da organização nuclear e redução da diferenciação e especialização celular (MANZIONE, et al., 2004). Quanto mais grave a lesão, mais células atípicas são encontradas na mucosa anal (STANLEY et al., 2012).

A nomenclatura das lesões precursoras do câncer anal é semelhante à utilizada no câncer cervical, mas alguns autores preferem agrupá-las em lesões de alto e baixo grau (figura 03) (MANZIONE, et al., 2004; GOLDSTONE, 2005). Quanto à classificação, as NIA podem variar em graduação leve (NIA I), moderada (NIA II) e severa (NIA III) (MANZIONE, et al., 2004). Uma metanálise, realizada em 2009, demonstrou a presença do DNA de HPV em 91,5%, 93,9% e 84,3% das NIA I, II e III, respectivamente (VUYST et al., 2009).

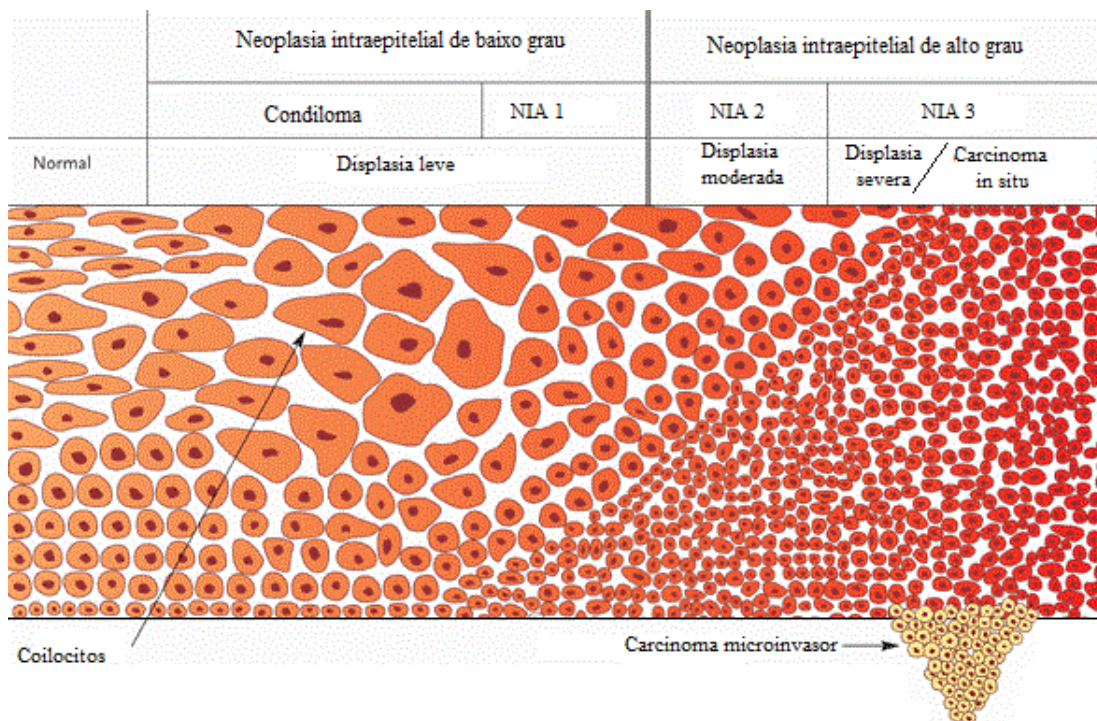


Figura 03. Classificação histopatológica das lesões anais. (Adaptado de Goldstone,2005).

As neoplasias intraepiteliais de alto grau ou NIAII-NIAIII são as prováveis precursoras do câncer invasivo anal (KOPPE, 2010). Mesmo com o tratamento, em média 9 a 13% das NIA evoluem para doença invasiva em cinco a dez anos (KOPPE, 2010; STANLEY et al., 2012).

2.6. Classificação histopatológica

Quase três quartos dos cânceres anais são detectados no ânus ou canal anal, os restantes são tumores de margem anal (POGGIO, 2011). Os dois principais tipos histológicos de câncer anal são os carcinomas de células escamosas e os adenocarcinomas (KOPPE, 2010; POGGIO, 2011).

O carcinoma de células escamosas ou carcinoma epidermóide é o principal tipo de câncer da região anal (PARKIN e BRAY, 2006), podendo corresponder a 85% das lesões malignas (SANTOS JR, 2007; GAMI, KUBA, ZIPRIN, 2014). Várias subclasses histológicas são descritas, como o carcinoma cloacogênico, carcinoma basalóide, carcinoma de pequenas células e carcinoma verrucoso (SANTOS JR, 2007; GAMI, KUBA, ZIPRIN, 2014).

O CCE clássico apresenta células grandes, citoplasma amplo, eosinofílico e pálido, presença de queratinização e pontes intercelulares aparentes (GAMI, KUBA, ZIPRIN, 2014). O carcinoma cloacogênico ou basalóide caracteriza-se por pequenas células não queratinizadas e não tão diferenciadas, que se agrupam em paliçada (GLYNNE et al., 2014).

O carcinoma de pequenas células também conhecido como carcinoma anaplásico, não oferece bom prognóstico e apresenta um padrão uniforme de células pequenas, alto índice mitótico e de apoptose (RAPTIS et al., 2015). Este câncer é altamente infiltrante e não deve ser confundido com o carcinoma de pequenas células ou neuroendócrino (GLYNNE et al., 2014).

Outro subtipo do CCE que atinge a região anal é o carcinoma verrucoso, também conhecido como condiloma gigante de *Buschke-Lowenstein* (RAPTIS et al., 2015). Com crescimento exofítico, visualmente, a

lesão tem o aspecto de “couve flor” podendo atingir grandes proporções (até 15 cm) (NJOUMI et al., 2013). Microscopicamente apresenta papilomatose, células com pouca atipia e mitoses somente na camada basal (NJOUMI et al., 2013). Não são observadas metástase (RAPTIS et al., 2015) e os HPV 6 e 11 são os genótipos mais prevalentes nos condilomas gigantes (NJOUMI et al., 2013).

Os adenocarcinomas anais primários são tumores raros, agressivos e estão associados com alta taxa de metástases (MYERSON, KARNELL, MENCK, 1997). Apresentam diferenciação glandular e crescem a partir do epitélio do canal anal glandular, por trajetos fistulosos ou pela mucosa superficial (HOBBS et al., 2001). Ao contrário do CCE, as lesões precursoras do adenocarcinoma primário são pouco identificáveis porque podem estar relacionadas com inflamação local crônica, doença de *Crohn* ou com a presença de fístulas anais pré-existentes (PAPACONSTANTINO et al., 2015).

Uma menor associação com a infecção pelo HPV é verificada para os adenocarcinomas (DALING et al., 2004; JIN, et al., 2011), já que em muitos casos esses cânceres podem representar uma extensão de um câncer retal (WELTON e BOSMAN, 2010). Por esta razão, recomenda-se que os CCEs e adenocarcinomas sejam considerados separadamente em análises epidemiológicas (FRISCH, 2006). Os dados sobre a prevalência do HPV nos adenocarcinomas anais ainda são muito limitados, porém, uma meta análise, revelou que 40% dos adenocarcinomas eram HPV positivos (HOOTS et al., 2009).

Embora o CCE seja mais comum, as proporções entre esse e o adenocarcinoma têm variado em algumas revisões realizadas em países industrializados, que apresentam prevalências de adenocarcinoma anal em torno de 14%, como nos Estados Unidos (US) (JOSEPH et al., 2008), 21% na Escócia (BREWSTER e BHATTI, 2006) e 27% na Austrália. (JIN, et al., 2011).

Outros tipos de neoplasias epiteliais também podem desenvolver-se na região anal, mas com uma menor prevalência, como carcinoma neuroendócrino, doença de *Bowen*, doença de *Paget* (JOHN et al., 2002; ROSSI et al., 2004). Demais neoplasias não epiteliais de canal anal incluem os melanomas, sarcomas e alguns tipos de linfomas (JOHN et al., 2002).

2.7. Diagnóstico e aspectos prognósticos do câncer anal

Geralmente, os sintomas para o câncer anal são inespecíficos e confundidos com outras doenças, por isso o diagnóstico é feito tardiamente ou eventualmente como achado incidental em análise de peças cirúrgicas hemorroidárias ou de possíveis plicomas anais (ROSSI et al., 2004). Dentre as prováveis manifestações clínicas, o sangramento é o mais frequente (90% dos casos), ocorrendo também dor anal e secreção fétida (de 30% a 50% dos casos), incontinência fecal (5% dos casos), fístula anal (5% dos casos) e presença de nódulos (AJANI et al., 2002, RAPTIS et al., 2015).

O exame proctológico possibilita ao médico identificar previamente a presença de nódulos ou lesões anais. O emprego da citologia anal e da anosscopia permite o diagnóstico das NIA e vem sendo utilizada em alguns estudos (ROSSI et al., 2004; NADAL e MANZIONE, 2006). Como o câncer

anal é um câncer de baixa incidência, seus fatores prognósticos como tamanho do tumor, comprometimento linfonodal e metástases à distância são difíceis de serem analisados (ROSSI et al., 2004).

O estadiamento segue o sistema de classificação de tumores malignos (TNM) que contempla a extensão do tumor (T), a ausência, presença e extensão de metástases em linfonodos regionais (N) e ausência ou presença de metástases a distância (M), como recomendação da *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* (LEFEVRE et al., 2012). Essas recomendações baseiam-se no tamanho do tumor ou invasão de estruturas adjacentes (quadro 1 e figura 04) e na presença ou ausência de metástases linfonodais (quadro 1 e figura 05) ou metástases à distância. Sabe-se que o estadiamento da doença, em relação ao tamanho e comprometimento de margem é fator prognóstico importante para o câncer anal (FERRIGNO et al., 2005). Quanto maior o tumor, pior o prognóstico (ESIASHVILI, LANDRY, MATTHEWS, 2002). O agrupamento por estádios clínicos pode ser visualizado no quadro 1.

Quadro 1. Estadiamento clínico TNM do câncer anal.

Tx	Tumor primário não pode ser avaliado		
T0	Sem evidencia de tumor primário		
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>		
T1	Tumor ≤ 2cm		
T2	Tumor >2cm e ≤5cm		
T3	Tumor > 5cm		
T4	Tumor de qualquer tamanho, mas que invade órgãos adjacentes.		
Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados		
N0	Ausência de metástases para linfonodos regionais		
N1	Metástases para linfonodos perirretais		
N2	Metástases para linfonodos ilíacos internos ou inguinais unilaterais		
N3	Metástases para linfonodos perirretais e inguinais/ ilíacos; ou para linfonodos ilíacos internos ou inguinais bilateralmente.		
Mx	Metástases não avaliada		
M0	Ausência de metástases		
M1	Presença de metástases		
Estadiamento			
Estádio 0	Tis	N0	M0
Estádio I	T1	N0	M0
Estádio II	T2-T3	N0	M0
Estádio IIIA	T1-T3	N1	M0
	T4	N0	M0
Estádio IIIB	T4	N1	M0
	Qualquer T	N2-N3	M0
Estádio IV	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: ARANI, et al., 2002

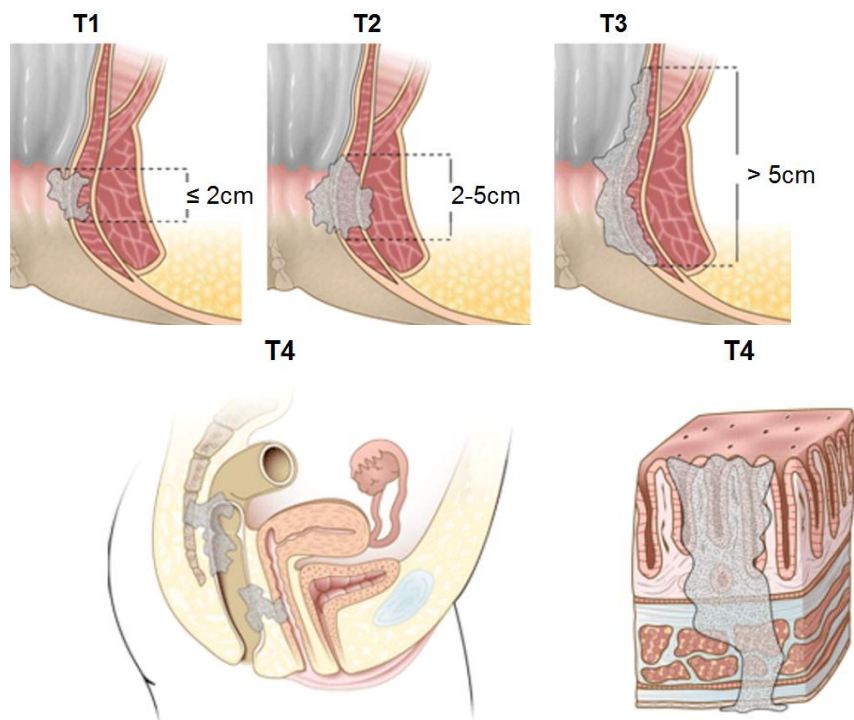


Figura 04. Classificação dos cânceres anais de acordo com a extensão do tumor primário (adaptado de Oncolex, 2015).

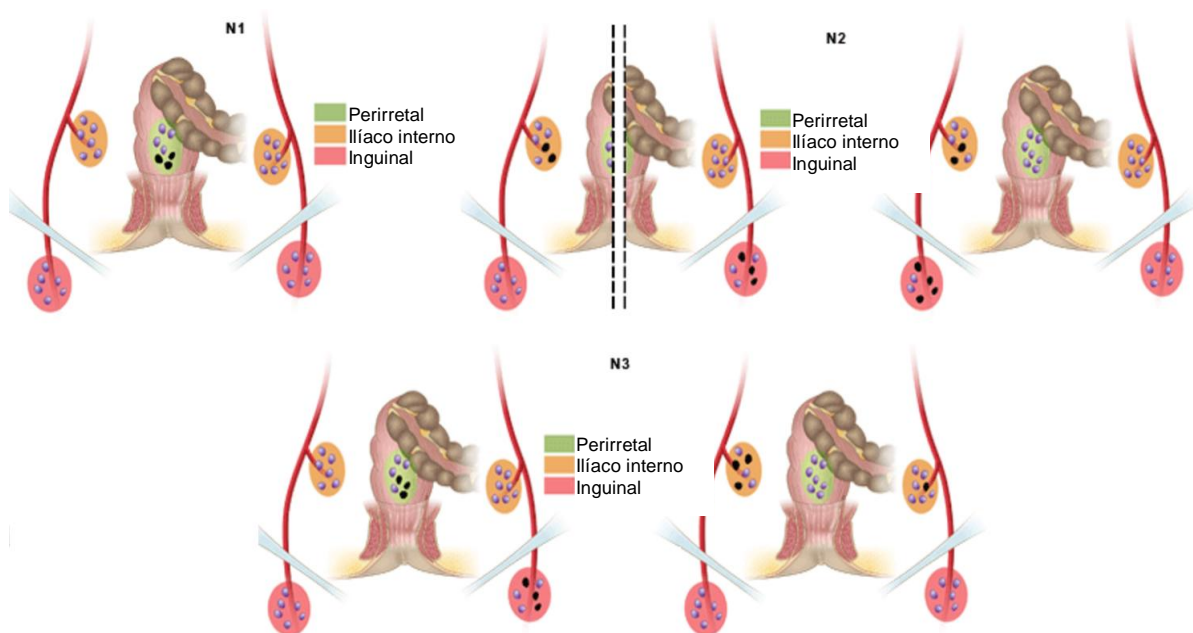


Figura 05. Classificação dos cânceres anais de acordo com o comprometimento metastático de linfonodos regionais. N1 há o comprometimento dos linfonodos perirretais (destacados em preto); N2 há o comprometimento dos linfonodos íliacos internos e ou inguinais; N3 há metástases nos linfonodos perirretais e inguinais e ou linfonodos íliacos internos e ou linfonodos inguinais (adaptado de Oncolox, 2015).

A presença de metástases linfonodais no câncer anal é um fator de pior prognóstico para o paciente (JOHN et al, 2002). A disseminação pode acometer os linfonodos inguinais (10% a 15% dos casos), pélvicos, perirretais ou as cadeias ilíacas internas (RYAN, COMPTON, MAYER, et al., 2000). As metástases viscerais são menos frequentes (5% a 10% dos casos) e acometem quase sempre o fígado e o pulmão (RYAN, COMPTON, MAYER, et al., 2000; JOHN et al, 2002).

Pessoas infectadas pelo HIV apresentam pior prognóstico em relação a um paciente comum (BARBARA et al., 2013). Embora as pessoas infectadas com HIV, particularmente os homens que fazem sexo com homens, estejam em risco aumentado para o câncer anal (cerca de 30 vezes mais que a população em geral), é difícil separar as influências da exposição anal à infecção pelo HPV, combinadas com a imunodeficiência e a terapia

antirretroviral (PIKETTY et al., 2012; CLIFFORD, BERTISCH, FRANCESCHI, 2013).

A interpretação biológica plausível para a relação HPV-HIV é que a imunossupressão provocada pelo vírus HIV é importante em um estágio inicial do desenvolvimento do câncer anal, mas que o processo neoplásico se torna irreversível ao longo do tempo com a infecção persistente pelo HPV (ENGELS e MADELEINE, 2013).

2.8. Classificação e estrutura genômica do HPV

Os Papilomavírus humano são pequenos vírus de DNA de fita dupla circular com cerca de 8.000 pares de bases, não envelopados, com capsídeo icosaédrico, formado por 72 capsômeros (DOORBAR, 2012). Apresentam entre 52-55 nm de diâmetro e pertencem a família *Papillomaviridae* (figura 06) (SHUKLA et al., 2009; MORSHED et al., 2014).

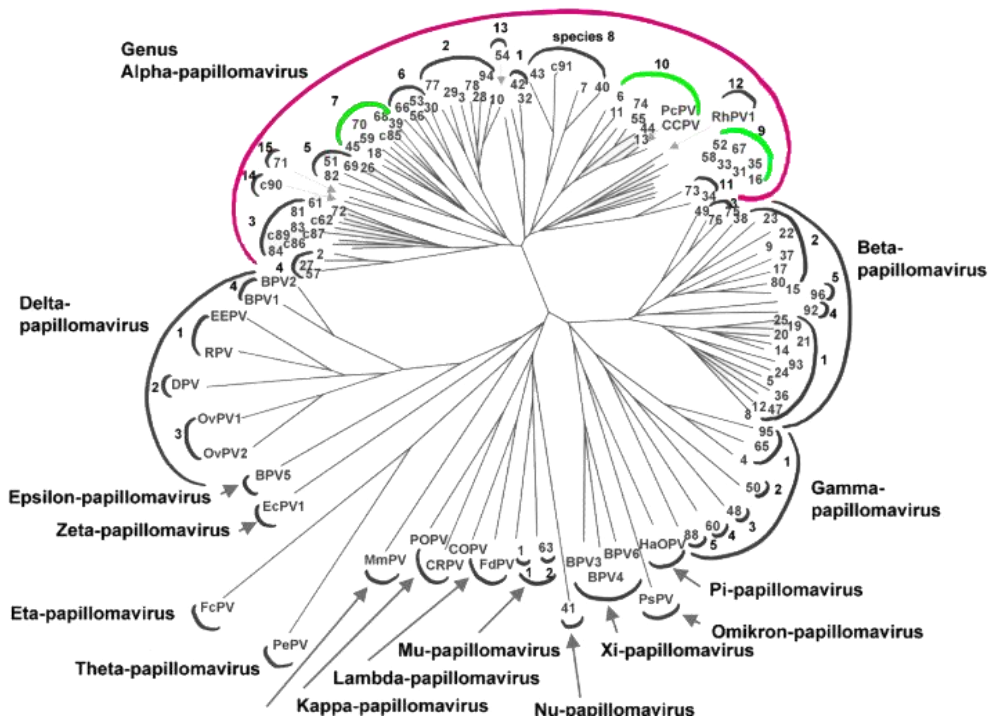


Figura 06. Árvore filogenética da família *Papillomaviridae* e seus respectivos gêneros. Os semicírculos externos representam os gêneros e os semicírculos internos, as espécies de HPV. Em rosa o gênero *Alfapapillomavirus* e em verde as espécies de HPV nos cânceres anais (adaptado de Villiers et al., 2004).

Os HPV são classificados em baixo risco (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44 e 54), risco intermediário (HPV 26, 30, 53, 66, 67, 69, 70, 71, 74, 97) e alto risco oncogênico (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82), com base no seu padrão filogenético e no seu potencial oncogênico (DOORBAR, 2006; ABRAMOWITZ et al., 2011; ALEMANY et al., 2015; SERUP-HANSEN et al., 2014).

Cada gênero do HPV apresenta propriedades biológicas e características de organização do genoma (DOORBAR, 2006; MORSHED et al., 2014). Os HPV de alto risco estão associados a lesões pré-malignas ou malignas, já os HPV de baixo risco estão associados a lesões benignas (CERDEIRA et al., 2009). O gênero *Alfapapilomavirus* apresenta um forte tropismo pela mucosa anogenital (SHUKLA et al., 2009).

Mais de 200 tipos de HPV já foram identificados, sendo que aproximadamente 40 genótipos infectam as mucosas anogenitais (BURD, 2003). Os HPV de alto risco estão associados ao câncer cervical, lesões precursoras, câncer no ânus, vagina e vulva, além de condilomas planos e doença de *Bowen*. Já os HPV de baixo risco estão comumente associados ao aparecimento de verrugas genitais, papilomatose laríngea e tumores de *Buschke-Lowenstein* (DOORBAR, 2012; ZUR HAUSEN, 2009).

O genoma do HPV (figura 07), está organizado em três segmentos: a região precoce que compreende os genes E1, E2, E4-E7 e representa 50% do genoma; a região tardia, que consiste em L1 e L2 e representa 40% do genoma; e a região regulatória (10% do genoma) que controla a replicação e expressão dos genes virais (HAFKAMP, MANNI, SPEEL, 2004).

Todos os fragmentos gênicos que codificam as proteínas virais estão localizados numa única cadeia de DNA (DOORBAR, 2012). Estes fragmentos de DNA são descritos como ORF (*Open Reading Frame*) e podem ser divididos em fragmentos precoces e tardios, dependendo da fase de expressão dos genes virais (DOORBAR, 2012). Fragmentos precoces estão envolvidos na regulação da replicação de DNA (E1, E2, E4), na transcrição (E2) e na transformação celular (E5, E6, E7), enquanto os fragmentos tardios codificam proteínas estruturais do capsídeo viral (L1, L2) (quadro 2) (DOORBAR, 2006).

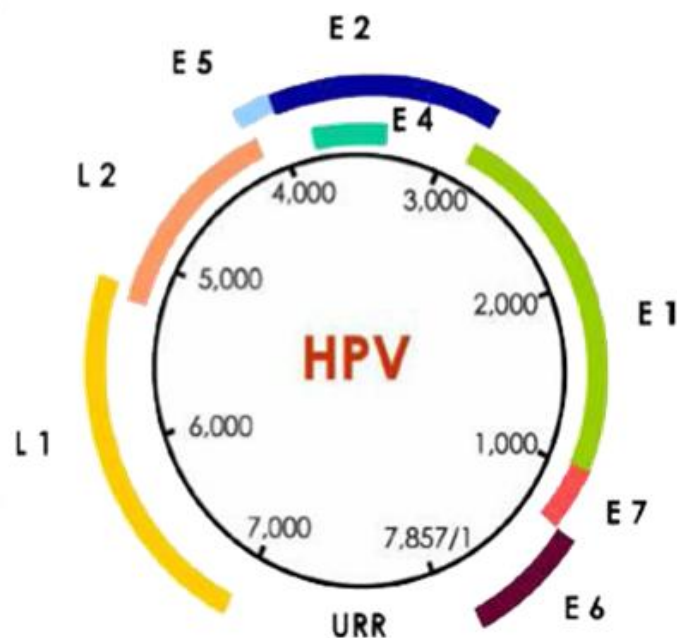


Figura 07. Organização genômica do Papilomavírus. Oito fases abertas de leitura e respectivo número de pares de bases dos genes que codificam as proteínas precoces (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e as proteínas tardias (L1 e L2) (adaptado de Munoz et al., 2006).

Quadro 2. Função das proteínas virais do HPV (EGAWA et al., 2015)

Proteínas do núcleo	
E1	Helicase dependente de ATP. Tem papel na replicação do genoma viral.
E2	Co-ativador da replicação do genoma viral por meio do recrutamento de E1 para origem da replicação viral. Fator de transcrição de E6 e E7. Importante para segregação do genoma viral.
L1	Proteína do capsídeo viral.
L2	Proteína do capsídeo viral.
E4	O gene E4 é localizado dentro do gene E2 e é expresso em grandes quantidades como uma proteína de fusão E1 ^{E4} durante os estágios tardios do ciclo de vida viral. Liga-se aos filamentos de citoqueratina promovendo uma desrruptura do citoesqueleto celular.
Proteínas acessórias	
E5	Interage com receptores de EGF e ativa sinais de vias mitogênicas. É importante na evasão da resposta imune e apoptose.
E6	A proteína E6 dos tipos de alto risco degradam p53 e podem ativar a telomerase, contribuindo para a transformação celular. Esta proteína também está envolvida na evasão do sistema imune. É responsável pela entrada das células epiteliais mais distais no ciclo celular permitindo a amplificação do genoma viral.
E7	A proteína E7 dos tipos de alto risco induz a degradação de pRb e pode promover a instabilidade cromossômica. A proteína E7 é necessária para transformação celular. É responsável pela entrada das células epiteliais mais distais no ciclo celular permitindo amplificação do genoma viral.

2.9. Ciclo celular e HPV

O epitélio anal cresce em camadas estratificadas, nas quais as células das camadas basais estão aptas a se dividir (EGAWA et al., 2015). Após a divisão celular, uma das células filhas migra para a superfície e começa a sua diferenciação (MUNOZ et al., 2006).

O HPV infecta as células da camada basal do epitélio por meio de microlesões (HERFS et al., 2011). No ânus, as microlesões acontecem por meio do tecido epitelial mucocutâneo como decorrência do ato sexual, passagem do bolo fecal endurecido ou mesmo pela presença de fístulas anais (PEREIRA et al., 2008).

Após a infecção da célula basal pelo HPV, as partículas virais são desmontadas em endossomos tardios e/ou lisossomos e em seguida o DNA viral é transferido para o núcleo da célula (EGAWA et al., 2015). A infecção pelo HPV pode então seguir por três caminhos: O vírus pode ficar em estado de latência, iniciar seu ciclo produtivo infectando outros indivíduos ou pode

induzir a transformação celular e conseqüentemente a carcinogênese (DOORBAR, 2013).

As infecções pelo HPV geralmente duram de 12 a 18 meses e são eventualmente eliminadas pelo sistema imune (ODUNSI; PEJOVIC; ANDERSON, 2011; BOSCH et al., 2013). De acordo com o que já foi estudado sobre a relação do HPV com cânceres anogenitais, a incidência dessa infecção tem picos antes dos 25 anos e então declina como infecções assintomáticas e são eliminadas pelo sistema imune do hospedeiro (DOORBAR, 2016).

Após a infecção, o DNA do HPV pode manter-se dentro da células basais do epitélio sem replicação em estado de latência (DOORBAR, 2015). Uma vez dentro das células basais, o vírus também pode iniciar seu ciclo produtivo, acompanhando o processo de diferenciação celular e replicando seu genoma em um número baixo de cópias que são mantidas na sua forma episomal sem integração ao DNA da célula hospedeira, apenas mantendo seu ciclo de vida pela síntese das proteínas E1, E2, E4 e E5 como esquematizado na figura 08 (células com núcleo vermelho) (HERFS et al., 2011; DOORBAR, 2012). Nesta fase, a baixa expressão dos genes E1, E2, E6 e E7, é suficiente para a manutenção do genoma viral (FERRAZ et al., 2012).

A síntese e a liberação de novas partículas virais ocorre conforme a descamação do epitélio e são acompanhadas pela expressão dos genes L1 e L2, que codificam as proteínas do capsídeo viral e do gene E4 que induz a maturação viral (RAPTIS et al., 2015) Os vírions então são liberados,

podendo infectar outras células ou outros indivíduos e assim iniciar novamente o ciclo viral (DOORBAR, 2012).

Enquanto o vírus mantém-se na sua forma episomal, pode-se observar o surgimento dos condilomas anais e das primeiras alterações celulares que constituem as lesões de baixo grau (LSIL) ou as neoplasias intraepiteliais anais (NIA I) (NADAL e MANZIONE, 2006).

Há casos em que o sistema imune falha em eliminar a ação do vírus e a infecção se torna persistente (RIBEIRO et al., 2015). O HPV pode integrar-se ao DNA da célula hospedeira (figura 08 - células com núcleo rosa), como consequência da perda do gene E4 e parte do gene E2, que controlam a transcrição dos demais genes virais, levando ao aumento da expressão de E6 e E7 (HERFS et al., 2011; GANTI et al., 2015).

Este processo pode levar ao desenvolvimento de lesões de alto grau (HSIL) ou neoplasias intraepiteliais anais NIA II/III, e dos cânceres anais como demonstrado na figura 08 (KOPPE, 2010).

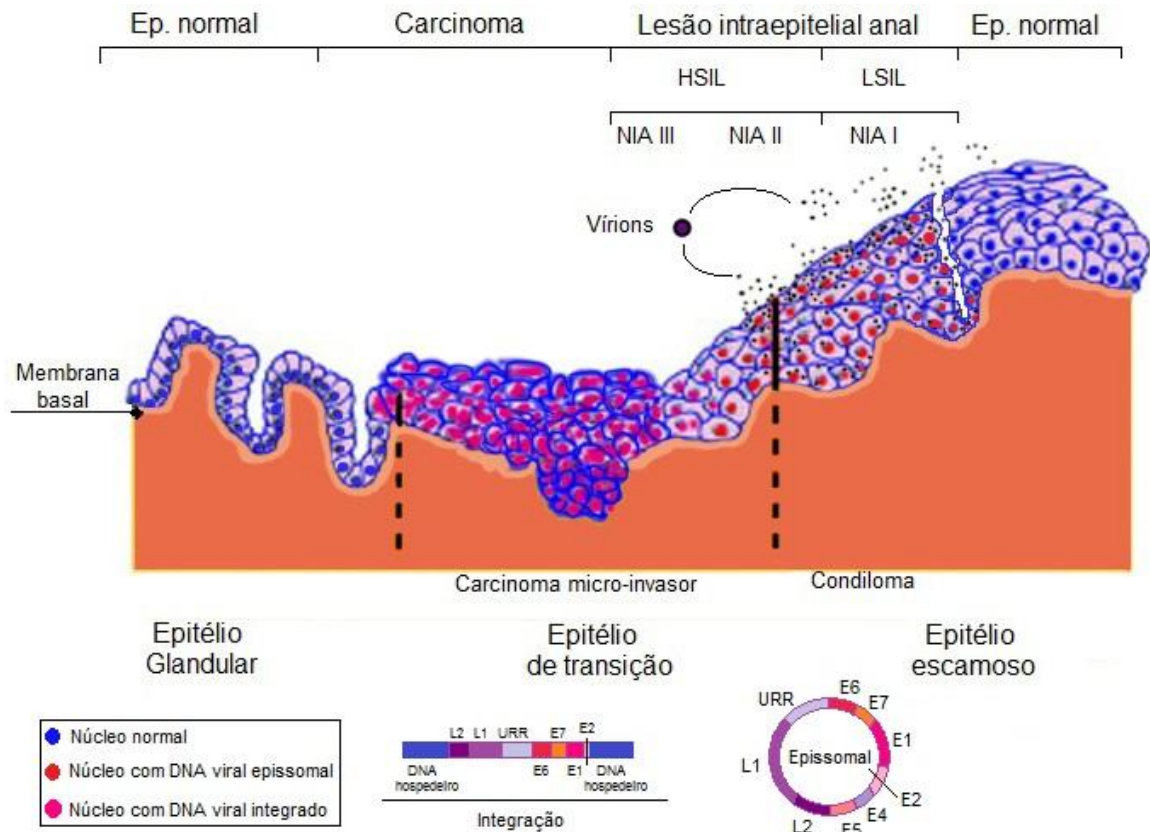


Figura 08. Curso da infecção pelo HPV na mucosa anal. As partículas virais infectam as células basais da mucosa anal. Estas células podem sofrer alteração pela ação do vírus levando à formação de neoplasias ou lesões intraepiteliais (vírus na forma epissomal) (núcleo vermelho) ou o vírus pode integrar-se ao DNA da célula (núcleo rosa) induzindo a carcinogênese (Adaptado de Herfs et al., 2011).

A super expressão de E6 e E7 promove a inativação ou destruição de p53 e pRb, favorecendo à integração do DNA do vírus ao DNA da célula hospedeira e ao aumento da expressão de p16 (SON et al., 2012; MESPLEDE et al., 2012; ZHOU et al., 2012; HONG e LAIMINS, 2013).

A proteína p53 tem como principal papel a supressão tumoral, por meio da ativação transcricional dos genes que mantêm a estabilidade genômica (LU et al., 2003; MESPLEDE et al., 2012; GANTI et al., 2015). A oncoproteína E6 do HPV inativa p53 (HONG e LAIMINS, 2013). As células que apresentam p53 mutada ou inativada não conseguem, em resposta a um dano no DNA, induzir o bloqueio da fase G1 do ciclo celular ou levar a apoptose (SON et al., 2012; GANTI et al., 2015).

Outra interferência no ciclo celular que o HPV causa é a inativação de pRb por meio da oncoproteína E7 (YUAN; FILIPPOVA; DUERKSEN-HUGHES, 2012; SON et al., 2012; HONG; LAIMINS, 2013; GANTI et al., 2015). O produto do gene Rb, proteína nuclear pRb, interage com o fator de transcrição celular E2F na fase G1 do ciclo celular (YUAN; FILIPPOVA; DUERKSEN-HUGHES, 2012). Esta interação impede a transcrição por E2F de genes celulares envolvidos na proliferação e replicação de DNA, tais como timidina-quinase, c-myc, polimerase alfa, entre outros (SUI et al., 2011; ZEESTRATEN et al., 2013; BARDHAN e LIU, 2013).

Mutações no gene Rb ou inativação de pRb levam à proliferação celular descontrolada (LU et al., 2003; SON et al., 2012; MESPLEDE et al., 2012; ZHOU et al., 2012; HONG e LAIMINS, 2013). A inativação de pRb e E2F pode levar à ativação de quinases dependentes de ciclinas (CDK4 e CDK6) que, por sua vez, levam à expressão de proteínas quinase associadas, entre elas a p16^{INK4a} (SON et al., 2012; LIN et al., 2014). A proteína p16 age como supressora tumoral inibindo as quinases dependentes de ciclina (CDK4 e CDK6), que regulam o ponto G1 de checagem do ciclo celular comandado por pRb (WANG e LU, 2004). Entretanto, tal ativação é improdutiva frente à degradação de pRb por E6 do HPV (REUSCHENBACH et al., 2008; TORNESELLO et al., 2013).

Quando o gene Rb sofre mutação, a p16 é detectada, mas quando o gene Rb está intacto, esta proteína fica criticamente reduzida ou ausente em linhagens celulares e espécimes clínicas (TORNESELLO et al., 2013). O marcador p16 não é expresso em epitélio normal, mas em células proliferativas e lesões inflamatórias induzidas por HPV de alto risco, por isso

é tão estudado como biomarcador tumoral em lesões associadas ao HPV transcricionalmente ativo (HONG e LAIMINS, 2013).

O intervalo de tempo entre o pico da infecção por HPV e o pico de incidência de cânceres anogenitais ocorre entre duas a quatro décadas e nesse período outros fatores de risco podem influenciar a carcinogênese como o tabaco e o álcool (DALING et al., 2004; JOHNSON et al., 2004; ABRAMOWITZ et al., 2007; EGAWA et al., 2015).

As características moleculares da lesão anal, como a super expressão dos oncogenes virais E6 e E7, são semelhantes às do câncer do colo do útero (BEAN et al., 2007). Os biomarcadores como p16, p53 e pRb são investigados para uso no prognóstico das NIA e do câncer anal, mas ainda são poucas as pesquisas na área (CALORE et al., 2001; MULLERAT et al., 2003; BEAN et al., 2007; TORNESELLO et al., 2013, KOERBER et al., 2014).

2.10. Câncer anal e HPV

Os CCEs que envolvem o canal anal representam o principal tipo histológico de câncer anal e na maior parte, são ocasionados por HPV de alto risco (92%) (KOERBER et al., 2014). O HPV 16 já foi detectado em 80% de 496 cânceres anais e o HPV 18 em 4% (ALEMANY et al., 2015).

Atualmente, o Brasil oferece a vacina quadrivalente contra os genótipos do HPV 6, 11, 16 e 18, para meninas com idades entre 9 e 14 anos e para mulheres HIV positivas com idades entre 9 e 26 anos, para prevenção do câncer cervical, anal, vulvar, vaginal, lesões pré-cancerosas, verrugas genitais e infecções causadas pelo HPV (BRASIL, 2015). Embora

esta seja uma área de intensa pesquisa, mais estudos são necessários para avaliar o papel profilático da vacinação na prevenção do câncer anal, assim como já realizado em outros países como Estados Unidos e Austrália em que a vacina é útil como terapia adjuvante para o câncer anal (POGGIO, 2011; HILLMAN et al., 2014; MENSAH et al., 2016).

A tabela 1 reúne resultados de 17 estudos selecionados, que fizeram detecção do HPV em cânceres anais em diferentes regiões geográficas, caracterizando a forte associação do HPV com o câncer anal. Um total de 1944 casos foram testados para o HPV, com prevalências que variaram entre 60,6% a 100% nos estudos (DALING, et al., 2004; VARNAL et al., 2006; TACHEZY et al., 2007; WONG, et al., 2010; RAMAMOORTHY, et al., 2010; ABRAMOWITZ, et al., 2011; YHIM, et al., 2011; KOMLOS, et al., 2011; SOARES et al., 2011; VALMARY-DEGANO et al., 2013; OUHOUMMANE et al., 2013; RAVENDA, et al., 2014; HILLMAN, et al., 2014; ; KOERBER, et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014; AGUIAR et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015).

Em geral a maior parte dos casos de câncer anal estudados foram da Europa e América do Norte (DALING, et al., 2004; VARNAL et al., 2006; TACHEZY et al., 2007; WONG, et al., 2010; RAMAMOORTHY, et al., 2010; ABRAMOWITZ, et al., 2011; KOMLOS, et al., 2011; VALMARY-DEGANO et al., 2013; OUHOUMMANE et al., 2013; RAVENDA, et al., 2014; HILLMAN, et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015). Um menor número de casos de câncer anal estudados foi observado na África, já que havia apenas um trabalho com casos desta região (ALEMANY, et al., 2015).

Todos os estudos mostrados na tabela 1 detectaram o HPV no carcinoma de células escamosas. Enquanto que os adenocarcinomas foram avaliados em seis estudos (DALING, et al., 2004; TACHEZY et al., 2007; WONG, et al., 2010; OUHOUMMANE et al., 2013; HILLMAN, et al., 2014; AGUIAR et al., 2014) e em outros cânceres como o carcinoma neuroendócrino, carcinoma de pequenas células, melanoma, sarcoma e carcinoma basocelular que foram avaliados em sete estudos (DALING, et al., 2004; ABRAMOWITZ, et al., 2011; VALMARY-DEGANO et al., 2013; OUHOUMMANE et al., 2013; SERUP-HANSEN, et al., 2014; AGUIAR et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015). O CCE anal foi o tipo histológico mais comum e com o maior número de casos positivos para o HPV em todos os estudos.

Todas as amostras avaliadas eram de material parafinado de câncer anal. A metodologia empregada nos trabalhos para detecção e genotipagem do HPV foi a PCR e hibridização por sondas específicas. Os tipos mais comuns de *primers* utilizados nas pesquisas para detecção do DNA do HPV foram GP05/06, MY09/11 e SPF10 (VARNAI et al., 2006; TACHEZY et al., 2007; WONG, et al., 2010; RAMAMOORTHY, et al., 2010; ABRAMOWITZ, et al., 2011; KOMLOS, et al., 2011; OUHOUMMANE et al., 2013; RAVENDA, et al., 2014; AGUIAR et al., 2014; KOERBER, et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015). Cinco estudos não citaram os *primers* envolvidos na genotipagem do HPV (DALING, et al., 2004; YHIM, et al., 2011; SOARES et al., 2011; HILLMAN, et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014). O uso de ensaio por PCR de alta sensibilidade permite à amplificação de DNA, mesmo em amostras com quantidades escassas de material, e a genotipagem por

hibridização reversa com o uso de sondas específicas, permite identificar um grande espectro de genótipos do HPV (ALEMANY, et al., 2015).

A distribuição genotípica foi realizada em 16 estudos (tabela 1 continuação) (DALING, et al., 2004; VARNAI et al., 2006; TACHEZY et al., 2007; WONG, et al., 2010; RAMAMOORTHY, et al., 2010; ABRAMOWITZ, et al., 2011; YHIM, et al., 2011; KOMLOS, et al., 2011; SOARES et al., 2011; VALMARY-DEGANO et al., 2013; OUHOUMMANE et al., 2013; RAVENDA, et al., 2014; HILLMAN, et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015). Dos quais, entre os HPV de alto risco, o HPV 16 foi o genótipo mais prevalente (variando entre 70% a 100%), seguido pelo HPV 18 e 33. Entre o grupo dos HPV de baixo risco, os genótipos 6 e 11 foram os mais prevalentes. O HPV foi observado como fator prognóstico conferindo melhor sobrevida para pacientes com câncer anal em três estudos (YHIM et al., 2011; SERUP-HANSEN, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014).

Tabela 1. Prevalência do HPV nos cânceres anais no mundo.

Referência	País	N casos	Histologia	HPV%	Primer
Alemanya et al., 2015	Bósnia-Herzegovina, República Checa, França, Alemanha, Polónia, Portugal, Eslovénia, Espanha Reino Unido, Estados Unidos da América, Chile, Colômbia, Equador, Guatemala, Honduras, México e Paraguai, Mali, Nigéria e Senegal, Bangladesh, Índia e Coréia do Sul e Austrália	496	CCE; Carcinoma	88,3%	SPF 10
Koerber et al., 2014	Alemanha	90	CCE	83,3%	GP5+/6+
Aguiar et al., 2014	Brasil	38	CCE; Carcinoma; Adenocarcinoma	76%	SPF 10
Serup-Hansen et al., 2014	Dinamarca	137	CCE; Carcinoma;	87,6%	Não descrito
Hillman et al., 2014	Austrália	112	CCE; Adenocarcinoma	96,4%	Não descrito
Ravenda et al., 2014	Itália	50	CCE	84,0%	GP5+/GP6+
Ouhoumane et al., 2013	Canada	96	CCE; Carcinoma; Adenocarcinoma	92,0%	GP5+/6+; PGMY
Valmary-Degano et al., 2013	França	73	CCE; Carcinoma	98,6%	Tipo específico para E6 e E2
Komlos et al., 2011	Eslovénia	16	CCE	100,0%	SPF 10
Soares et al., 2011	Brasil	33	CCE	60,6%	Não descrito
Yhim et al., 2011	Coréia do Sul	47	CCE	74,5%	Não descrito
Ramamoorthy et al., 2010	Estados Unidos da América	20	CCE	90,0%	GP5+/6+
Wong et al., 2010	Estados Unidos da América	48	CCE; Adenocarcinoma	75,0%	MY09/11; GP5+/6+
Abramowitz et al., 2011	França	362	CCE; Carcinoma	97,0%	MY09/11; GP5+/6+
Tachezy et al., 2007	República Checa	31	CCE; Adenocarcinoma	67,7%	GP5+/6+
Varnai et al., 2006	Alemanha	47	CCE	80,9%	MY09/11; GP5+/6+
Daling et al., 2004	Estados Unidos da América	248	CCE; Carcinoma; Adenocarcinoma	87,9%	Não descrito
Total		1906			

*CCE: Carcinoma de células escamosas; Carcinoma: basocelular, cloacogênico, melanoma, sarcoma e neuroendócrino.

Tabela 1 (continuação). Prevalência do HPV nos cânceres anais no mundo.

Referência	Prevalência do HPV no câncer anal				Prevalência do HPV por genótipo																		HPV D*		
	Prevalência HPV (% total de casos testados)				HPV de alto risco												HPV de baixo risco								
	Casos testados	HPV %	Infecção simples	Infecção múltipla	16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	73	82	6	11	40	42	43		44	54
Alemaný et al., 2015	496	88.3	92.7	7.3	92.0	4.0	<5.0			<5.0	<5.0														
Koerber et al., 2014	90	83.3	100	0.0	80.7	3.6	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0		<5.0	<5.0	<5.0						<5.0				<5.0
S.Hansen et al., 2014	137	87,6	98.5	1.6	92.5	2.5		5.8																	
Hillman et al., 2014	112	96.4	75.9	23.2	75.0	3.7	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	13.0					10.1	5.5				<5.0	9.2	
Ravenda et al., 2014	50	84.0	92.8	7.1	83.3	11.9	11.9																		
Ouhoumane et al., 2013	96	92.0	93.0	7.0	82.0	2.0	<5.0						<5.0	<5.0	<5.0		<5.0	<5.0							
V.Degano et al., 2013	73	98.6	94.4	5.5	90.2	1.4	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0															
Komlos et al., 2011	16	100.0	100.0	93.7	93.7													6.2							
Soares et al., 2011	33	60.6	-	-	70.0	25.0																			5.0
Yhim et al., 2011	47	74.5	-	-	88.5			<5.0																	
Ramamoorthy et al., 2010	20	90.0	11.1	88.8	75.7	5.8	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0		6.0	7.4	<5.0		<5.0	<5.0	<5.0	
Wong et al., 2010	48	75.0	-	-	88.8	72.2		11.1											5.5	11.1			5.5		
Abramowitz et al., 2011	362	97.0	-	-	75.0	2.7																			25.0
Tachezy et al., 2007	31	67.7	95.0	5.0	100			5.0																	
Varnai et al., 2006	47	80.9	94.8	5.2	89.7	2.5	<5.0	7.6		<5.0															
Daling et al., 2004	248	87.9	-	-	73.0	6.9																			

D* HPV desconhecido ou não citado no estudo com a devida identificação do genótipo.

3. JUSTIFICATIVA

A associação entre a infecção pelo HPV e o câncer anal já é conhecida. É também notável, que este câncer é grave e que o número de casos cresce continuamente, principalmente entre os grupos de maior risco. A precariedade de dados epidemiológicos no estado de Goiás sobre a prevalência e a distribuição genotípica do HPV nos cânceres anais é preocupante, pois esses dados são necessários para um estudo mais aprofundado acerca da ação do vírus no desenvolvimento das lesões cancerosas ou pré-cancerosas anais, além de possibilitar seu monitoramento e prevenção.

Este estudo apresenta a prevalência do HPV e de seus genótipos no câncer anal, bem como uma descrição dos principais aspectos clínicos e histopatológicos dos cânceres anais diagnosticados em uma unidade de referência do tratamento de câncer em Goiânia – GO. Estes dados possibilitam avaliar o impacto dos diferentes genótipos do HPV no prognóstico e sobrevida dos pacientes com cânceres anais, bem como estimar o impacto da vacina contra o HPV e seu impacto na prevalência do câncer anal na região do estudo.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Descrever os aspectos sócio-demográficos e clínico-patológicos dos pacientes com câncer anal e avaliar suas associações com a detecção e distribuição genotípica do HPV.

4.2. Objetivos específicos

- Descrever os principais aspectos sócio-demográficos e clínico-patológicos dos pacientes com câncer anal diagnosticados em Goiás.
- Estimar a prevalência e a distribuição genotípica do HPV nos cânceres anais.
- Avaliar as possíveis associações entre os achados de detecção e genotipagem do HPV e os fatores clínico-patológicos e sócio-demográficos dos pacientes com câncer anal.
- Avaliar o impacto dos diferentes genótipos do HPV no prognóstico dos pacientes com câncer anal.
- Estimar a probabilidade de sobrevida em cinco anos dos pacientes com câncer anal HPV positivo ou negativo.

5.1. Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Araújo Jorge (HAJ), pelo parecer no. 272.288, em abril de 2013 (Anexo 1).

5.2. Tipo do estudo e contexto

Estudo epidemiológico, transversal retrospectivo e analítico, com a utilização dos dados clínicopatológicos e análises moleculares de espécimes de cânceres anais, contidos em blocos de parafina identificados a partir da seleção da amostra de 81 prontuários de pacientes com cânceres anais primários, diagnosticados em uma Instituição de referência no tratamento de câncer na região Centro-Oeste, em um período de 10 anos de 2000 a 2010.

O Hospital é considerado referência no tratamento do câncer no Centro-Oeste, mas também atende pacientes de outras regiões brasileiras, notadamente Norte e Nordeste (Acre, Pará, Rondônia, Tocantins, Bahia). É uma unidade de saúde privada e filantrópica, atendendo em média 80% dos pacientes pelo Sistema Único de Saúde(SUS).

5.3. Seleção da amostra

Uma lista com 140 casos de cânceres anais diagnosticados no Setor de Anatomia Patologia (SAP) do Hospital Araújo Jorge, no período de 2000-2010, foi inicialmente consultada. Foram considerados elegíveis após

revisão clinicopatológica 85 casos de câncer anal invasor. Foram excluídos 59 casos, sendo que 55 não foram considerados carcinoma anal primário e 4 não tinham amostras de espécimes tumorais incluídos em parafina disponíveis ou suficientes para análise molecular. Assim, a amostra final foi constituída por 81 casos. A figura 09 apresenta detalhadamente a seleção dos casos.

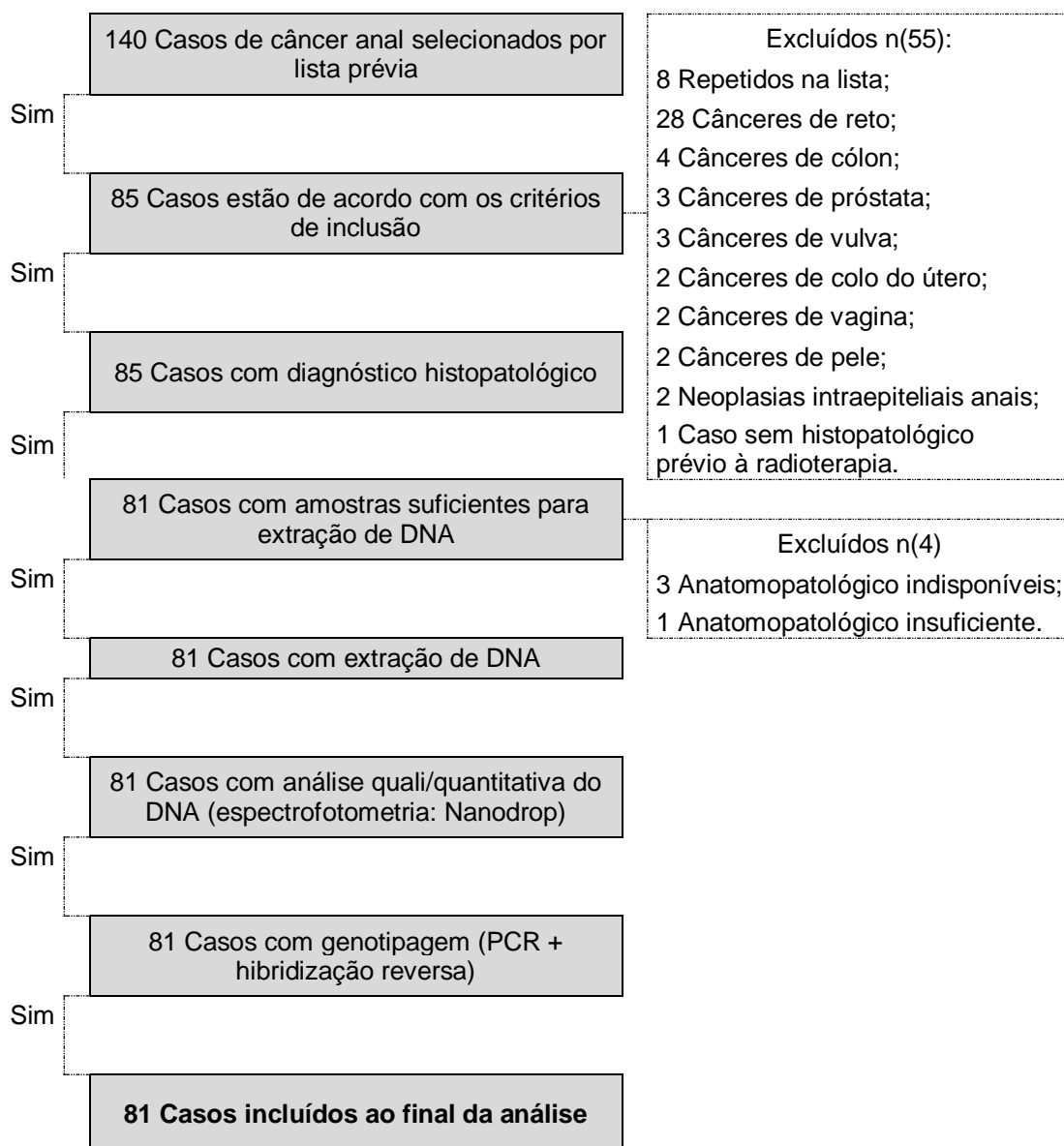


Figura 09. Fluxograma da seleção de amostra

A sobrevida em 60 meses foi avaliada com base no status do paciente na última consulta e o óbito registrado, independente da causa. Os casos selecionados foram aqueles que apresentaram diagnóstico histopatológico de câncer anal confirmado, dados clinicopatológicos disponíveis nos prontuários e blocos de parafina disponíveis e suficientes para análise molecular. Os casos que não foram confirmados como câncer anal primário foram excluídos.

5.4. Procedimento de coleta de dados

A coleta de todo material utilizado foi realizada no Hospital Araújo Jorge, desde os prontuários até o levantamento dos espécimes de cânceres anais contidos em blocos de parafina. Os prontuários do Setor de Arquivo Médico do HAJ foram revisados e os dados clinicopatológicos, sóciodemográficos e prognósticos dos pacientes com câncer anal foram colhidos. As características sóciodemográficas coletadas incluíram: sexo do paciente (feminino ou masculino); idade expressa em anos completos, por ocasião do diagnóstico do câncer; estado civil do paciente (solteiro ou em relação estável); hábitos como tabagismo e etilismo; presença de doença sexualmente transmissível (laudos de sorologia); e histórico de neoplasia prévia ao câncer anal.

As características clinicopatológicas coletadas incluíram: localização do câncer (canal anal, borda anal ou ambos); tipo histológico do câncer (CCE, adenocarcinoma e outros tipos como o carcinoma basalóide, cloacogênico ou neuroendócrino); método de diagnóstico (se realizado por biópsia ou por cirurgia); tratamento dado ao paciente (cirurgia, quimioterapia

ou radioterapia); estadiamento do tumor ou TNM (avaliação do tamanho do tumor, comprometimento de linfonodos regionais e metástases à distância) conforme recomendação da AJCC; estado do paciente na última visita; sobrevida global (intervalo de tempo entre o diagnóstico e a última visita do paciente ou última informação obtida sobre o mesmo).

5.5. Preparação das amostras e confirmação do diagnóstico

Os blocos de parafina contendo os espécimes tumorais foram selecionados no arquivo do Serviço de Anatomia Patológica do HAJ/ACCG. Com o uso de um micrótomo, cada bloco foi seccionado de forma seriada e os cortes acondicionados em microtubos devidamente identificados. As navalhas do micrótomo foram trocadas a cada novo bloco e o equipamento higienizado com álcool etílico a cada novo bloco. A partir de cada bloco, foram preparadas lâminas, contendo fragmentos dos tumores, que foram coradas pela hematoxilina eosina e revisadas por uma patologista. O diagnóstico de carcinoma anal foi confirmado para cada caso, com base nos critérios de classificação dos tumores da Organização Mundial de Saúde (OMS) (IARC, 2000).

Somente os blocos que continham tumor foram selecionados para a extração de DNA, detecção e genotipagem de HPV.

5.6. Análise molecular

5.6.1. Extração de DNA

Os 81 blocos cortados e acondicionados em microtubos foram transferidos ao Laboratório de Diversidade Genética da Pontifícia

Universidade Católica de Goiás (PUC) para realização da extração de DNA. Para remoção da parafina dos blocos, foram usados 750 µl de Xilol, que foram homogeneizados por um minuto à temperatura ambiente. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 15 minutos a 12000 rpm. O excesso de Xilol no sobrenadante foi retirado e o processo de lavagem foi repetido por duas vezes. Em seguida, as amostras foram adicionadas de 500 µl de etanol 100% para retirar o Xilol, homogeneizadas por 30 segundos e centrifugadas a 12000 rpm por 15 minutos. Foi realizada então, a retirada do sobrenadante e adicionado 500 µl de etanol 50%, homogeneizadas por 30 segundos e centrifugadas a 12000 rpm por 15 minutos. Os tubos contendo as amostras foram invertidos em papel absorvente para secagem a temperatura ambiente.

Para a lise celular das amostras, foram adicionados 300 µl de Proteinase K (PK) *Invitrogen*[®] a 0,1% e incubadas por 48 horas a 55° C com leve agitação. A purificação e desnaturação do DNA foi realizada com adição de 300 µl de Fenol/Clorofórmio/Isoamílico, que foram homogeneizados por um minuto e centrifugados a 12000 rpm por 15 minutos. Após o processo de centrifugação, houve a separação da fase aquosa da amostra que foi transferida para um novo tubo devidamente identificado e 100 µl de acetato de amônio 7,5M e 1000 µl de etanol a 100% foram acrescentados. O DNA das amostras foi precipitado a 20° C por 24 horas. O DNA precipitado foi centrifugado a 4° C por 15 minutos a 12000 rpm e lavado duas vezes com 1ml de etanol 70% gelado. Em seguida o DNA foi secado ao ar por 20 minutos. Após a secagem, o DNA foi diluído em 50 µl de água deionizada autoclavada, incubado a 37° C em banho maria por uma hora, para posterior

realização da PCR. Antes da PCR, o DNA extraído, foi quantificado por meio do espectrofotômetro (Nanodrop), para verificar a qualidade do material e o grau de pureza do DNA, considerando a razão das quantificações em 260/240nm.

5.6.2. Detecção e genotipagem do HPV

Após a extração de DNA as amostras foram transferidas para o Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octavio Frias de Oliveira (ICESP) para realização dos exames moleculares.

A avaliação da qualidade e eficiência da extração de DNA por PCR foi feita por meio da amplificação de um fragmento do gene HLA-DPB1, com uso do kit comercial *INNO LiPA HPV Genotyping Extra*, produzido pela *Innogenetics*[®].

A amplificação por PCR foi efetuada em uma mistura de reagentes com um excesso de desoxinucleotídeos 5' - trifosfatos (dNTPs), incluindo o trifosfato deoxiuridina, os iniciadores biotinilados, a DNA polimerase termostável e uracil-N-glicosilase (UNG). Uma etapa de incubação antes da amplificação remove as bases de uracil de qualquer produto de amplificação contaminante existente na mistura de reação. A enzima UNG torna-se inativa quando a temperatura aumenta durante o passo de desnaturação acima de 95°C. A mistura da amostra é aquecida para separar as duas cadeias da hélice de DNA (desnaturação) e expor as sequências alvo aos iniciadores. Estes iniciadores são complementares às regiões que flanqueiam a sequência alvo. Deste modo, são produzidas duas cópias exatas biotiniladas do molde alvo após um ciclo de desnaturação,

anelamento e extensão. Após 40 ciclos obtém-se uma multiplificação da sequência alvo biotinilada (quadro 3).

Quadro 3. Programa de ciclagem de PCR para detecção do genoma do HPV

Etapas	Temperatura	Tempo
1. Descontaminação	37° C	10 min.
2. Desnaturação	94° C	9 min.
3. Desnaturação	94° C	30 segs.
4. Emparelhamento dos iniciadores	52° C	45 segs.
5. Extensão dos iniciadores	72° C	45 segs.
6. Armazenamento	72° C	< 2 hr.

Fonte: INNO LiPA, 2010.

A genotipagem do DNA do HPV foi realizada com o Kit comercial *INNO LiPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics®)*, que é um ensaio de hibridização reversa (Figura 10 e 11), projetado para identificação de 28 diferentes genótipos de HPV por meio da detecção de sequências específicas da região L1 do genoma do HPV. O ensaio utiliza oligonucleotídeos iniciadores SPF10, definidos para a amplificação altamente sensível da maioria dos genótipos clinicamente relevantes do HPV. Além disso, um conjunto de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para a amplificação do gene HLA-DPB1 humano foi adicionado à reação, a fim de monitorar a qualidade da amostra de DNA extraído. A adição de UNG à mistura de amplificação também foi usada como uma medida preventiva de contaminação.

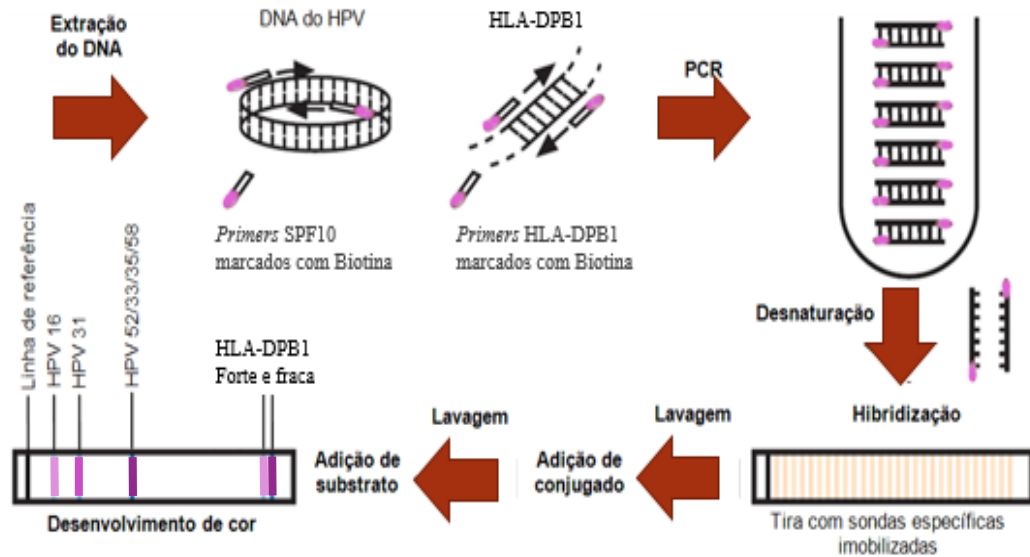


Figura 10. Metodologia de detecção e genotipagem do DNA do HPV. A hibridização reversa é realizada por sondas contendo oligonucleotídeos específicos de acordo com a metodologia *INNO LiPA HPV Genotyping Extra*, produzido pela *Innogenetics*[®] (adaptado de INNO LiPA, 2010).

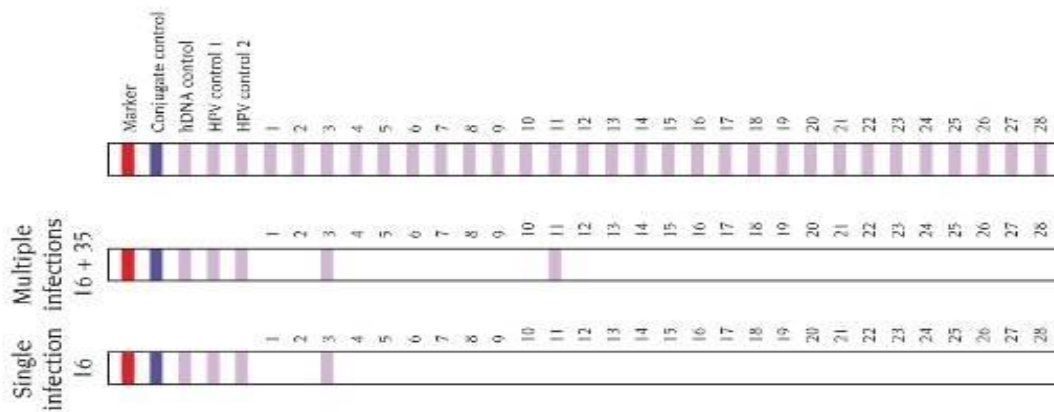


Figura 11. Posição das diferentes sondas oligonucleotídicas do kit comercial INNO LiPA. A linha azul escuro representa o controle do conjugado. A linha seguinte, o controle do DNA pela presença do gene HLA-DBP1. A linha é considerada positiva para o HPV, quando uma faixa clara, roxa ou marrom aparecer no fim do procedimento de teste. Cada número representa um tipo de HPV estabelecido no gráfico de interpretação do kit (adaptado de INNO LiPA, 2010).

O ensaio detecta todos os genótipos conhecidos atualmente como HPV de alto risco (figura 12) e os prováveis genótipos de alto risco do HPV (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82), bem como genótipos de HPV de baixo risco (6, 11, 40, 43, 44, 54, 70) e alguns tipos adicionais (69, 71, 74).

Mapa de interpretação

Probe #	Genótipos do HPV																																					
	6 LR	11 LR	16 HR	18 HR	18 HR	26 pHR	31 HR	33 HR	35 HR	39 HR	40 LR	43 LR	44 LR	45 HR	45 HR	51 HR	52 HR	53 pHR	53 pHR	54 LR	56 HR	58 HR	58 HR	58 HR	58 HR	59 HR	66 pHR	68 HR	69/71 HR/LR	70 LR	70 LR	73 HR	74 HR/LR	82 HR				
1	X																																					
2		X																																				
3			X																																			
4				X																																		
5					X																																	
6						X																																
7																																						
8							X				X												X	X						X								
9							X	X													X																	
10						(X)	X																															
11								X																														
12			X	X						X																			X						X			
13											X																											
14												X																										
15													X																									
16														X	X																							
17																X																						
18							X	X			X						X	X	X	X		X	X	X	X													
19																	X	X	X																			
20																					X																X	
21																					X																	
22																						X	X	X	X													
23																										X												
24																										X												
25															X												X						X	X				
26																															X	X						
27																																			X			
28																																					X	

Figura 12. Esquema de interpretação para detecção e genotipagem do HPV por meio do Kit comercial INNO LiPA. O número da sonda (*probe*) representa o genótipo do HPV encontrado que pode ser de alto risco (HR) ou baixo risco (LR) (adaptado de INNO LiPA, 2010).

Os tipos de HPV foram classificados em baixo e alto risco oncogênico conforme o Kit INNO LiPA. Foi considerada infecção simples a amostra que apresenta-se infecção por um único genótipo do HPV e foi considerado infecção múltipla a amostra que apresenta-se infecção por mais de um genótipo do HPV. Em caso de infecção múltipla por HPV, com pelo menos um genótipo de alto risco na amostra, o resultado foi considerado como HPV de alto risco. Nos casos que continham apenas genótipos de baixo risco, a amostra foi considerada como HPV de baixo risco.

5.7. Análise dos resultados

Os dados sóciodemográficos e clínicopatológicos foram coletados em fichas apropriadas e transferidas para planilhas, utilizando o programa estatístico Microsoft Excel, versão 2013. O banco de dados foi digitado por duas pesquisadoras independentemente e comparados para verificação dos dados e limpeza do banco. Os dados foram transferidos para programa estatístico *GraphPad Prism* versão 4 e analisados por estatística descritiva, a fim de gerar estimativas de prevalência com os respectivos intervalos de confiança.

Para idade do grupo foi calculada a média e desvio padrão. Para avaliar as possíveis associações entre as variáveis analisadas, foi realizada a análise univariada considerando o nível de significância $p < 0,05$. Para avaliar as associações existentes entre os resultados obtidos para detecção do HPV e as demais variáveis analisadas, foi empregada a análise de regressão logística com o cálculo do *odds ratio* (OR) com intervalo de confiança (IC) 95% e nível de significância de 5%.

Para o cálculo de sobrevida, foi utilizado o método de *Kaplan-Meier* e para comparação das médias de sobrevida em função dos fatores prognósticos para câncer anal, foi usado o teste *log-rank*. O óbito foi considerado independente de sua causa. O esquema da metodologia usada neste estudo é apresentado na figura 13.

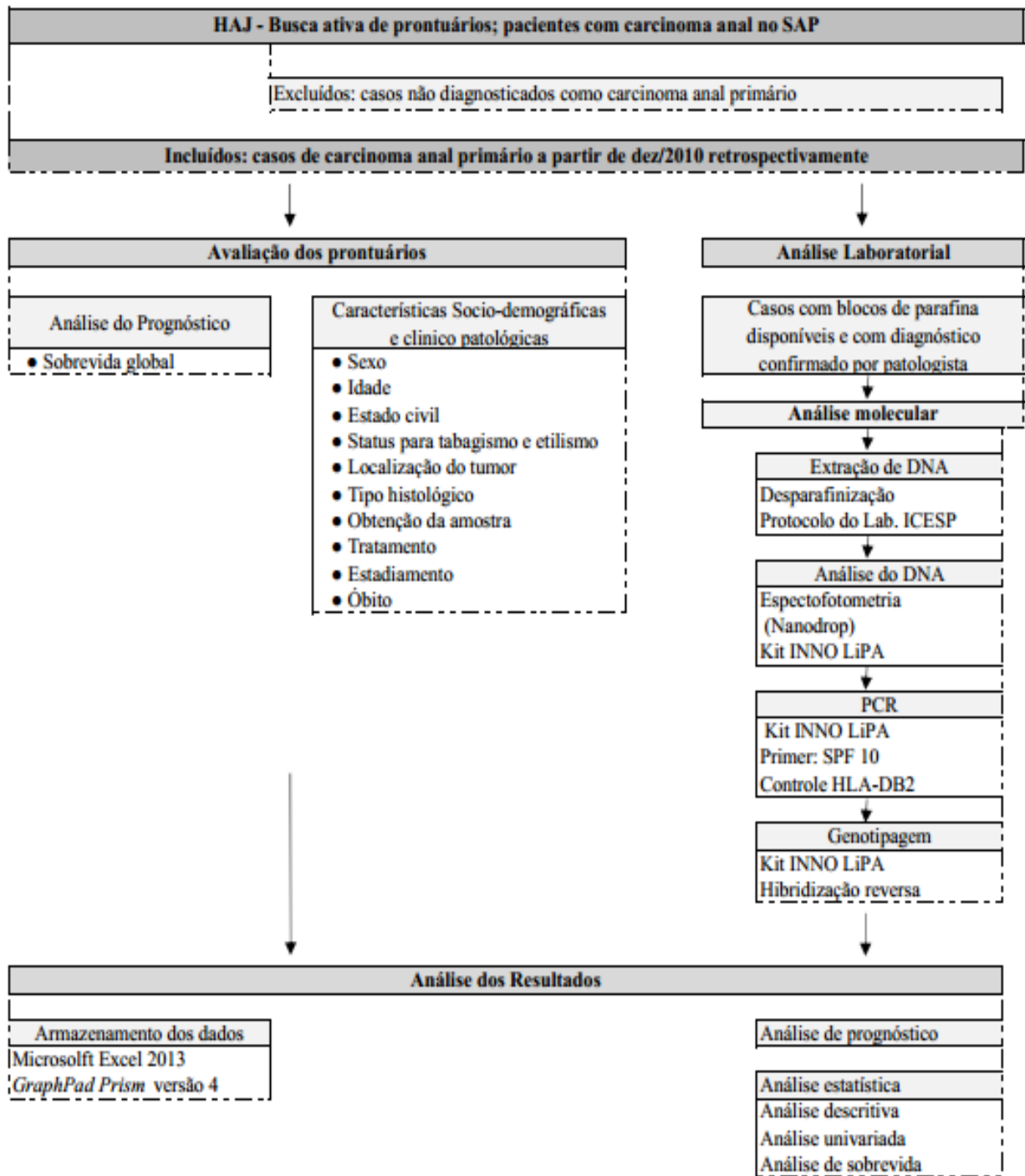


Figura 13: Fluxograma metodológico da pesquisa.

6. RESULTADOS

6.1. Características da amostra

A amostra incluiu 81 casos de câncer anal, que forneceram DNA satisfatório e suficiente para amplificação por PCR. As características dos pacientes com câncer anal são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2. Características sócio-demográficas e clínico-patológicas dos pacientes com cânceres anais (n81)

Sexo	(n)	(%)	Tipo Histológico	(n)	(%)
Feminino	51	63,0	CCE*	42	51,9
Masculino	30	37,0	Adenocarcinoma	32	39,5
Idade ao diagnóstico (anos)			Outros**	7	8,6
< 61 anos	38	46,9	Tratamento		0,0
≥ 61 anos	43	53,1	Cirurgia	65	80,2
Estado Civil			Radioterapia	62	76,5
Solteiro(a)	37	45,7	Quimioterapia	51	63,0
Casado(a)	40	49,4	Sem tratamento	4	4,9
Raça/cor			Tamanho do tumor		
Branca	29	35,8	T I-II	58	71,6
Parda	48	59,3	T III-IV	22	27,2
Negra	4	4,9	Não especificado	1	1,2
Tabagismo			Metástase linfonodal		
Sim	22	27,2	Sim	21	25,9
Não	54	66,6	Não	60	74,1
Etilismo			Metástase a distância		
Sim	17	21,0	Sim	7	8,6
Não	58	71,6	Não	74	91,4
Procedência			Local da metástase		
Grande Goiânia	28	34,6	Fígado	2	2,5
Demais cidades do GO	45	55,6	Pulmão	2	2,5
Outros Estados	8	9,6	Bexiga	1	1,2
Localização da lesão			Útero	1	1,2
Canal anal	59	72,8	Vagina	1	1,2
Borda anal	8	9,9	Registro de Óbito		
Ambos	14	17,3	Sim	45	55,6
Obtenção da amostra			Não	36	44,4
Biopsia	51	63,0			
Peça cirúrgica	30	37,0			

*CCE: Carcinoma espinocelular ** Outros: Carcinoma basalóide, cloacogênico e neuroendócrino. Número de pacientes com dados não informados: estado civil 4 (4,9%); tabagismo 5 (6,2%); etilismo 6 (7,4%); tamanho do tumor não especificado 1 (1,2%).

A maior parte dos pacientes foi do sexo feminino (63%). A idade variou entre 36 e 92 anos e a média global ao diagnóstico foi de 61,57 anos ($\pm 12,73$), a idade média para as mulheres foi de 62,47 anos ($\pm 13,01$) e para os homens 60,03 anos ($\pm 12,30$). O tabagismo e o etilismo foi relatado em 27,2% e 21,0% respectivamente.

Metástases linfonodais foram descritas em 25,9% dos pacientes e os linfonodos inguinais foram os mais comprometidos (dados não mostrados). Metástases à distância em 8,6%, sendo o fígado e o pulmão os órgãos mais acometidos. Ao final de 60 meses após o diagnóstico, 55,6% dos pacientes tiveram óbitos registrados.

A maior parte da amostra (52%) foi diagnosticada como carcinoma anal de células escamosas, seguida por adenocarcinomas (39,5%). O estadiamento clínico dos tumores, avaliando a extensão do tumor, a presença de disseminação linfática e de metástase à distância é apresentado na tabela 3. A maior parte dos CCE e adenocarcinomas encontravam-se em estágios T1-T2. Os outros tipos de cânceres anais encontravam-se em tamanho avançado mas sem disseminação linfonodal. Tanto os CCE quanto os adenocarcinomas apresentaram mais de um caso com metástase a distância (tabela 3).

Tabela 3. TNM clínico dos cânceres anais por tipo histológico

TNM	Adenocarcinoma		CCE		Outros		P
	n	%	n	%	n	%	
T1-T2	23	71,9	32	78,1	3	42,9	0,01
T3-T4	9	28,1	9	21,9	4	57,1	
Metástase linfonodal	9	28,1	12	28,6	0	0,0	0,26
Metástase a distância	3	9,4	3	7,1	1	14,3	0,80

* CCE: Carcinoma de células escamosas; **Outros: carcinoma basalóide, neuroendócrino, cloacogênico

6.2. Prevalência do DNA do HPV

A prevalência do DNA do HPV para o grupo avaliado foi de 69,1%. Apenas 25 pacientes foram negativos para a detecção do DNA do HPV (30,9%). A tabela 4 apresenta a prevalência do HPV e sua associação entre às características sócio-demográficas e clinicopatológicas investigadas. O HPV foi mais prevalente em mulheres quando comparadas aos homens OR 3,18 (IC 95% 1,19-8,48). A idade média do grupo ao diagnóstico foi semelhante nos pacientes HPV negativos (63 anos \pm 11,6) e HPV positivos (61 anos \pm 13,2). O HPV foi significativamente mais associado aos cânceres anais do tipo CCE (88,1%) (OR 9,51 IC 95% 2,96-30,50) (tabela 4).

Tabela 4. Associação do DNA do HPV e os cânceres anais, de acordo com aspectos sócio-demográficos e clinicopatológicos.

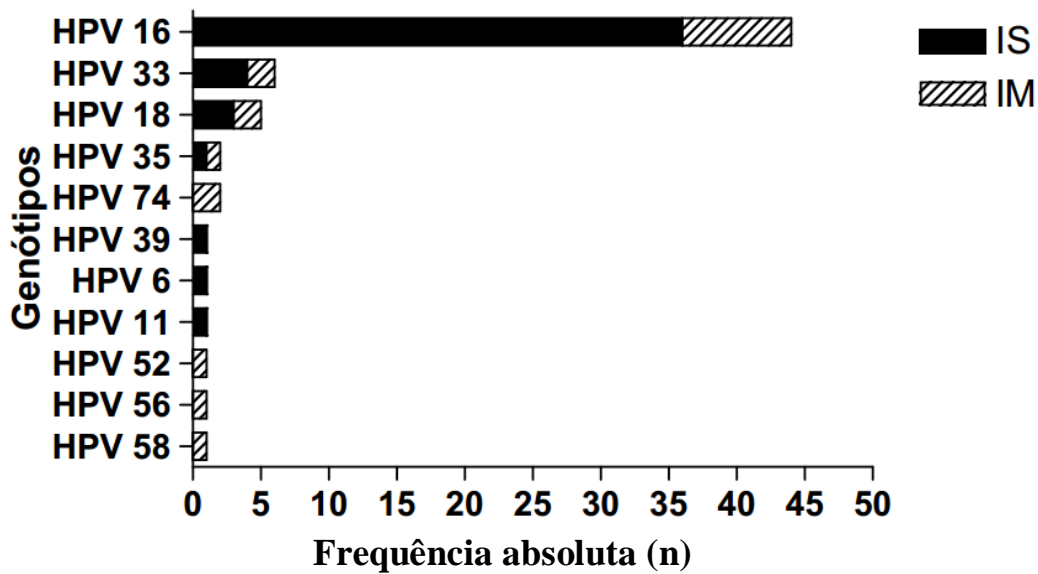
Variáveis	HPV+ (n)	%	HPV- (n)	%	P	OR (IC 95%)
Sexo						
Feminino	40	78,4	11	21,6	0,01*	3,18 (1,19-8,48)
Masculino	16	53,3	14	46,7		
Idade ao diagnóstico						
< 61 anos	26	68,4	12	31,6	0,89	0,93 (0,36-2,41)
≥ 61 anos	30	69,8	13	30,2		
Estado civil						
Solteiro	24	64,9	13	35,1	0,46	0,70 (0,26-1,84)
União estável	29	72,5	11	27,5		
Tabagismo						
Sim	15	68,2	7	31,8	0,97	0,98 (0,33-2,86)
Não	37	68,5	17	31,5		
Etilismo						
Sim	11	64,7	6	35,3	0,63	0,76 (0,24-2,39)
Não	41	70,7	17	29,3		
Local da lesão						
Canal anal	38	64,4	21	35,6	0,55	0,60 (0,11-3,26)
Borda anal	6	75,0	2	25,0		
Ambos	12	85,7	2	14,3		
Tipo histológico						
CCE**	37	88,1	5	11,9	0,0001*	9,51 (2,96-30,50)
Adenocarcinoma	14	43,8	18	56,2		
Outros***	5	71,4	2	28,6		
Tamanho do tumor						
T I-II	41	70,6	17	29,3	0,44	1,50 (0,52-4,25)
T III-IV	14	63,6	8	36,4		
Metástase linfonodal						
Sim	14	66,7	7	33,3	0,77	0,85 (0,29-2,48)
Não	42	70,0	18	30,0		
Metástase a distância						
Sim	5	71,4	2	28,6	1,00	1,13 (0,20-6,25)
Não	51	68,9	23	31,1		
Registro de Óbito						
Sim	30	66,7	15	33,3	0,59	0,76 (0,29-2,00)
Não	26	72,2	10	27,8		

*CCE, carcinoma de células escamosas; Outros, carcinoma basalóide, neuroendócrino, cloacogênico Número de pacientes com dados não informados que foram positivos para o HPV: estado civil 3; tabagismo 4; etilismo 4; tamanho do tumor não especificado 1.

6.3. Distribuição genotípica do HPV

Dentre todos os pacientes com câncer anal positivo para o DNA do HPV, 85,7% apresentaram infecção por um único tipo do HPV, enquanto 14,3% apresentaram infecção por múltiplos tipos do HPV. A distribuição genotípica do HPV e a presença de infecções simples e múltiplas de todas as amostras genotipadas são descritas e apresentadas na figura 14 e tabela

5.



IS: Infecção simples; IM Infecção múltipla

HPV de baixo risco (LR): 6;11

HPV de alto risco (HR): 16; 18; 33; 35; 39; 52; 56; 58; 74

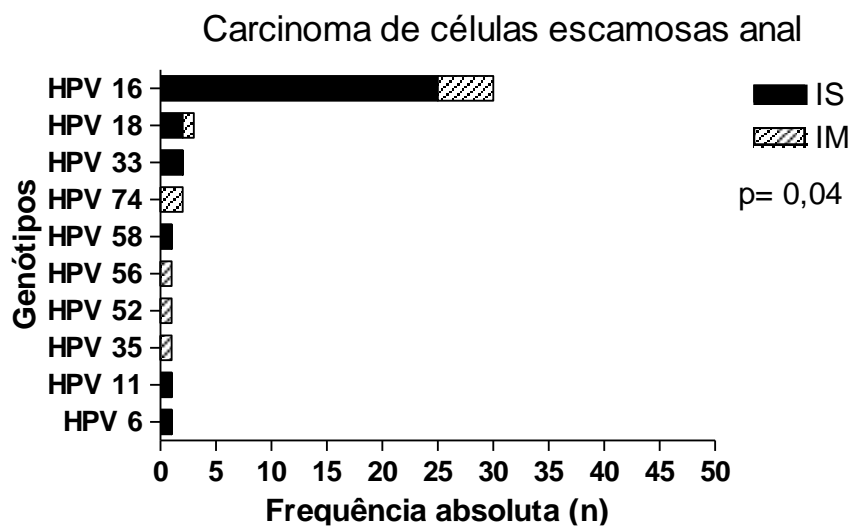
Figura 14. Frequência absoluta dos 11 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos cânceres anais.

Tabela 5. Associação entre as infecções simples e múltiplas pelo HPV e os cânceres anais, de acordo com aspectos sócio-demográficas e clinicopatológicas.

Variável	Infecção simples		Infecção múltipla		P	OR (IC 95%)
	N	%	n	%		
Sexo						
Feminino	34	85,0	6	15,0	0,80	1,24 (0,22-6,88)
Masculino	14	87,5	2	12,5		
Idade ao diagnóstico						
< 61 anos	20	76,9	6	23,1	0,08	4,20 (0,76-23,0)
≥ 61 anos	28	93,3	2	6,7		
Tabagismo						
Sim	13	86,7	2	13,3	0,98	0,98 (0,16-5,74)
Não	32	86,5	5	13,5		
Etilismo						
Sim	9	81,8	2	18,2	0,60	1,60 (0,26-9,64)
Não	36	87,8	5	12,2		
Localização da lesão						
Canal anal	31	81,6	7	18,4	0,25	3,10 (0,15-61,3)
Borda anal	6	100,0	0	0,0		
Ambos	11	91,7	1	8,3		
Tipo Histológico						
CCE	32	86,5	5	13,5	0,94	0,93 (0,16-5,50)
Adenocarcinoma	12	85,7	2	14,3		
Outros	4	80,0	1	20,0		
Tamanho da lesão						
T I-II	36	85,7	6	14,3	1,00	1,00 (0,17-5,63)
T III-IV	12	85,7	2	14,3		
Metástase linfonodal						
Sim	13	92,9	1	7,1	0,37	0,38 (0,04-3,44)
Não	35	83,3	7	16,7		
Metástase a distância						
Sim	4	80,0	1	20,0	0,70	1,57 (0,15-16,20)
Não	44	86,3	7	13,7		
Registro de Óbito						
Sim	28	93,3	2	6,7	0,08	0,23 (0,43-1,30)
Não	20	76,9	6	23,1		

*CCE, carcinoma de células escamosas; Outros, carcinoma basalóide, neuroendócrino, cloacogênico. Número de pacientes com dados não informados que tiveram infecção por mais de um genótipo do HPV: tabagismo 1 e etilismo 1.

A distribuição genotípica por tipo histológico é apresentado na figura 15, 16 e 17. Os genótipos mais prevalentes nos carcinomas de células escamosas anal foram os HPV 16, 18, 33 e 74, sendo que a infecção simples por HPV 16 esteve fortemente associado a esse tipo histológico de carcinoma anal ($p=0,04$). Nos adenocarcinomas os genótipos mais presentes foram os HPV 16, 18 e 33 e nos outros tipos de carcinoma anal os HPV 16 e 33.

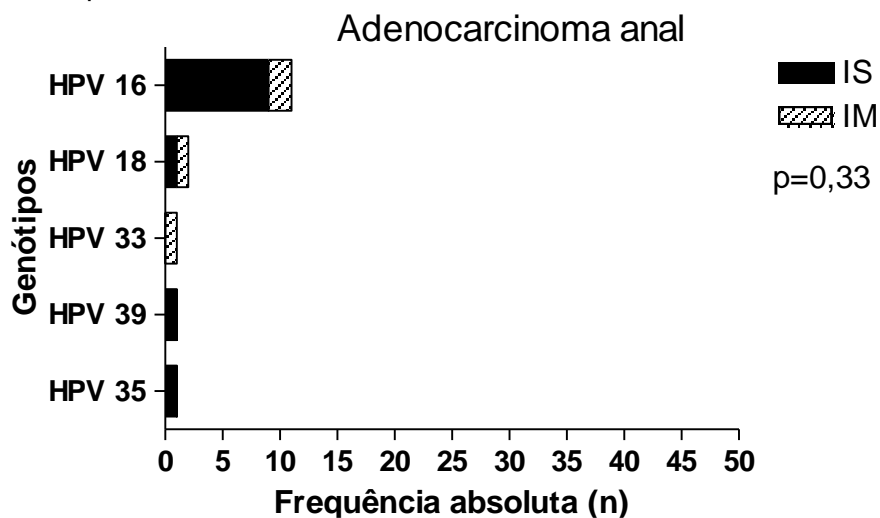


IS: Infecção simples; IM Infecção múltipla

HPV de baixo risco (LR): 6;11

HPV de alto risco (HR): 16; 18; 33; 35; 52; 56; 58; 74.

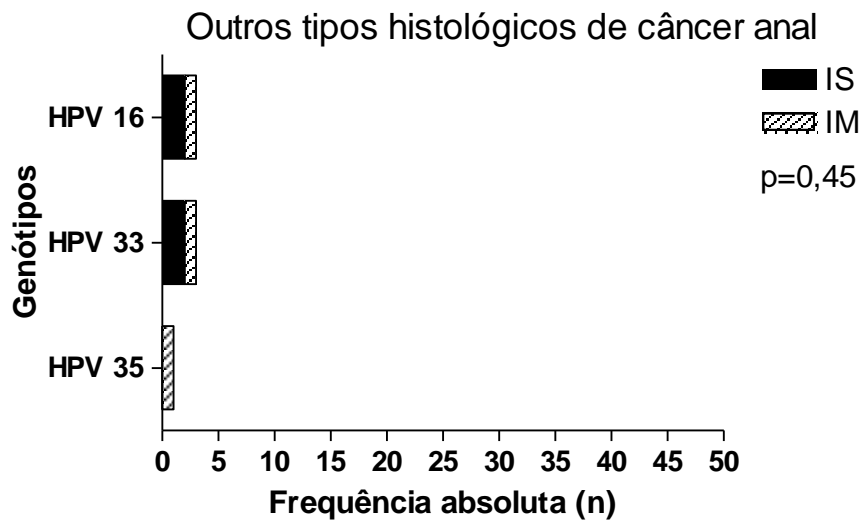
Figura 15. Frequência absoluta dos 10 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos carcinomas de células escamosas anais.



IS: Infecção simples; IM Infecção múltipla

HPV de alto risco (HR): 16; 18; 33; 35; 39.

Figura 16. Frequência absoluta dos 5 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos adenocarcinomas anais.



IS: Infecção simples; IM Infecção múltipla

HPV de alto risco (HR): 16; 33; 35.

* Outros: carcinoma basalóide, neuroendócrino, cloacogênico

Figura 17. Frequência absoluta dos 5 tipos de HPV detectados em infecções simples e múltiplas nos outros tipos histológicos de carcinoma anal.

A tabela 6 apresenta a distribuição genotípica do HPV nos cânceres anais de acordo com às variáveis sócio-demográficas e clínico-patológicas investigadas.

Possíveis associações entre o HPV 16 e as demais variáveis do estudo também foram investigadas e apenas o fator de risco etilismo apresentou uma associação inversamente significativa em relação a presença do HPV 16 ($p=0,04$) (tabela 6).

Tabela 6. Distribuição genotípica do HPV em cânceres anais e análise da associação entre o HPV 16 e os demais genótipos em relação às variáveis sócio-demográficas e clinicopatológicas.

Variável	N	Genótipo do HPV (n)											P	OR (IC 95%)
		6	11	16	18	33	35	39	52	56	58	74		
Sexo														
Feminino	40	1	33	4	4	2			1	2			0.33	1.71 (0.56-5.17)
Masculino	16		1	11	1	2	1	1	1		1			
Idade ao diagnóstico														
< 61 anos	26			21	2	3	2	1	1	1		2	0.60	0.76 (0.27-2.12)
≥ 61 anos	30	1	1	23	3	3	1					1		
Tabagismo														
Sim	15		1	11	1	1	1	1	1	1	1		0.39	0.61 (0.20-1.89)
Não	37	1		29	3	5	2					2		
Etilismo														
Sim	11		1	6	2	1	1	1	1		1		0.04*	0.28 (0.08-0.98)
Não	41	1		34	2	5	2			1		2		
Localização da lesão														
Canal anal	38	1	1	32	2	3	2	1	1	1		2	0.51	0.71 (0.33-8.69)
Borda anal	6			4	1	1						1		
Ambos	12			8	2	2	1							
Tipo Histológico														
CCE	37	1	1	30	3	2	1		1	1	1	2	0.93	1.04 (0.30-3.63)
Adenocarcinoma	14			11	2	1	1	1						
Outros	5			3		3	1							
Tamanho do Tumor														
T I-II	42	1		34	4	3	2	1	1	1	1	1	0.42	1.59 (0.50-4.97)
T III-IV	14		1	10	1	3	1					1		
Metástase linfonodal														
Sim	14	1	1	12		1							0.21	2.37 (0.59-9.50)
Não	42			32	5	5	3	1	1	1	1	2		
Metástase a distância														
Sim	5		1	3		1						1	0.36	0.46 (0.08-2.51)
Não	51	1		41	5	5	3	1	1	1	1	1		
Registro de Óbito														
Sim	30	1	1	22	1	3	1	1				1	0.48	1.44 (0.51-4.07)
Não	26			22	4	3	2		1	1	1	1		

**CCE, carcinoma de células escamosas; Outros, carcinoma basalóide, neuroendócrino, cloacogênico.

6.4. Prognóstico: Análise de sobrevida

A sobrevida global em 60 meses para os pacientes com cânceres anais foi de 44,3% (figura 18). A média de seguimento foi de 31 meses (\pm 59,4) com mínimo de 1 mês e máximo de 191 meses.

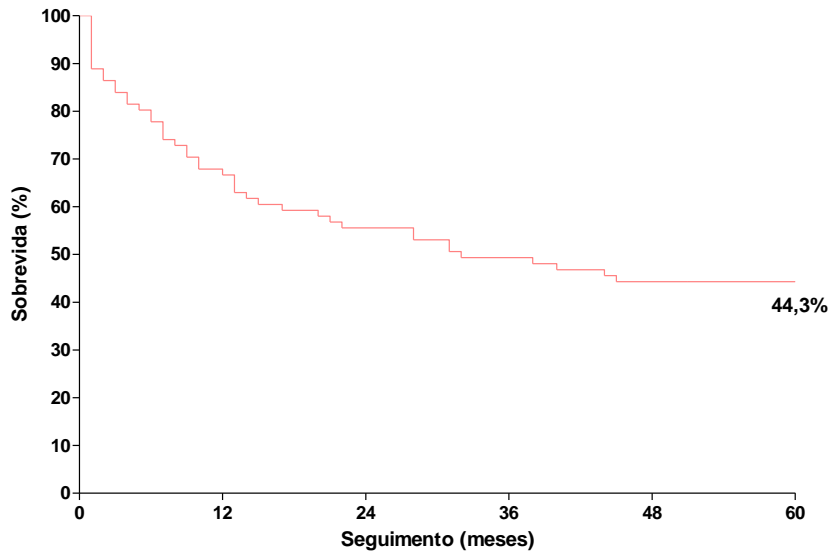


Figura 18. Sobrevida global em 60 meses para os pacientes com câncer anal (método de *Kaplan-Meier*).

A sobrevida em 60 meses para pacientes com câncer anal do sexo feminino (52,9%) foi superior à dos pacientes do sexo masculino (29,6%) ($p=0,008$) (figura 19).

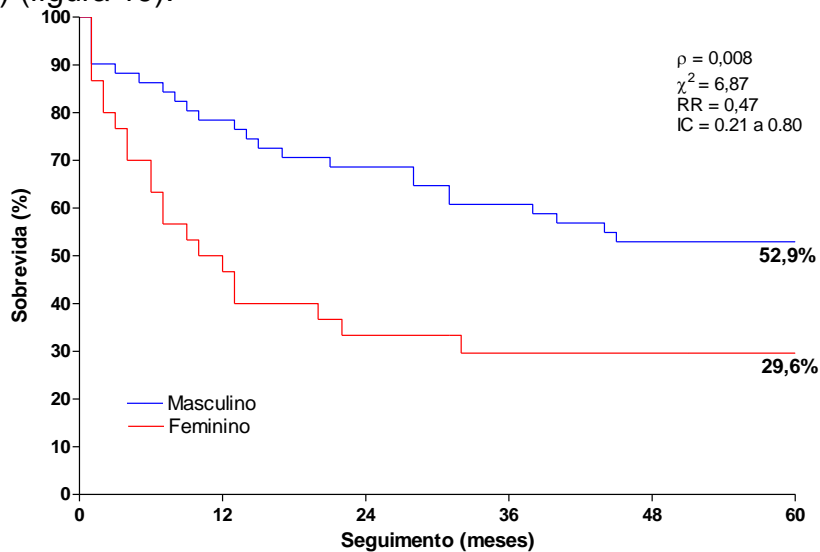


Figura 19. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com o sexo.

A sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal não foi influenciada pela presença do HPV ($p=0,54$) (figura 20).

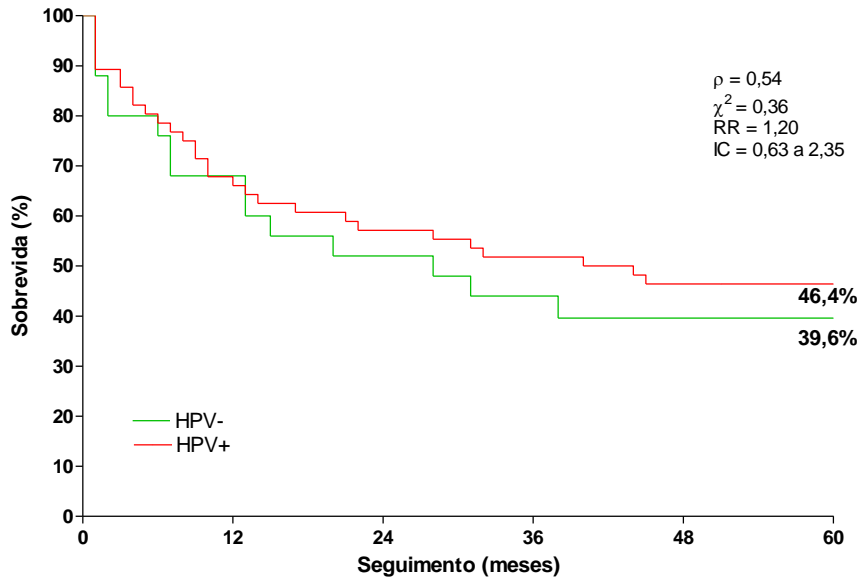
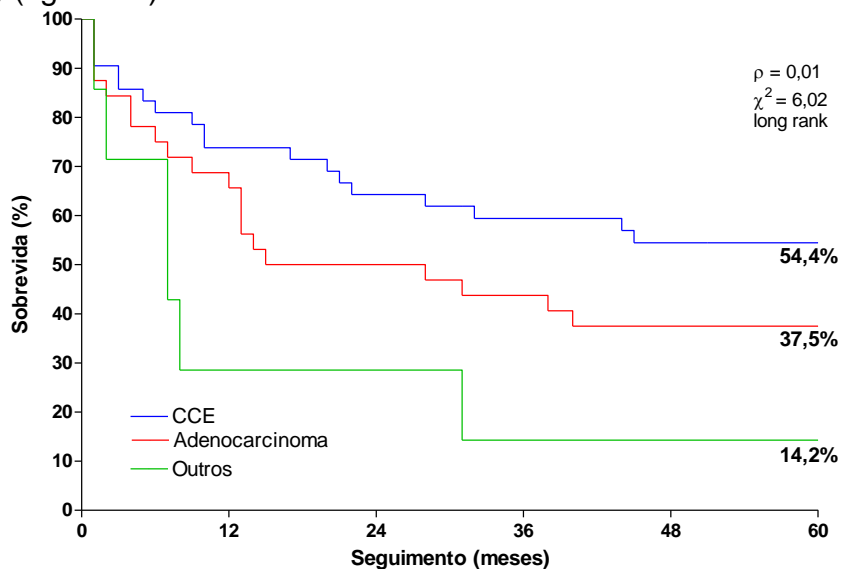


Figura 20. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com a detecção de HPV.

A sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal foi superior para os que apresentavam CCE (54,4%), em relação aos que apresentavam adenocarcinomas (37,5%) e outros tipos histológicos (14,2%) ($p=0,01$) (figura 21).



*Outros, carcinoma basalóide, neuroendócrino, cloacogênico.

Figura 21. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com o tipo histológico do tumor.

A avaliação prognóstica dos pacientes com câncer anal de acordo com o tamanho do tumor (T) (figura 22), disseminação linfática (N) (figura 23) e metástase a distância (M) (figura 24) foi realizada. Ao final de 38 meses todos os pacientes com tumores de tamanho T4 tinham ido a óbito (dados não mostrados), entretanto, a diferença entre os grupos não foi significativa. Um pior prognóstico foi observado para os cânceres com metástase à distância ($p=0,01$) (figura 22).

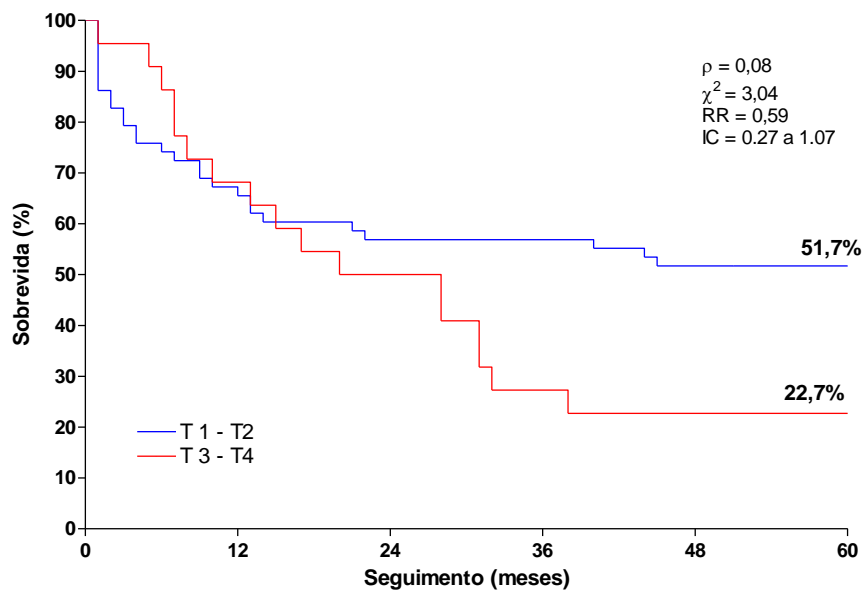
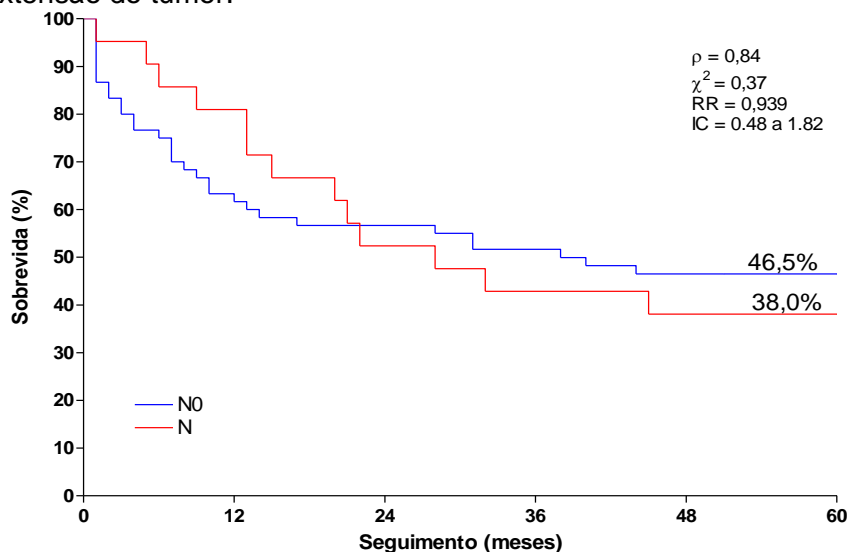
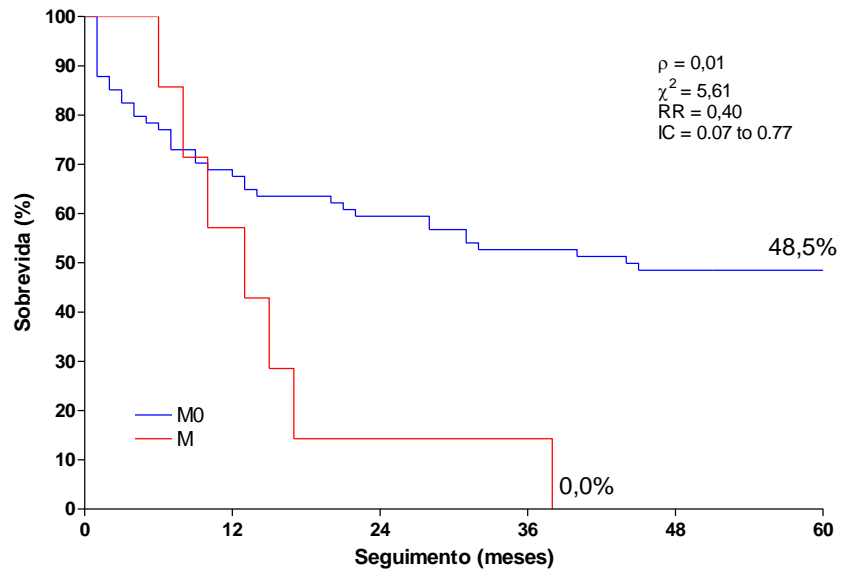


Figura 22. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com a extensão do tumor.



N0: Não houve metástase linfonodal; N: Houve metástase linfonodal

Figura 23. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com o comprometimento metastático dos linfonodos.



M0: Sem metástase a distância; M: com metástase a distância

Figura 24. Sobrevida em 60 meses para os pacientes com câncer anal de acordo com metástase a distância.

7. DISCUSSÃO

Este estudo investigou a distribuição genotípica do HPV no câncer anal, em indivíduos diagnosticados com câncer anal entre 2000 e 2010 em Goiás. Os resultados demonstraram a presença do HPV em 69% dos indivíduos e o HPV 16 foi o genótipo mais predominante (78,5%), seguido pelo HPV 33 (10,7%) e HPV 18 (8,9%). Embora a prevalência do HPV, nos cânceres anais avaliados, tenha sido mais baixa que a porcentagem global relatada em diferentes estudos (DALING, et al., 2004; VARNAL et al., 2006; KAGAWA, YAMAGUCHI e FURUTA, 2006; WONG, et al., 2010; RAMAMOORTHY, et al., 2010; YHIM, et al., 2011; ABRAMOWITZ, et al., 2011; KOMLOS, et al., 2011; VALMARY-DEGANO et al., 2013; RAVENDA, et al., 2014; HILLMAN, et al., 2014; AGUIAR et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015), vale ressaltar, que este trabalho incluiu um número relativamente grande de adenocarcinomas anais (39,5%) e que são escassos os estudos que investigaram a associação do HPV com esse tipo histológico de câncer anal (DALING et al., 2004; TACHEZY et al., 2007; WONG et al. 2010, HOOTS et al., 2009; HILLMAN et al., 2014).

O carcinoma anal de células escamosas é o tipo histológico mais associado à presença do HPV. A prevalência do vírus nos CCEs avaliados neste estudo foi de 88%, sendo que o HPV 16 esteve presente em 82% das amostras genotipadas. A elevada proporção de CCEs anais positivos para o HPV sugere que a infecção pelo vírus seja uma causa necessária para este

tipo de câncer anal, assim como no câncer cervical. A alta prevalência do HPV no CCE anal também já foi observada em 16 estudos, nos quais a prevalência geral do HPV variou entre 60,6% a 100% (DALING, et al., 2004; VARNAL et al., 2006; KAGAWA, YAMAGUCHI e FURUTA, 2006; TACHEZY, et al., 2007; WONG, et al., 2010; RAMAMOORTHY, et al., 2010; ABRAMOWITZ, et al., 2011; SOARES, et al., 2011; KOMLOS, et al., 2011; YHIM, et al., 2011; VALMARY-DEGANO et al., 2013; RAVENDA, et al., 2014; HILLMAN, et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015).

No desenvolvimento das neoplasias intra epiteliais anais até sua evolução para CCE anal, um papel específico é desempenhado pela interação entre o epitélio anal da zona de transição escamo-colunar e o estado imunológico da mucosa (PLESEC e OWENS, 2015). Neste local, outros fatores também podem influenciar o processo de carcinogênese, como fatores genéticos, tabagismo, práticas sexuais, concentrações hormonais e a microbiota humana (PATEL, et al., 2008; YANG, et al., 2014). O CCE anal é um dos exemplos mais representativos de cânceres humanos que enfatizam o quanto o sistema imunológico e o processo de desenvolvimento das neoplasias anais são indissociáveis (RAVENDA, et al., 2014). Não é surpresa que as taxas de incidência do câncer anal sejam particularmente elevadas em indivíduos HIV positivos, principalmente em homens que se relacionam com homens HIV positivos (PATEL, et al., 2008).

Ao contrário do CCE anal, o adenocarcinoma do ânus não está, intrinsecamente relacionado à infecção pelo HPV (JIN, et al., 2011). As proporções entre o CCE e o adenocarcinoma têm variado em países

industrializados, como nos Estados Unidos (US), que apresenta 14% de adenocarcinomas anais, (JOSEPH et al., 2008) para 21% na Escócia (BREWSTER, BHATTI, 2006) e 27% na Austrália. (JIN, et al., 2011). Em alguns estudos, este tipo histológico não é analisado, por ser considerado uma extensão do câncer retal (WELTON e BOSMAN, 2010; JIN, et al., 2011). Neste trabalho, os adenocarcinomas corresponderam a 39,5% dos cânceres anais e foram incluídos nas análises, já que foram classificados histologicamente e clinicamente como cânceres anais primários.

Por serem cânceres de baixa incidência, os adenocarcinomas anais são frequentemente associados à presença de metástases (MYERSON, KARNELL, MENCK, 1997). Apenas nove (28,1%) dos 32 adenocarcinomas, encontravam-se em tamanho avançado e com disseminação linfática, sendo que três pacientes desenvolveram metástases à distância ao longo do seguimento.

Estudos sobre a prevalência do HPV nos adenocarcinomas anais ainda são muito limitados. Uma metanálise que avaliou a prevalência do HPV nos cânceres anais, mostrou que cerca de 42,9% dos adenocarcinomas eram HPV positivos (HOOTS et al., 2009). Nossos resultados apresentaram uma prevalência para o HPV de 43,8%, principalmente pelos genótipos HPV 16 e 18, sugerindo um importante papel etiológico do HPV também neste tipo de câncer anal. Estes achados são condizentes com a literatura que mostra uma prevalência do HPV nos adenocarcinomas variando entre 20% e 42,9% (DALING et al., 2004; TACHEZY et al., 2007; HOOTS et al., 2009; WONG et al.; 2010).

Em relação a análise por sexo, a prevalência do HPV nos cânceres anais foi maior em mulheres (78,4%), assim como observado em outros estudos (DALING et al., 2004; VARNAL et al., 2005; KAGAWA, YAMAGUCHI, FURUTA, 2006; TACHEZY et al., 2007; KOMLOS, et al., 2011; ABRAMOWITZ et al., 2011). Entende-se que as mulheres sejam mais susceptíveis à infecção pelo HPV, por exposições contínuas ao vírus associadas aos outros fatores de risco, como a presença de infecções do trato genital inferior (TACHEZY et al., 2007; KOMLOS, et al., 2011; ABRAMOWITZ et al., 2011). Um estudo de análise univariada avaliou 517 indivíduos com câncer anal diagnosticados durante 13 anos em mulheres e mostrou que a história de neoplasia intraepitelial cervical grau 3 (NIC3), o tabagismo, o uso de contraceptivo oral, a nuliparidade, a laqueadura tubária e o fato de não morar com o parceiro foram fatores de risco para o câncer anal em mulheres (COFFEY, et al., 2015).

Outra possibilidade é que a mucosa anal seja sensível à ação estrogênica, já que a diminuição de estrogênio e progesterona após a menopausa, predispõe o desenvolvimento mais frequente de abscessos, fístulas anais e incontinência anal, em mulheres pós menopáusicas do que em mulheres que ainda menstruam (MENSAH-BROWN, et al., 2004; RIZK, et al., 2005; RIZK, et al., 2007; RIZK, et al., 2008; ELBANNA et al., 2010). Lesões na mucosa anal facilitam a entrada do HPV, que penetra o epitélio por micro traumas (DOORBAR, 2012).

Embora a incidência brasileira de câncer anal seja maior em mulheres do que em homens (INCA, 2015), a orientação sexual pode refletir nos resultados que atualmente demonstram que grupos de homens que fazem

sexo com homens (HSH) apresentam maior risco de desenvolver câncer anal associado ao HPV, do que homens heterossexuais (NELSON, et al., 2013; HILLMAN, et al., 2014). Informações sobre a orientação sexual não constavam nos prontuários analisados neste estudo e com isso, não foi possível avaliar a orientação sexual dos pacientes incluídos.

A incidência do câncer anal aumenta com a idade (LICITRA, et al., 2002). O pico de incidência ocorre entre 50 - 70 anos e a idade média ao diagnóstico é de 62 anos (KAGAWA, et al., 2006; TACHEZY, et al., 2007; ABRAMOWITZ, et al., 2011). Neste estudo, a idade variou entre 36 e 92 anos e a idade média ao diagnóstico foi de 61 anos. Idades semelhantes, foram relatadas em diferentes estudos (VARNAL, et al., 2006; WONG, et al., 2010; ABRAMOWITZ, et al., 2011; ALEMANY, et al., 2015).

A infecção pelo HPV antes dos 30 anos é considerada transitória e regride naturalmente (DALING et al., 2004). Porém, estudos sugerem que indivíduos acometidos pelo vírus após os 30 anos sejam mais suscetíveis à infecção persistente pelo HPV, particularmente pelos genótipos de alto risco (LICITRA et al., 2002).

Apesar do tabagismo ser um cofator de risco para a infecção por HPV (XI, et al., 2009), nossos resultados não foram conclusivos para essa afirmação. De fato, entre os fatores de risco associados ao HPV, o tabagismo é bastante descrito para o câncer anal (DALING, et al., 2004). Um estudo recente, no qual, células cervicais infectadas por genótipos de alto risco do HPV foram expostas ao tabaco, demonstrou que células com formas epissomais do vírus apresentaram aumento da expressão de E6, diminuição da atividade de p53 e uma frequência maior de mutações no

DNA, do que as células cujo DNA viral de alto risco já se encontra integrado no genoma celular. Esses achados sugerem, que o tabaco exerce um papel fundamental nos estágios iniciais dos cânceres relacionados ao HPV (WEI, et al., 2014).

Com relação à genotipagem do HPV, apenas as amostras de dois indivíduos foram classificadas como HPV de baixo risco, com os genótipos 6 e 11. É complicado definir a associação do câncer com um genótipo específico do HPV, pois os métodos moleculares empregados na genotipagem, de maneira geral, não conservam a arquitetura tecidual, impossibilitando concluir, qual ou quais genótipos, realmente estiveram envolvidos na carcinogênese. Os estudos de prevalência indicam que infecções por genótipos de baixo risco nos cânceres anogenitais, como o cânceres anais, são raras e não levam ao câncer, podendo causar apenas lesões benignas, representando uma infecção mista com algum genótipo de alto risco nestes cânceres. Já os genótipos de alto risco são potencialmente carcinogênicos e sua infecção é mais frequente e persistente nos cânceres anogenitais (DALING, et al., 2004; VUYST, et al., 2009; NELSON, et al., 2013).

A presença de infecções múltiplas, foi observada em 14,3% dos pacientes e foi mais alta quando comparada a outros estudos com variações entre 1,6% a 7,3% (VARNAL et al., 2006; TACHEZY, et al., 2007; VALMARY-DEGANO et al., 2013; OUHOUMMANE et al., 2013; RAVENDA et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015).

Uma associação limítrofe foi observada entre a maior idade e o óbito em relação às infecções simples ($p= 0,08$). Os achados podem ser resultado

de uma alta exposição à infecção pelo HPV, levando à infecções persistentes, ou, ao uso de ensaio por PCR de alta sensibilidade, que permite a amplificação de DNA, mesmo em amostras com quantidades escassas de material genético.

A genotipagem empregada na pesquisa é baseada na técnica de hibridização reversa, que neste estudo identificou um número maior de genótipos do HPV e a presença de múltiplas infecções. Essa técnica utilizada *primers* SPF10 que são capazes de amplificar um amplo espectro de genótipos do HPV, pois amplificam um fragmento pequeno de DNA com de até 65 pares de bases. Amostras extraídas de material parafinado sofrem uma deterioração por conta do procedimento de retirada da parafina e posterior detecção do genoma viral (INNO Lipa, 2015). Entretanto os *primers* SPF10, utilizados neste estudo, minimizam este problema. Por ter uma alta sensibilidade, muitos trabalhos utilizaram a técnica de hibridização reversa para detecção do HPV no câncer anal (TACHEZY, et al., 2007; RAMAMOORTHY, et al., 2010; ABRAMOWITZ, et al., 2011; KOMLOS, et al., 2011; VALMARY-DEGANO et al., 2013; STEINAU, et al., 2013; HILLMAN et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015).

Como esperado, o HPV 16 foi o genótipo mais prevalente e esteve presente em 100% das infecções múltiplas. O genótipo 16 é considerado de alto risco e tende a persistir por mais tempo no tecido (TACHEZY, et al., 2007; ABRAMOWITZ et al., 2011). Seu potencial oncogênico está relacionado com a super expressão das proteínas virais, E6 e E7, que inativam os principais supressores de tumores, p53 e pRb, e com sua alta capacidade de integração ao DNA do hospedeiro, levando,

consequentemente, ao, desenvolvimento do câncer (ZAMPIROLO, MERLIN e MENEZES, 2007). A alta prevalência do HPV 16 encontrada neste estudo, também foi observada em uma metanálise que detectou o HPV 16 em 65,6% dos cânceres anais invasivos (HOOTS, et al., 2009).

Mesmo buscando outras associações entre o HPV 16 e as variáveis analisadas no estudo, apenas o fator de risco etilismo esteve associado ao genótipo 16 ($p=0,04$), sugerindo que indivíduos que não fazem uso de álcool tem menos infecções por HPV 16. Não encontramos resultados semelhantes na literatura, vale ressaltar que o tamanho amostral possa ter influenciado ou resultado em um viés de informação, já que nos prontuários havia apenas descrito “sim” ou “não” para o etilismo e não explicava se o indivíduo havia parado de beber a pouco tempo ou não. Um estudo de coorte recente avaliou a infecção anal pelo HPV em mulheres heterossexuais da Universidade da Califórnia e concluiu que o uso de álcool, a relação sexual anal, o toque anal e a falta do uso do preservativo durante o sexo anal foram associados à persistência do HPV 16 (MOSCICKI, et al., 2014).

Outros genótipos de alto risco também estiveram presentes nas amostras genotipadas neste estudo, sendo o HPV 33 o segundo genótipo mais prevalente (10,7%), seguido pelo HPV 18 (8,92%).

Infelizmente estudos com genotipagem de HPV em cânceres anais são escassos e por isso é difícil comparar a distribuição genotípica encontrada. No Brasil estudos desenvolvidos com lesões pré-malignas e cânceres cervicais indicam que os genótipos mais prevalentes são os HPV 16, 18, 33, 31, 51, 52, 6 e 11 (AYRES; SILVA, 2010; ALVES et al., 2013). Em Goiás um trabalho com amostras cervicais de mulheres sexualmente

ativas detectou 28% de prevalência do HPV, sendo que os genótipos mais prevalentes foram os HPV 16, 51, 31, 52 e 18 (ALVES et al., 2013).

A presença do HPV 16 e 18 já é bem documentada nos cânceres anais (RAMAMOORTHY, et al., 2010; RAVENDA, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014; ALEMANY, et al., 2015), e ambos são alvo das vacinas profiláticas contra o HPV, podendo, porém, apresentar variação de prevalência conforme a região geográfica (HOOTS, et al., 2009; ALEMANY, et al., 2015). Contudo, a alta prevalência do genótipo 33 já foi observada em outros estudos que variaram de 2 a 11,9% (TACHEZY, et al., 2007; VARNAI, et al., 2006; AYRES e SILVA, 2010; RAMAMMORTHY, et al., 2010; STEINAU, et al., 2013; RAVENDA, et al., 2014; SERUP-HANSEN, et al., 2014) e nos faz questionar se a vacina não teria uma cobertura maior ainda, se esse genótipo fosse incluído no programa de vacinação, como por exemplo com a introdução da vacina nonavalente que cobre contra os genótipos do HPV 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58, 6 e 11 (HILLMAN et al., 2014).

São escassos os estudos que avaliam o prognóstico dos cânceres anais relacionados ao HPV (YHIM, et al., 2011; SERUP-HANSEN, et al., 2014; RAVENDA, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014) já que os fatores que inferem no prognóstico do câncer anal são aqueles envolvidos no estadiamento do tumor (ARANI, et al., 2002). Por ser um câncer pouco incidente é uma patologia predominantemente loco-regional e os fatores clínicos que mais influenciam na sobrevida dos pacientes são o tamanho do tumor (T) e a disseminação linfática (N) (ARANI, et al., 2002; SERUP-HANSEN, et al., 2014).

Nossos dados apontam uma prevalência do HPV em 63,6% dos cânceres com tamanho T3 - T4 e 66,7%, naqueles com metástases linfonodais. Outros trabalhos apresentaram resultados que variaram entre 34% a 40% nos cânceres com tamanho T3 - T4 e 38% a 39% nas disseminação linfática (YHIM, et al., 2011; SERUP-HANSEN, et al., 2014).

As disseminações linfáticas influenciam negativamente o prognóstico do paciente (JOHN et al, 2002) e ocorrem principalmente nos linfonodos inguinais (10% a 15% dos casos), pélvicos, perirretais ou as cadeias ilíacas internas (RYAN, COMPTON, MAYER, et al., 2000). Neste estudo, 25,9% dos pacientes apresentaram metástase linfonodal, acometendo principalmente os linfonodos inguinais. Apesar das metástases à distância serem menos frequentes (5% a 10% dos casos), elas ocorrem quase sempre no fígado e pulmão (RYAN, COMPTON, MAYER, et al., 2000; JOHN et al, 2002). Estes órgãos também foram os mais acometidos no nosso trabalho.

A sobrevida global em cinco anos para os pacientes com câncer anal foi de 44,3%, e as variáveis que influenciaram o prognóstico dos pacientes neste estudo, foram o sexo ($p = 0,008$), o tipo histológico do câncer ($p = 0,01$) e a presença de metástase a distância ($p = 0,01$). Nos Estados Unidos, a sobrevida em cinco anos para o câncer anal é maior, em torno de 65% (USA, 2015). Como o Brasil ainda é um país com muitos problemas socioeconômicos, em que o acesso aos serviços de saúde são por demais demorados e a população nem sempre tem acesso à informações importantes para a prevenção de doenças como o câncer anal, os cânceres anais acabam sendo estigmatizados, rodeados por preconceitos, além de

que, seus sintomas são muito parecidos com as doenças comuns do ânus, fazendo com que seu diagnóstico ocorra em estágios mais avançados e nem sempre de fácil tratamento (COUTINHO, 2006).

O estadiamento da doença, considerando o tamanho do tumor e o comprometimento das margens cirúrgicas, já é utilizado como fator prognóstico para o câncer anal, cuja sobrevida em 60 meses pode chegar a 60% (FERRIGNO et al., 2005; LEFEVRE et al., 2012). Neste trabalho, os indivíduos com câncer avançado apresentam pior sobrevida em relação aos demais, uma vez que aqueles cânceres com tamanho T4 não conseguiram sobreviver ao final de 60 meses, destacando a importância de se diagnosticar estes cânceres precocemente.

Apesar da elucidação das várias associações etiológicas entre a infecção pelo HPV e o câncer anal, pouco se sabe sobre a importância prognóstica do HPV nestes cânceres, sendo ainda pequena, a quantidade de estudos que tratam da relação de sobrevida e a infecção pelo HPV no câncer anal (YHIM, et al., 2011; SERUP-HANSEN, et al., 2014; RAVENDA, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014). A presença do vírus, como fator prognóstico, foi investigada neste estudo, entretanto, os resultados obtidos não permitiram uma conclusão significativa sobre essas variáveis. Três estudos consideraram tais fatores como importantes no prognóstico do câncer anal (YHIM et al., 2011; SERUP-HANSEN, et al., 2014; KOERBER, et al., 2014).

Neste estudo, as mulheres com câncer anal apresentaram um pior prognóstico quando comparadas aos homens ($p = 0,008$). Esse dado traduz a necessidade de acompanhamento das mulheres, não só com o exame de

Papanicolaou, que é destinado à detecção do câncer cervical, lesões pré cancerosas e outras doenças genitais, mas também, da introdução da anosscopia e colonoscopia como método de rastreio para detecção do câncer anal em mulheres.

O presente estudo analisou apenas os casos confirmados de câncer anal, com localização anatômica especificada e com um método de PCR validado por protocolos usados em diferentes estudos (ABRAMOWITZ et al., 2011; KOMLOS et al., 2011; HILLMAN et al., 2014; ALEMANY et al., 2015). Todas as amostras incluídas se mostraram viáveis para análise molecular, podendo refletir a técnica de hibridização reversa.

Não está claro, se a pequena proporção de amostras com câncer anal HPV negativas é resultante de artefato de amostragem, deficiência na metodologia de detecção do HPV, qualidade do material parafinado, ou se, estes casos foram realmente desencadeados por agentes cancerígenos alternativos. Ao exame molecular, apenas cinco, dos 42 cânceres anais de células escamosas foram negativos para o HPV. O restante dos cânceres anais negativos eram adenocarcinomas ou carcinomas cloacogênicos, basalóides e neuroendócrinos.

A falta de algumas informações relevantes nos prontuários limitaram a capacidade de investigar as diferenças estatísticas significativas para algumas variáveis, tais como o comportamento sexual, que é conhecido por aumentar o risco de infecção pelo HPV (DALING, et al., 2004). E por fim, os nossos dados não representam toda a população de Goiânia. Mesmo assim, podem representar adequadamente a realidade dos indivíduos com câncer

anal da região Centro-Oeste, devido ao alcance da assistência do Hospital Araújo Jorge.

A vacina quadrivalente contra HPV confere imunidade aos genótipos 6, 11, 16 e 18 e, no Brasil, é indicada para meninas entre 9 e 14 anos de idade e mulheres positivas para o HIV, com idades entre 9 e 26 anos (BRASIL, 2015). Se assumirmos 100% de eficácia da vacina bivalente, quadrivalente e nonavalente contra o HPV, sem considerarmos a proteção cruzada que pode ocorrer para alguns genótipos e analisarmos de acordo com os dados do estudo, as vacinas bivalentes, quadrivalentes e nonavalentes poderiam evitar 83,9%, 87,5% e 96,4% dos casos de câncer anal, respectivamente (tabela 7). Um estudo na Austrália propôs a mesma situação e observou que a vacina bivalente poderia evitar 79% dos seus casos de câncer anal estudados e a vacina quadrivalente 90% deles (HILLMAN et al., 2014).

Tabela 7. Eficácia esperada das vacinas contra o HPV nos cânceres anais, na presença de infecções simples e múltiplas.

Vacina para o HPV	Casos com infecção simples pelo HPV contendo genótipos alvo da vacina		Casos com infecções simples e múltiplas pelo HPV contendo genótipos alvo da vacina	
	N	%	N	%
Bivalente	39	69,6	47	83,9
Quadrivalente	41	73,2	49	87,5
Nonavalente	46	82,1	54	96,4

Embora alguns estudos tenham verificado uma proteção cruzada parcial contra outros genótipos relacionados aos HPV 16 (31, 33, 35, 52 e 58) e 18 (39, 45, 59 e 68 (HARPER et al., 2006; BROWN et al., 2009; WHEELER et al., 2012). Não resta dúvida, de que as vacinas atualmente disponíveis são eficazes contra os HPV aos quais se destinam. Sabe-se que

a proteção cruzada pode acontecer, mas que deve ser vista como um benefício provável que possa acontecer com alguns indivíduos. Como os estudos das vacinas contra o HPV não foram realizados especificamente para analisar a proteção contra outros genótipos, todos os dados de proteção cruzada devem ser avaliados com cuidado e como possível ganho adicional (WHEELER et al., 2012).

As vacinas HPV quadrivalente no Brasil, vem como forma de prevenção primária, evitando o desenvolvimento das lesões precursoras dos cânceres induzidas pelo HPV além de ser altamente eficaz contra os genótipos específicos (HPV 6, 11, 16 e 18) (NUNES et al., 2015). Em decorrência da idade média de início da vacinação e de sua aplicação apenas em meninas (BRASIL, 2015), é provável que a vacinação contra o HPV tenha um impacto menos significativo na redução dos cânceres associados ao HPV por ora, mantendo tais cânceres como importantes problemas de saúde pública em nossa população por um longo tempo.

8. CONCLUSÕES

1. A maior parte dos casos de cânceres anais analisados neste estudo foram de carcinomas de células escamosas, que se encontrava em estágios T-1 e T-2. Uma grande proporção de indivíduos apresentou metástase linfonodal (25,9%) e à distância (8,6%) e o óbito foi registrado em 45 pacientes (55,6%).

2. A prevalência do HPV nos cânceres anais foi de 69%. O HPV 16 foi o mais prevalente, seguido pelo HPV 33 e o HPV 18. Nos CCE os genótipos mais prevalentes foram os HPV 16, 18, 33 e 74; nos adenocarcinomas anais os HPV 16, 18 e 33 e nos outros tipos histológicos de carcinomas anais os HPV 16 e 33. Dos casos HPV positivos, 14,3% tinham infecção múltipla e apenas dois indivíduos apresentaram HPV de baixo risco. O HPV 16 esteve presente em todos os indivíduos com infecção múltipla.

3. A prevalência do HPV foi associada ao carcinoma anal de células escamosas e ao sexo feminino. Não foram observadas associações significativas entre o HPV e local do tumor, o estadiamento, a idade e entre o etilismo e tabagismo.

4. A sobrevida dos pacientes com câncer anal em 60 meses foi de 42,3% e não foi influenciada pela presença do HPV, mas sim pelo sexo feminino, o carcinoma de células escamosas e a presença de metástase a distância.

8.1. Considerações Finais

O câncer anal vem apresentando incidências crescentes e a infecção persistente pelo HPV têm se mostrado como um dos principais fatores envolvidos na carcinogênese anal. Conhecer a distribuição genotípica do HPV nestes cânceres é crucial para avaliar o impacto da vacina contra o HPV na epidemiologia do câncer anal por região. De acordo com os dados do estudo, se assumirmos 100% de eficácia da vacina quadrivalente contra o HPV sem o efeito de proteção cruzada, tal vacina poderia evitar 87,5% dos casos de câncer anal.

Mais pesquisas sobre o papel do HPV e de seus genótipos na carcinogênese anal precisam ser planejados. Como os grupos de risco para o câncer anal são compostos em sua maior parte, por indivíduos HIV positivos e por homens que fazem sexo com homens, novas políticas públicas devem ser dirigidas para esses grupos e a vacinação na rede pública deve ser ampliada para os homens.

REFERÊNCIAS

ABRAMOWITZ, L.; BENABDERRAHMANE, D.; RAVAUD, P.; WALKER, F.; RIOUX, C.; JESTIN, C.; BOUVET, E.; SOULÉ, J. C.; LEPORT, C.; DUVAL, X. Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV-infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. **AIDS**. v. 21, n. 11, p. 1457-1465, 2007.

ABRAMOWITZ, L., JACQUARD, A. N., JAROUD, F., HAESEBAERT, J., SIPROUDHIS, L., PRADAT, P., AYNAUD, O., LEOCMACH, Y., SOUBEYRAND, B., DACHEZ, R., RIETHMULLER, D., MOUGIN, C., PRETET, J. L., DENIS, F. Human papillomavirus genotype distribution in anal cancer in France: the EDiTH V study. **International Journal of Cancer**. v.129, n. 2, p. 433-439, 2011.

AGUIAR, M. T. M.; BOSSO, N. C. C.; LEAL, C. B. Q. S.; LIRA, C. F.; CABRAL, L. A. O.; SILVA, A. M. T. C.; SADDI, V. A. Clinicopathological aspects and prevalence of human papillomavirus in anal cancer. **J. Coloproctol**, v. 34, n.2, p. 76-82, 2014.

AJANI, J. A.; CUMMINGS, B. J.; GERVASONI, J. E.; WAGMAN, R.; WANEBO, H. J. **Gastrointestinal oncology principles and practice: Anal canal cancer**. 1. ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams e Wilkins, 2002. p. 641-652.

ALEMANY, L.; SAUNIER, M.; CABRERO, I. A.; QUIRÓS, B.; SALMERON, J.; SHIN, H. R.; PIROG, E. C.; GUIMERÀ, N.; SUAREZ, G. H.; FELIX, A.; CLAVERO, O.; LLOVERAS, B.; KASAMATSU, E.; GOODMAN, M. T.; HERNANDEZ, B. Y.; LACO, J.; TINOCO, L.; GERAETS, D. T.; LYNCH, C. F.; MANDYS, V.; POLJAK, M.; JACH, R.; VERGE, J.; CLAVEL, C.; NDIAYE, C.; KLAUSTERMEIER, J.; CUBILLA, A.; CASTELLSAGUÉ, X.; BRAVO, I. G.; PAWLITA, M.; QUINT, W. G.; MUÑOZ, N.; BOSCH, F. X.; SANJOSÉ, S.

Human papillomavirus DNA prevalence and type distribution in anal carcinomas worldwide. **Int J Cancer**. v.136, n.1, p.98-107, 2015.

ALVES, R. R.; TURCHI, M. D.; SANTOS, L. E.; GUIMARÃES, E. M. B.; GARCIA, M. M. D.; SEIXAS, M. S. C.; VILLA, L. L.; COSTA, M. C.; MOREIRA, M. A. R.; ALVES, M. F. C. Prevalence, genotype profile and risk factors for multiple human papillomavirus cervical infection in unimmunized female adolescents in Goiânia, Brazil: a community-based study. **BMC Public Health**. v. 13, n. 1041, p. 1-12, 2013.

ARANI, J. A.; CUMMINGS, B. J.; GERVASONI, J. E.; WAGMAN, R.; WANEBO, H. J. **Anal canal cancer: Gastrointestinal oncology: principles and practice**. 1. ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams e Wilkins, 2002. p. 855-871, 2002.

AYRES, A. R. G.; SILVA, G. A. Prevalência de infecção do colo do útero pelo HPV no Brasil: revisão sistemática. **Rev. Saúde Pública**. v. 44, n.5, p. 963-974, 2010.

BARBARA, B.; FRANCESCHI, S.; LISE, M.; VERNAZZA, P.; KEISER, O.; SCHÖNI-AFFOLTER, F.; BOUCHARDY, C.; DEHLER, S.; LEVI, F.; JUNDT, G.; ESS, S.; PAWLITA, M.; KOVARI, H.; WANDELER, G.; CALMY, A.; CAVASSINI, M.; STÖCKLE, M.; CLIFFORD, G. Risk Factors for Anal Cancer in Persons Infected With HIV: A Nested Case-Control Study in the Swiss HIV Cohort Study. **Am. J. Epidemiology**. v. 178, n. 6, p. 877-884, 2013.

BARDHAN, K.; LIU, K. Epigenetics and Colorectal Cancer Pathogenesis. **Cancers**. v. 5, n. 2, p. 676–713, 2013.

BEAN, S. M.; ELTOUM, I.; HORTON, D. K.; WHITLOW, L.; CHHIENG, D. C. Immunohistochemical Expression of p16 and Ki-67 Correlates With Degree of Anal Intraepithelial Neoplasia. **American Journal of Surgical Pathology**. v. 31, n. 4, p. 555-561, 2007.

BORSATTO, A. Z.; VIDAL, M. L. B.; ROCHA, R. C. N. P. Vacina contra o HPV e a Prevenção do Câncer do Colo do Útero: Subsídios para a Prática. **Ver. Bras. Cancer.** v. 57, n. 1, p. 67-74, 2011.

BOSCH, F. X.; ROHAN, T.; SCHNEIDER, A.; FRAZER, I.; PFISTER, H.; CASTELLSAGUÉ, X.; DE SANJOSÉ, S.; MORENO, V.; PUIG-TINTORE, L. M.; SMITH, P. G.; MUÑOZ, N.; ZUR HAUSEN, H. Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 international papillomavirus conference. **J Clin Pathol.** v. 54, n. 3, p. 163-75, 2001.

BOSCH, F. X., BROKER, T. R.; FORMAN, D.; MOSCICKI, A. B.; GILLISON, M. L.; DOORBAR, J.; STERN, P. L.; STANLEY, M.; ARBYN, M.; POLJAK, M.; CUZICK, J.; CASTLE, P. E.; SCHILLER, J. T.; MARKOWITZ, L. E.; FISHER, W. A.; CANFELL, K.; DENNY, L. A.; FRANCO, E. L.; STEBEN, M.; KANE, M. A.; SCHIFFMAN, M.; MEIJER, C. J.; SANKARANARAYANAN, R.; CASTELLSAGUÉ, X.; KIM, J. J.; BROTONS, M.; ALEMANY, L.; ALBERO, G.; DIAZ, M.; SANJOSÉ, S. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. **Vaccine**, v. 31, n. 31, p.1-31, 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. **Secretaria de vigilância em saúde. Informe técnico da vacina Papilomavírus humano 6, 11, 16 e 18 (recombinante) 2015 segunda dose.** Brasília, 2015.

BREWSTER, D. H.; BHATTI, L.A. Increasing incidence of squamous cell carcinoma of the anus in Scotland, 1975–2002. **Br J. Cancer.** v. 95, n.1, p. 87–90, 2006.

BROOKS JT, PATEL P, KOJIC EM. Anal human papillomavirus (HPV) infection in HIV-infected men who have sex with men (MSM) compared with men who have sex with women (MSW) in the SUN study. In: Program and abstracts of the XVIII International AIDS Conference, 2010 (Vienna, Austria). Geneva, Switzerland: **International AIDS Society**, 2010.

BROWN, D. R.; KJAER, S. K.; SIGURDSSON, K.; IVERSEN, O. E.; HERNANDEZ-AVILA, M.; WHEELER, C. M. The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV; types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naive women aged 16-26 years. **J Infect Dis.** v. 199, n. 7, p. 926-935, 2009.

BURD, E. M. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. **Clinical Microbiology Reviews.** v. 16, n. 1, p. 1-17, 2003.

CALORE, E. E.; NADAL, S. R.; MANZIONE, C. R.; CALVALIERE, M. J.; ALMEIDA, L. V.; VILLA, L. L. Expression of Ki-67 can assist in predicting recurrences of low-grade anal intra-epithelial neoplasia in AIDS. **Colon Rectum.** v. 44, n. 4, p. 534-537, 2001.

CERDEIRA, C. R.; ALCÁNTARA, R.; TAPIA, A. G.; ESCALAS, J.; ALBA, A. Human Papilloma Virus (HPV) and Genital Cancer. **The Open Dermatology Journal.** v. 3, p. 117-128, 2009.

CLIFFORD, G. M.; BERTISCH, B.; FRANCESCHI, S. Biological and Clinical Insights From Epidemiologic Research Into HIV, HPV, and Anal Cancer. **American Journal of Epidemiology.** v. 178, n. 6, p. 888-889, 2013.

CLIFFORD, G.M.; SMITH, J.S.; PLUMMER, M.; MUÑOZ, M.; FRANCESCHI, S. Human papillomavirus types in invasive cancer worldwide: a meta-analysis. **British Journal of Cancer** v. 88, n. 1, p. 63-73, 2003.

COFFEY K., BERAL V., GREEN J., REEVES G., BARNES L. Lifestyle and reproductive risk factors associated with anal cancer in women aged over 50 years. **BR J Cancer.** v. 112, n. 9, p. 1568-1574, 2015.

COUTINHO, J. R. H. Rastreamento de lesões pré-neoplásicas do ânus, citologia anal e anoscopia de alta resolução novas armas para prevenção. **Rev. Col. Bras. Cir.** v.33, n.5, p. 311-317, 2006.

DALING, J. R., MADELEINE, M. M., JOHNSON, L. G., SCHWARTZ, S. M., SHERA, K. A., WURSCHER, M. A., CARTER, J. J., POTER, P. L., GALLOWAY, D. A., McDOUGALL, J. K. Human Papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. **Cancer**. v. 101, n. 2, p. 270-280, 2004.

DE MARTEL, C.; FERLAY, J.; FRANCESCHI, S.; VIGNAT, J.; BRAY, F.; FORMAN, D.; PLUMMER, M. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. **Lancet Oncol**. v.13, n.6, p.607-615, 2012.

DEVITA, V.T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. Cancer Principles e practice of oncology. v.8. Philadelphia, USA: Lippincott Williams e Wilkins, 2008.

DOORBAR, J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. **Clinical Science**. v. 110, n. 5, p. 525–541, 2006.

DOORBAR, J. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. **Vaccine**. v. 20, n. 30, p. 55-70, 2012.

DOORBAR, J. Latent papillomavirus infections and their regulation. **Current Opinion in Virology**, v.3, n.4, p. 416-21, 2013.

DOORBAR, J. Model systems of human papillomavirus-associated disease. **The Journal of Pathology**. v. 238, n.2, p. 166-79, 2016.

DOORBAR, J.; EGAWA, N.; GRIFFIN, H.; KRANJEC, C.; MURAKAMI, I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Reviews in Medical Virology**. v.25, n.1, p. 2-23, 2015.

DOORBAR, J.; QUINT, W.; BANKS, L.; BRAVO, I. G.; STOLER, M.; BROKER, T. R.; STANLEY, M. A. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v. 20, n. 30, p. F55-F70. 2012.

EGAWA, N.; EGAWA, K.; GRIFFIN, H.; DOORBAR, J. Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. **Viruses**. v. 7, n. 7, p. 3863-3890, 2015.

ELBANNA, G. H.; ABBAS, A. M.; ZALATA, K.; FARID, M.; GHANUM, W.; YOUSSEF, Y.; THABET, W. M.; AWADY, S.; EL-SATTAR, M. H. A. Effects of ovarian failure on submucosal collagen and blood vessels of the anal canal in postmenopausal women. **Int J Colorectal Dis**. v.25, p. 477–483, 2010.

ENGELS, E. A.; MADELEINE, M. M. I nvited Commentary: Biological and Clinical Insights From Epidemiologic Research Into HIV, HPV, and Anal Cancer. **A merican Journal of Epidemiology**. v. 178, n. 6, p. 885-887, 2013.

ESIASHVILI, N.; LANDRY, J.; MATTHEWS, R. H. Carcinoma of the anus: strategies in management. **Oncologist**. v. 7, n. 3, p.188-199, 2002.

FERRAZ, L. C., SANTOS, A. B. R., DISCACCIATI, M. G. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 30, n. 2, p. 107-111, 2012.

FERRIGNO, R.; NAKAMURA, R,A.; DOS SANTOS, N. P. E.; PELLIZZON, A.C.; MAIA, M. A.; FOGAROLLI, R. C. Radiochemotherapy in the conservative treatment of anal canal carcinoma: retrospective analysis of results and radiation dose effectiveness. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**. v. 61, n. 4, p. 1136-1142, 2005.

FRISCH, M. **Cancer epidemiology and prevention: Anal cancer**. 3. ed. Oxford, USA: Oxford University Press. 2006. p. 831–840.

FRISCH, M., FENGER, C., ADRIAAN, J. C., BRULE, V. D. Variants of Squamous Cell Carcinoma of the Anal Canal and Perianal Skin and Their Relation to Human Papillomaviruses. **Cancer Research**. v. 59, n. 3, p. 753-757, 1999.

GAMI, B.; KUBBA, F.; ZIPRIN, P. Human Papilloma Virus and Squamous Cell Carcinoma of the Anus. **Clinical Medicine Insights: Oncology**. v. 8, p. 113-119, 2014.

GANTI, K.; BRONIARCZYK, J.; MANOUBI, W.; MASSIMI, P.; MITTAL, S.; PIM, D.; SZALMAS, A; THATTE, J.; THOMAS, M.; TOMAIĆ, V.; BANKS, L. The Human Papillomavirus E6 PDZ Binding Motif: From Life Cycle to Malignancy. **Viruses**. v. 7, n. 7, p. 3530-3551, 2015.

GLYNNE, J. R.; NILSSON, P. J.; ASCHELE, C.; GOH, V.; PEIFFERT, D.; CERVANTES, A.; ARNOLD, D. Anal cancer: ESMOESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Ann Oncol**. v.25, n.3, p. 10–20, 2014.

GOLDSTONE, S. E. Diagnosis and Treatment of HPV-Related Squamous Intraepithelial Neoplasia. **The PRN Notebook**. v. 10, n.4, p. 11-16, 2005.

GRULICH, A. E.; JIN, F.; CONWAY, E. L.; STEIN, A. N.; HOCKING, J. Cancers attributable to human papillomavirus infection. CSIRO Publishing - Sexual Health. v. 7, n. 3, p. 244-252, 2010.

HAFKAMP, H. C.; MANNI, J.; SPEEL, E. Role of human papillomavirus in development of head and neck squamous cell carcinoma. **Acta Otolaryngol**. v.124, p. 520–526, 2004.

HANKIN, M. H.; MORSE, D. E.; CLARKE, C. A. B. **Anatomia clínica: Uma abordagem por estudos de casos. Hemorróidas.** Porto Alegre: RS: AMGH Editora. 2015. p. 173-180.

HARIRI, S.; DUNNE, E.; SARAIYA, M.; UNGER, E.; MARKOWITZ, L. Chapter 5: Human Papillomavirus. **VPD Surveillance Manual.** v. 5, p. 1-5, 2011.

HARPER, D. M.; FRANCO, E. L.; WHEELER, C. M.; MOSCICKI, A. B.; ROMANOWSKI, B.; ROTELI-MARTINS, C. M. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. **Lancet.** V. 367, n. 9518, p.1247-1255, 2006.

HARTWIG, S.; SYRJANEN, S.; FELDEN, G. D.; BROTONS, M.; CASTELLSAGUE, X. Estimation of the epidemiological burden of human papillomavirus-related cancers and non-malignant disease in men in Europe: a review. **BMC Cancer.** p. 12-30, 2012.

HERFS, M.; HUBERT, P.; MOUTSCHEN, M.; DELVENNE, P. Mucosal junctions: open doors to HPV and HIV infections? **Trends in Microbiology,** v. 19, n. 3, p. 114-120, 2011.

HILLMAN, R.; GARLAND, S. M.; GUNATHILAKE, M. B. W.; KUMARADEVAN, M. S. N.; LEMECH, C.; WARD, R. L.; MEAGHER, A.; JIN, L. M. F.; CARROLL, S.; GOLDSTEIN, D.; GRULICH, A. E.; TABRIZI, S. N. Human papillomavirus (HPV) genotypes in an Australian sample of anal cancers. **Int. J. Cancer.** v. 135, p. 996–1001, 2014.

HOBBS, C. M.; LOWRY, M. A. OWEN, D.; SOBIN, L. H. Anal gland carcinoma. **Cancer.** v. 92, n. 8, p. 2045-2049, 2001.

HONG, S.; LAIMINS, L. A. Regulation of the life cycle of HPVs by differentiation and the DNA damage response. **Future Microbiol.** v. 8, n.12, p.1547-57, 2013.

HOOTS, B.E.; PALEFSKY, J.M.; PIMENTA, J.M.; SMITH, J.S. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. **Int J Cancer.** v. 124, n. 10, p. 2375–2383, 2009.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. **IARC Press**, Lyon, 2000. p. 145-155.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Câncer Anal**, 2015. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br>> Acessado em 10 de fevereiro de 2016.

_____. **Estimativas 2012 Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br>> [Acesso em 22 de Jan. 2014].

_____. **Tipos de câncer: Anal**. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/anal>> [Acesso em 22 de jan. 2014].

INNO LiPA. HPV Genotyping Extra: Hybridization. **Innogenetics®**. 2010.

INSINGA, R. P.; DASBACH, E. J.; ELBASHA, H. E. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. **BMC Infectious Diseases.** v. 9, p. 109-119, 2009.

JIN, F.; STEIN, A. N.; CONWAY, E. L.; REGAN, D. G.; LAW, M.; BROTHERTON, J. M.; Trends in anal cancer in Australia, 1982–2005. **Vaccine.** v. 29, n. 12, p. 2322–2327, 2011.

JOHN, M. J.; MINSKY, B. D.; JANJAN, N. A.; ROSENTHAL, S. A.; TEPPER, J. E.; OTA, D.; SALTZ, L.; LEIBEL, S. Câncer do Canal anal. **Colégio Brasileiro de Radiologia**. v. 2, n. 12, p.1537-1547, 2002.

JOHNSON, L. G., MADELEINE, M. M., NEWCOMER, L. M., SCHWARTZ, S. M., DALING, J. R. Anal Câncer Incidence and Survival: the Surveillance, Epidemiology, and End Results Experience, 1973–2000. **Cancer**. v. 101, n. 2, p. 281-288, 2004.

JOSEPH, D.A.; MILLER, J.W.; WU, X.; CHEN, V.W.; MORRIS, C.R.; GOODMAN, M.T. Understanding the burden of human papillomavirus-associated anal cancers in the US. **Cancer**. v. 113, p. 2892–2900, 2008.

KAGAWA, R.; YAMAGUCHI, T.; FURUTA, R. Histological Features of Human Papilloma Virus 16 and Its Association with the Development and Progression of Anal Squamous Cell Carcinoma. **Surg Today**. v. 36, p. 885–891, 2006.

KLENCLE, B. J.; PALEFSKY, J. M. Cancer anal: an HIV-associated cancer. **Hematol Oncol Clin North Am**. v. 17, n.13, p. 859-872, 2003.

KOERBER, S. A.; SCHONEWEG, C.; SLYNKO, A.; KRUG, D.; HAEFNER, M. F.; HERFARTH, K.; DEBUS, J.; STERZING, F.; DOEBERITZ, M. V. K. D.; PRIGGE, E. S.; REUSCHENBACH, M. Influence of human papillomavirus and p16INK4a on treatment outcome of patients with anal cancer. **Radiotherapy and Oncology**. n. 113, p. 331–336, 2014.

KOMLOS, K. F.; KOCJAN, B. J.; KOSOROK, P.; RUS, T.; TOPLAK, J.; BUNIC, M.; POLJAK, M. Distribution of HPV genotypes in Slovenian patients with carcinoma: preliminary results. **Acta Dermatoven**. v. 20, n. 3, p. 141-43, 2011.

KOPPE, D. C. Identificação de neoplasia intra epitelial anal em mulheres com neoplasia genital. **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

LEFEVRE, J. H.; CORTE, H.; TIRET, E.; BOCCARA, D.; CHAOUAT, M.; TOUBOUL, E.; SVRCEK, M.; LEFRANCOIS, M.; SHIELDS, C.; PARC, Y. Abdominoperineal Resection for Squamous Cell Anal Carcinoma: Survival and Risk Factors for Recurrence. **Annals of Surgical Oncology**. v.19, n.13, p. 4186-4192, 2012.

LICITRA, L.; SPINAZZE, S.; DOCI, R.; EVANS, T. R.; TANUM, G.; DUCREUX, M. Cancer of the anal region. **Crit. Rev. Oncol. Hematol**. v.43, p. 77-92, 2002.

LIN, J.; ALBERS, A. E.; QIN, J.; KAUFMANN, A. M. Prognostic Significance of Overexpressed p16INK4a in Patients with Cervical Cancer: A Meta-Analysis. **PLOS ONE**. v. 9, n. 9, p. 1-7, 2014.

LU, D. W.; EL-MOFTY, S. K.; WANG, H. L. Expression of p16, Rb, and p53 Proteins in Squamous Cell Carcinomas of the Anorectal Region Harboring Human Papillomavirus DNA. **Mod Pathol**. v. 16, n. 7, p.692–699, 2003.

MANZIONE, C. R., NADAL, S. R., CALORE, E. S. E. Oncogenicidade do Papilomavírus humano e o grau de neoplasia intra-epitelial anal em doentes HIV positivo. **Rev. Assoc. Med. Bras**. v. 50, n. 3, p. 282-285, 2004.

MATOS, E.; LORIA, D.; AMESTOY, G. M.; HERRERA, L.; PRINCE, M. A.; MORENO, J.; KRUNFLY, C.; VAN DEN BRULE, A. J.; MEIJER, C.J.; MUÑOZ, N.; HERRERO, R. Proyecto Concordia Collaborative Group. Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concordia, Argentina: a population-based study. **Sex Transm Dis**. v. 30, n. 8, p. 593-599, 2003.

MENSAH, F. A.; MEHTA, M. R.; LEWIS, J. S. Jr.; Lockhart, A. C. The Human Papillomavirus Vaccine: Current Perspective and Future Role in Prevention and Treatment of Anal Intraepithelial Neoplasia and Anal Cancer. **Oncologist**. v. 21, n. 4, p. 453-460, 2016.

MESPLEDE T, GAGNON D, BERGERON-LABRECQUE F, AZAR I, SENECHAL H, COUTLEE F. p53 degradation activity, expression, and subcellular localization of E6 proteins from 29 human papillomavirus genotypes. **J Virol**. v. 86, p. 94–107, 2012

MENSAH-BROWN, E. P.; RIZK, D. E. E.; PATEL, M.; SWAMINATHAN, I.; CHANDRANATH; ADEM, A. Effects of ovariectomy and hormone replacement on submucosal collagen and blood vessels of the anal canal of rats. **Colorectal Disease**. v. 6, p. 481–487, 2004.

MOSCICKI, A. B.; MA, Y.; FARHAT, S.; JAY, J.; HANSON, E.; BENNINGFIELD, S.; JONTE, J.; MEDINA, C. G.; WILSON, R.; SHIBOSKI, S. Natural History of Anal Human Papillomavirus Infection in Heterosexual Women and Risks Associated With Persistence. **CID**. V. 58, p. 804-11, 2014.

MORSHED, K.; GRUSZKA, D. P.; SZYMANSKI, M.; DACEWICZ. Human Papillomavirus (HPV) – Structure, epidemiology and pathogenesis. **Otolaryngologiapolska**. V. 68, p. 213-219, 2014.

MULLERAT, J.; DEROIDE, F.; WINSLET, M. C.; PERRETT, C. W. Proliferation and p53 expression in anal cancer precursor lesions. **Anticancer Research**. v. 23, n. 3, p. 2995-2999, 2003.

MUNOZ, N.; CASTELLSAGUÉ, X.; GONZÁLEZ, A. B.; GISSMAN, L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. **Elsevier Vaccine**. v. 24 n. 3, p. 1-10, 2006.

MYERSON RJ, KARNELL LH, MENCK HR. The National Cancer Data Base report on carcinoma of the anus. **Cancer**. v.80, n.4, p. 805-815, 1997.

NADAL, S. R., MANZIONE, C. R. Papilomavírus humano e o câncer anal. **Rev bras Coloproct.** v. 26, n. 2, p. 204-207, 2006.

NADAL, S. R.; MANZIONE, C. R. Rastreamento e seguimento de portadores das lesões anais induzidos pelo papilomavírus humano como prevenção do carcinoma anal. **Rev. Bras. Coloproct.** v.29, n. 2, p. 250-253, 2009.

NELSON, R. A.; LEVINE, A. M.; BERNSTEIN, L.; SMITH, D. D.; LAI, L. L. Changing patterns of anal carcinoma in the United States. **Journal of Clinical Oncology.** v. 31, n. 12, p. 1569-75, 2013.

NJOUMI, N.; TARCHOULI, M.; RATBI, M. B.; ELOCHI, M. R.; YAMOUL, R.; HACHI, H.; BOUGTAB, A. La tumeur de Buschke-Lowenstein anorectale: à propos de 16 cas et revue de la littérature. **Pan African Medical Journal.** v.16, n.131, p. 1-5, 2013.

NETO, JR. T., PRUDENTE, A. C. L., SANTOS, R. L. Estudo Demográfico do Câncer de Canal Anal e Ânus no Estado de Sergipe: Cancer of Canal Anal and Anus. A Demographic Study in Sergipe – **Brasil. Rev. Bras. Coloproct.** v. 27, n. 2, p. 190-195, 2007.

NUNES, C. B. L.; ARRUDA, K. M.; PEREIRA, T. N. VILLA, L. L. Apresentação da eficácia da vacina HPV distribuída pelo sus a partir de 2014 com base nos estudos Future I, Future II, e Villa. **Acta Biomedica Brasiliensia.** v. 6, n. 1, p. 1-9, 2015.

ODUNSI, K.; PEJOVIC, T.; ANDERSON, M. L. Gynecologic cancers. In: DEVITA, V. T. Jr.; LAWRENCE, T. S.; ROSENBERG, S. A. **Cancer. Principles e practice of oncology.** 1 Pap/Psc. ed. Lippincott Williams & Wilkins, cap. 23, p. 295-306, 2011.

ONCOLEX. **Oncology Encyclopedia: Staging of anal cancer**. 2015. Acesso em 10 Jul 2015. Disponível em: < <http://oncolex.org/Anal-cancer/Background/Staging>>.

OUHOUMMANE, STEBEN, M.; COUTLE, F.; VUONG, T.; FOREST, P.; RODIER, C.; LOUCHINI, R.; DUARTE, E.; BRASSARD, P. Squamous anal cancer: Patient characteristics and HPV type distribution. **Cancer Epidemiology**. n. 37, p. 807–812, 2013.

PAPACONSTANTINO, L.; MANTZOS, D. S.; KONDI-PAFITI, A.; KOUTROUBAKIS, I. E. Anal adenocarcinoma complicating chronic Crohn's disease. **Int J Surg Case Rep**. v. 10, p. 201-203, 2015.

PARKIN, D. M., BRAY, F. Chapter 2: the burden of HPV-related cancers. **Vaccine**. v. 24, n. 3, p. 11-25, 2006.

PATEL, P.; HANSON, D. L.; SULLIVAN, P. S.; NOVAK, R. M.; MOORMAN, A. C.; TONG, T. C.; HOLMBERG, S. D.; BROOKS, J. T. Incidence of types of cancer among HIV-infected persons compared with the general population in the United States, 1992–2003. **Ann Intern Med**. v.148, n. 10, p. 728–736, 2008.

PEREIRA, A. C. C., LACERDA, H. R., BARROS, R. C. R. Diagnostic Methods for Prevention of Anal Cancer and Characteristics of Anal Lesions Caused by HPV in Men with HIV/AIDS. **BJID**. v. 12, p. 293-299, 2008.

PIKETTY C, DARRAGH TM, DA COSTA M. High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. **Ann Intern Med**. v.138, p.453–459, 2003.

PIKETTY, C.; SELINGER-LENEMAN, H.; BOUVIER, A. M.; BELOT, A.; MARY-KRAUSE, M.; DUVIVIER, C.; BONMARCHAND, M.; ABRAMOWITZ, L.; COSTAGLIOLA, D.; GRABAR, S. Incidence of HIV-Related Anal Cancer

Remains Increased Despite Long-Term Combined Antiretroviral Treatment: Results From the French Hospital Database on HIV. **J Clin Oncology**. v. 30, n. 35, p. 4360-4366, 2012.

PLESEC, T. P.; OWENS, S. R. Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas: Chapter 32: Inflammatory and Neoplastic Disorders of the Anal Canal. Philadelphia, USA: **Elsevier Saunders**, 2015, p. 890-900.

POGGIO, J. L. Premalignant Lesions of the Anal Canal and Squamous Cell Carcinoma of the Anal Canal. **Clinics in Colon and Rectal Surgery**. v. 24, n. 3, p. 177-192, 2011.

RAPTIS, D.; SCHNEIDER, I.; MATZEL, K. E.; OTT, O.; FIETKAU, R.; HOHENBERGER, W. The differential diagnosis and inter-disciplinary treatment of anal carcinoma. **Dtsch Arztebl Int**. v. 112, p. 243–249, 2015.

RAMAMOORTHY, S.; LIU, Y. T.; LUO, L.; MIYAI, K.; LU, Q.; CARETHERS, J. M. Detection of Multiple Human Papillomavirus Genotypes in Anal Carcinoma. **Infectious Agents and Cancer**. v. 5, n.17, p. 1-5, 2010.

RAVENDA, P. S.; MAGNI, E.; BOTTERI, E.; MANZOTTI, M.; BARBERIS, M.; VACIRCA, D.; TROVATO, C. M.; ACQUA, V. D.; LEONARDI, M. C.; SIDERI, M.; FAZIO, N.; ZAMPINO, M. G. Prognostic value of human papillomavirus in anal squamous cell carcinoma. **Original Article**. v. 74, n. 5, p. 1033-1038, 2014.

REUSCHENBACH, M.; WATERBOER, T.; WALLIN, K. L.; EINENKEL, J.; DILLNER, J.; HANSIKOVA, E.; ESCHENBACH, D.; ZIMMER, H.; HEILIG, B.; KOPITZ, J.; PAWLITA, M.; DOEBERITZ, M. V. WENTZENSEN, N. Characterization of humoral immune responses against p16, p53, HPV16 E6 and HPV16 E7 in patients with HPV-associated cancers. **Int J Cancer**. v. 123, n. 11, p. 2626-31, 2008.

RIBEIRO, A. A.; COSTA, M. C.; ALVES, R. R. F.; VILLA, L. L.; SADDI, V. A.; CARNEIRO, M. A. S.; ZEFERINO, L. C.; RABELO-SANTOS, S. H. HPV infection and cervical neoplasia: associated risk factors. **Infectious Agents and Cancer**. v.10, n.1, p.1-16, 2015.

RIZK, D. E. E.; MOHAMED, A. F.; HASSAN, H. A.; AL-MARZOUQI, A. H.; RAMADAN, G. A.; AL-KEDRAH, S. S.; AL-GHAFRI, L.S. The effect of ovariectomy on biomarkers of urogenital ageing in old versus young adult rats. **Int Urogynecol J**. v. 18, p. 1077–1085, 2007.

RIZK, D. E. E.; MOHAMED, A. F.; HASSAN, H. A.; RAMADAN, G. A.; SHAFIULLAH, M; FAHIM, M. A. Estrogen and ghrelin increase number of submucosal urethral and anal canal blood vessels in ovariectomized rats. **Urology**, v.66, p. 1343–1348, 2005.

RIZK, D. E. E.; HASSAN, H. A.; AL-MARZOUQI, A. H.; RAMADAN, G. A.; AL-KEDRAH, S. S.; DAOUD, S. A.; FAHIM, M. A. Combined estrogen and ghrelin administration restores number of blood vessels and collagen type I/III ratio in the urethral and anal canal submucosa of old ovariectomized rats. **Int Urogynecol J**. v.19, p. 547–552, 2008.

ROSSI, B. M.; NAKAGAWA, W. T.; FERREIRA, F. O.; AGUIAR JUNIOR, S.; LOPES, S. **Câncer de Cólon, Reto e Ânus: Capítulo 53 Anatomia Patológica do Carcinoma de Canal Anal**. 1 ed. Cajamar, SP: Lemar e Tecmedd Editora. 2004. p.689-695.

RYAN, D. P.; COMPTON, C. C.; MAYER, R. J. Carcinoma of the anal canal. **N Engl J Med**. v. 342, p. 792-800, 2000.

SANTOS JR, J. C. M. Câncer Ano-Reto-Cólico - Aspectos Atuais: I – Câncer Anal: Anal Canal and Colorectal Cancer - Current Features: I – Anal Canal Cancer. **Rev. Bras. Coloproct.** v. 27, n. 2, p. 219-223, 2007.

SERUP-HANSEN, E.; LINNEMANN, D.; RUMINSKI, W. S.; HOGDALL, E.; GEERTSEN, P. F.; HAVSTEEN, H. Human papillomavirus genotyping and p16 expression as prognostic factors for patients with American Joint Committee on Cancer stages I to III carcinoma of the anal canal. **Journal of Clinical Oncology**. v. 32, p. 1812-1817, 2014.

SILVERBERG, M. J.; MICHAEL, J.; BRYAN, L.; AMY C. J.; ERIC, E.; JOHN, G.; JAMES, J.; GREGORY, D.; GYPSYAMBER, D'S.; RONALD, J.; JOHN, T.; SONIA, N. Risk of Anal Cancer in HIV-Infected and HIV Uninfected Individuals in North America. **Clinical Infectious Diseases**. v. 54, n.7, p.1026-1034, 2012.

SHIELS, M. S.; PFEIFFER, R. M.; CHATURVEDI, A. K.; KREIMER, A.R.; ENGELS, E. A. Impact of the HIV Epidemic on the Incidence Rates of Anal Cancer in the United States. **JNCI J Natl Cancer Inst**. v. 104, n. 20, p. 1591-1598, 2012.

SHUKLA, S.; BHARTI, A. C.; MAHATA, S.; HUSSAIN, S.; KUMAR, R.; HEDAU, S.; DAS, B. C. Infection of human papillomaviruses in cancers of different human organ sites. **Indian J. Med. Res**. v. 130, p. 222-233, 2009.

SOARES, P. C.; FERREIRA, S.; VILLA, L. L.; MATOS, D. Identificação do papilomavírus humano em doentes com carcinoma de células escamosas do canal anal e sua relação com o grau de diferenciação celular e estadiamento. **Rev bras Coloproct**. v. 31, n.1, p. 8-16, 2011.

SON S-M, NOH K-I, LEE H-C, PARK Y-J, JEONG E-H. Evaluation of p16INK4a, pRb, p53 and Ki-67 expression in cervical squamous neoplasia. **Cell Cycle**. v. 5, n. 6, p. 1-8, 2012.

STANLEY, M. A., WINDER, D. M., STERLING, J. C., GOON, P. K. C. HPV infection, anal intra-epithelial neoplasia (AIN) and anal cancer: current issues. **Bio Med Central Cancer**. v. 12, p. 398-401, 2012.

STEINAU, UNGER, E. R.; HERNANDEZ, B. Y.; GOODMAN, M. T.; COPELAND, M. B. A.; HOPENHAYN, C.; COZEN, W.; SABER, M. S.; HUANG, Y.; PETERS, E. S.; LYNCH, C. F.; WILKINSON, E. J.; RAJEEVAN, M. S.; LYU, M. P. A; SARAIYA, M. Human Papillomavirus Prevalence in Invasive Anal Cancers in the United States prior to Vaccine Introduction. **J. Low Genit Tract Dis.** v. 14, n. 4, p. 397-403, 2013.

SUI, X. et al. p53 signaling and autophagy in cancer: a revolutionary strategy could be developed for cancer treatment. **Autophagy**, v. 7, n. 6, p. 565–571, 2011.

TACHEZY, R.; JIRASEK, T.; SALAKOVA, M.; LUDVIKOVA, V.; KUBECOVA, M.; HORAK, L.; MANDYS, V.; HANSIKOVA, E. Human papillomavirus infection and tumours of the anal canal: correlation of histology, PCR detection in paraffin sections and serology. **APMIS.** v. 115, p.195–203, 2007.

TORNESELLO, M. L.; BUONAGURO, L.; GIORGI-ROSSI, P.; BUONAGURO, F. M. Viral and cellular biomarkers in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia and cancer. **Biomed Res Int.** p. 1-10, 2013.

TOTA, E. J.; DAVIS, M. C.; RICHARDSON, L. A.; DEVRIES, M.; FRANCO, E. L. Epidemiology and burden of HPV infection and related disease: Implications for prevention strategies. **Preventive Medicine.** v. 53, p. 512-521, 2011.

USA, UNITED STATES OF AMÉRICA. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology and End Results. **SEER Stat Fact Sheets: Anal Cancer.** 2015. Acesso em 10 Jul. 2015. Disponível em:<<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/anus.html>>.

VALMARY-DEGANO, S.; JACQUIM, E.; PRETET, J.L.; MONNIEN, F.; GIRARDO, B.; GINDRE, F. A.; JOLY, M.; BOSSET, J. F.; KANTELIP, B.; MOUGIN, C. Signature patterns of human papillomavirus type 16 in invasive anal carcinoma. **Human Pathology.** v.44, n.6, p. 992-1002, 2013.

VARNAI, D.; BOLLMANN, M.; GRIEFINGHOLT, H.; SPEICH, N.; SCHMITT, C.; BOLLMANN, R.; DECKER, D. HPV in anal squamous cell carcinoma and anal intraepithelial neoplasia (AIN) Impact of HPV analysis of anal lesions on diagnosis and prognosis. **Int J Colorectal Dis.** v.21, p.135–142, 2006.

VILLIERS, E. M.; FAUQUET, C.; BROKER, T. R.; BERNARD, H. U.; ZUR HAUSEN, H. Minireview : Classification of papillomaviruses. **Virology.** v. 324, p. 17–27, 2004.

VUYST, H. D., CLIFFORD, G. M., NASCIMENTO, M. C., MADELEINE, M. M., FRANCESCHI, S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta-analysis. **International Journal of Cancer.** v.124, p. 1626-1636, 2009.

WALBOOMERS, J. M.; JACOBS, M. V.; MANOS, M. M.; BOSCH, F. X.; KUMMER, J. A.; SHAH, K. V.; SNIJDERS, P. J.; PETO, J.; MEIJER, C. J.; MUÑOZ, N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **J Pathol.** v. 189 n.1, p. 12-19, 1999.

WANG, H. L.; LU, D. W. Detection of human papillomavirus DNA and expression of p16, Rb, and p53 proteins in small cell carcinomas of the uterine cervix. **Am J Surg Pathol.** v. 7, p. 901-908, 2004.

WEBB, S.P., LEE, C.S. Uncommon Colorectal Neoplasms: Epidermoid Cancer of the Anal Canal. **Clin. Colon Rectal Surg.** v. 3, n. 24, p. 142-148, 2011.

WEI, L.; GRIEGO, A. M.; CHU, M.; OZBUN, M. Tobacco exposure results in increased E6 and E7 oncogene expression, DNA damage and mutation rates in cells maintaining episomal human papillomavirus 16 genomes. **Carcinogenesis.** v. 35, n. 10, p. 2373-2381, 2014.

WELTON, M. L. R.; BOSMAN, F. Chapter 9. **Tumours of the anal canal. Classification of tumours of the digestive system.** 4. ed. Lyon, França: International Agency for Research on Cancer. 2010. p. 1-12.

WENDELL-SMITH, C. P. Anorectal nomenclature: fundamental terminology. **Dis.Colon Rectum.** v. 43, n. 10, p. 1349-1358, 2000.

WHEELER, C. M.; CASTELLSAGUÉ, X.; GARLAND, S. M.; SZAREWSKI, A.; PAAVONEN, J.; NAUD, P. Crossprotective efficacy of HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by non-vaccine oncogenic HPV types: 4-year end-of-study analysis of the randomised, double-blind PATRICIA trial. **Lancet Oncol.** v. 13, n 1, p.100-110, 2012.

WILKINSON, J. R.; MORRIS, E. J. A.; DOWNING, A.; FINAN, P. J.; ARAVANI, A.; THOMAS, J. D.; MONTEFIORE, D. S. The rising incidence of anal cancer in England 1990-2010; a populationbased study. **Colorectal Disease.** v. 16, n.7, p. 234-239, 2014.

WONG, A. K.; CHAN, R. C.; AGGARWAL, N.; SINGH, M. K.; NICHOLS, W. S.; BOSE, S. Human papillomavirus genotypes in anal intraepithelial neoplasia and anal carcinoma as detected in tissue biopsies. **Modern Pathology.** v. 23, n. 1, p. 144-150, 2010.

XI, L. F.; KOUTSKY, L. A.; CASTLE, P. E.; EDELSTEIN, Z. R.; MEYERS, J. H.; SCHIFFMAN, M. Relationship between cigarette smoking and human papillomavirus type 16 and 18 DNA load. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.** v. 18, n. 12, p. 3490-3496, 2009.

YANG, L.; YANG, H.; WU, K.; SHI, X.; MA, S.; SUN, Q. Prevalence of HPV and variation of HPV 16/HPV 18 E6/E7 genes in cervical cancer in women in South West China. **J Med Virol.** v. 86, n.11, p.1926-36, 2014.

YHIM, H.Y.; LEE, N. A.; SONG, E. K.; KWAK, J. Y.; LEE, S. T.; KIM, J. H.; KIM, J. S.; PARK, H. S.; CHUNG, I. J.; SHIM, H. J.; HWANG, J. E.; KIM, H. R.; NAM, K. T.; PARK, M. R.; SHIM, H.; PARK, H. S.; KIM, H. S.; YIM, C. Y. The Prognostic significance of tumor human papillomavirus status for patients with anal squamous cell carcinoma treated with combined chemoradiotherapy. **Global Cancer Control**. v. 129, n.7, p. 1752-1760, 2011.

YUAN CH, FILIPPOVA M, DUERKSEN-HUGHES P. Modulation of apoptotic pathways by human papillomaviruses (HPV): mechanisms and implications for therapy. **Viruses**. v. 4, p. 3831–3850, 2012.

ZAMPIROLO, J. A., MERLIN, J. C., MENEZES, M. E. Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II®) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 39, n 4, p. 265-268, 2007.

ZEESTRATEN, E. C. M.; SPEETJENS, F. M.; WELTERS, M. J.; SAADATMAND, S.; STYNENBOSCH, L. F.; JONGEN, R.; KAPITEIJN, E.; GELDERBLOM, H.; NIJMAN, H. W.; VALENTIJN, A. R.; OOSTENDORP, J.; FATHERS, L. M.; DRIJFHOUT, J. W.; VAN DE VELDE, C. J.; KUPPEN, P. J.; VAN DER BURG, S. H.; MELIEF, C. J. Addition of interferon- α to the p53-SLP® vaccine results in increased production of interferon- γ in vaccinated colorectal cancer patients: a phase I/II clinical trial. **International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer**, v. 132, n. 7, p. 1581–1591, 2013.

ZHOU J, PENG C, LI B, WANG F, ZHOU C, HONG D. Transcriptional gene silencing of HPV16 E6/E7 induces growth inhibition via apoptosis in vitro and in vivo. **Gynecol Oncol**. v. 124, n. 2, p. 296-302, 2012.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. **Virology**. v. 384, n. 2, p.260–265, 2009.

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética

ASSOCIAÇÃO DE COMBATE
AO CÂNCER EM GOIÁS -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DE MARCADORES MOLECULARES E DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA DO HPV EM TUMORES ASSOCIADOS AO VÍRUS

Pesquisador: VERA APARECIDA SADDI

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 13580613.5.0000.0031

Instituição Proponente: ASSOCIAÇÃO DE COMBATE AO CANCER EM GOIAS

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE GOIAS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 272.288

Data da Relatoria: 04/04/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de pesquisa acadêmica, fomentada pela FAPEG, visando analisar (retrospectivamente) dados de cerca de 500 prontuários de pacientes portadores de CEC de vulva, cabeça e pescoço e anus. Também visa análise de blocos de parafina para identificação de presença e tipo de HPV.

O estudo proposto é retrospectivo, analítico e visa determinar a prevalência do genoma do HPV e a distribuição genotípica do vírus em grupos de pacientes com carcinomas cervicais (200 casos), de vulva e vagina (100 casos), carcinomas anais (100 casos) e carcinomas de cavidade oral e orofaringe (100 casos). Os casos incluídos deverão ser aqueles diagnosticados no Hospital Araújo Jorge, a partir de 2005, que apresentem dados clínicos e histopatológicos satisfatórios, blocos de parafina disponíveis no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge e seguimento mínimo de cinco anos. A seleção será feita a partir de uma busca ativa nos livros de registros dos exames realizados no Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge, com os diagnósticos histopatológicos já especificados. O período de inclusão deve se iniciar a partir de 2005, até atingir o número de casos estabelecidos para cada um dos grupos. As lâminas coradas pela hematoxilina-eosina de cada exame anátomo- patológico serão revisadas e os casos selecionados de acordo com o diagnóstico histológico confirmado. Os blocos de parafina, correspondentes às lâminas revisadas, serão selecionados para as análises moleculares. A detecção e a genotipagem

Endereço: 239

Bairro: SETOR LESTE UNIVERSITARIO **CEP:** 74.605-070

UF: GO **Município:** GOIANIA

Telefone: (62)3243-7050 **Fax:** (62)3243-7050 **E-mail:** cepaccg@accg.org.br

Continuação do Parecer: 272.288

do HPV serão realizadas no Laboratório de Transplante de Medula Óssea/Laboratório de Radiobiologia e Oncogenética da Associação de Combate ao Câncer em Goiás e Laboratório de Genética e Biodiversidade da PUC-Goiás. Os tipos de HPV serão classificados em baixo e alto risco oncogênico com base no padrão filogenético, conforme a classificação proposta pela The International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). As análises imuno-histoquímicas serão realizadas no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Determinar a distribuição genotípica do HPV e as possíveis associações entre características clínico-patológicas, prognósticas e moleculares dos tumores associados ao vírus (carcinomas cervicais, de vulva, vagina, anus, cavidade oral e orofaringe).

Objetivo Secundário: - Identificar os tipos específicos de HPV detectados nos diferentes tumores associados ao vírus (carcinomas cervicais, de vulva, vagina, anus, cavidade oral e orofaringe). - Descrever os principais aspectos clínico-patológicos e prognósticos nos tumores associados ao HPV. - Avaliar a expressão imuno-histoquímica de Ki-67 e p16 nos tumores associados ao HPV. - Avaliar as possíveis associações entre os achados de detecção e genotipagem do HPV com os fatores clínico-epidemiológicos e moleculares dos tumores avaliados. - Avaliar o impacto dos diferentes genótipos do HPV no prognóstico dos pacientes com dos tumores associados ao vírus. - Produzir dados de prevalência e distribuição genotípica do HPV capazes de prever o impacto das vacinas na epidemiologia dos cânceres associados ao vírus.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem riscos relevantes.

Benefícios através do conhecimento de dados de prevalência de HPV entre portadores de CEC de vulva, anus, cabeça e pescoço, podendo implementar ou mudar o uso de vacinas contra HPV

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um importante projeto com potencial de elucidar lacunas científicas relevantes sobre o papel do HPV em CEC de anus, vulva e cabeça e pescoço.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados às exigências do CEP

Aparentemente, nada faltando

Pedem dispensa do TCLE (e estou de acordo)

Endereço: 239
Bairro: SETOR LESTE UNIVERSITARIO CEP: 74.605-070
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3243-7050 Fax: (62)3243-7050 E-mail: cepaccg@accg.org.br

Página 02 de 03

ASSOCIAÇÃO DE COMBATE
AO CÂNCER EM GOIÁS -



Continuação do Parecer: 272.288

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sugiro aprovação do projeto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer do relator acatado.

Estudo aprovado.

GOIANIA, 14 de Maio de 2013

Assinador por:

**Adriano Augusto Peclat de Paula
(Coordenador)**

Endereço: 239

Bairro: SETOR LESTE UNIVERSITARIO

CEP: 74.605-070

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3243-7050

Fax: (62)3243-7050

E-mail: cepaccg@accg.org.br

Página 03 de 03