



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM
PATOLOGIA TROPICAL**

**VALOR DA ANUSCOPIA COM MAGNIFICAÇÃO DE
IMAGEM NO DIAGNÓSTICO DE LESÕES PRECURSORAS
DO CÂNCER ANAL EM PACIENTES HIV+ ATENDIDOS NA
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO AMAZONAS.**

FELICIDAD SANTOS GIMENEZ

**MANAUS
2009**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM
PATOLOGIA TROPICAL**

FELICIDAD SANTOS GIMENEZ

**VALOR DA ANUSCOPIA COM MAGNIFICAÇÃO DE
IMAGEM NO DIAGNÓSTICO DE LESÕES PRECURSORAS
DO CÂNCER ANAL EM PACIENTES HIV+ ATENDIDOS NA
FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO AMAZONAS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Multidisciplinar em Patologia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de mestre em Patologia Tropical na área de concentração “Diagnóstico e Controle”.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira

**MANAUS
2009**

RESUMO

INTRODUÇÃO: A incidência do câncer anal, cerca de 1,5% dos tumores malignos do trato digestório, vem aumentando em homens que fazem sexo com homens acometidos pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV+), para até 70/100.000 pessoas com os mesmos hábitos. O desenvolvimento desse câncer é decorrente de vários fatores, dentre eles, a infecção pelo papilomavírus humano (HPV), a imunodepressão e a prática do sexo anal. As similitudes com o desenvolvimento do câncer cervical (presença de lesões precursoras de baixo e alto grau, que podem ser diagnosticadas precocemente) têm inspirado a realização de vários estudos para estabelecer rotinas de detecção e tratamento das lesões precursoras desse câncer, visando a sua prevenção. A anuscopia com magnificação de imagem (AMI) faz parte dessa rotina diagnóstica, porém a literatura médica ainda é escassa a respeito do papel desempenhado por essa modalidade. Este estudo pretende verificar a validade do exame comparando-o com o resultado da histopatologia, nos pacientes HIV+ atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT-AM). **MÉTODOS:** Os 128 pacientes foram submetidos ao exame proctológico com coleta de células do canal anal e através da técnica da reação da cadeia de polimerase (PCR), pesquisou-se a presença do HPV. A seguir, realizou-se AMI com aplicação tópica anal de ácido acético 3% por 2 minutos. As lesões acetobranças (ACB) detectadas foram anotadas quanto à sua localização, classificadas quanto à qualidade tintorial, ao aspecto focal ou coalescente, ao relevo, à superfície e ao padrão vascular. Diante das características imagenológicas das lesões observadas, essas foram classificadas em normais, lesões de baixo (LSIL) ou alto grau (HSIL) para o desenvolvimento do câncer anal. Foram feitas biópsias sob anestesia local das lesões ACB, para exame histopatológico. **RESULTADOS:** A AMI apresentou sensibilidade de 90%, especificidade de 19,23%, valor preditivo positivo de 41,66%, valor preditivo negativo de 75%, e coeficiente *kappa* de 0,076. Das lesões analisadas foi encontrado nas HSIL, uma visibilização mais frequente de 68% ACB denso, 61% plano, 61% lisa, 83% não-papilar e 70% do padrão vascular normal, enquanto que as LSIL foram 66% ACB denso, 68% plano-elevado ou elevado, 59% granular, 62% não-papilar e 53% de padrão vascular normal. Gênero, idade, escolaridade e cor da pele não representaram fatores associados ao desenvolvimento de lesões ACB e lesões intraepiteliais escamosas anais (ASIL). Para os fatores de risco, implicados na carcinogênese anal e, em relação a esses fatores, não houve significância estatística na ocorrência de lesões ACB. No entanto, para as ASIL, demonstrou-se relevância entre os adeptos do sexo anal ($p = 0,0493$) e a presença de infecção pelo HPV ($p = 0,006$). **CONCLUSÃO:** A AMI demonstrou-se sensível, porém não específica na detecção das ASIL. Não foi encontrada a associação entre os resultados histopatológicas da AMI e a presença de infecção anal pelo HPV. A prevalência de HPV na população estudada foi de 79% e a de ASIL foi de 39,1%. Baseado nos dados imagenológicos, o padrão de relevo e superfície puderam fazer distinção entre LSIL e HSIL, enquanto que as outras características não apresentaram relevância.

Palavras chave: Câncer anal, HPV, HIV, anuscopia com magnificação de imagem.

ABSTRACT

BACKGROUND: The anal cancer incidence, about 1,5% of malignant tumors of the gastrointestinal tract, has increased among men who have sex with men (MSM) which have contracted the human immunodeficiency virus (HIV+), to 70/100.000 people with the same behavior. The development of this cancer is a consequence of the interaction of several factors, among them, human papillomavirus (HPV) infection, immunodepression and anal sex practice. The similarities to the cervical cancer development (low and high grade precursor lesions, which can be early diagnosed) have inspired many studies performed in order to establish guidelines for the detection and treatment of precursor lesions of anal cancer, intending its prevention. The high-resolution anoscopy (HRA) is routinely used in this diagnosis; however, medical literature is even deficient concerning to the role of this diagnostic modality in the detection of precursor lesions of anal cancer. Taking these facts into account, this study has the intention of checking the validity of this test by comparing it to histopathology results of HIV+ patients of the Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT-AM). **METHODS:** The patients included (128) underwent a proctologic examination with the collection of anal channel cells, and using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, it was researched the presence of HPV. Afterwards, HRA and topical anal application of Acetic Acid 3% during 2 minutes were performed. The acetowhite areas (AWA) detected were recorded concerning to their localization, classified by their color pattern, focal or coalescent aspect, relief, surface and vascular pattern. Facing the image characteristics of the observed lesions, these were classified into normal, low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) or high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) to the development of anal cancer. In addition, biopsies of the AWA were performed under local anesthesia, to undergo histopathologic analysis. **RESULTS:** Fro The HRA showed sensibility of 90%, specificity of 19,23%, positive predictive value of 41,66%, negative predictive value of 75%, and *kappa* coefficient of 0,076. In the analyzed lesions it was found in the HSIL a more frequent visualization of 68% dense AWA, 61% flat, 61% smooth, 83% no-papillary and 70% normal vascular pattern, while in the LSIL they were 66% dense AWA, 68% flat-raised or raised, 59% granular, 62% no-papillary and 53% normal vascular pattern. Gender, age, level of education and skin color did not represent associated factors to the development of AW lesions or to anal squamous intra-epithelial lesions (ASIL). The risk factors implied in the anal carcinogenesis were taking these factors into account, there was not statistic significance in the occurrence of AW lesions. Even though, to ASIL, it was demonstrated a relevance between anal sex adepts ($p = 0,0493$) and the presence of HPV infection ($p = 0,006$). **CONCLUSIONS:** The HRA has demonstrated to be sensible, but not specific in the detection of ASIL. In addition, it was not found association between HRA results histopathologic and the presence of HPV anal infection. The prevalence of HPV in the studied population was 79% and the prevalence of ASIL was 39,1%. Based on image data, the relief and surface pattern were able to distinguish between LSIL and HSIL, while the other characteristics did not show relevance.

Keywords: anal cancer, HPV, HIV, High Resolution Anoscopy.

JUSTIFICATIVA

O aumento da incidência do câncer anal tem sido motivo para o surgimento de vários estudos internacionais que evidenciaram ser os pacientes portadores do vírus da imunodeficiência os que apresentam a maior incidência para o desenvolvimento desse tipo de câncer (FRIEDMAN et al, 1998). Muitos desses estudos testam exames diagnósticos voltados para a detecção precoce das lesões precursoras da neoplasia. Os exames mais utilizados são a citologias anal oncológica ou Papanicolau anal (Pap-a), e a anoscopia com magnificação de imagem (AMI) com biópsias de lesões suspeitas, que são submetidas à avaliação histopatológica.

A citologia anal oncológica é utilizada como método de rastreamento inicial, pois é exame de simples realização e tem capacidade de detectar as alterações celulares intraepiteliais próprias da infecção pelo HPV. Entretanto, apesar de sua alta sensibilidade (98%), sua especificidade é baixa (50%) (PIKETTY et al, 2003) e não permite a localização exata, no canal anal, das lesões que eventualmente sejam responsáveis por alterações celulares.

Se houver alterações celulares suspeitas no exame citológico, há indicação da realização da AMI, procedimento adaptado da colposcopia cervical, que proporciona visão magnificada da zona de transição escamocolumnar do canal anal (região pectínea) e tem capacidade de detectar alterações teciduais após a aplicação tópica de ácido acético a 3%, havendo, em geral, lesão HPV produzida quando o epitélio anal torna-se acetobranco.

O exame histopatológico das biópsias, das lesões acetobrancoas observadas na AMI constitui-se no padrão ouro para confirmar ou não a presença de lesões de baixo e de alto grau de diferenciação para o câncer anal.

Os trabalhos publicados sobre a AMI têm utilizado os mesmos critérios colposcópicos do colo uterino para diagnóstico de lesões escamosas suspeitas (alto e baixo grau), com o intuito de estabelecer descrições detalhadas das lesões encontradas, com base em terminologia já testada na prática clínica diária e aprovada cientificamente (MELBYE, SPROGEL, 1991 e JAY et al, 1997).

No Brasil, existem publicações científicas que relatam o uso da AMI para o diagnóstico de lesões intraepiteliais anais, em casos de prurido anal, de infecção pelo HPV e de carcinoma *in situ* anal (MAGI et al, 2006 e NADAL, MANZIONE, 2004). As lesões anais suspeitas têm sido descritas, nestes trabalhos, como lesões acetobrancoas positivas, porém é escassa uma padronização das imagens típicas sobre a qualidade tintorial, do aspecto, do relevo, da superfície, ou do padrão vascular colposcópico dessas lesões.

No Amazonas, a Fundação de Medicina Tropical é o centro de referência para pacientes portadores da infecção pelo HIV, os quais representam um importante grupo de risco para o desenvolvimento do câncer anal. Este projeto destina-se, então, a verificar a importância que a anoscopia com magnificação de imagem pode exercer no diagnóstico precoce das lesões teciduais e se essas estão associadas ao HPV, em pacientes HIV+, com maior probabilidade de evolução para o câncer, visando buscar embasamento para a instituição de um programa de acompanhamento contínuo desses pacientes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS E QUADROS

Figura 1	Esquema do canal anal.....	14
Quadro 1	Classificação do câncer anal.....	15
Quadro 2	Classificação dos tipos de HPV.....	16
Figura 2	Esquema do genoma do vírus HPV.....	18
Figura 3	Posição de Sims modificada.....	30
Figura 4	Lesão ACB neg com vasos atípicos, LSIL, HPV+.....	32
Figura 5	Lesão ACB denso, plano, focal, lisa, não-papilar, HPV+.....	32
Figura 6	Lesão ACB denso, coalescente, plano, elevado, papilar, HSIL, HPV+.....	32
Figura 7	Lesão ACB denso, coalescente, elevado, granular, LSIL, HPV+.....	32
Figura 8	Lesão mosaico, neg., HPV+.....	32
Figura 9	Lesão mosaico, LSIL, HPV+.....	32
Figura 10	Lesão ACB, denso, coalescente, elevado, granular, granular, pontilhado, condiloma, HPV+.....	33
Figura 11	Lesão ACB denso, coalescente, plano-elevado, granular, pontilhado, LSIL e HPV+.....	33
Quadro 3	Grupos de descritores das lesões de baixo e alto grau verificado por anoscopia.....	33
Figura 12	Detecção Molecular para HPV com <i>primer</i> MY11 e MY09.....	36
Figura 13	Detecção Molecular para HPV com <i>primer</i> GP5 e GP6.....	36
Figura 14	Lesão intraepitelial de baixo grau pela histopatologia.....	38
Figura 15	Lesão intraepitelial de alto grau pela histopatologia.....	38
Gráfico 3	Distribuição de DST encontradas nos pacientes HIV+.....	50
Gráfico 4	Distribuição de doenças benignas encontradas nos pacientes HIV+.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição dos pacientes HIV+, quanto ao gênero, idade, escolaridade e cor da pele com relação a presença de lesão acetobranca.....	41
Tabela 2	Distribuição dos pacientes HIV+, quanto ao gênero, idade, escolaridade e cor da pele com relação a presença de lesão intraepitelial anal.....	43
Tabela 3	Distribuição dos pacientes HIV+, quanto aos adeptos do sexo, número de parceiros, início da atividade sexual, DST e HPV com a lesão ACB.....	44
Tabela 4	Distribuição dos pacientes HIV+, quanto ao CD4, TARV, doenças benignas, tabagismo e adição a drogas com a presença de lesão ACB.....	45
Tabela 5	Distribuição dos pacientes HIV+, quanto aos adeptos do sexo anal, número de parceiros, início da atividade sexual, DST e HPV com ASIL.....	47
Tabela 6	Distribuição dos indivíduos HIV+, quanto ao CD4, TARV, doenças benignas, tabagismo e adição a drogas com a presença de lesão ACB.....	49
Tabela 7	Acurácia diagnóstica da anoscopia com magnificação de imagem.....	51
Tabela 8	Distribuição das imagens da AMI com relação aos resultados histopatológicos.....	53
Tabela 9	Validade da impressão diagnóstica das AMI em relação aos descritores com relação aos resultados histopatológicos.....	57
Tabela10	Prevalência de ASIL em pacientes HIV+.....	58
Tabela 11	Correlação da presença do HPV com as lesões precursoras do câncer anal.....	59
Tabela 12	Frequência de lesões ASIL em relação com o HPV.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACB	Lesão acetobranca
ACB-	Lesão acetobranca negativa
ACB+	Lesão acetobranca positiva
ADCin	Adenocarcinoma invasivo
ADCis	Adenocarcinoma <i>in situ</i>
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AMI	Anuscopia com magnificação de imagem
AR	Anorreceptivo
ASIL	<i>Anal Squamous Intraepithelial Lesion</i> (lesão intra-epitelial escamosa anal)
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CEPin	Carcinoma epidermóide invasivo
CEPis	Carcinoma epidermóide <i>in situ</i>
céls/μl	Células por microlitros
céls	Células
DNA	Ácido desoxiribonucleico
DST	Doença sexualmente transmissível
FMT-AM	Fundação de Medicina Tropical do Amazonas
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i> (vírus da imunodeficiência humana)
HIV+	Vírus da imunodeficiência humana positivo
HIV-	Vírus da imunodeficiência humana negativo
HPV	<i>Human Papillomavirus</i> (papilomavírus humano)
HSH	Homens que fazem sexo com homens
HSHM	Homens que fazem sexo com homens e mulheres
HSIL	<i>High Squamous Intraepithelial Lesion</i> (lesão intra-epitelial escamosa de alto grau)
HTR	Homens ou mulheres heterossexuais
IC	Intervalo de confiança
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LCR	Região longa de controle viral
LSIL	<i>Low Squamous Intraepithelial Lesion</i> (lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau)
MSM	Mulheres que fazem sexo com mulheres
MSMH	Mulheres que fazem sexo com mulheres e homens

Neg	Negativo para lesões intra-epiteliais anais
NIA	Neoplasia Intra-epitelial anal
NIA I	Neoplasia Intra-epitelial anal de baixo grau
NIA II	Neoplasia Intra-epitelial anal de moderado grau
NIA III	Neoplasia Intra-epitelial anal de alto grau
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	<i>Odds ratio</i> (razão de chances)
pb	Pares de Base
PCR	Reação de cadeia da polimerase
PaP-a	Exame citológico oncótico Papanicolau anal
RNA	Ácido ribonucléico
RR	Risco relativo
TARV	Terapia antiretroviral
TCD₄₊	Grupo especializado de linfócitos T que expressam o receptor CD ₄ , também chamado de linfócito T <i>helper</i>
TEB	Tris borato e EDTA
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
ZTA	Zona de transição anal

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 O Câncer Anal.....	14
1.2 O Papilomavírus Humano.....	16
1.3 Lesões precursoras do câncer anal.....	19
1.4 Grupos de risco para o desenvolvimento do câncer anal.....	20
1.5 O vírus da imunodeficiência humana.....	21
1.6 Rastreamento de Lesões Precursoras do Câncer Anal.....	23
2. OBJETIVOS.....	26
2.1 Geral.....	26
2.2 Específicos.....	26
3. METODOLOGIA.....	27
3.1 Modelo do Estudo.....	27
3.2 Universo do Estudo.....	27
3.2.1 Participantes.....	27
3.2.2 Amostras.....	27
3.2.3 Critérios de inclusão e exclusão.....	28
3.2.3.1 Inclusão.....	28
3.2.3.2 Exclusão.....	28
3.3 Instrumentos de Coleta.....	28
3.3.1 Escova citológica.....	28
3.3.2 Colposcópico.....	28
3.3.3 Pinça de biopsia.....	29
3.3.4 Protocolo de coleta de dados.....	29
3.4 Procedimentos.....	29
3.4.1 Entrevista.....	29
3.4.2 Exame Proctológico.....	29
3.4.3 Coleta citológica.....	30
3.4.4 Anuscopia com Magnificação de Imagem	31
3.4.5 Procedimentos Moleculares para detecção do HPV.....	34
3.4.5.1 Extração do DNA.....	34
3.4.5.2 Amplificação do DNA.....	34
3.4.5.3 Eletroforese em gel de agarose.....	35
3.4.6 Procedimentos histopatológicos.....	36

3.5	Análise dos Resultados.....	37
3.5.1	Variáveis.....	37
3.5.1.1	Resultado da anoscopia com magnificação de imagem.....	37
3.5.1.2	Resultado do exame histopatológico.....	38
3.5.1.3	Resultado da PCR.....	38
3.5.2	Análise Estatística.....	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1	Análise dos dados sócio-demográficos.....	40
4.1.1	Lesão acetobranca.....	40
4.1.2	Lesão intraepitelial anal.....	42
4.2	Análise dos dados implicados na carcinogênese anal.....	43
4.2.1	Lesão acetobranca.....	43
4.2.2	Lesão intraepitelial.....	46
4.2.3	Gráficos das DST e das doenças benignas.....	50
4.3	Acurácia diagnóstica da AMI.....	51
4.3.1	Valor diagnóstico da AMI em relação com a histopatologia.....	51
4.3.2	Concordância diagnóstica entre as imagens da AMI com a histopatologia.....	53
4.3.3	Validade da impressão diagnóstica da AMI em relação aos descritores colpocitológicos cervicais.....	56
4.4	Cálculo da Prevalência.....	57
4.4.1	Prevalência de ASIL.....	57
4.4.2	Prevalência de HPV.....	58
4.5	Correlação entre as lesões precursoras do câncer anal e a presença de infecção pelo HPV.....	59
5	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
	APÊNDICES.....	71
	ANEXOS.....	73

DEDICATÓRIA

À minha família,
Ricardo, Luana e Lorena
pela compreensão, amor e paciência
neste período de nossas vidas.

Ao Dr. Ivan Tramuja,
pelo estímulo e orientação.

AGRADECIMENTOS

À Dra. Adriana Daumas, pela ação conjunta nos cuidados e acompanhamento dos pacientes.

Ao orientador Prof. Dr. Luiz Carlos de Lima Ferreira por seu incentivo e suas valiosas sugestões.

Ao mestrado, que me abriu esta oportunidade de expor meu projeto fruto e de um minucioso trabalho de elaboração.

Aos Patologistas Drs. José de Ribamar Araújo e Rosilene Viana de Andrade, pela prestimosa e conclusiva ajuda na leitura de lâminas cito-histológicas.

A Dra. Junia Raquel Ferreira Dutra, farmacêutica, à acadêmica de biologia Renata da Silva Galvão, pelo trabalho inestimável com a PCR.

Ao Prof. de Estatística Erico Jander Lopes e a acadêmica de estatística Gleice Jane Sena Cruz pela orientação e sugestões quanto a análises estatísticas dos dados desta dissertação.

Aos acadêmicos de medicina que tanto colaboraram com os pacientes e na formatação de dados e planilhas, em especial:

- Rangel da Silva Soares.
- Tariana Nunes Bandeira de Melo
- Ticiane da Costa Martins
- Nathalia Wanderley Coronel
- Maruska Dib Iamut
- Sara Grigna Gomes de Almeida Marques Medeiros

Às Técnicas Elizabeth da Rocha Monteiro e Sandra Maria Evangelita Caranhas, pela colaboração com os pacientes e processamento das lâminas citológicas e histológicas respectivamente.

Aos pacientes, que se doaram para a pesquisa, tornando assim, possível a realização deste trabalho.

A todas as outras pessoas que, embora não tenham sido aqui nomeadas, colaboraram de forma direta ou indireta na realização deste trabalho, a todos externo os meus sinceros agradecimentos.

1. INTRODUÇÃO

1.1 O Câncer Anal

O câncer anal tem uma incidência baixa, correspondendo a 1,5% dos tumores do aparelho digestório nos Estados Unidos (RYAN et al, 2000). No Brasil, pela publicação do Instituto Nacional de Câncer (INCA), a incidência do câncer anal está incluída nos dados existentes a respeito do câncer do cólon e do reto, sendo verificados, em 2008, 3,74 casos novos para cada 100.000 homens e 4,63 casos novos para cada 100.000 mulheres. Ocupa a quarta posição do total dos cânceres no Brasil e sexta posição na região norte.

Esse câncer tem seu desenvolvimento no canal anal. (Figura 1).

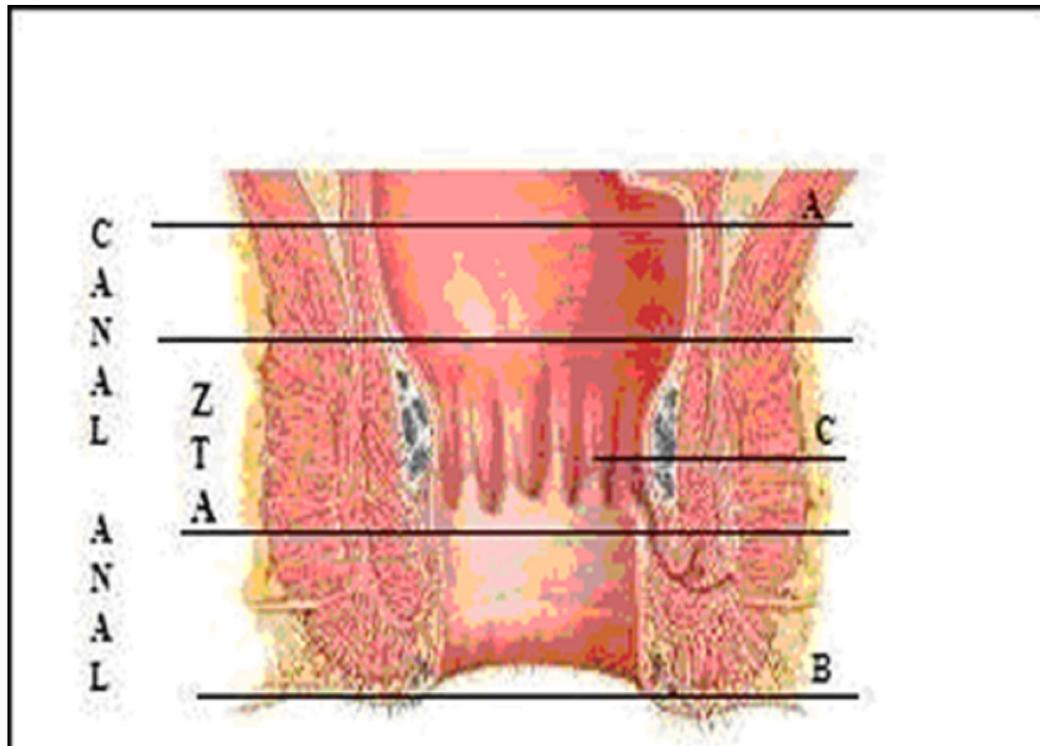


Figura 1- Canal anal - secção longitudinal.

FONTE: Modificado do Netter, 2008

Anatomicamente, o canal anal constitui a parte final do tubo digestivo. Está envolto pelos músculos esfínterianos, que promovem a continência fecal. Possui 3 a 4 cm de comprimento, e é dividido em três áreas: o terço superior, limitado cranialmente pela linha anorretal (A), e caudalmente pela imediações da linha pectínea, é revestido por mucosa retal, composta de epitélio colunar (QUILICI, et al; 2000). O terço médio é constituído pela zona de transição anal (ZTA), que é uma faixa de tecido estendida de 1 a 2 cm acima da linha pectínea (C) até 0,6 cm abaixo dela, onde ocorre o encontro do epitélio colunar da mucosa retal com o epitélio pavimentoso da pele modificada do canal anal (FENGER, 1979). O terço inferior é revestido pelo anoderma (epitélio pavimentoso desprovido de anexos), limitado superiormente pelo final da ZTA e inferiormente pela linha anocutânea (C) (QUILICI, et al; 2000). Ao longo da ZTA, processa-se a transição entre epitélio pavimentoso do anoderma e o colunar do reto. A junção mucocutânea propriamente dita, recebe o nome de linha pectínea, visível macroscopicamente (FENGER, 1987).

Os tumores malignos do canal anal são classificados, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), conforme o quadro abaixo.

1 Canal Anal	Tumores epiteliais malignos	Carcinoma de células escamosas (Cloacogênico) Grandes células, queratinizante Grandes células, não-queratinizante Basalóide Adenocarcinoma Tipo retal Tipo glandular anal Associado a fístula anal Carcinoma de pequenas células, Indiferenciado
2 Margem Anal	Tumores epiteliais malignos	Carcinoma de células escamosas Condiloma gigante (Carcinoma verrucoso) Carcinoma de células basais Outros Doença de Bowen Doença de Paget

Quadro 1 – Classificação do câncer anal, segundo a OMS.

FONTE: MOORE, H.G.; GUILLEM, J.G.; Anal neoplasms. Surg Clin North Am 2002.

O câncer anal mais frequente é o carcinoma epidermoide, ou de células escamosas ou espinocelular do canal ou margem anal, responsável por 85% dos casos (WONG et al 2004). Parece estar intimamente relacionado à infecção pelo papilomavírus humano (HPV) (FRISCH et al, 1999; GERVAZ et al, 2003). Nesse e em outros aspectos, possui história natural muito semelhante à do carcinoma epidermoide do colo uterino (PALEFSKY et al., 1991; MELBYE; SPROGEL, 1991; MARTINS, 2001).

1.2 O Papilomavírus Humano

Os papilomavírus humanos são vírus da família Papovaviridae, sem envelope, com cerca de 50 nm de diâmetro, contendo DNA circular, de fita dupla, medindo 8000 pares de base nitrogenadas (pb) (ZAKY et al, 1992).

Atualmente, são conhecidos mais de 200 tipos de HPV (JUNG et al, 2004, ANHANG et al, 2004, PECKHAM e HANN 2008). Podem ser classificados em cutaneotrópicos e mucosotrópicos, de acordo com o tropismo epitelial que apresentam, explicando sua predileção pelo revestimento epitelial do trato anogenital (RUSSEL et al., 2004).

Podem também ser classificados de acordo com a categoria de risco para o desenvolvimento de neoplasias (Quadro 2).

CLASSIFICAÇÃO DE RISCO	TIPOS DE HPV
Alto risco	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82
Provável alto risco	26, 53, 66
Baixo risco	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108
Risco indeterminado	34, 57, 83

Quadro 2 - Classificação dos tipos de HPV, de acordo com o potencial oncogênico, encontrados nas lesões intraepiteliais de alto grau e na neoplasia cervical..

FONTE: MUNOZ et al., 2003.

Segundo Zaky et al (1992), numa pesquisa entre vários autores desde 1987 até 1990, os HPV mais encontrados no ânus foram os tipos 6, 11, 16, 18, 31 e 33. Esses tipos ainda se mantem na atualidade. (Van der SNOEK, 2003 e COUTLÉE et al, 2006).

Os HPV são bem conhecidos por causarem lesões epiteliais proliferativas e por desenvolverem, de acordo com seu potencial oncogênico, verrugas benignas ou lesões de alto grau até tumores malignos da pele e mucosas (ZAKY et al, 1992). No colo uterino, a infecção pelo HPV e o desenvolvimento de lesões precursoras do câncer cervical, ocorrem, geralmente, na zona de transformação (junção escamocolunar). No ânus, de forma muito similar, a ZTA corresponde à junção do epitélio escamoso estratificado anal com o epitélio glandular do reto (MELBYE, SPROGEL, 1991), onde o HPV atinge a camada basal através de microlesões produzidas na pele ou na mucosa (FENGER, 1979).

A ação do HPV infectante sobre os tecidos varia de acordo com seu genótipo. Para os HPV de baixo risco (6 e 11), o genoma do vírus é mantido como elementos extracromossômicos estáveis nos núcleos. Os HPV de alto risco (16 e 18), por outro lado, promovem integração de seu DNA aos cromossomos hospedeiros ((RIVOIRE et al, 2001). O genoma viral esta dividido em Late “L” (genes tardios) e Early “E” (genes precoces), ditos grupos funcionais, além de uma região longa de controle viral (LCR), que fica entre as regiões L e E (Figura 2).

A região E se divide em E1, E2, E4, E6 e E7. Controla a replicação, a transcrição viral e a transformação celular. As proteínas E6 e E7 são chamadas de oncoproteínas virais porque constituem o principal mecanismo pelo qual os HPV oncogênicos levam ao desenvolvimento do carcinoma cervical.

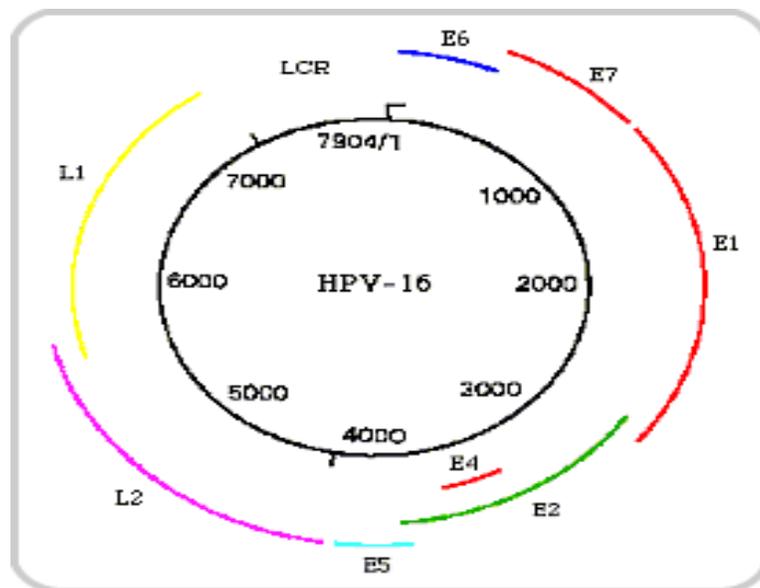


Figura 2-Esquema do genoma do vírus HPV

Fonte: www.citocamp.com.br/

A oncoproteína E6 acelera os mecanismos de degradação da proteína supressora do crescimento tumoral p53, interferindo nos mecanismos de apoptose e reparo do DNA. A oncoproteína E7 age na proteína supressora tumoral pRb (proteína do retinoblastoma), também resultando em distúrbios do controle do ciclo celular, quando uma proliferação celular descontrolada e modificações genéticas até chegar em neoplasia (VILLA, 2003 e CLEMENTINO et al, 2007).

Com o advento de exames de biologia molecular, o genoma do HPV passou a ser identificado em células neoplásicas malignas. Os exames geralmente utilizados constam de técnicas imunoistoquímicas para a detecção do antígeno específico BPV-1 L1, técnicas moleculares como Southern Blot, Hibridização *in situ*, captura de híbridos, reação em cadeia por polimerase (PCR), que detecta, com maior sensibilidade, seqüências de HPV (WOLSCHICK et al, 2007)

O poder oncogênico do HPV de alto risco causa degenerações celulares. Essas degenerações são causadas pela proliferação celular nas camadas da epiderme ou da mucosa

induzida pelo HPV, proliferação essa que inexistiria caso as células dessas camadas não estivessem infectadas (GONCALVES; DONADI, 2004).

As alterações celulares e teciduais na área anogenital são chamadas de lesões epiteliais escamosas anais (ASIL) que, dependendo do potencial oncogênico do HPV residente, poderão ou não evoluir para o câncer anal (SPENCE, FRANCO, FERENCZY, 2005).

1.3 Lesões precursoras do câncer anal.

O desenvolvimento de câncer a partir do epitélio anal normal, por provável ação do HPV, é comparado ao que ocorre em relação ao câncer cervical, com suas características lesões precursoras (ZAKI et al, 1992). Tais lesões geralmente se desenvolvem na ZTA e são chamadas de lesões intraepiteliais escamosas anais, grau I, grau II e grau III (CHING HONG, 2002), classificadas de acordo com o grau de atipias colicitóticas observado no estudo histopatológico (BETHESDA, 2001).

As ASIL de grau I, ou lesões de baixo grau, apresentam espessamento epitelial escamoso e atipias celulares. As de grau II, ou lesões intermediárias, apresentam alterações citoarquiteturais do epitélio, mas sem rompimento da camada basal, com células atípicas, mas sem mitoses atípicas. Por fim, as ASIL de grau III, de alto grau, apresentam destruição da arquitetura de todo epitélio, atipias do citoplasma e de núcleos, além de mitoses atípicas (ABRAMOWITZ et al, 2007).

As ASIL de baixo grau (LSIL) estão relacionadas com o HPV de sorotipos de baixo risco e dão origem a verrugas cutâneas e condilomas anogenitais. As de alto risco e as de risco intermediário levam à formação das lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL), que são geralmente associadas ao câncer anal (KREUTER et al, 2005; COSTA E SILVA et al, 2006).

O risco da progressão das ASIL de grau I para as de grau III e dessas para o câncer invasivo está associado à gravidade da displasia. Como, em geral, são necessários de 9 a 10 anos para que ocorra tal desfecho (CHING-HONG et al, 2005), o tratamento oportuno dessas lesões poderia evitar a transformação maligna (NADAL, MANZIONE, 2005).

Entretanto, Martins (2001) observou que fatores ligados à imunidade do paciente são essenciais para que ocorra a transformação celular, sendo ela muito freqüente em pacientes imunodeprimidos, mas reversível em indivíduos imunocompetentes.

A importância da depressão imunológica, da infecção pelo HIV e do sexo anal pode ser percebida pelo fato de ter sido constatado aumento da prevalência da neoplasia anal de 35/100.000 em homens que fazem sexo com homens (HSH) HIV negativos (PALEFSKY, HOLLY, 1995) para até 80/100.000 nos HSH HIV positivos imunodeprimidos (FRIEDMAN et al, 1998, RYAN et al, 2000), o que tem suscitado uma maior preocupação em grupos populacionais específicos.

1.4 Grupos de risco para o desenvolvimento do câncer anal

Determinados grupos distintos da população, os chamados grupos de risco para o desenvolvimento do câncer anal, vêm apresentando um aumento do número de casos novos, a cada ano (NADAL e MANZIONE, 2005). São indivíduos que apresentam algum tipo de comprometimento imunológico ou atitudes de risco. Enquadram-se nesses grupos: indivíduos anorreceptivos de ambos os sexos, principalmente os do sexo masculino (DALING et al, 1982; DALING et al, 1987; PALEFSKY et al, 1998a; PRIETO, VASQUEZ, 1997); imunodeprimidos (transplantados) (PENN, 1998); portadores de doenças sexualmente transmissíveis, como gonorréia, sífilis, herpes simples tipo II, infecção pelo HIV, HPV, clamídia (PALEFSKY, 1998b; MARTIN e BOWER, 2001; MARTINS, 2001; CHING-

HONG, PALEFSKY, 2002); mulheres com história de câncer ou lesão intraepitelial escamosa cervical (CSIL) ou de vagina ou vulva (DALING et al, 1987); portadores de lesões crônicas anais que cursam com inflamação (fístulas, fissuras, hemorróidas) (PRIETO, VASQUEZ, 1997); tabagistas (FRISCH et al, 1999) e os indivíduos que têm câncer anal por influência genética (FRISCH et al, 1994).

Indivíduos pertencentes a mais de um grupo de risco têm maior chance de desenvolver a doença. Por exemplo, pacientes portadores de HIV associado à infecção pelo HPV têm sua chance aumentada em 77%, ao passo que, se forem anorreceptivos, essa chance sobe para 93% (PALEFSKY et al, 1998c).

1.5 O vírus da imunodeficiência humana

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um membro da família de lentivírus dos retrovírus animais. Foram identificados dois tipos estreitamente relacionados, chamados de HIV-1 e HIV-2. Sua porção infecciosa consiste em dois cordões idênticos de RNA empacotados dentro de um núcleo de proteínas virais cercado por um invólucro de duas camadas de fosfolípídeos originado da membrana celular hospedeira, mas incluindo proteínas da membrana codificadas pelo vírus (JANEWAY, TRAVERS, 2007).

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é causada pelo HIV e se caracteriza por profunda imunossupressão com infecções oportunistas associadas, tumores malignos e degeneração do sistema nervoso central (JANEWAY, TRAVERS, 2007).

O câncer é uma significativa causa de morte em pacientes portadores desse vírus (RABKIN, YELLIN, 1994). Cerca de 30% a 40% desses pacientes têm chance de desenvolver tumor maligno durante sua vida (SPANNO et al, 2002). O carcinoma anal é vinte vezes mais incidente neles do que nos HIV negativos (MELBYE et al, 1994).

Estudos em pacientes HIV positivos relatam a presença de lesões precursoras do câncer anal, de baixo grau, em 27% dos casos (MATHEWS et al, 2004), 35,7% (GIMENEZ et al, 2006), até 62% (PALEFSKY et al, 1998d) dos casos; enquanto as lesões de alto grau têm sido observadas em 20% (PALEFSKY et al, 1998d) a 54% (PIKETTY et al, 2003; MATHEWS et al, 2004) dos casos estudados.

Os fatores citados como responsáveis pelo aumento da frequência de ASIL nesses pacientes foram a presença de infecção pelo HPV e a imunodepressão provocada pelo HIV devido à queda do número dos linfócitos T-CD4+ abaixo de 350 céls/ μ l (PIKETTY et al, 2003).

O vírus da imunodeficiência humana adquirida infecta linfócitos T-CD4+, macrófagos e células dendríticas, causando disfunção maciça do sistema imune adaptativo. Entretanto, a maior parte da imunodeficiência na AIDS pode ser atribuída à depleção dos linfócitos T-CD4+ (JANWAY, TRAVERS, 2007);, abaixo de 200céls/ μ l, é considerado imunossupressão (CDC, 2003). Ocorre, nesses casos, aumento de frequência de infecções causadas por vários microorganismos oportunistas (JANWAY, TRAVERS, 2007).

O papilomavírus humano, por exemplo, ao penetrar no epitélio anorretal, fica exposto ao sistema imunológico do hospedeiro. Entretanto, o vírus consegue se integrar no genoma da célula hospedeira, garantindo, assim, sua sobrevivência e induzindo a transformação celular (Clementino, 2007). Se o sorotipo do HPV for de alto risco e se houver disfunção do sistema imune adaptativo, provocado pela baixa taxa de linfócitos T-CD4+ dos indivíduos HIV+, ocorrerá o desenvolvimento de ASIL (ABRANOWITZ et al, 2007), que poderá evoluir para malignidade em 10 a 30% dos casos (GONCALVES; DONADI, 2004).

Com a melhora da imunidade provocada pelo uso da terapia antirretroviral de alta potência (TARV) e/ou com o tratamento local dos condilomas, observam-se muitos pacientes não apresentam regressão das ASIL já estabelecidas (PALEFSKY, 1998b e MAGI et al, 2006).

Essas lesões se desenvolvem lentamente, provavelmente ao longo de vários anos, sendo passíveis de detecção precoce por meio de métodos de rastreamento diagnóstico, cuja

indicação precípua atual é dirigida a indivíduos com atitudes de risco para o desenvolvimento do câncer anal (NADAL, MANZIONE, 2005).

1.6. Rastreamento de lesões precursoras do câncer anal

Verificou-se o declínio da incidência do câncer cervical de 40/100.000 para 8/100.000 em países onde existe uma rotina para o rastreamento das lesões precursoras do carcinoma cervical (QUALTERS, 1992). Visando, também, estabelecer uma rotina equivalente e sabendo da similaridade das ASIL com as lesões precursoras cervicais, Palefsky (1997) tem apregoado o uso desta mesma rotina para o diagnóstico das lesões pré-cancerosas anais.

Sendo assim, tem-se utilizado a citologia anal oncótica ou Pap-a, que é o equivalente ao exame citológico oncótico cervical ou Papanicolau cervical (PAP-c). Entretanto, apesar de esse exame ser barato e prático (COSTA E SILVA et al, 2005) para a detecção das alterações celulares intra-epiteliais e possuir uma alta sensibilidade (98%), sua especificidade é baixa (50%) (PIKETTY et al, 2003). Ou seja, a citologia detecta as ASIL, porém não prevê a gravidade da lesão presente na biópsia posterior (NADAL, MANZIONE, 2005).

Diferenças encontradas entre estudos citológicos e histopatológicos de espécimes celulares e teciduais retirados do canal anal têm levado ao conceito de que qualquer anormalidade observada ao exame citológico pode indicar a possibilidade da presença de lesões de alto grau na avaliação histológica (SCHOLEFIELD et al, 1998; PANTHER et al, 2004).

Sendo assim, costuma-se indicar, para os casos de alterações celulares anais com indícios de displasia de qualquer magnitude, o emprego da anosscopia com magnificação de imagem (AMI), procedimento idêntico à colposcopia cervical (KUPPERS, 2005). A exemplo dessa observa-se, com especial atenção, a zona de transição escamocolunar após a aplicação tópica de ácido acético a 3%. As lesões suspeitas de serem produzidas pelo efeito citopático

do HPV tornar-se-ão esbranquiçadas após a aplicação do ácido e, sendo reconhecidas, são submetidas à biópsia (MATHEWS et al, 2004).

O exame histopatológico das biópsias dirigidas pela AMI é considerado padrão-ouro para a confirmação da presença das lesões intra-epiteliais escamosas anais (PANTHER et al, 2004). Entretanto, apesar de a AMI fazer parte dessa rotina diagnóstica, a literatura médica ainda é escassa a respeito do papel desempenhado por essa modalidade diagnóstica na detecção de lesões precursoras do câncer anal. Mathews, (2007) utilizou a AMI, porém não classificou as lesões de baixo e alto grau pela imagem. Outro estudo internacional utilizou critérios colposcópicos do colo uterino para a anoscopia, tentando estabelecer descrições detalhadas dessas lesões e verificando se esses critérios conseguiam distinguir a lesão de baixo grau e a de alto grau baseado nos critérios colposcópicos (JAY et al, 1997).

Jay et al em 1997 relatou que lesões HSIL geralmente foram planas e lisas com pontilhado vascular, somente em uma minoria destas lesões foram encontradas papilas, vasos verrucosos e mosaico; enquanto que as LSIL foram variáveis nas características das lesões. O valor preditivo de HSIL no grupo 4 (dos descritores) classificado como para HSIL foi 49% e entretanto também houve resultado de 43% de LSIL, neste mesmo grupo, concluindo que existe a necessidade de se realizar biópsia de rotina para confirmação histopatológica.

No Brasil, existem trabalhos científicos que relatam o uso da AMI para o diagnóstico de lesões intraepiteliais anais, de prurido anal, de infecção subclínica pelo HPV e de carcinoma *in situ* anal (MAGI et al, 2006; NADAL e MANZIONE, 2004, JACYNTHO, 2005; PEREIRA et al, 2008; COSTA e SILVA et al, 2008,;GIMENEZ et al, 2008). Nadal e Manzione (2004) utilizaram a AMI para localizar as lesões subclínicas do HPV com uso do ácido acético e azul de toluidina, porém não há descrição das lesões, já Magi et al (2006) descreve as lesões como máculas planas e algumas lesões com pontilhados e mosaico. Costa e silva et al (2008) e Gimenez et al (2008) utilizaram ácido acético a 3% somente, a as

descreveram com ACB positivo e negativo; Jacyntho (2005) e Pereira et al (2008) utilizam para diagnóstico de lesão intraepitelial anal, os critérios da colposcopia cervical, porém é este último que descreve melhor as lesões encontradas, inclusive classificando-as em lesão de alto grau e lesão de baixo grau, entretanto, é escasso uma padronização das imagens típicas da lesão anal propriamente dita, especificamente a respeito da qualidade tintorial, aspecto, relevo, superfície ou padrão vascular na visibilização colposcópica dessas lesões.

No Amazonas, a AMI é realizada há pouco tempo e já foi descrita a necessidade de se adquirir maior experiência com o método a fim de otimizar seus resultados (COSTA E SILVA et al., 2008). No Estado, a FMT-AM é o centro de referência para pacientes portadores da infecção pelo HIV, que, até o início deste estudo, não estavam sendo acompanhados no que diz respeito à detecção precoce de ASIL. Com a montagem da estrutura do Ambulatório de Coloproctologia da FMT-AM e a aquisição dos equipamentos necessários, passou-se a realizar todos os procedimentos necessários para o diagnóstico das lesões precursoras do câncer anal neste importante grupo populacional de risco. À exceção do artigo de Jay et al. (1997), não se encontrou, na literatura médica pertinente, descrição pormenorizada do aspecto das lesões colposcópicas mais suspeitas de apresentar ASIL.

Este trabalho foi desenhado com o propósito de verificar a importância que a anoscopia com magnificação de imagem pode desempenhar no reconhecimento daquelas lesões anais com maiores probabilidades de pertencer ao grupo das ASIL, visando ao estabelecimento de um programa de acompanhamento contínuo de pacientes HIV+, por ser esta, uma parcela da população sob especial risco de desenvolvimento de lesões precursoras do câncer anal.

1. OBJETIVOS

2.1 Geral

Verificar o valor diagnóstico da anoscopia com magnificação de imagem no reconhecimento de lesões precursoras do câncer anal em pacientes HIV+ atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.

2.2 Específicos

2.2.1 Estudar os índices de validade e precisão diagnósticas da AMI quanto à capacidade de detecção de lesões precursoras do câncer anal em indivíduos HIV+;

2.2.2 Verificar a associação entre os resultados histopatológicos da AMI, e os da presença de infecção anal pelo HPV segundo os resultados da reação em cadeia da polimerase (PCR);

2.2.3 Avaliar a prevalência de lesões intraepiteliais escamosas anais na população estudada;

2.2.4 Avaliar a prevalência de infecção anal pelo HPV na população estudada.

2.2.5 Verificar as possíveis distinções anuscópicas entre LSIL e HSIL.

3. METODOLOGIA

3.1. Modelo de Estudo.

Estudo primário, descritivo, observacional transversal de detecção de casos, onde foi avaliado o valor diagnóstico da anuscopia com magnificação de imagem (AMI) na detecção de lesões precursoras do câncer anal e a associação das lesões encontradas com a presença do Papiloma Vírus Humano (HPV), em pacientes HIV+, de ambos os sexos, atendidos na FMT-AM.

3.2. Universo do Estudo.

3.2.1 Participantes:

Foram estudados 128 pacientes HIV+, atendidos no serviço de coloproctologia na FMT-AM, após concordarem com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), (Apêndice 1).

3.2.2 Amostras:

As amostras foram:

Produto de esfoliação do canal anal para pesquisa de HPV pelo método PCR;

Imagens magnificadas do canal anal de lesões acetobranças obtidas com coloscópio;

Biópsia dirigida das lesões acetobranças do canal anal.

3.2.3 Critérios de inclusão e exclusão.

3.2.3.1 Inclusão:

Pacientes HIV+ atendidos na FMT-AM.

3.2.3.2 Exclusão:

Pacientes menores de 18 anos de idade.

Pacientes indígenas ou portadores de deficiência mental.

Pacientes grávidas.

Pacientes que por alguma razão não se submetam ao exame proctológico.

Pacientes cujos dados necessários para a realização deste estudo não tenham sido completa ou adequadamente coletados.

3.3 Instrumentos de Coleta.

3.3.1 Escova citológica.

Para a coleta de material celular anal.

3.3.2 Colposcópio.

Colposcópio PE-7000 (MEDPEJ, Ribeirão Preto – SP) com aumento de imagem de 7, 14 ou 24 vezes na distância focal de 30 cm, como anuscópio de magnificação de imagem.

3.3.3 Pinça de biópsia.

Pinça de biópsia Professor Medina para realização das biópsias anais.

3.3.4 Protocolo de coleta de dados da AMI, da histopatologia e dos resultados da PCR.

No protocolo de estudo (Apêndice 2), constaram os dados transferidos e transformados das imagens da AMI, além do resultado da PCR. O laudo histopatológico da biópsia realizada fica registrado no verso desse formulário.

3.4 Procedimentos:

3.4.1 Entrevista.

Após ter concordado com o estudo assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1), cada paciente foi entrevistado respondendo a perguntas constantes do protocolo apresentado no Apêndice 2. Os dados de tal protocolo foram transferidos para a plataforma eletrônica Epi Info® (CDCP, 2005). Cada paciente foi identificado por um número aleatório sequencial obtido de tabela construída no Microsoft Excel®.

3.4.2 Exame Proctológico.

O paciente foi colocado na posição de Sims modificada: decúbito lateral esquerdo, com os membros inferiores semiflexionados e o quadril projetado para fora da mesa de exames. O exame foi então iniciado com a inspeção visual desarmada das regiões anal e perianal. Os achados do exame físico foram anotados no protocolo de estudo.



Figura 3 – Posição de Sims modificada para exame coloproctológico (GOLIGHER et al., 1984).

3.4.3 Coleta citológica para PCR.

A coleta de células anais para a realização da PCR foi realizada por meio de uma escova citológica, que, após ser saturadamente umedecida em água potável, foi introduzida, delicadamente, 3 cm para o interior do canal anal, sendo então rodada 360° em torno de seu eixo por dez vezes para, a seguir, ser retirada num movimento em espiral, exercendo-se leve pressão lateral sobre as paredes do canal anal. Imediatamente após a retirada, a ponta da escova cervical foi agitada, para liberar as células colhidas, no interior de um frasco de microtubo contendo 1ml de solução conservante (TRIS-HCL 50 mM e EDTA 1 mM, pH 8).. O frasco foi hermeticamente fechado e enviado para o Laboratório de Virologia da FMT-AM para detecção de HPV pela PCR. Foi armazenado à temperatura de – 20°C até o momento do exame biomolecular.

3.4.4 Anuscopia com Magnificação de Imagem.

O exame foi iniciado com um toque retal lubrificado com lidocaína a 2%, para a palpação do canal anal. Após o toque, um anuscópio descartável de plástico foi introduzido. Por dentro dele foi introduzida uma gaze umedecida em ácido acético a 3%, enrolada no estilo “charuto”, sendo o anuscópio retirado momentaneamente para deixar a gaze em contato com as paredes do canal anal por 2 min. Após esse tempo, a gaze foi retirada e o anuscópio reintroduzido para a realização do exame magnificado do canal anal com um colposcópico de aumento variável, de 7, 14 a 24 vezes, à distância focal de 30 cm.

Diante da presença de lesões acetobranças, a topografia delas foi anotada em relação à altura a partir do orifício anal (orificial, anoderma, pectínea, e suprapectínea) e à situação horária na circunferência do canal anal (1 – 12 h), sendo considerado o púbis a referência para a posição de 12 h.

As imagens da colposcopia foram avaliadas de acordo com a classificação de Barcelona (WALKER et al 2002), ligeiramente modificada, sendo acrescentado quanto ao aspecto da lesão, focal (lesão acetobrança mais delimitada e localizada) e coalescente (aglomerado de lesões acetobranças, que se juntam e conferem aspecto difuso e espalhado). A coloração, após a aplicação do ácido acético a 3 %, foi considerada como negativo (sem coloração branca), acetobranco denso (quando ocorre uma coloração branca forte ou intensa) e acetobranco plano (coloração branca mais esmaecida), o aspecto da lesão; o relevo, como plano, plano-elevado e elevado, a superfície, como lisa (sem granulação) e granular (pontos mais elevados, como grãos), papilar (contém papilas) e não papilar e, por fim, o padrão vascular normal, atípico (vasos em forma de vírgula, taco de Hockey, saca-rolhas, e espiralados), verrucoso (vasos irregulares, mas não bizarros) ou não-verrucoso, pontilhado (série de pontos vermelhos, que são os capilares venosos, dentro do epitélio acetobranco) ou não-pontilhado e mosaico (neoformação de capilares formando um padrão retangular semelhante a azulejos) ou não-mosaico.

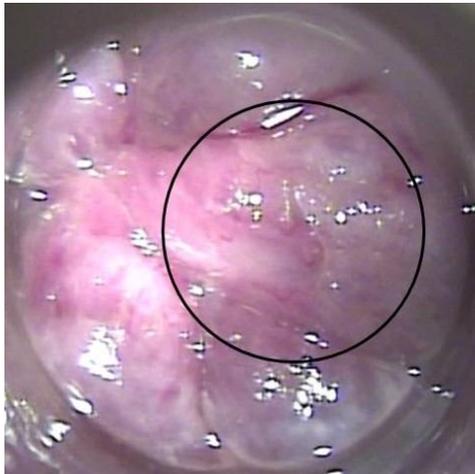


Figura 4 – 10 - Lesão ACB neg HPV+
com vasos atípicos LSIL

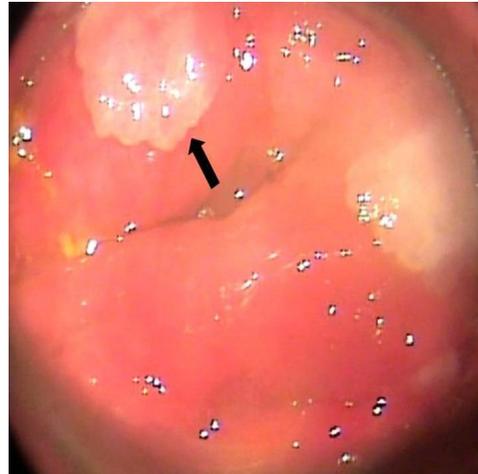


Figura 5 – 197 HSIL Lesão ACB+ denso,
focal, plano, liso, não papilar. HPV+

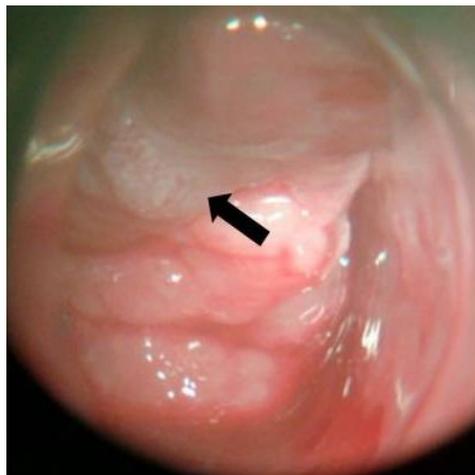


Figura 6 – 343 HSIL Lesão ACB denso
Coalescente, plano elevado, papilar HPV+.

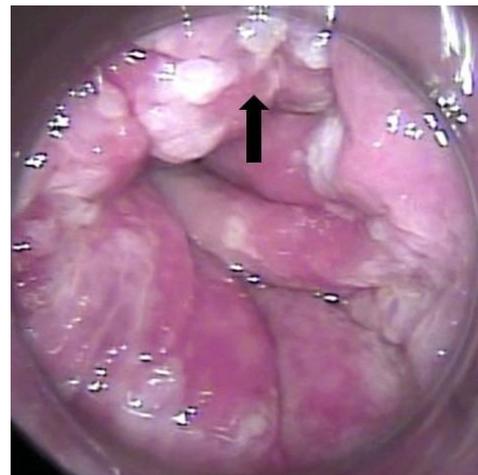


Figura 7 – 6 LSIL Lesão ACB denso,
Coalescente, elevado, granular HPV+.

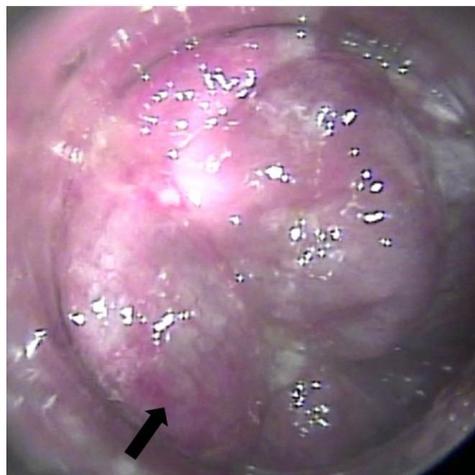


Figura 8 – 87 mosaico, neg. HPV+,

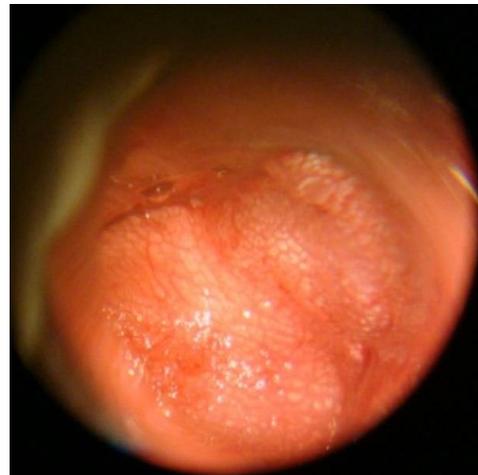


Figura 9 – 344 LSIL, mosaico HPV+.

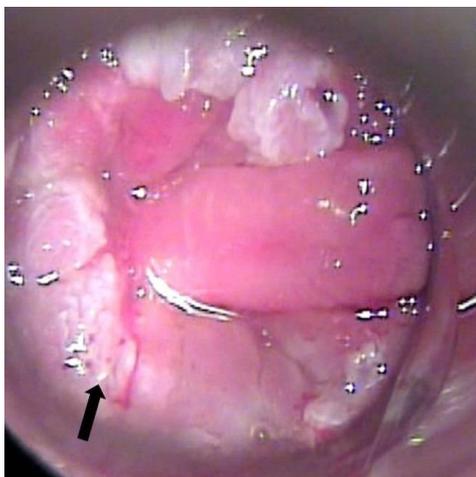


Figura 10 – 39 ACB denso, coalescente, Elevado, granular, pontilhado HPV+ condiloma.

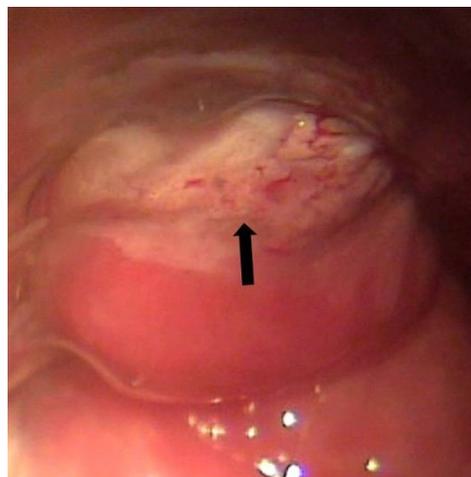


Figura 11 – 187 ACB denso, coalescente, plano elevado, granular, pontilhado LSIL e HPV+.

As lesões acetobranças eventualmente encontradas foram submetidas à biópsia. O material acondicionado em frascos com solução fixadora de formalina a 10%, e encaminhado para estudo histopatológico no laboratório da Gerência de Patologia da FMT-AM.

Os achados da anoscopia com magnificação de imagem foram anotados no protocolo de estudo. As AMI negativas para lesões acetobranças foram acompanhadas de biópsias anais, às 7h, na região pectínea.

Tentou-se realizar a distinção colposcópica entre lesões de baixo e alto grau por intermédio da utilização dos grupos de descritores de lesões colposcópicas sugestivas de ASIL, conforme Jay et al. (1997) (Quadro 3).

Quadro 3 - Grupos de descritores das lesões de baixo e alto grau do câncer anal verificados na anoscopia (JAY et al, 1997).

Lesões	Grupos de descritores	Aparência na anoscopia.
LSIL	Grupo 1	Lesão acetobranca, elevada e lisa, com papilas e vasos verrucosos.
LSIL	Grupo 2	Lesão acetobranca, discretamente elevada e granular.
LSIL	Grupo 3	Lesão acetobranca, plana com pontilhado vascular discreto ou mosaico discreto.
HSIL	Grupo 4	Lesão acetobranca, plana com pontilhado vascular grosseiro ou mosaico grosseiro.

LSIL: lesão de baixo grau, **HSIL:** lesão de alto grau.

3.4.5 Procedimentos Moleculares para detecção do HPV.

Para a realização da detecção molecular do HPV, foi realizada a extração do DNA e a reação em cadeia da polimerase (PCR).

3.4.5.1 Extração do DNA

Para a extração do DNA do HPV, foram adicionados 400µl de TPK em cada microtubo da amostra coletada. A solução de TPK consistiu em uma mistura de 900µl de TE (Tris HCL 50 mM + EDTA 1 mM pH 8,0) , 100µl de Tween a 20% e 20µl de proteinase K 10mg/ml. Essa mistura foi levada ao banho-maria a 55°C por 1 hora e depois fervida por 10 minutos (BAUER, MANOS, 1998). Após a o procedimento de extração, as amostras irão para a segunda fase.

3.4.5.2 Amplificação do DNA

O DNA extraído foi submetido a uma reação de amplificação via PCR chamada de reação *nested-PCR*, que consiste em duas etapas de amplificação consecutivas, primeiramente fez-se a amplificação utilizando os *primers* ou iniciadores específicos MY11 e MY09, que têm como alvo a região L1, porção altamente conservada de diversos tipos de HPV. Tais iniciadores promovem a amplificação de fragmentos de 450 pb de HPV. Em seguida, fez-se uma reamplificação dessa amostra utilizando, agora os iniciadores GP5+ e GP6+, os quais também têm como alvo a região conservada L1 do HPV; porém, mais interna, que aumenta a sensibilidade e promove a detecção de outros HPV não tão comuns, amplificando uma região de 150pb (pares de base) (HAWS et al., 2004; REMMERBACH et al., 2004;

O sistema para MY na qual foi composto de: 5,0µl da amostra de DNA, 5,0µl de Tampão 10x; 1,5µl de MgCl₂ (50 Mm); 1,0µl de dNTP (10mM); 5,0µl do *primer forward*

MY09 (5pmol); 5,0µl do *primer reverse* MY11 (5pmol); 0,5µl da Enzima Taq polimerase 5U/µl e 27 µl de água Milli-Q; totalizando um volume final de 50µl. O sistema para GP é praticamente o mesmo, alterando apenas na quantidade de DNA (1,0µl) e de água Mili-Q (31µl) (BAUER, MANOS, 1998).

As reações de PCR foram realizadas após a desnaturação inicial de 1 minuto, a 95°C, com 40 ciclos de amplificação em aparelho termociclador Microtubo–Mastercycler Gradient, seguindo o programa: 1 minuto, a 95°C, para a desnaturação; 1 minuto a 55°C para o anelamento e 1 minuto a 72°C para a extensão. Realizados os 40 ciclos, seguem-se 5 minutos a, 72°C, para extensão final (BAUER, MANOS, 1998)

Para confirmar a presença do DNA cromossomal humano conservado nas amostras para as reações de PCR, foi feita a reação de amplificação, no qual foi utilizado um par de oligonucleotídeos que amplificam uma região microsatélite (GATA)₁₃ do cromossoma 15 humano – ISO5G (PONTES, 2003).

3.4.5.3 Eletroforese em gel de agarose.

Os produtos da PCR dos *primers* MY e GP foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e 2,5%, respectivamente, em tampão TEB (Tris borato e EDTA) 1x, nas condições: 70 Volts até a entrada da amostra no gel, aumentando a voltagem para 100 Volts até a amostra chegar ao final da corrida com duração de aproximadamente uma hora. Foi utilizado o marcador *ladder* múltiplo de 100pb da Invitogen Life Technologies. O gel foi corado com brometo de etídio (1,0µg/ml) por 20 minutos, vistos sob luz ultravioleta e fotografados em equipamento da Pharmacia Biotech, Image Master® VDS FTI-500. Foram visualizadas bandas de 450 pb para MY e 150 pb para GP. (BAUER, MANOS, 1998)

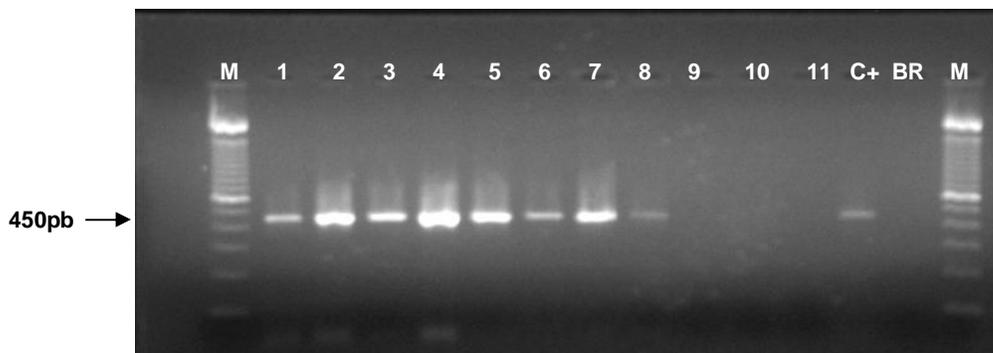


Figura: 12 Detecção Molecular do HPV, com primers MY11 e MY09, gel agarose 1,5% , corado brometo de etídeo 1mg/U, correspondente a 450 pb. Marcador 100pb Invitrogen (M), pacientes positivos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,8), pacientes negativos, não houve amplificação (9, 10, 11), controle positivo (C+), controle negativo (BR).

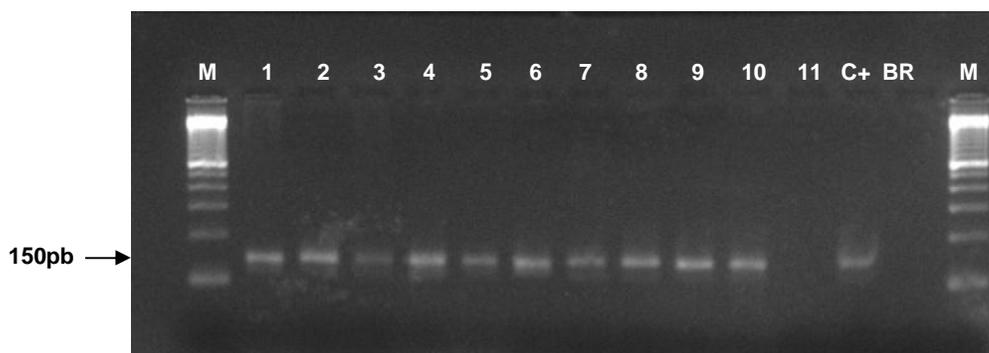


Figura: 13 Nested – PCR para detecção molecular do HPV, com primers GP05 e GP06, gel agarose 2,5% , corado brometo de etídeo 1mg/U, correspondente a 150 pb. Marcador 100pb Invitrogen (M), pacientes positivos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10), paciente negativo (11), controle positivo (C+), controle negativo (BR). Observando que na figura 1 pacientes (9, 10) não haviam amplificado na primeira reação de PCR.

3.4.6 Procedimentos Histopatológicos

No laboratório da Gerência de Patologia da FMT-AM, os espécimes fixados em solução de formol a 10% foram incluídos em blocos de parafinas e seccionados em fatias de 5 μ . A seção histológica foi montada em lâmina de microscópio e corada pela hematoxilina-eosina (BEHMER et al, 1976). Após cobertura com lamínula, as lâminas assim preparadas

foram observadas à microscopia ótica à procura da presença de lesões teciduais próprias de infecção anal pelo HPV. Os achados histopatológicos, baseados no sistema BETHESDA, foram definidos como negativos para lesão intraepitelial escamosa anal (NEG), lesão intraepitelial escamosa anal de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial escamosa anal de alto grau (HSIL), carcinoma epidermoide *in situ* (CEPis), carcinoma epidermoide invasivo (CEPin), adenocarcinoma *in situ* (ADCis) e adenocarcinoma invasivo (ADCin). Adotamos para a lesão intraepitelial escamosa a denominação neoplasia intraepitelial anal (ASIL). Para os condilomas sem displasia e aqueles sem atipias a classificação LSIL e HSIL e para os com atipias moderadas e acentuadas.

Os resultados histopatológicos foram considerados padrão-ouro para a confirmação da presença de lesões anais anuscópicas.

3.5. Análise dos resultados

3.5.1 Variáveis

Para a análise dos resultados, as seguintes variáveis foram estudadas:

3.5.1.1 Resultado da anuscopia com magnificação de imagem

Modalidades estudadas: a) qualidade tintorial: acetobranco denso, e acetobranco tênue; b) aspecto da lesão: focal ou coalescente; c) relevo: plano, plano-elevado ou elevado; d) superfície: lisa ou granular, papilar e não papilar; e) padrão vascular: normal, verrucoso ou

não-verrucoso, atípicos, pontilhado ou não-pontilhado e mosaico ou não-mosaico; f) grupos colposcópicos de ASIL: Grupos 1, 2, 3 e 4, segundo Jay et al (1997) (vide quadro 3).

3.5.1.2 Resultado do exame histopatológico.

Modalidades estudadas: NEG, LSIL, HSIL, CEPis, CEPin, ADCis, ADCin.

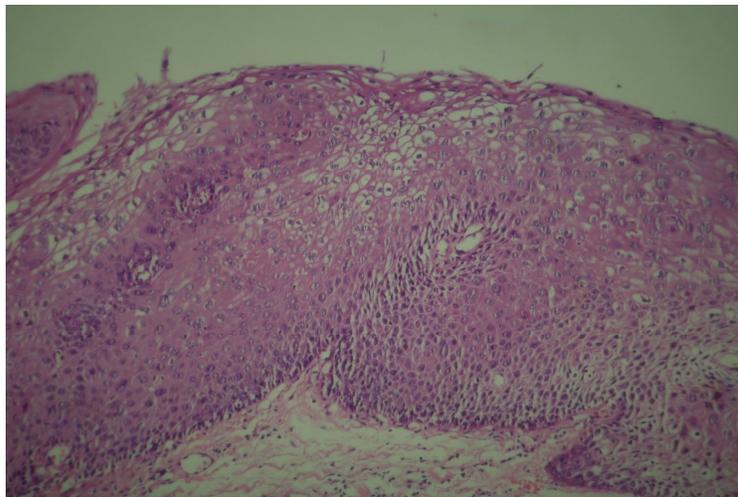


Figura 14 – Lesão intraepitelial de baixo grau, corado pela hematoxilina-eosina 200x.

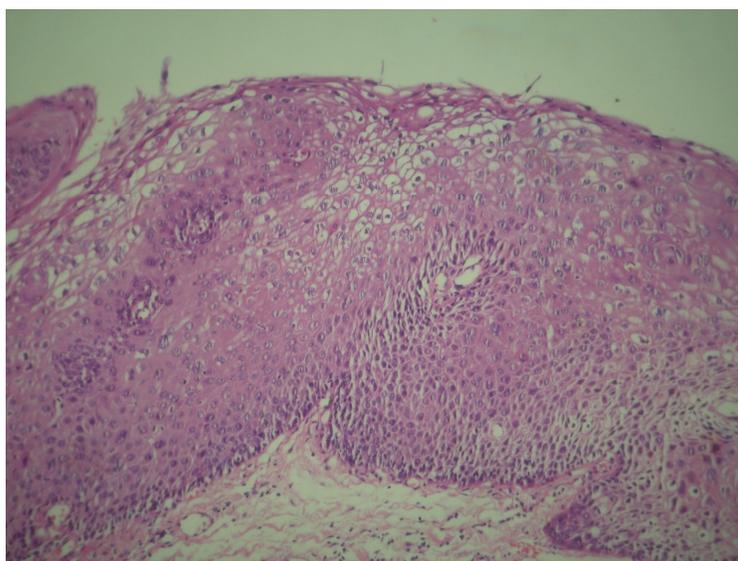


Figura 15 – Lesão intraepitelial de alto grau, corado pela hematoxilina-eosina 200x.

3.5.1.3 Resultado da PCR.

Positivo e negativo para HPV.

3.5.2 Análise Estatística.

Os resultados da anuscopia com magnificação de imagem foram comparados aos histopatológicos (padrão-ouro), segundo tabelas de contingência, expostas nos resultados, que redundarão nos cálculos de acurácia diagnóstica.

Análise estatística foi conduzida utilizando-se pacotes de software, incluindo o Epi-Info 3.4 e MINITAB 14. (Versão acadêmica). Métodos padrões de análise para estudos descritivos foram conduzidos.

Para análise da significância de diferenças entre proporções, entre variáveis discretas e dicotômicas, foi utilizado teste Binomial e o teste do Chi-quadrado. Nos casos em que a frequência esperada de um determinado evento foi inferior a cinco utilizou-se o Teste exato de Fisher. As análises dos dados foram conduzidas com descrição estatística simples, intervalo de confiança – IC - 95% e testes de significância, para validar essas proporções encontradas.

Entre as variáveis numéricas foi realizado o teste T de Student para verificar a diferença entre médias, ou nos casos em que os pré-supostos necessários não foram satisfeitos o teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi o mais apropriado.

Para todas as análises foi fixado um limite de significância igual a 0.05, com coeficiente de confiança de 95%.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FMT-AM, processo número 2079/2008 – FMT-AM.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 130 pacientes HIV positivos inicialmente estudados, dois foram desconsiderados, devido aos resultados histopatológicos das biópsias anais realizadas terem sido insatisfatórios, restando 128 pacientes em condições de serem incluídos neste estudo.

4.1. Análise dos dados sócio-demográficos.

4.1.1 Lesão acetobranca

Dentre os 128 pacientes examinados, 100 eram do sexo masculino. Desses, 83 casos (83%) apresentaram lesão acetobranca e 28 pacientes do sexo feminino, 25 casos (89,29%) resultaram positivos, a porcentagem foi quase equivalente entre os gêneros. Na literatura Jay et al, (1997) e Pereira, et al (2008), somente utilizaram pacientes masculino para análise colposcópica e Jacyntho (2005) somente utilizou o gênero feminino. Neste estudo não houve significância estatística em relação à presença de lesão ACB quanto ao gênero (Tabela 1).

A média de idade do grupo estudado foi 34,07 anos. A mediana dos positivos para lesão acetobranca foram 35 e dos resultados negativos foram 36, bem próximo a idade encontrada por Pereira et al (2008) e Jay et al (1997), que foram 38,4 e 42 respectivamente. A média de idade do nosso trabalho não apresentou significância estatística em relação com as lesões ACB (Tabela 1).

Em relação a escolaridade, na tabela 1, o ensino médio esteve em maior número 55 (85,48%), igual ao encontrado por Jay et al (1997). Porém as porcentagens de positivos entre o ensino médio, superior e o fundamental, foram equivalentes não ocorrendo diferença estatisticamente significativa em relação a presença de lesão acetobranca .

Quanto à cor da pele pela classificação de Roquette Pinto (apud RAMOS, 2003), também observado na tabela 1, os mais afetados foram os faiodermos, 84 (65%) pessoas, diferentemente de Jay et al (1997), que foram os brancos ou caucasianos em 95% dos casos, provavelmente por representarem as etnias de cada país. Também não apresentou significância estatística.

Tabela 1 – Distribuição dos pacientes HIV+, quanto ao gênero, idade, escolaridade e cor da pele com relação a presença de lesão acetobranca.

Variáveis	Lesão acetobranca				Total	p-valor*
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
Gênero						0,418*
Masculino	83	83,00%	17	17,00%	100	
Feminino	25	89,29%	3	17,71%	28	
Idade (anos)						0,566**
Média ± DP	34,82 ± 9,36		36,65 ± 11,97			
Mediana	35		36			
Amplitude	18 – 57		18 – 62			
Escolaridade						0,946*
Fundamental	33	82,05	7	17,95%	40	
Médio	55	85,48	10	14,52%	65	
Superior	18	85,71	3	14,29%	21	
Cor da pele						0,2171*
Faiodermo	84	85,4%	14	14,60%	98	
Leucodermo	20	80,00	5	20,00%	25	
Melanodermo	3	100,00	0	0	3	
Xantodermo	0	0	1	100%	1	

p-valor em negrito indica diferença estatística ao nível de 5%.

* Teste do Qui-quadrado de Pearson; ou teste exato de Fisher.

** Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

4.1.2. Lesão intraepitelial anal.

O gênero masculino, que constitui o maior número (100), apresentou 42 (42%) pacientes, com lesões positivas de ASIL, enquanto que o feminino (28) apresentou 8 (28,57%). Esses resultados estão na mesma margem registrada na literatura, onde verificou-se nos pacientes HIV +, uma porcentagem entre 11% e 52% para homens (MCCLOSKEY et al, 2007) e 30,8% para mulheres (GIMENEZ et al 2008) de casos de ASIL. Neste estudo, os dados encontrados entre os gêneros e as ASIL, não foi estatisticamente significativo. (Tabela 2)

A média de idade entre pacientes de lesão intraepitelial positiva foi de 33 anos, e de lesão negativa foi de 36 anos, coincidindo com os achados de Friedman et al (1998) que constataram ASIL em pacientes com 30 a 40 anos e Mathews et al (2004) encontraram de 35 e 45 anos. Nos nossos dados não apresentaram significância estatística. (Tabela 2)

Em relação a escolaridade, os pacientes que cursavam o ensino médio, apresentaram maior frequência, 11 (52, 38%), de casos de ASIL. Isso difere do observado em Costa e Silva (2008) que encontrou o maior número de pacientes cursando o ensino médio 19 (45%), coincidente com maior número de lesões para ASIL (46%). Jay et al (1997) observaram que seus pacientes cursavam a universidade. No presente estudo análise estatística relacionada ao ensino, não foi significativo. (Tabela 2)

No tocante à cor da pele os faiodermos estiveram em maior número, 38 (38,8%) dos casos. Foram os leucodermos os mais afetados, em 11 (44%) dos casos. Contrário ao encontrado por Johnson et al (2004), onde a raça negra apresentou maior incidência de câncer anal. No presente estudo análise estatística, sobre os dados relacionados, cor da pele e ASIL, não apresentaram significância. (Tabela 2)

Tabela 2 – Distribuição dos pacientes HIV+, quanto ao gênero, idade, escolaridade e cor da pele com relação à presença de lesão intraepitelial anal.

Variáveis	Lesão intraepitelial anal				Total	p-valor*
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
Gênero						0.198*
Masculino	42	42%	58	58%	100	
Feminino	8	28,57%	20	71,43%	28	
Idade (anos)						
Média ± DP	33,74 ± 9,84		35,99 ± 9,699			0,216**
Mediana	33		36			
Amplitude	18 – 55		18 – 62			
Escolaridade						0,3166*
Fundamental	13	32,50%	27	67,50%	40	
Médio	25	38,46%	40	61,54%	65	
Superior	11	52,38%	10	47,62%	21	
Cor da pele						0.5076*
Faiodermo	38	38,8%	60	61,2%	98	
Leucodermo	11	44%	14	56%	25	
Melanodermo	0	0%	3		3	
Xantodermo	0	0%	1	100%	1	

p-valor em negrito indica diferença estatística ao nível de 5%.

* Teste do Qui-quadrado de Pearson; ou teste exato de Fisher.

** Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

4.2. Análise dos dados implicados na carcinogênese anal.

4.2.1. Lesão acetobranca.

Em relação aos adeptos do sexo anal, 76 (85,39%) dos examinados eram positivos para lesão acetobranca. Os que não praticavam o sexo anal, foram 32 (82,05%) pacientes, portanto, não houve significância estatística. (Tabela 3)

Os pacientes com números de parceiros maiores ou iguais a 10 em cinco anos foram 96, sendo positivos 80 (83,33%). Os pacientes com menos de 10 parceiros, 24 (88,88%) foram positivos, não havendo significância estatística. (Tabela 3)

A média de idade do início da atividade sexual é 14,65 anos. Os pacientes que começaram a vida sexual até os 14 anos, totalizaram 46, sendo 35 (76,09%) com lesão acetobranca positiva. Os que iniciaram depois somam 76, dos quais 67 (88,16%) resultaram positivos, não sendo significativo pela análise estatística.

Observou-se que a presença ou passado de DST, 70 pacientes, que já tiveram DST e apresentaram lesão acetobranca foram 60 (85,71%) e os que nunca tiveram, resultaram em 48 (82,76%) para lesão. De igual modo ocorreu em relação ao HPV, não houve significância já que os pacientes portadores de HPV 88 (86,27%) apresentaram lesão acetobranca e aqueles que não eram portadores de HPV foram 20 (76,92%) que apresentaram lesão ACB.(Tabela 3)

Tabela 3 – Distribuição dos pacientes HIV+, quanto ao sexo anal receptivo, número de parceiros nos últimos 5 anos, início da atividade sexual, presença ou passado de DST, e presença de HPV em relação a presença de lesão acetobranca.

Variáveis	Lesão acetobranca				Total	p-valor*
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
Adeptos do sexo anal						0,6083*
Sim	76	85,39%	13	14,61%	89	
Não	32	82,05%	7	17,95%	39	
Nº parceiros nos últimos 5 anos						0,7632*
≤ 10	80	83,33%	16	16,67%	96	
> 10	24	88,89%	3	11,11%	27	
Início da atividade sexual						0,128*
≤ 14 anos	35	76,09%	11	23,91%	46	
> 14 anos	67	88,16%	9	11,84%	76	
Presença e/ou passado de DST						0,647*
Sim	60	85,71%	10	14,29%	70	
Não	48	82,76%	10	17,24%	58	
Presença de HPV						0,241*
Sim	88	86,27%	14	13,73%	102	
Não	20	76,92%	6	23,08%	26	

p-valor em negrito indica diferença estatística ao nível de 5%.

* Teste do Qui-quadrado de Pearson; ou teste exato de Fisher

Trinta e três pacientes apresentaram níveis de CD4 abaixo de 200 céls/ μ l, 26 (78,78%) foram positivas para lesão ACB, enquanto aquelas com os níveis acima de 200 céls/ μ l, 76 (87,35%) pacientes resultaram positivas para a lesão acetobranca, não sendo significativa a análise estatística. O mesmo ocorreu com o uso de TARV, os que fizeram uso da medicação foram 49 (85,96%) positivos e os que não usaram, resultou em 59 (83,10%) positivo. (Tabela 4)

Nas doenças benignas anais, em 107 indivíduos, 92 (85,98%) resultaram positivos para lesão acetobranca, enquanto que 16 (76,19%) foram negativos. Dessa forma, tais dados não mostram significância estatística. Quanto à influência do tabagismo não se constatou importância estatística visto que os fumantes pesquisados foram 48, e desses 38 (79,17%) foram positivos enquanto os não fumantes foram 70 (87,50%) positivos para lesão acetobranca. (Tabela 4).

Os usuários de drogas ilícitas, num total de 28, destes 22 (78,57%) resultaram positivos e dos não usuários, 86 (86%) foram positivos para lesão acetobranca, também não sendo significativo estatisticamente. (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição dos indivíduos HIV+ e correlação dos níveis de CD4 abaixo de 200 céls/ μ l, o uso de TARV, presença de doenças benignas concomitantes, tabagismo, adição a drogas ilícitas com a presença de lesão acetobranca.

Variáveis	Lesão acetobranca				Total	p-valor*
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
CD4						0,26*
< 200	26	78,78%	7	21,21%	33	
> ou = 200	76	87,35%	11	12,64%	87	
TARV						0,8423*
Sim	49	85,96%	8	14,04%	57	
Não	59	83,10%	12	16,90%	71	
Doenças Benignas						0,3215*
Sim	92	85,98%	15	14,02%	107	
Não	16	76,19%	5	23,81%	21	
Tabagismo						0,3146*
Sim	38	79,17%	10	20,83%	48	
Não	70	87,50%	10	12,50%	80	
Adição a drogas						0,5077*
Sim	22	78,57%	6	21,43%	28	
Não	86	86%	14	14%	100	

p-valor em negrito indica diferença estatística ao nível de 5%.

* Teste do Qui-quadrado de Pearson; ou teste exato de Fisher

4.2.2. Lesão intraepitelial.

Os adeptos do sexo anal, num total de 89, 40 (44,94%) foram positivos para ASIL, e 10 (25,64%) foram positivos para os não adeptos, sendo significativo ($p = 0,0493$); Palefsky et al. (1997) constatara esta relação entre ASIL e sexo anal em HIV onde encontrara 50% de ASIL em HSH HIV positivos. Fox et al. (2006) encontraram em HSH portadores do vírus HIV 63% de lesões de alto grau. Gimenez et al. (2008) também encontrou significância de 0,03, com uma prevalência de 42%.

Quanto ao número de parceiros sexuais nos últimos 5 anos, pessoas que tiveram menos de 10 parceiros, 35 (36,46%) casos apresentaram ASIL, e os que tiveram mais de 10 parceiros, foram 13 (48,15%) casos, não sendo significativo. (Tabela 5).

Estes dados discordam dos estudos de Frisch et al., (1997). Segundo estes autores, ter mais que 10 parceiros sexuais constitui risco 5 vezes mais para mulheres e 2,8 vezes para homens, para o câncer anal. Porém, Klencke, Palefsky (2003) salientaram que o verdadeiro fator de risco seria a maior exposição a vários tipos de HPV, aumentando o risco de ASIL e do câncer cervical e anal.

Os pacientes que iniciaram atividade sexual abaixo dos 14 anos, foram 14 (30,43%) indivíduos positivos para ASIL, enquanto que acima de 14 anos, foram 34 (30,66%) casos positivos, não apresentando significância estatística. (Tabela 5). Entretanto Frisch et al. (1997) relatam que idade abaixo de 16 anos para a primeira relação sexual constitui risco para o câncer anal.

Quanto ao relato na história pregressa de presença de DST, 27 casos (38,57%) responderam afirmativamente e 23 negativamente (30,66%), não havendo diferença estatística entre os dois grupos. (Tabela 5). Frisch et al. (1997) relataram que existe relação de DST com

câncer anal, porém esse mesmo autor verificou em 2002 que a maioria das DST que tinham relação com o câncer anal estavam associadas a infecção pelo HPV.

Nos nossos dados, foi encontrada significância entre ASIL e infecção pelo HPV (0,006). Os 102 pacientes que eram portadores de HPV, 46 (45,10%) apresentaram ASIL, enquanto que os HPV-negativos apenas 4 (15,38%) pacientes, apresentaram ASIL. Isso confirma os achados descritos por Palefsky e Holly em 1998, mantendo-se atual até os dias de hoje, inclusive HPV associado a doença em pênis e boca. (PALEFSKY, 2009).

Tabela 5– Distribuição dos pacientes HIV+, quanto ao sexo anal receptivo, número de parceiros nos últimos 5 anos, início da atividade sexual, presença ou passado de DST, e presença de HPV em relação a presença de lesão intraepitelial anal.

Variáveis	Lesão intraepitelial anal				Total	p-valor*
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
Adeptos do sexo anal						0,0493*
Sim	40	44,94%	49	55,06%	89	
Não	10	25,64%	29	74,36%	39	
Nº parceiros nos últimos 5 anos						0,3806*
≤ 10	35	36,46%	61	63,54%	96	
> 10	13	48,15%	14	51,85%	27	
Início da atividade sexual						0,1688*
≤ 14 anos	14	30,43%	32	69,57%	46	
> 14 anos	34	44,74%	42	55,26%	76	
Presença e/ou passado de DST						0,9547*
Sim	27	38,57%	43	61,43%	70	
Não	23	30,66%	35	60,34%	58	
Presença de HPV						0,006*
Sim	46	45,10%	56	54,90%	102	
Não	4	15,38%	22	84,62%	26	

p-valor em negrito indica diferença estatística ao nível de 5%.

*Teste do Qui-quadrado de Pearson; ou teste exato de Fisher.

Pacientes com níveis de CD4 abaixo de 200 céls/ μ l foram 8 (24,24%) positivos para ASIL e o acima de 200 céls/ μ l, foram 38 (43,68%), portanto não demonstraram tendência à associação com a presença ASIL. (Tabela 6). Abramowitz et al. (2007), destaca que não importa os níveis de linfócitos CD4 ou uso de TARV. Um quinto dos pacientes desenvolvem ASIL se estiver associado a infecção HPV. Tal assertiva se confirma pelos achados de Palesky (2009), em que o HPV implica atualmente desenvolvimento de cânceres cervical e anal, principalmente em pacientes HIV.

Com relação ao uso do TARV, dos 57 pacientes que faziam tratamento 19 (33,33%) apresentaram lesão intraepitelial, e dos 71 não-usuários, 31 (43,66%), foram positivos, não havendo significância estatística. Piketty et al. (2004) encontraram uma prevalência alta de ASIL (64%) em pacientes com uso de TARV, quando eles tinham sua imunidade restaurada, e Palefsky (2009) observou que a incidência do câncer cervical e anal continuam subindo apesar do uso da TARV. Nossos dados mostraram que aqueles que usavam TARV também apresentaram uma incidência elevada de ASIL, consoante demonstrado na Tabela 6.

Também não houve diferença estatisticamente significativa com relação as doenças benignas. 42 (39,25%) foram positivos para lesão intraepitelial anal, enquanto que os pacientes que não possuíam tais doenças 8 (38,10%) foram positivos. (Tabela 6). Tais valores divergiram do encontrado por Frisch et al. (1994), e Tseng et al. (2003), que notaram uma associação forte entre lesões anais benignas e o câncer anal.

Com relação ao tabagismo, 17 dos 48 (35,42%) fumantes, foram positivos para lesão intraepitelial anal. Dos 80 não-fumantes, 33 (41,25%) possuíam a lesão, não sendo estatisticamente significativo. Diferentemente dos achados de Tseng et al. (2003) que evidenciaram uma associação entre fumar e o câncer anal e Daling et al. (2007) que encontraram entre fumantes uma razão de chance de 3,9 para o câncer anal.

Ainda na tabela 6, foi verificado, no fator tabagismo, que 17 dos 48 (35,42%) fumantes, são positivos para lesão intraepitelial anal, já os não-fumantes em número de 80, 33 (41,25) possuíam a lesão, não sendo significativo pela estatística. Diferentemente dos dados

de Tseng et al (2003) que evidenciou uma associação entre fumar e o câncer anal e Daling et al (2007) que encontrou entre fumantes uma razão de chance de 3,9 para o câncer anal.

Nos nossos resultados, não houve significância estatística entre ASIL e usuários de drogas ilícitas. 42,86% possuíam a lesão intraepitelial enquanto que os não usuários apresentaram 38%.(Tabela 6). Esses dados divergem de Ching Hong et al. (2005), que encontraram significância de 0,03, enquanto que Piketty et al. (2003) encontraram, em usuários de drogas associados ao HPV, heterossexuais, 34% de ASIL.

Tabela 6 - - Distribuição dos indivíduos HIV+ e correlação dos níveis de CD4 abaixo de 200 céls/ μ l o uso de TARV, presença de doenças benignas concomitantes, tabagismo, adição a drogas ilícitas com a presença de lesão intraepitelial anal.

Variáveis	Lesão intraepitelial anal				Total	p-valor*
	Positivo	%	Negativo	%		
CD4						0,06*
>200	8	24,24%	25	75,76%	33	
< ou = 200	38	43,68%	49	56,32%	87	
TARV						0,3134*
Sim	19	33,33%	38	66,67%	57	
Não	31	43,66%	40	56,34%	71	
Doenças Benignas						0,8845*
Sim	42	39,25%	65	60,75%	107	
Não	8	38,10%	13	61,90%	21	
Tabagismo						0,513*
Sim	17	35,42%	31	64,58%	48	
Não	33	41,25%	47	58,75%	80	
Adição a drogas						0,8053*
Sim	12	42,86%	16	57,15%	28	
	38	38%	62	62%	100	

p-valor em negrito indica diferença estatística ao nível de 5%.

* Teste do Qui-quadrado de Pearson; ou teste exato de Fisher.

4.2.3. Gráficos das DST e das Doenças benignas.

Em relação as doenças sexualmente transmissíveis encontradas entre os pacientes estudados, a gonorréia (43,93%) foi a mais frequente e a infecção pela clamídia foi a menos freqüentemente relatada (0,93).(Gráfico 3). A gonorréia também foi DST mais frequente nos achados de Frisch et al. (1997), que encontraram significância estatística com o câncer anal, numa razão de chance 4,4, e para condiloma numa razão de 9,8 para mulheres e 3,3 para homens. Porém Al-Daraji e Smith (2008), numa revisão, verificaram que existem dúvidas sobre alguns agentes sexualmente transmissíveis que poderiam contribuir para o câncer cervical ou para proteger, como vírus herpes, citomegalovírus, Epstein-Barr, HIV e *Chlamydia trachomatis*.

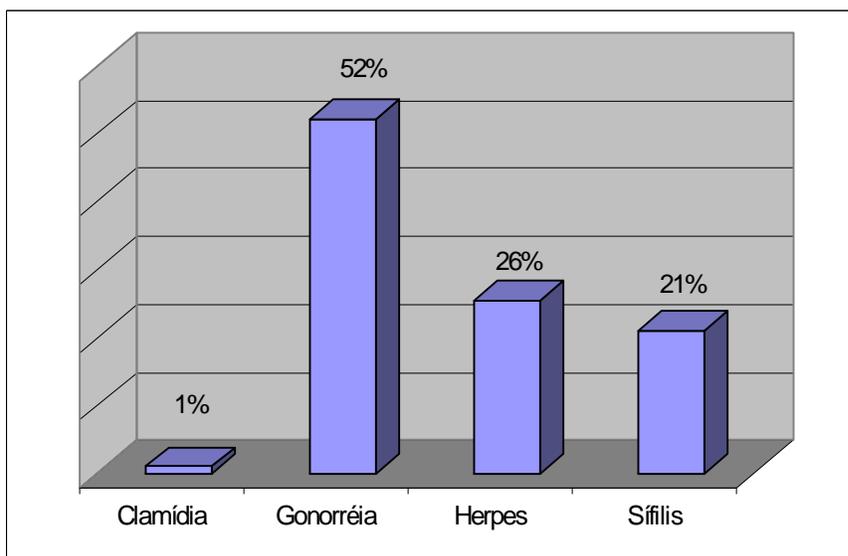


Gráfico 3 – Distribuição das DST nos pacientes com HIV+.

As doenças orificiais benignas encontradas durante o exame proctológico no grupo de pacientes estudados observaram-se grande freqüência de hemorróidas em 57,14%. Os condilomas foram classificados como DST. Frisch et al (1994), encontrou uma forte associação entre lesão benigna e câncer anal, entre as lesões pesquisadas, que foram hemorróidas, fissuras, fístulas e abscesso anal.

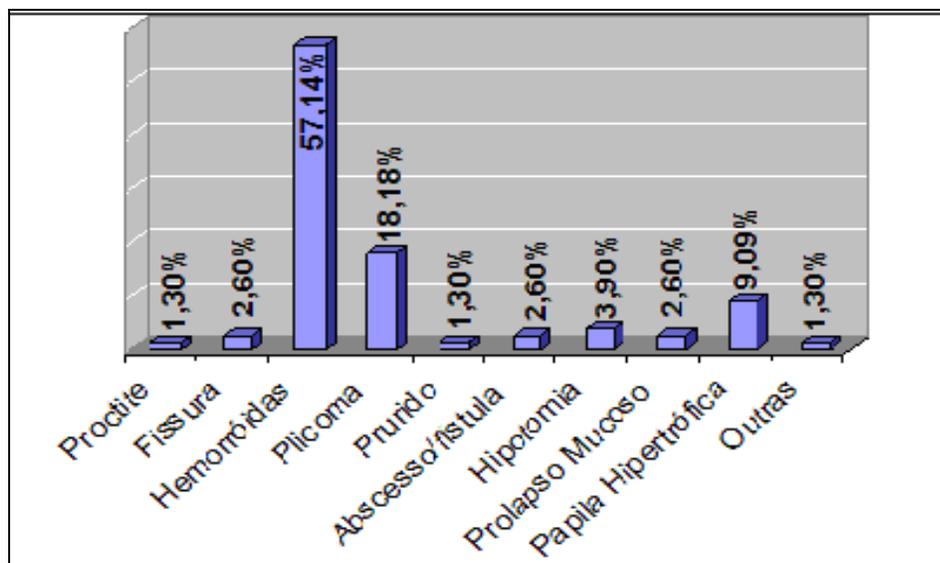


Gráfico 4 – Distribuição das doenças benignas nos pacientes com HIV+.

4.3. Acurácia diagnóstica da AMI.

4.3.1. Valor diagnóstico da AMI em relação com a histopatologia.

Na tabela abaixo, foi verificada a concordância diagnóstica entre os resultados da anoscopia de acetobranqueamento e os resultados encontrados na histopatologia. Foram calculados pelos dados da tabela 7, a acurácia, os índices de validade e a precisão diagnóstica.

Tabela 7 - Acurácia diagnóstica da anoscopia com magnificação

AMI/PATOLOGIA	ASIL+*	ASIL-*	Total
ACB+*	45	63	108
ACB-*	5	15	20
Total	50	78	128

*ACB+ = Lesão acetobranca positiva;	Valor Preditivo Positivo = 35,15%
ACB- = Lesão acetobranca negativa.	Valor Preditivo Negativo = 75%
ASIL+ = histopatologia positiva;	Taxa de Falso Positivo = 89,76%
ASIL- = histopatologia negativa.	Taxa de Falso Negativo = 10%
Acurácia = 46,87%	Prevalência de ASIL = 39,1%
Sensibilidade = 90%	Teste do Qui-quadrado P = 0,2142
Especificidade = 19,23%	Teste Kappa = 0,076

Os resultados obtidos revelaram boa sensibilidade no valor de 90%, porém sua especificidade é muito baixa (19,23%). O valor preditivo negativo (75%) e a taxa de falso positivo (89,76%) foram bons, mas o valor preditivo positivo (35,15%) foi baixo e a taxa de falso negativo resultou 10%. O teste do Qui-quadrado (0,2142) não verificou significância estatística, enquanto o teste Kappa (0,076) apresentou fraca evidência de relação entre lesões acetobranças e presença de lesões intraepiteliais anais. A AMI apresentou baixa sensibilidade e baixo valor preditivo de ASIL, por provavelmente ficarem coradas pelo ácido acético, as lesões como papilas hipertróficas, hemorróidas e inflamações ocorridas no canal anal, causando 63 casos de ASIL, negativo.

Os nossos resultados são divergentes da literatura encontrada. Mathens em 2004, descreveram uma sensibilidade de 59% e especificidade de 74%, na AMI. Já no Brasil, Costa e Silva (2006) e (2008), encontrou sensibilidade de 100% e especificidade de 65,6% e 65,71% no valor da AMI para a população em geral e transplantados renais, respectivamente, dados mais próximos da colposcopia cervical brasileira.

Numa avaliação da colposcopia cervical realizado por Hammes (2004), foi encontrada uma sensibilidade entre 87% a 99%. Todavia, o valor da especificidade foi entre 48% a 69%. Tuon (2002) também demonstrou sensibilidade de 96% e especificidade de 19%, não diferindo muito dos dados encontrados neste trabalho.

Observando os dados acima, conclui-se que a especificidade é muito variada, devido ser subjetiva e assim se torna observador dependente, ou dependente de outras co-morbidades.

4.3.2. Concordância diagnóstica entre as imagens da AMI com a histopatologia.

Tabela 8- Distribuição das imagens da AMI com relação aos resultados histopatológicos.

Anuscopia	Neg	%	Histopatologia				Total	P*
			LSIL	%	HSIL	%		
Qualidade tintorial								0,005
ACB negativo	15	75,00	4	20%	1	5%	20	
ACB denso	28	44,44	22	34,92	13	20,63	63	
ACB tênue	35	77,78	6	13,33	4	8,89	45	
Aspecto da Lesão								0,921
Focal	30	56,60	14	26,42	9	16,98	53	
Coalescente	33	60,00	14	25,45	8	14,55	55	
Relevo								<0,001
Plano	49	74,24	6	9,09	11	16,67	66	
Plano - Elevado	9	37,50	10	41,67	5	20,83	24	
Elevado	5	27,78	12	66,67	1	5,56	18	
Superfície								0,002
Lisa	44	68,75	9	14,06	11	17,19	64	
Granular	18	41,86	19	44,19	6	13,95	43	
Papilar	4	21,05	12	63,16	3	15,79	19	<0,001
Não Papilar	74	67,89	20	18,35	15	13,76	10	
							9	
Padrão Vascular								
Normal	52	63,41	17	20,73	13	15,85	82	0,3631
Atípico	6	46,15	5	38,46	2	15,38	13	
Verrucoso	3	42,86	3	42,86	1	14,29	7	0,5691
Não verrucoso	59	59,00	25	25	16	16	10	
							0	
Pontilhado	1	33,33	2	66,67	0	0	3	0,2248
Não pontilhado	62	59,61	26	25	16	15,38	10	
							4	
Mosaico	1	50,00	1	50	0	0	2	0,666
Não Mosaico	61	58,09	27	25,71	17	16,19	105	

Neg: Negativo para ASIL, incluindo alterações inflamatórias; **LSIL:** lesão de baixo grau; **HSIL:** lesão de alto grau; **ACB:** acetobranca.

Os resultados da visibilização da anuscopia com os resultados da histopatologia, sobre a qualidade tintorial, a lesão ACB negativa, encontrou-se 20 pacientes, sendo 15 (75%) negativos pela histopatologia, 4 (20%) LSIL e 1 (5%) HSIL. Quanto à ACB densa observou-se que 28 (44,44%) dos 63 pacientes eram negativos, 22 (34,92%) de LSIL e 13 (20,63%) de HSIL e dos ACB tênue com 35 (77,78%) dos 45 indivíduos, foram negativos, com 6

(13,33%) LSIL, e 4 (8,89%) HSIL. Tais dados revelam significância estatística no valor de 0,005 e demonstram que existe relação entre a qualidade tintorial e a lesão precursora do câncer anal. Uma proporção de HSIL (68%) e lesões LSIL (66%) foram descritas como ACB densa. Das lesões HSIL, pelo cálculo da razão de chances, foi encontrada que uma lesão ACB densa tem 2,5 vezes mais chance de ser HSIL do que uma lesão tênue (20% de lesões ACB densa eram HSIL comparado com 8% de ACB tênue). (Tabela 8).

No que tange ao aspecto da lesão acetobranca focal ou coalescente, não houve significância estatística, pois os dados encontrados foram em 53 indivíduos com lesão focal, 30 (56,60%) negativos, 14 (26,42%) LSIL e 9 (16,98%) HSIL; na lesão coalescente dos 55 pacientes teve 33 (60%) negativos, 14 (25,45%) LSIL e 8 (14,55%) HSIL.

Quanto ao relevo, foram encontrados 66 portadores de lesão plana, com 49 (74,24%) de resultados histopatológicos negativos, 6 (9,09%) de LSIL e 11 (16,67%) de HSIL, das 24 lesões plano-elevadas, 9 (37,5%) foram negativas, 10 (41,67%) LSIL e 5 (20,83%) HSIL e das elevadas num total de 18, obteve-se 5 (27,78%) negativos, 12 (66,67%) LSIL e 1 (5,56%) HSIL, apresentando significância no Qui-quadrado abaixo de 0,001. Das 108 lesões encontradas 61% foram planas, 22% foram plano-elevadas e 16% foram elevadas; uma proporção maior de lesões HSIL (61%) do que LSIL (32%) foi descrito como unicamente plana ($p < 0,001$); das lesões HSIL pelo cálculo da razão de chances foi verificado que uma lesão plana é três vezes mais provável de ser HSIL do que uma lesão elevada (16% de lesões planas eram HSIL comparado com 5% de lesões elevadas). (Tabela 8). Jay et al. (1997), também demonstraram que as lesões planas foram 4 vezes mais provável de ser HSIL do que lesões elevadas. (39% de lesões planas eram HSIL comparado com 9% de lesões elevadas).

Com relação a superfície foram encontrados 64 pacientes com lesões lisas, sendo 44 (68,75%) negativos na histopatologia, 9 (14,06%) LSIL e 11 (17,19%) HSIL. Nas lesões granulares, encontramos 18 (41,86%) negativos, 19 (44,19%) LSIL e 6 (13,95%) HSIL,

apresentando significância estatística de $p = 0,002$. Foi encontrado 59,8% de lesões lisas e 40,1% de lesões granulares; uma proporção maior de lesões HSIL (61%) do que LSIL (41%) foi descrito como unicamente lisa ($p < 0,02$), destas lesões descritas como lisa, foi encontrado 1,2 vezes mais chance de ser HSIL do que LSIL (17% de lesões HSIL foram lisas comparadas com 14% de granulares). (Tabela 8). Jay et al, (1997), relatam que a lesão lisa foi 2 vezes mais provável de ser HSIL do que uma lesão granular. (31 por cento de lesões foram HSIL comparado com 13 por cento de lesões granulares).

Quanto a lesão papilar de um total de 19 pacientes, 4 (21,05%) tiveram resultados negativos na histopatologia, 12 (63,16%) LSIL e 3 (15,75%) HSIL; quanto a lesão não papilar revelou 74 (67,89%) negativos, 20 (18,35%) LSIL e 15 (13,76%) HSIL. As lesões encontradas foram 85% não-papilar e 62% papilar. Uma proporção maior de HSIL (83%) do que LSIL (62%) foi descrita como não-papilar ($p = 0,001$); as lesões não-papilares, foi encontrado 0,87 vezes mais chance de ser HSIL do que LSIL (13,7% de lesões não-papilares comparadas com 15,7% de papilares). (Tabela 8). Nos dados de Jay et al. (1997) foi encontrado que uma lesão não papilar foi 2 vezes mais provável de ser HSIL do que uma lesão papilar. (34 por cento de lesões não-papilares foram HSIL comparado com 14 por cento de lesões papilares).

O padrão vascular revelou que os vasos sanguíneos normais para o ânus, encontrados num total de 82 pessoas, 52 (63,41%) resultaram negativos nos exames histopatológicos, 17 (20,73%) LSIL e 13 (15,85%) HSIL; nas lesões com vasos de aparência atípica num total de 13 pacientes, apresentou 6 (46,15%) resultados negativos, 5 (38,46%) de LSIL e 2 (15,38%) de HSIL, não tendo significância estatística. Igual ocorrência quanto aos vasos verrucosos, encontrados em 7 indivíduos sendo 3 (42,86%) LSIL e 1 (14,29%) HSIL; e os não-verrucosos num total de 100 pacientes, com 59 (59%) negativos, 25 (25%) LSIL, 16 (16%) HSIL. Dos pacientes com padrão vascular pontilhado foram encontrados 3, sendo 1 (33,33%) de

negativos, 2 (66,67%) de LSIL e nenhum de resultado HSIL; em comparação com os não-pontilhados foram 104 pessoas, com resultado negativo em 62 (59,61%) delas, 26 (25%) de LSIL e 16 (15,38%) de HSIL, sem significância no Qui-quadrado. No padrão mosaico, somaram 2, sendo 1 (50%) negativo e 1 (50%) LSIL, nos não-mosaico num total de 105, revelaram 61 (58,09%) negativos, 27 (25,71%) LSIL e 17 (16,19%) HSIL, também sem significância estatística. (Tabela 8). Diferente do encontrado por Jay et al. (1997), onde houve significância estatística no padrão vascular na parte dos vasos verrucosos, no pontilhado e no mosaico, todos no valor de $p = 0,001$.

Das lesões analisadas em nossos dados, foi encontrado nas lesões HSIL, uma visibilização mais frequente de 68% ACB densa, 61% plano, 61% lisa, 83% não-papilar e 70% do padrão vascular normal. As LSIL foram 66% ACB densa, 68% plano-elevado ou elevado, 59% granular, 62% não-papilar e 53% de padrão vascular normal.

4.3.3. Validade da impressão diagnóstica da AMI em relação aos descritores colpocitológicos cervicais.

Foi comparado a visibilização da AMI de acordo com os descritores colposcópicos cervicais em relação com os resultados histopatológicos. Sendo os grupos 1, 2 e 3 característicos de lesões de baixo grau, e o grupo 4, característico de lesões de alto grau. Os dados do exame anal não revelaram nenhum resultado que se encaixava no grupo 1 e 4, o grupo 3 não foi possível fazer cálculo estatístico, devido o mesmo só apresentar um caso. O grupo 2 correspondeu histologicamente a LSIL em 73% das lesões e a HSIL em 8,7%. (Tabela 9). Jay et al. (1997), encontraram resultados para todos os grupos. O grupo 1 com lesão característica de condiloma acuminado na cervix, no ânus revelou 91% de LSIL, com VPP para HSIL de 8%; o grupo 2, característico de condiloma plano na cervix, correspondeu a 85% de LSIL, com VPP de 9% para HSIL, o grupo 3, hipotetizado para LSIL, correspondeu

a 30% de LSIL com VPP de 50% para HSIL. O grupo 4, hipotetizado de ser HSIL, correspondeu a 49% de ser HSIL com VPP de 49% para HSIL.

Nos nossos resultados não foi possível preencher todos os grupos devido à dificuldade em classificar o padrão vascular, como o pontilhado e o mosaicismo, estando o grupo 2 bem representado, inclusive com maior porcentagem de LSIL característico dessa lesão.

Tabela 9- Validade da impressão diagnóstica das anuscopias com magnificação de imagem em comparação com os resultados da histologia.

Anuscopia/histopatologia	Neg	LSIL	HSIL	Total	VPP para HSIL (95%IC)
Grupo 1	0	0	0	0	-
Grupo 2	4	17	2	23	8,7 (1-28)
Grupo 3	1	0	0	1	-
Grupo 4	0	0	0	0	-
Total	5	17	2	24	

Neg: Negativo para lesões precursoras do câncer anal, incluindo as lesões inflamatórias.

LSIL: Lesão de baixo grau, **HSIL:** Lesão de alto grau.

Grupo 1: Lesão acetobranca, elevada e lisa com papilas e vasos verrucosos.

Grupo 2: Lesão acetobranca, discretamente elevada e granular.

Grupo 3: Lesão acetobranca, plana com pontilhado vascular discreto ou mosaico.

Grupo 4: Lesão acetobranca, plana com pontilhado vascular grosseiro ou mosaico

4.4. Cálculo da prevalência.

4.4.1. Prevalência de ASIL.

Em relação das lesões intraepiteliais anais, foi diagnosticado 50 pacientes que apresentavam ASIL (39%), dividida em 25% (32) de lesões de baixo grau e 14,1% (18 pacientes) de lesões de alto grau. (Tabela 10). Os dados encontrados estão dentro da média da literatura, como Jay et al. (1997), que apresentaram 67% de LSIL e 26% de HSIL, bem mais

próximo do encontrado por Palefsky et al. (1998) que foi 36% e de Piketty et al. (2004), que revelou 64%, na citologia anal, sendo 42% de LSIL e 22% HSIL. Tal resultado foi o inverso do revelado por Kreuter et al. (2005), em seu grupo de pacientes, guiado pela AMI, portadores de HPV, 35% de LSIL e 65% de HSIL, enquanto que Gimenez et al., (2008) verificaram em 42%, sendo 35,7% de LSIL e 7,1% de HSIL. Todos os estudos foram realizados em pacientes HIV+.

Tabela 10- Prevalência de ASIL em pacientes HIV+

	Frequência	Porcentagem	IC de 95%
LSIL	32	25,0	17,8 a 33,4
HSIL	18	14,1	8,6 a 21,6
ASIL Total	50	39,1	8,6 a 33,4
Negativos	78	60,9	51,9 a 69,4
Total	128	100,0	

Negativos para ASIL; LSIL: lesão de baixo grau; HSIL: lesão de alto grau, ASIL: lesão intraepitelial anal.

4.4.2. Prevalência de HPV.

Dos 128 pacientes HIV+, o teste da PCR, revelou 102 pacientes portadores de HPV, que após o cálculo da prevalência resultou em 79%. Na literatura mundial, Piketty et al (2004) encontrou uma prevalência de 80% de HPV em pacientes HIV e Kreuter et al (2005), encontrou 86% de prevalência neste mesmo tipo de grupo, enquanto que Abramowitz et al (2007), em 473 pacientes encontrou 15% de HPV em população de homens heterossexuais HIV+, 36% em HSH e 11% em mulheres. e Pokomandy et al (2009) encontrou 98% de HPV, em pacientes portadores de co-infecção pelo HIV+.

4.5. Correlação entre as lesões precursoras do câncer anal e a presença da infecção pelo HPV.

Dos 102 pacientes portadores de HPV, 46(45,10%), deles resultou positivo para ASIL, enquanto que 4 (15,38%) foi negativo; havendo significância estatística no valor de $p = 0,006$. Dos 50 pacientes com ASIL, 46 (92%) forma positivos para o HPV . Dos 32 pacientes com LSIL 30 (93,75%) e 18 pacientes com HSIL, 16 (88,88%) foram positivos para HPV. Brooke et al (2009) numa revisão sistematizada utilizando uma pesquisa através do sistema Medline, num total de 1824 casos que incluía 472 casos que incluía 472 casos de HSIL e 360 LSIL, encontraram uma prevalência de HPV de 71,91% em pacientes portadores de HSIL e de 88% de HPV em pacientes portadores de LSIL.

Tabela 11 – Correlação da presença do HPV com as lesões precursoras do câncer anal.

PCR/histopatologia	ASIL+	%	ASIL-	%	Total	p-valor
HPV+	46	45,10	56	54,90	102	0,006
HPV-	4	15,38	22	84,62	26	
Total	50		78		128	

HPV+: presença de HPV, HPV-: ausência de HPV.

ASIL+: presença de lesão precursora do câncer anal; ASIL-: Ausência de lesão precursora.

Dos dados acima foi conseguido estabelecer a prevalência de 45% de ASIL em paciente portadores de HPV num grupo de HIV+. A prevalência de HPV em ASIL foi de 92%.

Tabela 12 – Prevalência de ASIL em pacientes com HPV e HIV+

	Freqüência	Porcentagem	IC de 95%
HPV- / SIL	4	8%	1,33 – 17,53
HPV+/ASIL	46	92%	82,46 – 98,66
Total de ASIL	50	100%	-

ASIL – Lesão intraepitelial anal HPV papiloma vírus humano

Na atualidade verificou-se que as ASIL estavam relacionadas ao vírus HPV, onde se encontra em alta prevalência na região anal de pacientes HIV+ (PALEFSKY, 2009), os nossos dados confirmam esta associação entre HPV e ASIL observando o valor do Qui-quadrado de 0,006. Felizmente na atualidade com a descoberta da vacinação preventiva do HPV, é de se acreditar que tanto a incidência de HPV e ASIL ira diminuir e conseqüente a do câncer cervical e anal (VILLA, 2003). No entanto a AMI já encontrou seu lugar na detecção de ASIL, mesmo naquelas em que o HPV não seja o agente causador da doença.

5 CONCLUSÃO

- 5.1 A AMI apresentou sensibilidade de 90%, especificidade de 19,23%, valor preditivo positivo de 35,15%, valor preditivo negativo de 10% e coeficiente *kappa* de 0,076. Dos 108 pacientes que tinham lesão acetobranca, 41,67% resultaram lesões intraepiteliais escamosas anais (ASIL) ao exame histopatológico, enquanto que 58,33% resultaram negativos para essa lesão. Esse exame demonstrou-se, portanto, sensível, porém não específico na detecção das ASIL.
- 5.2 Dentre as variáveis analisadas, adeptos do sexo anal e presença de infecção pelo HPV apresentaram relevância na correlação com os achados de ASIL, sendo, portanto, fatores de risco significativos para ocorrência de tais lesões.
- 5.3 Os fatores de risco, adeptos do sexo anal, número de parceiros nos últimos 5 anos, início da atividade sexual, DST, presença de HPV, CD4, TARV, doenças benignas, tabagismo e usuários de drogas relacionados à carcinogênese anal, não demonstraram associação com os resultados da anuscopia de lesão ACB.
- 5.4 Os fatores sócio-demográficos não revelaram significância estatística no desenvolvimento de lesões acetobranças (ACB) e ASIL.
- 5.5 Dentre os 102 pacientes HPV positivos, 72 (70,59%) eram adeptos do sexo anal e 30 (29,41%) não eram adeptos dessa prática, houve diferença estatística para o desenvolvimento de ASIL.
- 5.6 A prevalência de HPV nos pacientes HIV+, na população estudada foi de 79%.
- 5.7 A prevalência de ASIL na co-infecção HIV-HPV foi de 39,1%, sendo que LSIL foi de 25% e HSIL de 14,1%.
- 5.8 Dos pacientes com ASIL 92% estavam co-infectados com HPV. LSIL 93,75% de HSIL 88,88% de HPV.

- 5.9 A qualidade tintorial, os padrões de relevo e de superfície possibilitaram distinção entre as lesões escamosas anais de alto grau e as de baixo grau, enquanto que os outros descritores avaliados não apresentaram relevância.
- 5.10 De acordo com a impressão diagnóstica da AMI em relação aos descritores colpocitológicos cervicais, o grupamento que melhor caracterizou as LSIL foi o Grupo 2 (lesão acetobranca, discretamente elevada e granular).
- 5.11 Enquanto que o HSIL foi encontrado como lesão acetobranca plana, e lisa.
- 5.12 A AMI foi útil na predição diagnóstica das ASIL, pois o reconhecimento das nuances colposcópicas destas lesões pôde orientar apropriadamente as biópsias realizadas, maximizando a probabilidade de detecção de ASIL ao exame histopatológico.
- 5.13 Os achados de lesões ACB podem contribuir para orientar o diagnóstico de ASIL. Porém, o resultado não deve ser firmado apenas pelos achados da anoscopia, sendo indispensável o exame histopatológico para detecção das lesões precursoras do câncer anal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, p: 1457-65, 2007.

Al-DARAJI, W. I. and SMITH J.H.F., Infection and Cervical Neoplasia: Facts and Fiction, **Int J Clin Exp Pathol**, v: 2, p: 48-64, 2009.

ANHANG, R; GOODMAN, A.; GOLDIE, S.J. HPV Communication: review of existing research and recommendations for patient education. **CA Cancer J. Clin.**, v: 54, n: 5, p: 245-257, 2004.

AYRES, M.; AYRES Jr, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **Bio. Estat 3.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. CD-ROM, Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq, 292 p. ISBN 85-85924-10-1, 2003.

BAUER, H. M.; MANOS, M. M.; PCR Detection of genital human papillomavirus. **Application-viral pathogens**, p: 407-13, 1998.

BEHMER, O.; TOLORA, M. C. Net A.G.F.; **Manual de Técnicas para histologia normal e patológica**. ed. Edart, 1976.

BROOKE, E.H.; 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, p: 2375–2383, 2009.

CHIN-HONG, P.V.; PALEFSKY, J.M.; Natural history and clinical management of anal human papillomavirus disease in men and women infected with human immunodeficiency virus. **Clin. Infect. Dis.**, p: 1127-34, 2002.

_____, VITTINGHOHH, E.; CRANSTON, R.D.; BROWNE, L.; BUCHBINDER, S.; COLFAX, G.; DA COSTA, M.; DARRAGH, T.; BENET, D.J.; JUDSON, F.; KOBLIN, B.; MAYER, K.H.; PALEFSKY, J.M. Age-related prevalence of anal cancer precursors in homosexual men: The explore study. **JNCI**, v: 97, n: 12, p: 896-905, 2005.

CLEMENTINO, R.; GOUTIJO, S.; MANRIETTE, F.; DERCHAIR C. PETTA, A.; **O futuro – vacinas. HPV na prática clínica**, v.26 (4), p. 269-275, 2007.

COSTA E SILVA, I. T. Citologia Anal como método de rastreamento para detecção precoce do câncer anal: esfregaços com algodão hidrófilo são mesmos insatisfatórios? **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.20, (1), p.109-114, 2005.

COSTA E SILVA, I.T.; ATALA, L.S.; MOZZER, R.V.; GIMENEZ, F.S.; GUIMARÃES, R.A.S.; FUJIMOTO, L.B.M.; FERREIRA, L.C.L.; ROCHA, R.P.; GUIMARÃES, A.D.P.; AVI, S.V. Valor da anoscopia com magnificação de imagem no diagnóstico de lesões associadas ao câncer anal. **Rev. Bras. Coloproctol.**, v: 26, Supl.: 1, p: 98-9, 2006.

_____ ; FERREIRA, L.C.L.; GIMENEZ, F.S.; GUIMARÃES, R.A.G.; FUJIMOTO, L.B.; CABRAL, C.R.B.; MOZZER, R.V.; ATALA, L.S. High-Resolution Anoscopy in the Diagnosis of Anal Cancer Precursor Lesions in Renal Graft Recipients. **Ann. Surg. Oncology**. Online First. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1245/s10434-007-9750-8>. Consultado em: 26/2/2008.

_____ ; GIMENEZ FS; GUIMARÃES RAG; CAMELO RT; MELO MND; BARROS FS; DAUMAS A; CABRAL CRB; GUIMARÃES EL. Citologia anal como método de rastreamento para a detecção precoce do câncer anal: esfregaços com algodão hidrófilo são mesmo insatisfatórios? **Acta Cir. Bras.** [serial on line]; v: Jan-Fev., p: 20-1, 2005

COUtlÉE, F.; ROULEAN, D.; PETIGUAT, P.; GHATTOR, G.; KORNEGAY, J.R.; SCLILLOJ, P. et al Enhanced Detection and Typing of Human Papillomavirus (HPV) DNA in Anogenital Sampler with PGMV Primers and the Livear Anay HPV genotypins test. **Journal of Clinical Microbiology**, p: 1998-2006, June, 2006.

DALING JR, WEISS NS, HISLOP TG, MADEN C, COATES RJ, SHERMAN KJ, ASHLEY RL, BEAGRIE M, RYAN JA, COREY L. Sexual practices, sexually transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. **N. Engl. J. Med.**, v: 1, s: 1, p: 973-7, 1987.

_____, WEISS, N.S., KLOPFENSTEIN, L.L.; COCHRAN, L.E.; CHOW ,W.H.; DAIFUKU R. Correlates of homosexual behavior and the incidence of anal cancer. **JAMA**, p: 1988-90, 1982.

_____, MADELELINE, M.M.; JOHNSON, L.G.; SCHWARTZ, S.M.; SHERA, K.A.B.A.; WURSCHER, M.A.B.S.; CARTER, J.; PORTER, P.L.M.D., GALLOWAY, D.A., MCDUGALL, J.K.; Human papilomavírus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. **Cancer cytopathology CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v: 101, s: 2, p: 270 – 280, 2007.

EPI INFO 6. Disponível no site do Centers for Disease Control and Prevention: URL: <http://www.cdc.gov/epiinfo/Epi6/ei6.htm>.

FENGER, C.; The Anal Transitional Zone. Location and Extent. **Acta Pathol Microbiol Scand[A]** n: 87A, v: 5, p: 379-86, 1979.

FENGER, C.; The anal transition zone. **Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.**, v. 95, Sup I, n: 289, p. 1-42, 1987.

FRISCH, M, OLSEN, J.H.; BAUTZ, A.; MELBYE, M.; Benign anal lesions and the risk of anal cancer. **N. Engl. J. Med.** p: 300-2, 1994.

_____, GLIMELIUS, B.; VAN DEN BRULE, A. J. C.; WOHLFAHRT, M.Sc., MEIJER C J.L.M., WALBOOMERS, J. M. M.; GOLDMAN, S., SVENSSON, C., ADAMI, H-O, and MELBYE, M. Sexually Transmitted Infection as a Cause of Anal Cancer, **New England Journal of Medicine**, v: 361, p: 123 – 134, July 9, 2009.

_____, FENGER, C.; VAN DEN BRULE, A.J.; SORENSEN, P.; MEIJER, C.J.; WALLBOMERS, J.M.; ADAMI, H.O.; MELBYE, M.; GLIMELIUS, B. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. **Cancer Res.** v: 59: p: 753-757; 1999.

FOX, P.A.; **Human papillomavirus and anal intraepithelial neoplasia.** *Curr Opin Infect Dis.* 19(1):62-6, 2006.

FRIEDMAN, H.B.; SAAH, A.J.; SHERMAN, M.E.; BUSSENIERS, A.E.; BLACKWELDER, W.C.; KASLOW, R.A.; GHAFARI, A.M.; DANIEL, R.W.; SHAHK, V. Human papillomaviruses, anal squamous intraepithelial lesions, and human immunodeficiency virus in a cohort of gay men. **J Infect Dis.**; v: 178, p: 45-52, 1998

GERVAZ, P.; ALLAL, A.S.; VILLIGER, P.; BUHLER, L.; MOREL, P. Squamous cell carcinoma of the anus: Another sexually transmitted disease. **Swiss Med Wkly.** v: 133, p: 353-9, 2003.

GIMENEZ, F. S.; COSTA E SILVA, I. T.; GUIMARAES, A. D. P.; FERREIRA, L.C.L.; ARAUJO, J. R.; ROCHA, R. P.; ATALA, L. S.; AVI, S. V.; TALHARI, S. Prevalência de lesões precursoras do câncer anal em indivíduos HIV positivos, Atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, Experiência Inicial em Manaus. **Rev brás Coloproct** . n: 24.; v: 28, p: 72-76, 2008.

GOLIGHER, J.C. Diagnosis of diseases of the anus, rectum and colon. In: GOLIGHER, J.C; DUTHIE, H; NIXON, H. **Surgery of the anus, rectum and colon.** 5 ed. Londres: Baillière Tindall, cap: 2, p: 48-83, 1984.

GONCALVES, M.A.G.; DONADI, E. A. Immune cellular response to HPV: current concepts. **Braz. J. Infect. Dis.**, v: 8, n: 1, p: 1-9, 2004.

HAMMES, L.S. **Correlação entre achados colposcópicos e diagnóstico histológico segundo a classificação colposcópica da federação internacional de patologia cervical e colposcopia de 2002.** Porto Alegre: UFRGS, 2004. Dissertação (Mestre em Ciências Médicas), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004.

HAWS, A.L.F.; HE, Q.; RADY, P.L.; ZHANG, L.; GRADY, J.; HUGHES, T.K.; STISSER, K.; KONIG, R.; TYRING, S.K. Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5+/6+ primer sets improves detection of HPV DNA in cervical samples. **Journal of Virological Methods**, v. 122, p. 87-93, 2004.

JAY, N.; BERRY, J.M.; HOGEBOM, C.J.; HOLLY, E.A.; DARRAGH, T.M.; PALEFSKY, J.M. Colposcopic appearance of anal squamous intraepithelial lesions: relationship to histopathology. **Dis. Colon Rectum**, v: 40, n: 8, p: 919-28, 1997.

JANEWAY; C.A.; TRAVERS, P. **Imunobiologia- o sistema imune na saúde e na doença.** Ed. Art Med 6 Edição, 2007.

JOHNSON, L.G. ; MADELEINE, M.M. ; NEWCOMER, L.M. ; SCHWARTZ, S.M. ; DALING, J.R. Anal cancer incidence and survival : the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973-2000. *Cancer.* 2004, jul 15 ; 101(2) :281-8.

JUNG, W. W.; CHUN, T.; SUL, D.; Strategies against human papillomavirus infection and cervical cancer. **J Microbiol**, v: 42, s: 4, p: 255-266, 2004.

KLENCKE, B.J.; PALEFSKY, J.M. Anal cancer: an HIV-associated Cancer. **Hematology Oncology Clinics of North America.**v:17, p.: -72, 2003.

KREUTER, A.; BROCKMEVER, N. H.; HOCHDORFER, B.; WEISSENBORN, S. J.; STUCKER, M.; SWOBODA, J. ALTAMEYER, P.; PTIRTER, H.; WEILAND, U.; **Clinical Spectrum and virology characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection.** *Am Acad. Dermatol*, v: 52, p: 603-8, 2005.

KUPPER, V.; Significance of colposcopy in Cancer Prevention *Gynakol. PRAX*, v: 29, p: 69-86, 2005.

LANDIS, J.R; KOCH, G.G.; The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v: 33, n: 1, p: 159-74, 1977.

MAGI, J. C.; RODRIGUES, M. R. S.; GUERRA, G. M. S. R.; COSTA, M.C.; COSTA, A.C.L.; VILLA, L. L.; FORMIGA, G. J. S. Resultados Do Exame Anatomo-Patológico E “Polimerase Reation (PCR)”Na Forma Clinica E Subclinica Da Infecção Anal Pelo Papilomavírus Humano (HPV)- Estudo Em Quatro Grupos De Pacientes.**Rev. Bras. Coloproct**, v: Out-Nov, p: 406-13, 2006.

MATHEWS WC, SITAPATI A, CAPERNA JC, BARBER RE, TUGENT A, GO U. Measurement Characteristics of Anal Citology, Histopathology, and High-Resolution Anoscopic Visual Impression in an Anal Dysplasia Screening Program. **J Acquir Immune Defic Syndr.**; v: 37; p: 1610-1615, 2004.

MATHEWS, C.; CAPERNA, J.; CACHAY, E.R.; COSMAM, BARD. Early Impact and Performance Characteristics of an Establishes Anal Dysplasia Creening Program: Program Evaluation Considerations. **The open AIDS Journal, Bentham Science Publishers Ltd.** 1, p. 11-20, 11, 1874-6136/07. 2007.

MARTIN F, BOWER M. Anal intraepithelial neoplasia in HIV positive people. **Sex. Transm. Infect.** p: 327-31, 2001.

MARTINS, C.R.; HPV-induced anal dysplasia: What do we know and what can we do about it? **Hopkins HIV Report**, v: 13, n: 3, p: 3-5, 2001.

MCCLOSKEY, J.C.; METCALF, C.; FRENCH, M.A.; FLEXMAN, J.P.; BURKE, V.; BEILIN, L.J. The frequency of high-grade intraepithelial neoplasia in anal/perianal warts is higher than previously recognized. *Int J STD AIDS*. 18:538-42. 2007.

MELBYE, M.; SPROGEL, P.; A etiological parallel between anal cancer and cervical cancer. **Lancet**, v: 338, p: 657-9, 1991.

MELBYE, M.; COTÉ, T.R.; KESSER, L.; GAIL, M.; BIGGAR, R.J.; High incidence of anal cancer among AIDS patients. **Lancet**, v: 343, p: 636-9, 1994.

MOORE, H.G., GUILLEM, J.G.; Anal neoplasms. **Surg Clin North Am**; p: 1233-51, 2002.

MUNOZ, N.; BOSCH, F.X.; SANJOSE, S.; HERRERO, R.; CASTELLSAGUE, X.; SHAH, K.V. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **New England Journal of Medicine**, v: 348, n: 6, p: 518-27, 2003.

NADAL RS, MANZIONE CR. Citologia como método para detecção de lesões precursoras do carcinoma anal. **Rev brás Coloproct**, v:1, n:25, p: 72-74, 2005.

_____, MANZIONE C.R.; Uso do Colposcópico Para Avaliar a Região Perianal e o Canal Anal - Padronização Técnica da Nomenclatura e Indicações. **Rev bras Coloproct.** n. 24, v. 4, p. 379-381, 2004.

NETTER, F.H., **Atlas de Anatomia Humana**. Ed.4. Elsevier, 2008.

NCI BETHESDA SYSTEM 2001. 2001 Terminology. [online]. Disponível em: <http://bethesda2001.cancer.gov/terminology.html>. Consultado em 19 mar.2009.

PALEFSKY, J.M.; HOLLY, E.A.; GONZALES, J.; BERLINE, J.; AHN, D.K.; GREESNPAN, J.S. Detection of human papillomavirus DNA in anal Intraepithelial neoplasia and anal cancer. **Cancer Research**, v.51, p.1014-9, 1991.

_____. HOLLY, E.A.; Molecular virology and epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. **Cancer Epidemiol Biomarks Prev**, v.4, n.4, p.415-28, 1995.

_____.; HOLLY, E.A.; HOGEBROOM, C.J.; BERRY, J.M.; JAY, N.; DARRAGH, T.M.; Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, v.14, n.5, p.415-22, 1997.

_____, HOLLY, E.A.; RALSTON, M.L.; JAY, N.; BERRY, J.M.; DARRAGH, T.M.; High incidence of anal high-grade squamous intraepithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men. **AIDS**, v. 12, n. 5, p. 495-503, 1998a.

_____. Human papillomavirus infection and anogenital neoplasia in human immunodeficiency virus-positive men and women.; **J. Natl. Cancer Inst. Monogr.**, p: 15-20, 1998b.

_____.; HOLLY, E.A.; HOGEBROOM, C.J. RALSTON, M;L. DA COSTA, M.M.; BATTS, R. Virologic, immunologic, and clinical parameters in the incidence and progression of anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual men. **J Acquir Immune Defic-Syindr Hum Retrovirol**, v : 17, p: 314-9, 1998c.

_____.; HOLLY EA; RALSTON ML; JAY N.. Prevalence and risk factors for human papillomavirus infection of the anal canal in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and high-risk HIV-negative homosexual men. **J. Infect. Dis.** p: 361-7, 1998d.

_____., HOLLY EA; RALSTON ML; DA COSTA MM; BONNER H; JAY N ET AL. The effect of highly active antiretroviral therapy on the natural history of anal squamous intraepithelial lesions and anal human papillomavirus infection. **J Acquir Immun Defic Syndr.**, n: 28, p: 422-428, 2001.

_____.; HOLLY, E.A.; Immunosuppression and co-infection with HIV. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, n: 31, p: 41-6, 2003

_____., CRANSTON, R.D.; Anal squamous intraepithelial lesions (ASIL): Diagnosis, screening and treatment. **UpToDate, online version 13.1**, Wellesley, 31 ago. 2004, [online]. Disponível em: <<http://patients.uptodate.com/topic.asp?file=tumorhiv/2317>>. Consultado em: 29 mar. 2005.

PALEFSKY, J.M.; Human papillomavirus–related disease in people with HIV. **Cancer**, ed. Andrew Grulich and Mark Bower. v. 4, p.52-56. 2009.

PANTER LA, WAGNER K, PROPER J, FUGELSO DK, CHATIS PA, WEEDEN W, NASSER IA, DOWEIKO, DEZUBE BJ. High resolution anoscopy findings for men who have sex with men: inaccuracy of anal cytology as a predictor of histologic high-grade anal intraepithelial neoplasia and the impact of HIV serostatus. **Clin Infect Dis**; n: 38, p: 1490-2, 2004.

PECKHAM, S.; HANN, A.A.; Sexual Health Prevention Priority. **Bull World Health Organ**. Genebra, vol. 86, n.6, june, 2008

PENN, I. Occurrence of cancers in immunosuppressed organ transplant recipients. **Clin Transpl.**; p: 147-5, 1998

PEREIRA, A.C.C.; LACERDA, H.R; BARROS, R.C.R;. Diagnostic Methods for Prevention of Anal Cancer and Caracteristica os Anal Lesions Caused by HPV in Men with HIV/AIDS. **Braz J Infect Dis**, v.12 n.4 Salvador Aug. 2008.

PIKETTY, C.; DARRAGH, T. M.; DA COSTA, M.; BRUNEVAL, P.; HEARD, I.; KAZATCHKINE, M. D.; PALESKY, J.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: 453-9, 2003.

PIKETTY, C.; DARRAGH, T.; M.; DA COSTA, M.; BRUNEVAL, P.; KAZATCHKINE, M. D.; High Prevalence of Anal Squamous Intraepithelial Lesions in HIV – positive men despite the use of highly active antiretroviral therapy. **Sex. Transm. Dis.** 31:96-9. 2004.

POKOMANDY, A.; ROULEAU, D; GHATTAS,G.;VÉZINA, S.;COTÉ, P.; MACLEOD, J.; ALLAIRE, G.; FRANCO, E.L.;COUTLÉE, F. Prevalence, Clearance, and Incidence of Anal Human Papillomavirus Infection in HIV Infected men: The HIPVIRG cohort Study. **The Journal of Infectious Diseases**, v.199, n.7, p.965-973, 2009.

PONTES, I.M. **Desenvolvimento de novos marcadores microssatélites para análise genética em humanos**. 2003. 57f . Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Curso de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas/ Universidade Federal de São Carlos.

PRIETO, R; VAZQUEZ, M. Anal epidermoid carcinoma: a rare incidence or a rare diagnosis? **Rev. Esp. Enferm Dig.** n: 89, v: 2, p: 128-32, 1997.

QUALTERS, Jr, Lec Nc, Smith PA, Aubert RE. Breast and cervical cancer surveillance, United State, 1973 – 1987. **MMWR Morb Mortal Wkey Rep**; v: 41, p:1-15,1992.

QUILICI, F.A; REIS NETO, J.A; CORDEIRO, F; REIS JUNIOR,J.A; CIQUINI, S; **Atlas de proctologia: do diagnóstico ao tratamento**.São Paulo: Lemos Editorial. 2000.

RABKIN, C.S.; YELLIN, F.; **Cancer incidence in a population with a high prevalence of infection with human immunodeficiency virus type 1**. *J Natl Cancer Inst.*; v: 86, p: 1711-1716, 1994.

RAMOS, J.S. Ciência e racismo: uma leitura crítica de *Raça e Assimilação* em Oliveira Vianna. **Hist. cienc. saude-Manguinhos.**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702003000200005&lng=en&nrm=iso>. Consultado em: 25/4/2008.

REMMERBACH, T.W.; BRINCKMANN, U.T.; HEMPRICH, A.; CHEKOL, M.; KUHNDEL, K.; LIEBERT, U.G. PCR detection of human papillomavirus of the mucosa: comparison between MY 09/11 and GP5+/6+ primer sets. **Journal of Clinical Virology**, v. 30, p. 302-308, 2004

RIVOIRE, WA; CAPP, E; CORLETA, HE; SILVA, ISB; Bases biomoleculares da oncogênese cervical. **Ver. Brás. Cancerol.**, n: 4, v:2, p: 179-84, 2001.

RYAN, D.P.; COMPTON C.C.; MAYER, R.J.; Carcinoma of the anal canal. **N. Engl. J. Med.**, n: 342, p: 798-800, 2000.

RUSSEL, A.H.; SEIDEN, M.V.; DUSKA, L.R.; GOODMAN, A.K.; LEE, S.I.; DIGUMARTHY, S.R.; FULLER JR., A.R. Human papillomavirus biology. In: ABELOFF, M.D.; ARMITAGE, J.O.; NIEDERHUBER, J.E.; KASTAN, M.B.; MCKENNA, W.G. **Clinical Oncology**. 3ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, v: 3, p: 2218-20, 2004

SCHOLEFIELD JH, JOHNSON J, HITCHCOCK A, KOCJAN G, SMITH JH, SMITH PA, FERRYMAN S, BYASS P.; **Guidelines for anal cytology to make cytological diagnosis and follow up much more reliable cytopatological diagnosis and follow up much more reliable**. **Cytopathology**, n: 9, p: 15-22, 1998

SPANO, J. P.; ATLAN, D.; BREAU, J. H.; FRAG, D.; EUR, AIDS and non aids-related malignancies: a new vexing challenge in HIV-positive patients. **J. Int. MED.**; v: 13 p:170 – 79, 2002.

SPENCE, A. R.; FRANCO, E. L.; FERENCZY, A., The role of human papilomaviruses in cancer: Evidence to date. **Am. J. Cancer.**; v: 4, p: 49-64, 2005.

TSENG, H.F.; MORGENSTERN, H.; MACK, T.M.; PETERS, R.K.; Risk factors for anal cancer: Results of a population-based case-control study. **Cancer Causes Control**. 14(9):837-46, Nov. 2009.

TUON, F.F.B.; BITTENCOURT, M.S.; PANICHI, M.A.; PINTO, A.P.; Avaliação da sensibilidade e especificidade dos exames citopatológicos e colposcópico em relação ao exame histológico na identificação de lesões intra-epiteliais cervicais. **Rev. Assoc. Med. Brás.**, v:48, s: 2, p:140-4, 2002.

VAN DER SNOEK, E. M.; NIESTER, H. G. M.; MULDER, P.G.H.M.; Van POORNEM, G.J.J.; OSTERHAUS, A.D.M.E; Van der HEIDEU, W. J. **Human Papillomavirus infection in men Who have sex with men participating in a dutch gay-collort study sexually transmitted diseaser**. 30(8):639-644, August 2003.

VILLA, L.L.; Vaccines against papilloma virus infections and disease. **Salud Publica Mex**. v. 45, suppl 3; p:443-448. 2003.

WWW.inca.gov.br/estimativa2008/index.asp?link=mapa.asp&id=6.10/04/2009

WALKER, P.; DEXEUS, S.; DE PALO, G.; BARASSO, R.; CAMPION, M.; GIRARDI, F.; JACOB, C.; ROY, M. International Terminology of Colposcopy: Na Updated Report from the Cervical Patology and Colposcopy. **The American College of obstetricias and gynecologists**. Vol.101, n.1. january, 2003.

WOLSCLICK, N. M.; CONSOLARO, M. E .L.; SUSUKI, L. E; e BÔER, C. G.; Câncer do colo do útero; tecnologias emergentes no diagnostico, tratamento e prevenção da doença. RBAC,, **sbac.org.br**, 2007.

WONG, S.; GIBBS, P.; CHAO, M. et al Carcinoma of the anal canal: a local experience and review of the literature ANZJ. Surg. v: 74, p: 541-46, 2004.

ZAKI, S. R.; JUDD, R.; COFFIELD, L. M.; GREER, P.; ROLSTON, F.; EVATT, B.L.; Human Papillomavirus infeccion and anal carcinoma. Retrospective analysis by in situ hybridization and the polymerase chain reaction. **American Journal of pathology**, v: 140, p: 1345-55, 1992.

APÊNDICE 1

UFAM - Universidade Federal do Amazonas

1.8 Comitê de Ética em Pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **Valor da Anuscopia com magnificação de imagem no diagnóstico de lesões precursoras do câncer anal, em pacientes HIV positivos, atendidos na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.** Você foi selecionado e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador, com a Universidade Federal do Amazonas ou com a Fundação de Medicina Tropical do Amazonas.

O objetivo deste estudo é o de determinar medidas de precisão diagnóstica para a anoscopia com magnificação de imagem em pacientes portadores do vírus HIV, visando o estabelecimento, em Manaus, de um programa de detecção precoce de lesões anais que possam evoluir para o câncer anal, doença que os portadores de HIV estão mais sujeitos do que a população geral.

Sua participação nessa pesquisa consistirá em responder um questionário a respeito das peculiaridades de sua doença e a submeter-se a um exame do ânus e do reto, no qual uma escovinha circular especialmente projetada para este fim será introduzida no canal anal para ser imediatamente retirada e agitada numa solução tampão, dentro de um frasco pequeno para a realização do exame de reação da cadeia de polimerase (PCR), a procura da presença ou não do papilomavírus humano (HPV). A seguir, um anoscópio (um tubo cilíndrico) descartável será introduzido no canal anal e o mesmo será observado com um aparelho que funciona como uma lente de aumento (colposcópio). Após a aplicação local de uma solução fraca de ácido acético, lesões que ficarem brancas serão biopsiadas sob anestesia local. As células para PCR e biópsias serão colocadas em frascos com conservante e encaminhadas para exame no Laboratório de Patologia do Hospital de Medicina Tropical.

Os riscos relacionados com sua participação são muito pequenos e associados às biópsias anais, cuja anestesia prévia pode arder um pouco e de forma passageira. Um pequeno sangramento também poderá ocorrer, mas na grande maioria das vezes cessa espontaneamente.

Os benefícios relacionados com a sua participação não serão outros senão os ligados à prevenção do câncer anal, que incide mais frequentemente em portadores do vírus HIV do que na população geral, não havendo qualquer pagamento em dinheiro aos participantes do estudo. Também, mas não menos importante, você estará contribuindo para o conhecimento de quantos portadores do vírus HIV em Manaus são portadores de lesões que, se não tratadas, poderão evoluir para câncer anal. Em caso de haver algum dano eventual a sua saúde durante o período de estudo, provocado pelos exames necessários para realizá-lo, a responsabilidade recairá inteiramente sobre os pesquisadores, a Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e a Fundação de Medicina Tropical (FMT), conforme prevê a Resolução 196/96 – CNS.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre a sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Os registros ou resultados dos testes relacionados aos estudos serão mostrados apenas a representantes da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT-AM) e da Universidade Federal do Amazonas (Hospital Universitário Getúlio Vargas), bem como a autoridades normativas nacionais ou internacionais com o objetivo de garantir informações de pesquisas clínicas ou para fins normativos.

Você receberá uma cópia desse termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Pesquisadora: Felicidad Santos Gimenez

R. Afonso Pena, 589, Centro
Tel: 3233-9730; 8122-0388

Av. Pedro Teixeira, 25, D. Pedro
Tel: 2127-3555

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Manaus _____ de _____ de 200__

Sujeito da Pesquisa

PROTOCOLO DE ESTUDO

Projetos de Pesquisa Câncer Anal (Programa Nacional DST/AIDS/UNESCO/FMT-AM)

AMI

Ausência de lesão acetobranca – biópsia às 7 h anal (Programa Nacional DST/AIDS) 2ª biópsia não-acetobranca (CON) – horário: _____

Números aleatórios: _____

Lesões Acetobranças

Plano vertical: Margem anal (A) Anoderma (B) Pectínea (C) Suprapectínea (D) Plano horizontal: _____ Horas: _____

Aspecto da lesão: Focal (f) Coalescente (g) Mosaico (h) Relevo: Plana (i) Plana/elevada (j) Elevada (k)

Nome: _____ Idade: _____

Lisa (l) Granular (m) Papiliforme (n) Não-papiliforme (o) Padrão vascular: Normal (p) Verrucosos (q)

Sexo: _____ Educação: _____

Atípico (r) Faio Leuco Qualidades tintoriais: Xanto Branco acentuado(s) 2º Branco tênue (t) Lixa d'Água (u)

Prontuário: _____ Logradouro, Nome do Logradouro: _____

Nº: _____ Complemento: _____ Bairro: _____

CEP: _____ Tel.-1: _____ Tel.-2: _____ Contato: _____

Orientação sexual: HSH HSHM HTR MSM MSMH Anorreção: Sim Não HIV: + ou -

Nº parceiros sexuais no último ano: 0 1 2-9 >10 Idade de iniciação sexual: <15 15-19 ≥20

Nº parceiros sexuais nos últimos 5 anos: 0 1 2-9 >10 Tempo Diagnóstico: HIV: _____ AIDS: _____

Outros fatores de risco: TAB CA CG DR CSIL DST: Gon Her Clam

Sif Outras Citar: _____ Doenças associadas: _____

HAART: Sim Não ≤3 anos 4-6 anos 7-9 anos ≥ 10 anos CMV: HSV: EBV:

HAART – Associação medicamentosa e doses: _____

CD4: ≤200 201-500 ≥ 501 Carga viral: <30.000 ≥30.000

Exame Proctológico

Inspeção anal: Soiling Pus Sangue Ferida anal Medicamento anal

Anoscopia

Sim Não Achados: Normal Hemorróidas Plicoma Prurido

Abscesso-fístula Hipotonia Prolapso mucoso Papila hipertrófica Hipotonia

Condiloma Blastoma Proctite Fissura Outra: _____

Citologia anal

Pap-a Já fez antes? Sim Não Quando? _____

Marcar no quadrado apropriado o nº exato.

<input type="checkbox"/> Lisa(l)	<input type="checkbox"/> Granular(m)	<input type="checkbox"/> Papiliforme (n)	<input type="checkbox"/> Não-papiliforme (o)	Padrão vascular:	<input type="checkbox"/> Normal(p)	<input type="checkbox"/> Verrucosos(q)			
<input type="checkbox"/> Atípico(r)	Qualidades tintoriais:			<input type="checkbox"/> Branco acentuado(s)	<input type="checkbox"/> Branco tênue(t)	<input type="checkbox"/> Lixa d'água(u)			
2ª lesão:	Vertical:	A, B, C, D	Horas	Morfologia da lesão:	f, g, h	i, j, k	l, m, n, o	p, q, r	s, t, u
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3ª lesão:	Vertical:	A, B, C, D	Horas	Morfologia da lesão:	f, g, h	i, j, k	l, m, n, o	p, q, r	s, t, u
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Impressão diagnóstica da pior lesão:

Data: ____/____/____.

Nome do(a)
Entrevistador(a):

APÊNDICE 2 - Verso

PROTOCOLO DE ESTUDO

Projetos de Pesquisa Câncer Anal (Programa Nacional DST/AIDS/UNESCO/FMT-AM)

RESULTADOS DE EXAMES										
Pap-a - algodão	INS	NEG	LSIL	HSIL	ASC-H	ASC-US	CEPis	CEPin	ADCis	Outrc
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Contagem celular:		+	++	+++	++++				Qual?	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pap-a - poliéster	INS	NEG	LSIL	HSIL	ASC-H	ASC-US	CEPis	CEPin	ADCis	Outrc
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Contagem celular:		+	++	+++	++++				Qual?	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pap-a - escova	INS	NEG	LSIL	HSIL	ASC-H	ASC-US	CEPis	CEPin	ADCis	Outrc
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Contagem celular:		+	++	+++	++++				Qual?	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pap-a - CML	INS	NEG	LSIL	HSIL	ASC-H	ASC-US	CEPis	CEPin	ADCis	Outrc
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Contagem celular:		+	++	+++	++++				Qual?	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Histopatologia:	PC:									
		NEG	LSIL	HSIL	CEPis	CEPin	ADCis	ADCin		
		<input type="checkbox"/>								
P16 ^{INK4a} cito	NEG	Frac. (+)		Intensa (++)						
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>					
P16 ^{INK4a} histo	NEG6	Esporádica		Focal		Difusa				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
PCR HPV		NEG	Baixo risco		Alto risco		Genótipo			
		<input type="checkbox"/>								
Contagem de células de Langerhans – dendríticas:	CD1a:		DC-SIGN:		Outro Ac:					
	Camada de maior concentração:									
PCR HSV		NEG	HSV1		HSV2					
		<input type="checkbox"/>								
PCR HBV		NEG	HBV							
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>						
PCR CMV		NEG	CMV							
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>						

APÊNDICE 2 - Verso

PROTOCOLO DE ESTUDO

Projetos de Pesquisa Câncer Anal (Programa Nacional DST/AIDS/UNESCO/FMT-AM)

RESULTADOS DE EXAMES

		G	IL	IL	C-H	C-US	Pis	Pin	Cis	ro
Algodão	<input type="checkbox"/>									
Etiquetagem celular:		+	++	+++	++++				I?	
Poliéster	<input type="checkbox"/>									
Etiquetagem celular:		+	++	+++	++++				I?	
Escova	<input type="checkbox"/>									
Etiquetagem celular:		+	++	+++	++++				I?	
CML	<input type="checkbox"/>									
Etiquetagem celular:		+	++	+++	++++				I?	

Patologia: PC:

	G	IL	IL	Pis	Pin	Cis	Cin
NK4a cito	<input type="checkbox"/>						
	NEG	Fraca (+)	Falsa (++)				
NK4a histo	<input type="checkbox"/>						
	NEG6	Sporádica	Focal	Difusa			
HPV	<input type="checkbox"/>						
	NEG	Baixo risco	Alto risco	Genótipo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Etiquetagem de células de Langerhans – dendríticas: Dia: _____ SIGN: _____ e Ac: _____

Lugar de maior concentração: _____

HSV	NEG	HSV1	HSV2
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HBV	NEG	HBV	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
CMV	NEG	CMV	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

1 Acurácia

verdadeiros positivos (a)45+ falsos negativos(d)15

$$\text{Acurácia} = \frac{\text{verdadeiros positivos (a)45+ falsos negativos(d)15}}{\text{N(128)}} = 46,87\%$$

2 Sensibilidade

Verdadeiros positivos (a) 45

$$\text{Sensibilidade (\%)} = \frac{\text{Verdadeiros positivos (a) 45}}{\text{Verdadeiros positivos (a)45 + falsos negativos (c)5}} \times 100 = 90\%$$

Verdadeiros positivos (a)45 + falsos negativos (c)5

3 Especificidade

Verdadeiros negativos (d)15

$$\text{Especificidade (\%)} = \frac{\text{Verdadeiros negativos (d)15}}{\text{Falsos positivos (b)63 + verdadeiros negativos (d)15}} \times 100 = 19,23\%$$

Falsos positivos (b)63 + verdadeiros negativos (d)15

4 Valor preditivo positivo

Valor preditivo verdadeiros positivos (a)45

$$\text{positivo} = \frac{\text{verdadeiros positivos (a)45}}{\text{verdadeiros positivos (a)45 + falsos positivos (b)63}} \times 100 = 35,15\%$$

verdadeiros positivos (a)45 + falsos positivos (b)63

5 Valor preditivo negativo

$$\begin{aligned} \text{Valor preditivo} & \quad \text{verdadeiros negativos (d)15} \\ \text{negativo} & = \frac{\quad}{\text{falsos negativos (c)5} + \text{verdadeiros negativos (d)15}} \times 100 = 75 \% \end{aligned}$$

6 Falsos positivos e falsos negativos

$$\begin{aligned} \text{Taxa de falso} & \quad \text{falsos positivos (b)63} \\ \text{positivo} & = \frac{\quad}{\text{falsos positivos (b)63} + \text{verdadeiros negativos (d)15}} \times 100 = 80,76\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Taxa de falso} & \quad \text{falsos negativos (c)5} \\ \text{negativo} & = \frac{\quad}{\text{falsos negativos (a)45} + \text{verdadeiros positivos (c)5}} \times 100 = 10\% \end{aligned}$$

Cálculo do tamanho da amostra para avaliar a sensibilidade

O cálculo do tamanho da amostra utilizado para detectar a sensibilidade de um teste de diagnóstico. O valor esperado para a sensibilidade do teste é de aproximadamente 46%, onde utiliza-se a seguinte fórmula

(1) (P) = estimativa da proporção esperada da positividade na população (Sensibilidade esperada para o teste)

(2) (D) = amplitude do intervalo de confiança que se deseja

(3) (Z) = definição do intervalo de confiança (geralmente 95%)

$$n = \frac{Z^2 \cdot \hat{p} \cdot \hat{q}}{d^2}$$

P= proporção esperada

D= semi-amplitude do intervalo de confiança

Z = 1,96 (para $\alpha=0,05$ e IC 95%)

Com uma sensibilidade esperada para o teste de 46%, o intervalo de 95% de confiança e precisão do teste de 0.09, temos o seguinte tamanho para a amostra:

$$n = \frac{1,96^2 \cdot (0,46) \cdot (0,54)}{0,9^2} = 118$$

Utilizando-se a fórmula anexa, é necessário aplicar o teste em 118 pacientes para se estimar uma sensibilidade de 46% do teste com intervalo de 95% de confiança de 37%-55%:

Tamanhos estimados de amostras

Estimativa de Sensibilidade esperada	Coefficiente de Confiança	D	Tamanho da Amostra
0,46	95	0,9	118
0,46	95	0.85	132
0,46	95	0.8	149
0,46	95	0.75	170
0,46	95	0.7	195