

EXPRESSÃO DA PROTEÍNA P16 NA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL
ANAL GRAU 2 (NIA2) EM MULHERES IMUNOCOMPETENTES:
ESTUDO DE SÉRIE DE CASOS

EXPRESSION OF P16 PROTEIN IN ANAL INTRAEPITHELIAL
NEOPLASIA GRADE 2 (NIA2) IN IMMUNOCOMPETENT WOMAN:
CASE SERIES STUDY

Letícia Coelho Ferreira¹, Beatriz Henriques dos Santos Feitosa¹, Daniela Mayumi
Takano², Letícia Klabinske Marques Monteiro¹, Sandra de Andrade Heráclio²

1- Faculdade Pernambucana de Saúde - FPS

2- Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira - IMIP

Autor correspondente: Letícia Coelho Ferreira, Av. Beira Rio, 330, ap. 102 – Recife -
PE(e-mail:leticia1905@gmail.com).

Conflito de interesse: Os autores desse estudo declaram não haver conflitos de
interesse.

Agradecimentos: Os autores deste estudo agradecem ao Programa de Iniciação
Científica (PIC-FPS), à Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS), ao Instituto de
Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), ao Serviço de Patologia do Trato
Genital Inferior e Colposcopia do IMIP e ao Serviço de Anatomia Patológica do IMIP.

Contribuições: Beatriz Henriques dos Santos Feitosa contribuiu com a concepção e o delineamento do projeto, com a coleta, análise e interpretação dos dados, bem como com a redação do artigo final da versão a ser publicada. Daniela Mayumi Takano colaborou na coleta e análise de dados. Letícia Ferreira Coelho contribuiu com a concepção e o delineamento do projeto, com a coleta, análise e interpretação dos dados, bem como com a redação do artigo final. Letícia Klabinske Marques Monteiro com a concepção e o delineamento do projeto, com a coleta, análise e interpretação dos dados, bem como com a redação do artigo final da versão a ser publicada. Sandra de Andrade Gouveia Heráclio contribuiu com a concepção e o delineamento do projeto, com a análise e interpretação dos dados e foi imprescindível na redação do artigo final.

RESUMO

A semelhança do que ocorre no colo do útero, o câncer anal possui estreita relação com a infecção por HPV alto risco e, nos últimos trinta anos, vem apresentando um aumento na incidência. Embora existam similaridades entre as lesões induzidas por HPV no colo uterino e canal anal, a história natural das lesões precursoras de câncer anal ainda apresenta lacunas importantes quanto à precisão diagnóstica e comportamento biológico. A proteína inibidora de quinase p16INK4a tem sido alvo de vários estudos em lesões cervicais, os quais sugerem que sua sobre-expressão pode ser utilizado como indicador de comportamento biológico de progressão nas lesões induzidas por HPV. O presente estudo teve por objetivo determinar a expressão da proteína p16 nas neoplasias intraepiteliais anais de grau 2 (NIA2). Realizou-se estudo observacional do tipo série de casos durante o período de junho de 2017 a julho de 2018, no Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP). Foram incluídas mulheres com diagnóstico de NIA2 e imunocompetente. A pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa do IMIP sob número 80169417.3.0000.5201. Na análise imuno-histoquímica, sete amostras (54%) foram negativas. Destas, seis estavam associadas com HPV do tipo alto risco oncogênico, e das seis (46%) amostras positivas, três foram associadas ao HPV6 de baixo risco oncogênico. No presente estudo, verificou-se que a reação imuno-histoquímica para p16 nas neoplasias intraepiteliais anais grau 2 foi controverso, apresentando uma frequência elevada de casos discordantes.

Palavras-chave: Neoplasias do ânus; genes P16; *HPV*; Carcinoma in situ; Imunohistoquímica.

ABSTRACT

Similar to what happens in the cervix, anal cancer is closely related to high-risk HPV infection and, in the last 30 years, it has been increasing in incidence. Although there are similarities between HPV-induced lesions in the uterine cervix and anal canal, the natural history of anal cancer precursor lesions still presents gaps related to diagnostic accuracy and biological behavior. The p16INK4a kinase inhibitor protein has been the target of several studies in cervical lesions, which suggest that its overexpression can be used as an indicator of biological behavior of progression in HPV-induced lesions. The present study aimed to determine the expression of p16 protein in grade 2 intraepithelial neoplasia (NIA2). During June 2017 to July 2018, this case series was conducted at the Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife-PE, Brazil. The present study included women diagnosed with NIA2 that were immunocompetent and it was approved by the Research Ethics Committee of IMIP under the number of 80169417.3.0000.5201. In the immunohistochemical analysis, seven samples (54%) were negative and six of them were associated with high-risk oncogenic HPV. Considering the positive samples (46%), three were associated with low-risk oncogenic HPV6. In the present study, it was verified that the immunohistochemical reaction for p16 in grade 2 intraepithelial neoplasias was controversial, presenting a high frequency of discordant cases.

Key-words: Anus neoplasms; Genes, p16; Papillomaviridae; Carcinoma in situ; immunohistochemical

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o câncer anal vem apresentando um aumento da incidência absoluto e relativo¹. Embora considerado pouco frequente na população geral, nos chamados grupos de risco, dentre eles: mulheres com histórico de neoplasia genital, a incidência é comparável à do colo do útero antes da implantação dos programas de rastreio para o câncer cervical^{2,3}.

O papiloma vírus humano (HPV) é o agente responsável por mais de 90% dos cânceres anais e cervicais. Existem mais de 40 subtipos de HPV com tropismo pelo trato anogenital. Os mesmos subtipos do HPV oncogênicos que promovem as lesões intraepiteliais do colo do útero estão relacionadas às lesões intraepiteliais anais. Os tipos mais prevalentes de alto risco (AR-HPV) são HPV 16,18,33 e 31 e os de baixo risco (BR-HPV), 6 e 11³. É importante ressaltar que os tipos 6 e 11, embora sejam considerados de baixo risco, foram identificados no câncer de canal anal em uma frequência de 1,8 e 1,1 respectivamente⁴.

O padrão ouro para diagnóstico das lesões precursoras anais é o estudo histopatológico e as lesões identificadas são classificadas em neoplasia intraepitelial anal grau 1 (NIA1), quando até $\frac{1}{3}$ do epitélio escamoso apresenta células imaturas atípicas, neoplasia intraepitelial anal grau 2 (NIA2) quando $\frac{2}{3}$ do epitélio escamoso apresentam células imaturas atípicas e neoplasia intraepitelial anal grau 3 (NIA3) quando mais de $\frac{2}{3}$ do epitélio escamoso está comprometido⁵. As NIA 2/3 são consideradas lesões de caráter progressivo e, por isso, o tratamento é recomendado. Contudo, existem limitações nos protocolos para classificação das NIA2/3 anais, sobretudo aquelas em que as alterações ficam limitadas aos $\frac{2}{3}$ do epitélio⁶. Ainda, alguns estudos demonstram que a biópsia está

sujeita a erros de amostragem e medições, sugerindo a necessidade de novas ferramentas para melhorar o diagnóstico da NIA2/3⁷.

A proteína supressora tumoral celular p16^{INK4a} tem sido identificada como um marcador da infecção por AR-HPV⁸. Uma vez que as células transformadas pelos oncogenes virais E6 e E7 apresentam alteração na apoptose e na regulação do ciclo celular, expressando fortemente a p16 para controlar a ativação do ciclo celular irregular, esta proteína pode ser detectada por teste imunohistoquímico⁹. Este biomarcador tem sido utilizado com frequência em lesões cervicais para predizer o risco de progressão^{10, 11}, e poderia ser utilizado, da mesma forma, nas lesões anais, aprimorando, assim, a classificação histológica principalmente nas NIA2^{12,13}. O presente estudo teve como objetivo determinar a expressão da proteína p16 nas NIA2 em mulheres imunocompetentes.

MÉTODOS

Realizou-se um estudo observacional, do tipo série de casos no Serviço de Patologia do Trato Genital Inferior e laboratório de Anatomia Patológica, localizados no Instituto de Medicina Integral Fernando Figueira (IMIP), situado Pernambuco – Brasil, durante o período de junho de 2017 a julho de 2018. Foi obtida uma amostra não probabilística de conveniência. Foram incluídas exclusivamente mulheres portadoras de diagnóstico de neoplasia intraepitelial ou câncer cervical que apresentavam NIA2 confirmados por diagnóstico histopatológicos e que tivessem genotipagem para o DNA de HPV. Foram excluídas mulheres que fizeram radioterapia, quimioterapia, uso de imunossuppressores, HIV positivas, bem como, as que o histopatológico não estivesse arquivado no serviço ou amostras insuficientes para realização da imuno-histoquímica.

As mulheres que concordaram voluntariamente em participar e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram incluídas no estudo. A pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa sob número 80169417.3.0000.5201. Foram selecionadas 34 mulheres, por amostragem consecutiva, e destas, restaram 13 para integrar a pesquisa. Após a inclusão no estudo a mulher respondeu ao questionário epidemiológico. Os blocos de parafina dos exames histopatológicos foram separados encaminhados para realização da imuno-histoquímica.

Os blocos foram seccionados na espessura de 3 μ m, desparafinados e reidratados para a realização da técnica. Foi utilizado o método estreptoavidina-biotinaperoxidase para detecção das proteínas p16. A recuperação antigênica foi realizada em PT Link com temperatura de pré-aquecimento de 65°C e temperatura de recuperação de 97°C por um tempo de 20 minutos, utilizando-se tampão de recuperação antigênica EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution High pH. A ligação antígeno-anticorpo foi visualizada com o

cromógeno diaminobenzidina (DAB). A contra-coloração foi feita com hematoxilina de Harris; as lâminas foram desidratadas e montadas com resina sintética. Foram contados dez campos microscópicos de grande aumento (400X) e avaliado o percentual de núcleos e citoplasmas positivos para o p16. As secções interpretadas como p16 positivas demonstraram coloração nuclear e citoplasmática maior ou igual a 50% da espessura do epitélio avaliado e as p16 negativas, menor que 50%.

A análise dos dados foi realizada utilizando o *software* estatístico Epi-Info versão 7 (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], Atlanta, GA, USA). Foram obtidas tabelas de distribuição de frequência para as variáveis categóricas e mediana das variáveis quantitativas.

RESULTADOS

Foram identificadas 34 mulheres com diagnóstico de NIA2, dessas 13 foram incluídas no estudo (três foram inelegíveis e 18 não foi possível contato telefônico e não responderam aos telegramas). Em relação às características biológicas e socioeconômicas, oito (61,5%) das mulheres tinham idade maior ou igual a 35 mediana de 36 anos (mínima de 23 e máxima de 59 anos); sete (54%) eram não brancas e informaram renda familiar menor ou igual a R\$ 954,00; oito (61,5%) possuíam escolaridade superior a cinco anos; e 12 (92%) eram proveniente da zona urbana.

No que se refere às características sexuais, reprodutivas e comportamentais, oito (61,5%) mulheres iniciaram suas relações sexuais até os 16 anos; sete (54%) referiram mais de quatro parceiros durante a vida; nove (69%) negaram uso do preservativo masculino e 12 (92%) afirmaram ter tido relação sexual anal antes dos 30 anos.

Em relação ao comportamento, a maioria sete (54%) referiram uso regular de bebida alcoólica e 11 (85%) negaram uso de tabaco. Quanto às doenças orificiais, observou-se em dez (77%) casos, plicomas. Foi observado, sete (54%) com citologia cervical de lesão intraepitelial de baixo grau (LIEBG); seis (46%) o resultado histopatológico de neoplasia intraepitelial cervical de grau 2 ou 3 e dois (15%) carcinoma cervical; e cinco (39%) com LIEBG na citologia anal.

Na avaliação imuno-histoquímica, tivemos sete (54%) amostras negativas, seis (46%) estavam associadas com AR-HPV. Seis (46%) amostras forma positivas, três foram associadas ao HPV6 de baixo risco.

DISCUSSÃO

Considerando os resultados encontrados, observamos que o perfil das pacientes diagnosticadas com neoplasia intraepitelial anal grau 2 (NIA 2) são mulheres com idade maior que 35 anos, de baixa classe econômica e que residem em área urbana (tabela 1). Em relação à sexualidade, destacou-se o perfil de uma mulher com histórico de coitarca precoce, prática de sexo vaginal desprotegido e realização do coito anal receptivo (tabela 1).

O início da vida sexual precoce e sexo desprotegido expõe a mulher às infecções por HPV genital, a presença do HPV na cérvix uterina aumenta em até 20 vezes a chance de identificação de DNA de HPV no canal anal¹⁵. Embora a referência à prática do coito anal tenha sido elevada em nossa amostra, não existe consenso com relação à associação entre tal comportamento sexual e o aumento do risco para o desenvolvimento de lesões pré-malignas anais em mulheres^{15,16}. Quanto às características clínicas, o plicoma foi a doença orificial mais frequentemente observada, tal achado está de acordo com estudos anteriores¹⁷.

No presente estudo, foram evidenciadas três amostras positivas para AR-HPV com expressão da p16 positiva. Esse achado concordante nos faz inferir que essa NIA2 está apresentando elevada produção da oncoproteína E7 que bloqueia a proteína pRB, desregulando o ciclo celular. A produção exacerbada de p16 ocorre como uma tentativa de impedir a proliferação celular¹⁸. Nesses casos, a expressão da p16 é preditora de progressão da doença. Outro achado esperado foram quatro amostras negativas para AR-HPV com reação imuno-histoquímica para p16 negativa. Considerando que os BR-HPV frequentemente não se integram ao genoma do hospedeiro, não interferindo com a pRB, essas lesões não devem sobre expressar p16 (tabela 3)¹².

Entretanto, foram encontradas amostras com resultados discordantes. Seis lesões foram positivas para DNA de AR-HPV de forma isolada ou combinada, e foram negativas para p16 (tabela 3). Tal achado poderia ser explicado pela inadequada qualidade do material para realização da imuno-histoquímica. Esta condição foi analisada por um estudo¹⁹, em que foram criados protocolos concebidos para provocar a perda de antigenicidade da amostra através de oxidação química, foto-oxidação e secagem artificial. Estas alterações programadas foram aplicadas em tecidos contendo antígenos específicos para investigar sua sensibilidade à imuno-histoquímica.

Os resultados da análise, após irradiação das amostras com UVA durante 7 dias e tratamento com calor seco durante 4 semanas, mostram uma diminuição das intensidades de coloração para vários antígenos, dentre eles o p16. Portanto, o tempo e as condições de armazenamento das amostras podem expor o material a fatores adversos com redução da qualidade para a reação imuno-histoquímica contribuindo para resultados falso-negativos¹⁹. Não podemos excluir essa possibilidade de nosso estudo, considerando que as biópsias analisadas foram coletadas entre os anos de 2011 a 2014, e a reação para p16 foi realizada em 2018 e o envelhecimento do material pode ter influenciado negativamente na intensidade da coloração imuno-histoquímica²⁰.

Uma outra explicação, seria que essas NIA2, embora apresentassem AR-HPV, a resposta adequada do sistema imune do hospedeiro manteria níveis baixos de expressão dos oncogenes E7 e a lesão não apresentaria comportamento progressivo, a exemplo do que ocorre com as lesões do colo uterino. Ou ainda, limitações na amostragem e dificuldades de medições levou a um sobrediagnóstico na histologia.

Nesta série de casos, também existiram casos de NIA 2 induzidas por BR-HPV positivas para p16. Os genótipos de baixo risco raramente causam câncer por serem menos propensos a se integrarem ao genoma do hospedeiro. A estrutura e a função das

proteínas E7, também diferem daquelas dos genótipos de alto risco e, em alguns casos, impedem a interação com o pRb²¹. Porém, apesar de incomum, a integração do HPV de baixo risco no DNA celular pode ocorrer e ativar os oncogenes celulares ou suprimir os genes supressores de tumor, impulsionando a progressão do câncer²².

O achado do vigente estudo corrobora com os dados colhidos de um trabalho realizado com 41 homens que fazem sexo com homens (HSH), HIV positivos onde foram analisadas 42 verrugas anais e descrito que quatro (9,52%) verrugas continham regiões de NIA 2, e foram identificados apenas os genótipos de HPV 6 ou 11²⁶. O comportamento inusitado pode ser explicado pela possibilidade de mutagênese sítio-dirigida na oncoproteína E7 do HPV 6, aumentando a afinidade e capacidade de transformação de pRB²⁷. Este mecanismo explicaria a capacidade de expressão da p16 neste tipo de genótipo mutado²³.

Outro aspecto importante a ser considerado é não ser possível excluir a possibilidade das lesões associadas ao HPV 6 terem sido induzidas por um genótipo de alto risco que estava presente simultaneamente, porém durante o processo de extração houve perda do DNA, restando apenas o DNA do HPV de baixo risco²⁴.

O estudo realizado apresentou limitações importantes devido ao tipo de desenho e pequeno número de sujeitos. Um outro fator limitante foi não ter sido realizada a técnica de microdissecção por captura a laser nas amostras. Essa técnica permite selecionar a melhor área histológica para extração e a confirmação do tipo específico de HPV que a causou, através da análise do DNA do HPV. Esse artifício é útil pois impede que haja falsas interpretações das lesões nos casos em que mais de um tipo de HPV está presente no tecido²⁵.

No presente estudo, verificou-se que a reação imuno-histoquímica para p16 nas neoplasias intraepiteliais anais grau 2 foi controverso, apresentando uma frequência elevada de casos discordantes. Esses casos discordantes podem ser atribuídos ao número pequeno da amostra e as condições de realização da p16 não terem sido suficientemente adequadas. Portanto, estudos prospectivos com adequadas condições para realização da reação imuno-histoquímica para p16 e seguimento das mulheres são necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilkinson JR, Morris EJA, Downing A, et al. The rising incidence of anal cancer in England 1990-2010: A population-based study. *Color Dis.* 2014;16(7):234-239. doi:10.1111/codi.12553
2. Saleem AM, Paulus JK, Shapter AP, Baxter NN, Roberts PL, Ricciardi R. Risk of anal cancer in a cohort with human papillomavirus-related gynecologic neoplasm. *Obstet Gynecol.* 2011;117(3):643-649. doi:10.1097/AOG.0b013e31820bfb16
3. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: A meta-analysis. *Int J Cancer.* 2009;124(7):1626-1636. doi:10.1002/ijc.24116
4. Roberts MJD. This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please c. doi:10.1111/joms.
5. Mathews WC, Sitapati A, Caperna JC, Barber RE, Tugend A, Go U. Measurement characteristics of anal cytology, histopathology, and high-resolution anosopic visual impression in an anal dysplasia screening program. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;37(5):1610-1615. doi:10.1097/00126334-200412150-00014
6. Alam NN, White DA, Narang SK, Daniels IR, Smart NJ. Systematic review of guidelines for the assessment and management of high-grade anal intraepithelial neoplasia (AIN II/III). *Color Dis.* 2016;18(2):135-146. doi:10.1111/codi.13215
7. Mathews WC, Cachay ER, Caperna J, Sitapati A, Cosman B, Abramson I. Estimating the accuracy of anal cytology in the presence of an imperfect reference standard. *PLoS One.* 2010;5(8):1-6. doi:10.1371/journal.pone.0012284
8. Benevolo M, Terrenato I, Mottolese M, et al. Comparative evaluation of nm23 and p16 expression as biomarkers of high-risk human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia 2+ lesions of the uterine cervix. *Histopathology.* 2010;57(4):580-586. doi:10.1111/j.1365-2559.2010.03674.x
9. Manuscript A. The Regulatory Mechanisms of Tumor Suppressor p16INK4 and Relevance to cancer. 2012;50(25):5566-5582. doi:10.1021/bi200642e.The

10. Nishio S, Fujii T, Nishio H, et al. P16INK4a immunohistochemistry is a promising biomarker to predict the outcome of low grade cervical intraepithelial neoplasia: Comparison study with HPV genotyping. *J Gynecol Oncol.* 2013;24(3):215-221. doi:10.3802/jgo.2013.24.3.215
11. Krishnappa P, Mohamad IB, Lin YJ, Barua A. Expression of P16 in high-risk human papillomavirus related lesions of the uterine cervix in a government hospital, Malaysia. *Diagn Pathol.* 2014;9:1-6. doi:10.1186/s13000-014-0202-z
12. Bean SM, Eltoun I, Horton DK, Whitlow L, Chhieng DC. Immunohistochemical expression of p16 and Ki-67 correlates with degree of anal intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(4):555-561. doi:10.1097/PAS.0b013e31802ca3f4
13. Leeman A, Pirog EC, Doorbar J, et al. Presence or Absence of Significant HPV E4 Expression in High-grade Anal Intraepithelial Neoplasia with p16/Ki-67 Positivity Indicates Distinct Patterns of Neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(4):463-471. doi:10.1097/PAS.0000000000000984
14. Ortiz AP, Romaguera J, Pérez CM, et al. Prevalence, genotyping, and correlates of anogenital HPV infection in a population-based sample of women in Puerto Rico. *Papillomavirus Res.* 2016;2:89-96. doi:10.1016/j.pvr.2016.04.002
15. van der Zee R, Richel O, de Vries H, Prins J. The increasing incidence of anal cancer: can it be explained by trends in risk groups? *Neth J Med.* 2013;71(7):401411.
16. Koppe DC, Bandeira CB, Rosa MRD, Cambuzzi E, Meurer L, Fagundes RB. Prevalence of anal intraepithelial neoplasia in women with genital neoplasia. *Dis Colon Rectum.* 2011;54(4):442-445. doi:10.1007/DCR.0b013e3182061b34
17. Retamozo-Palacios M, De Sousa JB, Santos JB. Lesões anorretais em pacientes HIV positivos usuários de terapia anti-retroviral de alta efetividade. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(3):286-289. doi:10.1590/S0037-86822007000300007
18. Reuschenbach M, Waterboer T, Wallin KL, et al. Characterization of humoral immune responses against p16, p53, HPV16 E6 and HPV16 E7 in patients with HPV-associated cancers. *Int J Cancer.* 2008;123(11):2626-2631. doi:10.1002/ijc.23837

19. Blind C, Koepenik A, Pacyna-Gengelbach M, et al. Antigenicity testing by immunohistochemistry after tissue oxidation. *J Clin Pathol.* 2008;61(1):79-83. doi:10.1136/jcp.2007.047340
20. Mirlacher M, Kasper M, Storz M, et al. Influence of slide aging on results of translational research studies using immunohistochemistry. *Mod Pathol.* 2004;17(11):1414-1420. doi:10.1038/modpathol.3800208
21. Raybould R, Fiander A, Hibbitts S. Human Papillomavirus Integration and its Role in Cervical Malignant Progression. *Open Clin Cancer J.* 2011;5:1-7. doi:10.2174/1874189401105010001
22. Turazza E, Ojeda R, Bercovich A, Grinstein S. Integration of Human Papillomavirus Type 6a DNA in a Tonsillar Carcinoma: Chromosomal Localization and Nucleotide Sequence of the Genomic Target Region. *Cancer Res.* 1994;54(5):1305-1312.
23. Siegenbeek van Heukelom ML, Richel O, de Vries HJC, et al. Low- and high-risk human papillomavirus genotype infections in intra-anal warts in HIV-positive men who have sex with men. *Br J Dermatol.* 2016;175(4):735-743. doi:10.1111/bjd.14567
24. Sang BC, Barbosa MS. Single amino acid substitutions in “low-risk” human papillomavirus (HPV) type 6 E7 protein enhance features characteristic of the “high-risk” HPV E7 oncoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(17):8063-8067. doi:10.1073/pnas.89.17.8063
25. Cornall AM, Roberts JM, Garland SM, Hillman RJ, Grulich AE, Tabrizi SN. Anal and perianal squamous carcinomas and high-grade intraepithelial lesions exclusively associated with “low-risk” HPV genotypes 6 and 11. *Int J Cancer.* 2013;133(9):2253-2258. doi:10.1002/ijc.28228

TABELAS

Tabela 1. Distribuição de frequência das características biológicas, socioeconômicas, sexuais, reprodutivas, comportamentais, clínicas e os achados citológicos e histopatológicos das mulheres com neoplasia cervical e anal

| Características | n | % |
|-------------------------------|----|-------|
| Biológicas | | |
| Idade | | |
| Mediana (Min-Máx) anos | 36 | 23-59 |
| ≤ 35 anos | 5 | 38,5 |
| > 35 anos | 8 | 61,5 |
| Cor | | |
| Branca | 6 | 46,0 |
| Não branca | 7 | 54,0 |
| Socioeconômicas | | |
| Renda familiar | | |
| ≤ R\$ 954,00 | 7 | 54,0 |
| > R\$ 954,00 | 6 | 46,0 |
| Escolaridade | | |
| Mediana (Min-Máx) anos | 5 | 2-12 |
| 0 - 4 anos | 5 | 38,5 |
| 5 - 12 anos | 8 | 61,5 |
| Procedência | | |
| Rural | 1 | 8,0 |

| | | |
|--------|----|------|
| Urbana | 12 | 92,0 |
|--------|----|------|

Sexuais

Idade da primeira relação sexual

| | | |
|-------------------------------|----|-------|
| Mediana (Min-Máx) anos | 16 | 12-24 |
|-------------------------------|----|-------|

| | | |
|-------------|---|------|
| <u>≤</u> 16 | 8 | 61,5 |
|-------------|---|------|

| | | |
|------|---|------|
| > 16 | 5 | 38,5 |
|------|---|------|

Número de Parceiros

| | | |
|------------------------------------|---|------|
| Mediana (Min-Máx) parceiros | 6 | 1-20 |
|------------------------------------|---|------|

| | | |
|------------|---|------|
| <u>≤</u> 4 | 6 | 46,0 |
|------------|---|------|

| | | |
|-----|---|------|
| > 4 | 7 | 54,0 |
|-----|---|------|

Relação sexual anal

| | | |
|-----|----|------|
| Sim | 12 | 92,0 |
|-----|----|------|

| | | |
|-----|---|-----|
| Não | 1 | 8,0 |
|-----|---|-----|

Uso de preservativo

| | | |
|-----|---|------|
| Sim | 4 | 31,0 |
|-----|---|------|

| | | |
|-----|---|------|
| Não | 9 | 69,0 |
|-----|---|------|

Idade da primeira relação sexual anal

| | | |
|-------------------------------|------|-------|
| Mediana (Min-Máx) anos | 23,5 | 16-30 |
|-------------------------------|------|-------|

| | | |
|------------------|----|------|
| <u>≤</u> 30 anos | 12 | 92,0 |
|------------------|----|------|

| | | |
|-----------|---|-----|
| > 30 anos | 1 | 8,0 |
|-----------|---|-----|

Número de partos

| | | |
|----------|---|------|
| ≤ 2 | 7 | 54,0 |
| > 2 | 6 | 46,0 |

Comportamentais**Uso de álcool**

| | | |
|-----|---|------|
| Sim | 7 | 54,0 |
| Não | 6 | 46,0 |

Uso de tabaco

| | | |
|-----|----|------|
| Sim | 2 | 15,0 |
| Não | 11 | 85,0 |

Tabela 2. Distribuição de frequência das características clínicas e os achados citológicos e histopatológicos das mulheres com neoplasia cervical e anal.

| Características clínicas | n | % |
|---------------------------------|----|-------|
| Prurido | | |
| Sim | 1 | 8,0 |
| Não | 12 | 92,0 |
| Sangramento | | |
| Sim | 0 | |
| Não | 13 | 100,0 |
| Doenças orificiais | | |
| Hemorroida | | |
| Sim | 4 | 31,0 |
| Não | 9 | 69,0 |
| Fissura | | |
| Sim | 0 | |
| Não | 13 | 100,0 |
| Fístula | | |
| Sim | 0 | |
| Não | 13 | 100,0 |
| Plicoma | | |
| Sim | 10 | 77,0 |

| | | |
|-----|---|------|
| Não | 3 | 23,0 |
|-----|---|------|

Citologia cervical

| | | |
|--------------|---|------|
| Inflamatório | 2 | 15,0 |
|--------------|---|------|

| | | |
|-------|---|------|
| LIEBG | 7 | 54,0 |
|-------|---|------|

| | | |
|-------|---|------|
| LIEAG | 4 | 31,0 |
|-------|---|------|

Histopatológico cervical

| | | |
|-------|---|------|
| NIC 1 | 5 | 39,0 |
|-------|---|------|

| | | |
|-------|---|------|
| NIC 2 | 3 | 23,0 |
|-------|---|------|

| | | |
|-------|---|------|
| NIC 3 | 3 | 23,0 |
|-------|---|------|

| | | |
|-----------|---|------|
| Carcinoma | 2 | 15,0 |
|-----------|---|------|

Citologia anal

| | | |
|-----|---|------|
| DLN | 2 | 15,0 |
|-----|---|------|

| | | |
|--------|---|------|
| ASC-US | 2 | 15,0 |
|--------|---|------|

| | | |
|--------|---|------|
| LIEABG | 5 | 39,0 |
|--------|---|------|

| | | |
|--------|---|------|
| LIEAAG | 4 | 31,0 |
|--------|---|------|

Abreviação: LIEBG: lesão intraepitelial de baixo grau; LIEAG: lesão intraepitelial de alto grau;
NIC: neoplasia intraepitelial cervical; DLN: Dentro dos padrões de normalidade;
ASC-US: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance;
LIEABG: lesão intraepitelial anal de baixo grau; LIEAAG: lesão intraepitelial anal de alto grau.

Tabela 3: Descrição do tipo de HPV encontrados nas mulheres com LIEAAG/NIA2 de acordo com a coloração para p16

| Coloração P16 | | | |
|----------------------|-----------------|-----------------|--------------|
| HPV | Negativo | Positivo | Total |
| 6 | 0 | 3 | 3 |
| 16;33 | 1 | 0 | 1 |
| 16;6 | 2 | 0 | 2 |
| 31 | 1 | 1 | 2 |
| 31;6 | 1 | 1 | 2 |
| 33 | 1 | 0 | 1 |
| 81 | 1 | 0 | 1 |
| 85 | 0 | 1 | 1 |
| TOTAL | 7 | 6 | 13 |

Abreviação: HPV: *Human papiloma virus*