

RASTREAMENTO DE LESÕES PRECURSORAS DO CARCINOMA ESPINO-CELULAR ANAL EM INDIVÍDUOS PORTADORES DO HIV

Tracking precursor lesions of anal squamous cell carcinoma in individuals with HIV

Caio Sergio Rizkallah **NAHAS**^{1,2}, Edesio Vieira da **SILVA-FILHO**¹, Wilson M. **POLLARA**^{1,2}, Sergio Carlos **NAHAS**^{1,2}

Trabalho realizado no ¹Departamento de Gastroenterologia - Divisão Cirúrgica, ²ICESP - Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira e Departamento de Moléstias Infeciosas - Casa da AIDS todos da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO – Introdução – O carcinoma espino-celular do canal anal é doença que atinge os adultos de meia idade e corresponde a 4% dos cânceres do trato gastrointestinal baixo. Na população geral a incidência é de 1 em 100.000 habitantes, e entre os homens que fazem sexo com homens essa incidência atinge 35 por 100.000 habitantes, sendo que os portadores de HIV têm esse risco duplicado (70 por 100.000 habitantes). **Método** – Foi realizada revisão da literatura com consulta nos periódicos das bases Medline/Pubmed, Scielo e Lilacs cruzando os descritores Rastreamento, Lesões pré-cancerosas, Neoplasias do ânus e HIV. Além da revisão bibliográfica, foi adicionada a este trabalho a experiência pessoal dos autores, e a obtida no Departamento de Gastroenterologia - Divisão Cirúrgica, no ICESSP – Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira, no Departamento de Moléstias Infeciosas – Casa da AIDS e no Serviço de Coloproctologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, SP, Brasil. **Conclusões** – HIV+ é um grande fator de risco no desenvolvimento de carcinoma espino-celular anal em indivíduos infectados por HPV. A avaliação desses pacientes não deve se restringir à erradicação de condilomas, mas principalmente incluir o rastreamento de lesões displásicas subclínicas potencialmente neoplásicas. Apesar dos métodos de rastreamento ainda não serem ideais, o grande benefício do rastreamento baseia-se no fato de oferecer acompanhamento rigoroso, tornando possível a prevenção ou detecção cada vez mais precoce do carcinoma espino-celular anal.

DESCRIPTORIOS - Rastreamento. Lesões pré-cancerosas. Neoplasias do ânus. HIV.

Correspondência:

Sergio Carlos Nahas
e-mail: sergionahas@uol.com.br

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesses: não há

Recebido para publicação: 18/12/2010
Aceito para publicação: 25/01/2011

HEADINGS - Tracking. Premalignant lesions. Anus neoplasms. HIV

ABSTRACT - Introduction - Squamous cell carcinoma of the anal canal is a disease that affects the middle-aged adults and accounts for 4% of cancers of the gastrointestinal tract below. In the general population the incidence is 1 in 100,000, and among men who have sex with men the incidence is 35 per 100,000 inhabitants, those with HIV have doubled this risk (70 per 100,000 inhabitants). **Methods** - Was performed literature review in consultation with periodic Medline / Pubmed, Lilacs and Scielo crossing Trackingm, Precancerous conditions, Anus neoplasms and HIV descriptors. Besides the review, was added to this work the authors' personal experiences, and obtained at the Department of Gastroenterology - Surgical Division, in ICESSP - Cancer Institute of the State of São Paulo Octavio Frias de Oliveira, in Department of Diseases Infectious - House of AIDS and in the Department of Coloproctology, Hospital das Clinicas, University of São Paulo, Brazil. **Conclusions** - HIV + is a major risk factor in developing squamous cell carcinoma anal in individuals infected with HPV. The evaluation of these patients should not restrict itself to the eradication of warts, but mainly include the screening of subclinical dysplastic lesions potentially neoplastic. Despite the screening methods are still not ideal, the great benefit of screening is based on the fact offer closely monitored, making possible the prevention or detection of increasingly early anal squamous cell carcinoma.

INTRODUÇÃO

O carcinoma espino-celular (CEC) do canal anal é doença que atinge os adultos de meia idade e corresponde a 4% dos cânceres do trato gastrointestinal baixo. Na população geral a incidência é de 1 em 100.000 habitantes, e entre os homens que fazem sexo com homens essa incidência atinge 35 por 100.000 habitantes, sendo que os portadores de HIV têm esse risco duplicado (70 por 100.000 habitantes)¹.

Os CEC estão intimamente associados à infecção crônica pelo papiloma vírus humano (HPV), a um estado de imunossupressão (sorologia positiva para HIV, indivíduos transplantados em uso de imunossuppressores, etc), ao intercurso anal receptivo e ao antecedente pessoal de neoplasias ou displasias de alto grau do colo uterino e/ou vulvar⁷.

Em analogia ao câncer do colo uterino, o câncer do canal anal é precedido por lesões pré-neoplásicas denominadas de neoplasias intra-epiteliais anais (NIA) ou simplesmente displasia anal. O exame citológico do canal anal identifica essas lesões e as classifica em displasia de baixo grau (correspondente a NIA 1) ou de alto grau (correspondentes a NIA 2 e 3). Quanto maior o grau de displasia, maior é o risco dessa lesão evoluir a câncer¹³.

MÉTODO

Foi realizada revisão da literatura com consulta nos periódicos das bases Medline/Pubmed, Scielo e Lilacs cruzando os descritores Rastreamento, Lesões pré-cancerosas, Neoplasias do ânus e HIV. Além da revisão bibliográfica, foi adicionada a este trabalho a experiência pessoal dos autores, e a obtida no Departamento de Gastroenterologia - Divisão Cirúrgica, no ICESP - Instituto do Câncer do Estado de São Paulo Octávio Frias de Oliveira, no Departamento de Moléstias Infeciosas - Casa da AIDS e no Serviço de Coloproctologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Em estudo prospectivo executado pelos autores, 250 indivíduos masculinos com idade média de 41 anos e HIV positivos consecutivos foram submetidos ao programa de rastreamento, independente da sua sintomatologia. A frequência de displasia anal observada foi de 70%, sendo mais alta naqueles que apresentavam condiloma em relação àqueles sem condiloma (82,7% vs 55,2%, $p < 0,001$), assim como também entre o grupo dos pacientes praticantes do intercurso anal receptivo (89% versus 10%; $p = 0,004$), destacando-se, portanto, esses dois fatores como de alto risco para a presença de displasia anal.

O papel do HPV na carcinogênese do câncer anal
O HPV é um DNA vírus pertencente à família

Papovaviridae, gênero *Papiloma*, espécie *papiloma vírus humano*. Seu genoma é composto por regiões codificadoras e regiões reguladoras. Estudos biomoleculares dos tipos oncogênicos de HPV mostraram que a atividade carcinogênica desse vírus pode ser atribuída principalmente pela ação das proteínas E6 e E7. Essas proteínas provocam mutações no gene p53 e no gene codificador da proteína Rb. O p53 codifica a proteína p53, que é um importante supressor tumoral, pois além de agir na interrupção do ciclo celular impedindo a progressão da divisão mitótica, também induz à apoptose de células mutadas. A proteína Rb, quando no estado hipofosforilado, impede a continuidade do ciclo celular, regulando seu início. Mutações nos genes codificadores dessas proteínas conferem ao tumor a propriedade de iniciar e progredir no ciclo celular independente dos sinais de crescimento^{8,10,25}.

Existem mais de 100 tipos diferentes de HPV, com pelo menos 40 tipos capazes de infectar a região ano-genital, dos quais aproximadamente 15 são oncogênicos. Os tipos 16 e 18 são os tipos oncogênicos mais frequentes^{17,26}.

O HPV é o agente sexualmente transmissível mais frequente no mundo, sendo que 75% dos adultos sexualmente ativos contraem um ou mais dos 40 tipos durante sua vida¹⁹. No Brasil, infecção pelo HPV chegou a representar 23,4% das doenças sexualmente transmissíveis comunicadas ao Ministério da Saúde. Os principais fatores de risco para transmissão do HPV são o número de parceiros sexuais, o estado civil, e os hábitos sexuais^{2,22}.

Sabe-se que a infecção persistente por HPV é uma importante causa de desenvolvimento do CEC do colo uterino. Ele no canal anal se assemelha ao do colo uterino de acordo com sua característica histopatológica e, por isso, estudos sugerem que a infecção por HPV também possa ser importante fator de risco para esse câncer. Pacientes com displasia anal apresentam incidência aumentada de HPV na região ano-genital e essa incidência é ainda maior quando associado a co-infecção pelo HIV^{19,27}. Os tipos 16,18, 33 e 35 podem ser encontrados em até 85% dos casos de carcinoma anal e em 80% a 90% dos casos de tumores de colo do útero^{18,28,29}.

Nos serviços dos autores, 64 pacientes aleatórios com sorologia positiva para HIV foram submetidos à pesquisa de infecção por HPV no canal anal pelo método da hibridização in situ e foram estratificados em 3 grupos: 1. não infectados por HPV; 2. infectados por HPV não-oncogênico; 3. infectados por HPV oncogênico. Todos foram submetidos a um exame de esfregaço anal para análise citológica, assim como à anuscopia com magnificação de imagem para biópsias de áreas suspeitas para pesquisa de displasia anal. De acordo com o exame de hibridização in situ, 19 pacientes não apresentaram infecção, 21 apresentaram infecção por tipos não-oncogênicos e 23 pacientes

apresentaram infecção por HPV de tipos oncogênicos. A presença de displasia anal foi estatisticamente significativa nos pacientes infectados tanto por tipos de HPV oncogênicos [Risco Relativo de 9.5 (2.3-36.7, IC95%; $p=0.002$)] quanto por tipos não oncogênicos [RR de 6.4 (1.6-24.8, IC95%; $p=0.007$)] quando comparados aos indivíduos sem infecção pelo HPV. Estes resultados demonstraram que a infecção por HPV, tanto por tipos oncogênicos quanto por não oncogênicos, caracterizou-se como fator de risco importante para displasia anal em pacientes portadores de HIV. Entretanto, discute-se ainda na literatura a realização rotineira deste exame, uma vez que alguns autores não encontraram benefício na sua realização⁵.

O HIV e o câncer anal

A infecção por HIV provoca intensificação da ação oncogênica do HPV. A diminuição da resposta imune, provocada pela diminuição de células CD4+, e a diminuição da imunidade local, facilitam a multiplicação viral e permitem o aparecimento de lesões mais graves que podem evoluir para displasia e câncer¹⁹. Além disso, o vírus HIV aumenta a expressão das proteínas E6 e E7 do HPV. Normalmente, o DNA do HPV apresenta-se em nosso organismo na forma de um epissomo circular. Nessa forma o vírus não consegue expressar as proteínas oncogênicas (E6 e E7). A infecção por HIV diminui a expressão da proteína E2, que é responsável por manter o formato circular do DNA viral, e, portanto aumenta a expressão de E6 e E7, potencializando seu poder carcinogênico^{4,14}.

A introdução do tratamento com terapia antiviral altamente ativa contribuiu significativamente para melhora do estado imunológico dos pacientes infectados pelo HIV, diminuindo significativamente a carga viral e contribuindo para a elevação dos níveis de linfócitos CD4+⁶. O aumento da imunidade colaborou para a queda na prevalência de diversas doenças oportunistas tais como infecção pelo citomegalovírus, herpes simples e molusco contagioso, assim como também contribuiu para a diminuição de neoplasias relacionadas ao HIV como o sarcoma de Kaposi e linfomas não-Hodgkin⁶. No entanto, a incidência de neoplasia intra-epitelial anal e câncer de canal anal permaneceram em ascensão⁶. Supõe-se que o aumento da sobrevida dos indivíduos infectados pelo HIV permite que haja mais tempo para a displasia anal progredir para o carcinoma invasivo.

A prevalência de câncer anal em pacientes portadores do HIV é maior em relação à população geral^{2,21}. Da mesma forma a prevalência do HPV também é aumentada, sendo que a maioria dos pacientes soropositivos pertencentes ao grupo de HSH é infectada pelo vírus e, frequentemente, há a contaminação por múltiplos tipos de HPV.

Apesar das fortes evidências, a literatura ainda carece de estudos que comprovem definitivamente a interação HIV, HPV e câncer anal. Em âmbito nacional,

praticamente não existem dados sobre o assunto. A definição do grau de interação dessas entidades pode permitir maior número de diagnósticos precoces do câncer anal e de suas lesões precursoras, melhorando seu prognóstico e até mesmo diminuindo sua incidência.

Manifestações clínicas e sub-clínicas da infecção anal pelo HPV

A infecção por HPV pode apresentar lesões condilomatosas ou apresentar quadro sub-clínico sem nenhuma alteração perceptível, sinal ou sintoma.

As lesões clínicas são representadas pelos condilomas acuminados, vulgarmente conhecidos por "crista de galo". São lesões que podem variar em número e tamanho, mas que de uma forma geral acabam levando o paciente a procurar atendimento médico por receio, desconforto, dificuldade para higiene local após evacuação, prurido, temor e principalmente por ter sua vida sexual comprometida com a rejeição pelo parceiro.

Por outro lado, os tipos oncogênicos apresentam quadro silencioso (sub-clínico) que se traduz por alterações do epitélio do canal anal, não ocasionando nenhuma lesão macroscópica, sinal ou sintoma. Por esta razão, muitas vezes o paciente não tem conhecimento de sua contaminação, não tem sua vida sexual comprometida, e assim, não procura atendimento médico, favorecendo a persistência da infecção e maior risco para o desenvolvimento de neoplasia.

Por esses motivos, os autores vêm realizando o rastreamento de rotina nos seguintes grupos de risco: 1. imunossuprimidos (HIV positivos ou por outras causas, independentemente da prática do intercurso anal); 2. praticantes do intercurso anal (incluindo homens e mulheres, independente do estado imunológico); 3. indivíduos com displasia genital (diagnosticada por esfregaço vaginal, biópsia por colposcopia ou peniscopia); 4. indivíduos com presença ou histórico de condilomas anais e/ou genitais

Modos de rastreamento de lesões precursoras do CEC anal

Em relação aos indivíduos HIV positivos, não existe ainda consenso quanto ao melhor método e periodicidade que deve ser realizado o rastreamento, tão menos com relação à população HIV negativa (não existem algoritmos estabelecidos pelas sociedades de coloproctologia brasileira ou americana). Entretanto, existe um algoritmo proposto por alguns autores americanos que é o mais aceito atualmente. Ele inicia-se pelo esfregaço anal, reservando-se a anoscopia com magnificação de imagem para aqueles indivíduos com resultado alterado (qualquer resultado sugestivo de infecção pelo HPV ou displasia).

Exames de rastreamento

a. Raspado anal (exame citológico)

O raspado anal pode ser colhido através de uma

escova cervical padrão para coleta de células (Vagispec R, Adlin Plásticos Ltda, SC, Brasil) por 3 cm no canal anal, girando-a três vezes no sentido horário em toda a parede do canal anal para obtenção de células. A escova é aplicada em uma lâmina de vidro convencional para leitura microscópica que será imersa em solução de álcool 70% para fixação do material.

b. Biópsia guiada por anoscopia de magnificação de imagem

Inicia-se o exame com toque digital seguido da introdução do anuscópio para viabilizar a inserção de uma gaze embebida com ácido acético a 3%. O anuscópio é retirado e a gaze permanece por 40 segundos para garantir a absorção do ácido pela mucosa. Após a retirada da gaze, o anuscópio é re-introduzido e, então, inicia-se o exame com o aparelho de magnificação de imagem. O canal anal é analisado em diferentes aumentos. Áreas do epitélio do canal anal que se coram com o ácido acético a 3% (áreas "acetobranças positivas") e apresentam irrigação vascular anormal que confere ao epitélio um aspecto de pontilhado fino ou grosseiro, são consideradas suspeitas para displasia e, portanto, são biopsiadas. O anuscópio é retirado e a área perianal é analisada também após aplicação de uma gaze com ácido acético a 3%. Áreas evidenciadas pelo ácido, ou com mudança de pigmentação ou consistência, ou presença de ulcerações devem ser biopsiadas..

Acurácia dos métodos de rastreamento

Até o momento, seis estudos avaliaram a eficácia do exame citológico anal calculando a sensibilidade e especificidade do teste através de uma comparação com resultados histológicos obtidos por biópsia guiada por anoscopia com magnificação de imagem^{5,9,11,20,23,25}. Nesses estudos, a sensibilidade do exame citológico variou de 69% a 93%, e a especificidade de 32% a 59%. Além disso, esses estudos relataram concordância variável entre os dois métodos, não superando a marca de 74% (com k ponderado=0,36)¹¹. Esses resultados se assemelham aos encontrados em estudos comparativos de exame citológico cervical e de biópsias do colo uterino, que revelaram concordância de 64% a 91% (com $k=0,18$ a $0,65$)^{3,12}.

Frente ao exposto, está sendo realizado nos serviços dos autores um estudo prospectivo com o intuito de avaliar a concordância entre a citologia oncológica por esfregaço e a biópsia por anoscopia com magnificação guiada pelo uso do ácido acético a 3% no diagnóstico de displasia anal em pacientes portadores de HIV. O estudo ainda está em andamento, porém resultados preliminares com consecutivos 222 pacientes HIV positivos submetidos a um total de 311 exames de esfregaço anal em período de 12 meses revelaram os seguintes resultados: 1. a maioria dos pacientes era do sexo masculino (85%), com escolaridade acima do 2º grau (80%), praticantes de sexo anal receptivo (82%), em uso de antiretrovirais (79%) e com carga viral

HIV indetectável (67%); 2. as biópsias (padrão-ouro) mostraram prevalência de 46% (IC 95%: 40% - 51%) de displasia anal; 3. o esfregaço anal obteve sensibilidade de 61%, especificidade de 60%, valor preditivo positivo de 56% e valor preditivo negativo de 64%. O índice kappa ponderado de concordância entre os dois métodos empregados (esfregaço e biópsia) foi de 0,20 (IC 95%: 0,103 - 0,292).

Frente a estes resultados, o uso do esfregaço anal isoladamente não foi suficiente para excluir displasia anal. Portanto, tem-se recomendado a realização de biópsias guiada por anoscopia com magnificação de imagem como exame complementar no rastreamento de displasia anal em doentes de alto risco.

Vale lembrar que o rastreamento não se deve limitar ao canal anal exclusivamente, mas também a região perianal, onde com relativa frequência observa-se desde leves alterações de pigmentação da epiderme, verrugas planas, até úlceras persistentes que podem simular infecções herpéticas ou sifilíticas, mas que na verdade representam lesões displásicas de alto grau, inclusive contendo focos de carcinoma microinvasivo de poucos milímetros¹⁶. Em recente revisão de 52 pacientes HIV positivos que procuraram o Memorial Sloan Kettering Cancer Center por queixas orificiais, 19 (37%) apresentavam anormalidades na região perianal notadas à anoscopia com magnificação de imagem e que foram biopsiadas. Dentre eles, 11 pacientes (21% do total) tinham lesões displásicas de alto grau ou carcinoma microinvasivo. Esse número poderia ser ainda maior, considerando que apenas foram biopsiados os indivíduos com lesões suspeitas, ressaltando-se assim a importância do exame minucioso da região perianal¹⁵.

CONCLUSÕES

HIV+ é um grande fator de risco no desenvolvimento de CEC anal em indivíduos infectados por HPV. A avaliação desses pacientes não deve se restringir à erradicação de condilomas, mas principalmente incluir o rastreamento de lesões displásicas subclínicas potencialmente neoplásicas. Apesar dos métodos de rastreamento ainda não serem ideais, o grande benefício do rastreamento baseia-se no fato de oferecer acompanhamento rigoroso, tornando possível à prevenção ou detecção cada vez mais precoce do CEC anal.

REFERÊNCIAS

1. Clark MA, Hartley A, Geh JI. Cancer of the anal canal. *Lancet Oncol.* 2004 Mar;5(3):149-57.
2. Critchlow CW, Holmes KK, Wood R, Krueger L, Dunphy C, Vernon DA, Daling JR, Kiviat NB. Association of human immunodeficiency virus and anal human papillomavirus infection among homosexual men. *Arch Intern Med.* 1992 Aug;152(8):1673-6.

3. DiBonito L, Falconieri G, Tomasic G, Colautti I, Bonifacio D, Dudine S. Cervical cytopathology. An evaluation of its accuracy based on cytohistologic comparison. *Cancer*. 1993 Nov 15;72(10):3002-6.
4. Dyson N, Howley PM, Münger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*. 1989 Feb 17;243(4893):934-7.
5. Fox PA, Seet JE, Stebbing J, Francis N, Barton SE, Strauss S, Allen-Mersh TG, Gazzard BG, Bower M. The value of anal cytology and human papillomavirus typing in the detection of anal intraepithelial neoplasia: a review of cases from an anoscopy clinic. *Sex Transm Infect*. 2005 Apr;81(2):142-6.
6. Heard I, Palefsky JM, Kazatchkine MD. The impact of HIV antiviral therapy on human papillomavirus (HPV) infections and HPV-related diseases. *Antivir Ther*. 2004 Feb;9(1):13-22.
7. Holly EA, Whittemore AS, Aston DA, Ahn DK, Nickoloff BJ, Kristiansen JJ. Anal cancer incidence: genital warts, anal fissure or fistula, hemorrhoids, and smoking. *J Natl Cancer Inst*. 1989 Nov 15;81(22):1726-31.
8. Indinnimeo M, Cicchini C, Stazi A, Giarnieri E, French D, Limiti MR, Ghini C, Vecchione A. Human papillomavirus infection and p53 nuclear overexpression in anal canal carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 1999 Mar;18(1):47-52.
9. Lee A, T. The evaluation of anal dysplasia with anal cytology (Pap) followed by high resolution anoscopy (HRA) and biopsy in HIV-infected men. *Int Conf AIDS*, v.15. 2004.
10. Martin F, Bower M. Anal intraepithelial neoplasia in HIV positive people. *Sex Transm Infect*. 2001 Oct;77(5):327-31.
11. Mathews WC, Sitapati A, Caperna JC, Barber RE, Tugend A, Go U. Measurement characteristics of anal cytology, histopathology, and high-resolution anoscopic visual impression in an anal dysplasia screening program. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004 Dec 15;37(5):1610-5.
12. Mayeaux EJ Jr, Harper MB, Abreo F, Pope JB, Phillips GS. A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. *J Fam Pract*. 1995 Jan;40(1):57-62.
13. Melbye M, Sprøgel P. Aetiological parallel between anal cancer and cervical cancer. *Lancet*. 1991 Sep 14;338(8768):657-9.
14. Münger K, Scheffner M, Huibregtse JM, Howley PM. Interactions of HPV E6 and E7 oncoproteins with tumour suppressor gene products. *Cancer Surv*. 1992;12:197-217.
15. Nahas CS, Lin O, Weiser MR, Temple LK, Wong WD, Stier EA. Prevalence of perianal intraepithelial neoplasia in HIV-infected patients referred for high-resolution anoscopy. *Dis Colon Rectum*. 2006 Oct;49(10):1581-6.
16. Nahas SC, Nahas CS, Silva Filho EV, Levi JE, Atui FC, Marques CF. Perianal squamous cell carcinoma with high-grade anal intraepithelial neoplasia in an HIV-positive patient using highly active antiretroviral therapy: case report. *Sao Paulo Med J*. 2007 Sep 6;125(5):292-4.
17. Nicolau, S. M. Diagnóstico do HPV no homem. In: (Ed.). HPV na prática clínica. São Paulo: Atheneu, 2005. Diagnóstico do HPV no homem, p.95-103.
18. Noffsinger AE, Hui YZ, Suzuk L, Yochman LK, Miller MA, Hurtubise P, Gal AA, Fenoglio-Preiser CM. The relationship of human papillomavirus to proliferation and ploidy in carcinoma of the anus. *Cancer*. 1995 Feb 15;75(4):958-67.
19. Palefsky J. Biology of HPV in HIV infection. *Adv Dent Res*. 2006 Apr 1;19(1):99-105.
20. Palefsky JM, Holly EA, Hogeboom CJ, Berry JM, Jay N, Darragh TM. Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1997 Apr 15;14(5):415-22.
21. Palefsky JM, Holly EA, Hogeboom CJ, Ralston ML, DaCosta MM, Botts R, Berry JM, Jay N, Darragh TM. 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 Syndr Hum Retrovirol*. 1998 Apr 1;17(4):314-9.
22. Palefsky JM, 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 HIV-negative homosexual men. *J Infect Dis*. 1998 Feb;177(2):361-7.
23. Panther LA, Wagner K, Proper J, Fugelso DK, Chatis PA, Weeden W, Nasser IA, Doweiko JP, 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*. 2004 May 15;38(10):1490-2.
24. Salit IJ. Anal cancer screening: test characteristics of cytology and oncolytic HPV testing for detection of anal dysplasia [abstract 899]. In Program and abstracts of the 12th Annual Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. 2005.
25. Sobhani I, Vuagnat A, Walker F, Vissuzaine C, Mirin B, Hervatin F, Marmuse JP, Crémieux AC, Carbon C, Henin D, Lehy T, Mignon M. Prevalence of high-grade dysplasia and cancer in the anal canal in human papillomavirus-infected individuals. *Gastroenterology*. 2001 Mar;120(4):857-66.
26. Tilston P. Anal human papillomavirus and anal cancer. *J Clin Pathol*. 1997 Aug;50(8):625-34.
27. Williams AB, Darragh TM, Vranizan K, Ochia C, Moss AR, Palefsky JM. Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet Gynecol*. 1994 Feb;83(2):205-11.
28. Williams GR, Lu QL, Love SB, Talbot IC, Northover JM. Properties of HPV-positive and HPV-negative anal carcinomas. *J Pathol*. 1996 Dec;180(4):378-82.
29. zur Hausen H. Papillomavirus in anogenital cancer: the dilemma of epidemiologic approaches. *J Natl Cancer Inst*. 1989 Nov 15;81(22):1680-2.