



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
MESTRADO EM PATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

LIANA RABELO CAVALCANTE

**CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E PESQUISA DE GENÓTIPOS DE HPV POR
RT-PCR DE AMOSTRAS CERVICAIS E INTRA-ANAIS EM PACIENTES DE
TRANSPLANTE RENAL**

FORTALEZA – CEARÁ

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C364c Cavalcante, Liana Rabelo.

Citologia em meio líquido e pesquisa de genótipos de HPV por RT-PCR de amostras cervicais e intra-anais em pacientes de transplante renal / Liana Rabelo Cavalcante. – 2017.
50 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina,
Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. José Eleutério Júnior.

1. DNA-HPV. 2. Imunossupressão. 3. Citologia em meio líquido. I. Título.

CDD 571.9

LIANA RABELO CAVALCANTE

CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E PESQUISA DE GENÓTIPOS DE HPV POR
RT-PCR DE AMOSTRAS CERVICAIS E INTRA-ANAIS EM PACIENTES DE
TRANSPLANTE RENAL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Mestre em Patologia. Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Prof. Dr. José Eleutério Junior

FORTALEZA – CEARÁ

2017

LIANA RABELO CAVALCANTE

CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E PESQUISA DE GENÓTIPOS DE HPV POR
RT-PCR DE AMOSTRAS CERVICAIS E INTRA-ANAIS EM PACIENTES DE
TRANSPLANTE RENAL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de mestre em Patologia. Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Prof. Dr. José Eleutério Junior

Aprovada em: __/__/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Eleutério Junior Orientador
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida
Universidade Federal do Ceará- UFC

Prof. Dr. Roberto Wagner Bezerra Araújo
Universidade Federal do Ceará- UFC

Profa. Dra. Ana Katherine da Silveira Gonçalves de Oliveira
Universidade Federal do Rio Grande do Norte- UFRN

Ao meu orientador, Prof. Eleutério, que muito me apoiou a ingressar nessa etapa da vida e que esteve presente em toda a caminhada.

À minha filha, Manuela, por toda força e apoio nos momentos de dificuldades.

AGRADECIMENTOS

Eu aprendi...“que algumas vezes tudo o que precisamos é uma mão para segurar”.

Aos meus pais que acreditaram em meus valores e me guiaram pela estrada da vida.

Aos meus filhos, Mario e Manuela, motivos de minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Eleutério, incentivador, apoiador, presente e amigo.

Aos amigos, Ana Coelho, Jesoni, Sâmia e Thermut, sempre juntos, confortando e apoiando.

Às minhas irmãs que, mesmo de longe, estavam sempre juntas.

Aos meus colegas do HGF pela compreensão e apoio.

Aos professores do Departamento de Patologia pela dedicação ao ensino.

A Valeria e Paula, secretárias do Departamento, pela paciência e cooperação.

Aos colegas do Curso de Mestrado, sempre unidos no mesmo objetivo, ajudando nos momentos de dificuldades.

Às pacientes transplantadas renais, que permitiram que esse estudo fosse realizado.

Eu aprendi... “que vai demorar muito para me transformar na pessoa que quero ser, e devo ter paciência. Mas, aprendi também, que posso ir além dos limites que eu próprio coloquei”.

(Charles Chaplin)

Eu aprendi... “que heróis são pessoas que fizeram o que era necessário fazer, enfrentando as consequências”.

(William Shakespeare)

“Quando a gente acha que tem todas as respostas, vem a vida e muda todas as perguntas”.

(Luis Fernando Veríssimo)

RESUMO

A infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) é responsável pela doença sexualmente transmissível (DST) mais frequente e um dos micro-organismos que mais causa infecções em indivíduos imunossuprimidos. O DNA-HPV está presente em 99,7% de todos os casos de câncer cervical. Além disso, quando se trata de câncer anal, o HPV é encontrado nos sítios da lesão em mais de 90% dos casos. Estima-se que mulheres transplantadas submetidas a terapias de imunossupressão têm até quatorze vezes mais chances de desenvolver câncer cervical e cem vezes mais chances de desenvolver câncer anal, quando comparadas a mulheres normais. A citologia oncótica é o método de rastreio de lesões do colo do útero e ânus. Atualmente, existem vários métodos de biologia molecular, entre eles a reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR), que se destaca por sua alta sensibilidade e por detectar individualmente os tipos de HPV. Assim, a proposta do estudo foi avaliar a frequência de infecção por HPV em colo de útero e canal anal de pacientes transplantadas renais (TR), através de citologia em meio líquido e RT-PCR. Trata-se de um estudo de corte transversal realizado no Hospital Geral de Fortaleza (HGF) no período de março a setembro de 2015. Foram incluídas 31 mulheres com TR, onde foi realizada a coleta de material cervical e anal para citologia em base líquida e RT-PCR. Foram anotados dados sociocomportamentais e as frequências dos achados de citologia e RT-PCR em colo e ânus em planilha de Excel. Para avaliar significância e o risco relativo foi aplicado o teste exato de Fisher. A idade média das pacientes foi de 42,6(\pm 10,4) anos, o número médio de parceiros sexuais foi 2,4(\pm 1,8), ao coitarca foi referida em média com 19,7(\pm 3,8) anos, o número de gestações em média 1,9(\pm 1,7). Dentre os casos 45,2% das mulheres referiram coito anal. Nenhuma mulher referiu tabagismo, uso de álcool ou outras drogas. A citologia cervical atípica e a citologia intra-anal atípica ocorreram em 25,4% das mulheres submetidas a transplante renal. A pesquisa de HPV de alto risco por RT-PCR foi positiva no colo uterino em 22,6% dos casos. Já no ânus foi identificado HPV de alto risco em 35,5%. No colo uterino o tipo 16 foi observado em 6,6% e o 18 em 16,1% de mulheres, enquanto no ânus o tipo 16 foi observado em 18,8% e o 18 em 6,6% de mulheres. Em 70,9% dos casos houve concordância de diagnóstico de atipia citológica entre colo uterino e canal anal e em 67,8% dos casos houve concordância de genótipos de HPV entre colo uterino e canal anal. O risco

relativo para citologia em meio líquido intra-anal atípica conforme a citologia cervical anormal foi cerca de 4 vezes maior, enquanto, a presença de HPV de alto risco por PCR no colo não apresentou risco aumentado e o HPV intra-anal identificado foi associado a um risco relativo cerca de 10 vezes maior. Conclui-se que as citologias cervical e anal atípicas e a presença de DNA-HPV de alto risco nos dois sítios foi relativamente frequente e com risco relativo importante para atipia a partir de citologia cervical atípica e HPV de alto risco positivo no ânus.

Palavras-chave: DNA-HPV. Ânus. Imunossupressão. Transplante renal. Citologia em meio líquido.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) is responsible for the sexually transmitted disease (STD) more common and one of the micro-organisms that cause most infections in immunosuppressed individuals. The DNA HPV is present in 99.7% of all cervical cancer cases. Furthermore, when dealing with anal cancer, HPV is found in lesion sites in over 90% of cases. It is estimated that transplanted women undergoing immunosuppression therapies have up to fourteen times more likely to develop cervical cancer and a hundred times more likely to develop anal cancer compared to normal women. The cytology is the screening method of the uterus and cervix anal lesions. Currently, there are several methods of molecular biology, including the polymerase chain reaction in real time (RT-PCR), which stands out for its high sensitivity and individually detect the HPV types. Thus, the purpose of this study was to evaluate the frequency of HPV infection in cervical and anal canal of kidney transplanted patients (TR) through cytology in liquid medium and RT-PCR. It is a cross-sectional study conducted at the General Hospital of Fortaleza (HGF) in the period from March to September 2015. We included 31 women with TR, where the collection of cervical and anal material for cytology was performed on a net basis and RT-PCR. They were noted socio-behavioral data and the frequencies of the cytology and RT-PCR in colon and anus in Excel spreadsheet. To assess significance and relative risk Fisher's exact test was used. The average age of patients was 42.6 (\pm 10.4) years and the average number of partners was 2.4 (\pm 1.8), the first sexual intercourse was refried an average of 19.7 (\pm 3.8) years, the average number of pregnancies 1.9 (\pm 1.7). Among the cases 45.2% of women reported anal intercourse. No woman said smoking, use of alcohol or other drugs. The atypical cervical cytology and atypical intra-anal cytology occurred in 25.4% of women undergoing kidney transplantation. The high-risk HPV research by RT-PCR was positive in the cervix in 22.6% of cases. In the anus has identified high-risk HPV in 35.5%. The cervix type 16 was observed in 6.6% and the 18 in 16.1% of women, while the anus type 16 was observed in 18.8 % and 18 in 6.6% of women. In 70.9% of cases there was agreement diagnostic cytologic atypia of cervical and anal canal and in 67.8% of cases there was agreement HPV genotypes between cervical and anal canal. The relative risk for cytology in atypical intra-anal liquid medium as abnormal cervical cytology was about 4 times higher, while the presence of high-risk

HPV PCR in colon showed no increased risk and intra-anal HPV identified was associated a relative risk about 10 times higher. It follows that the atypical cytology cervical and anal and the presence of HPV DNA in both high-risk sites was relatively frequent and important relative risk for atypia from atypical cervical cytology and high risk HPV positive anus.

Keywords: HPV DNA.Anus.Immunosuppression. Renal transplant.Liquid-based cytology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Escova de Rovers® Cervex-Brush® e frasco para armazenar amostras BD SurePath Liquid-Based Pap Test.....	24
Figura 2 – Coleta de material de canal anal com escova de <i>Cytobrush</i>	26
Figura 3 – Representação da junção escamocolunar do canal anal.	26
Figura 4 – Sistema de Bethesda.	27
Figura 5 – Citologia em meio líquido (Surepath®) de colo uterino evidenciando lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (1000x).....	28
Figura 6 – Citologia em meio líquido (Surepath®) de amostra intra-anal evidenciando lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (400x).	28
Figura 7 – Cobas® 4800 System.	29
Figura 8 – Aparelho colposcópico DFVasconcelos.	30

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Características sociocomportamentais do grupo de mulheres transplantadas renais no período de março de 2015 a setembro de 2015 (n=31).....
- Tabela 2 – Características sociocomportamentais do grupo de mulheres transplantadas renais no período de março de 2015 a setembro de 2015 (n=31).....
- Tabela 3 – Citologia em meio líquido (Surepath) do colo uterino em 31 mulheres submetidas a transplante renal.
- Tabela 4 – Citologia em meio líquido (Surepath) intra-anal em 31 mulheres submetidas a transplante renal.
- Tabela 5 – Comparação entre achados de citologia em meio líquido (Surepath) de colo e intra-anal em 31 mulheres submetidas a transplante renal.
- Tabela 6 – Risco relativo para citologia em meio líquido (Surepath) intra-anal atípica conforme os resultados da citologia em meio líquido (Surepath) do colo uterino.
- Tabela 7 – Resultado da pesquisa de DNA-HPV de alto risco por PCR em tempo real no colo uterino de 31 pacientes transplantadas renais.....
- Tabela 8 – Resultado da pesquisa de DNA-HPV de alto risco por PCR em tempo real no ânus de 31 pacientes transplantadas renais.
- Tabela 9 – Comparação dos resultados da pesquisa de DNA-HPV por PCR em tempo real no colo uterino e ânus de 31 pacientes transplantadas renais.
- Tabela 10 – Associação entre genótipos de HPV de alto risco identificados por PCR em tempo real entre 31 mulheres transplantadas renais.....
- Tabela 11 – Risco relativo para citologia em meio líquido (Surepath) intra-anal atípica conforme os resultados da pesquisa de DNA-HPV por PCR em tempo real em colo uterino e ânus.....

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	Alto Risco
ASC US	Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado
ASC H	Células Escamosas Atípicas que Não Pode Excluir Lesão de Alto Grau
CEC	Carcinoma Espinocelular
CML	Citologia em Meio Líquido
DNA	Xxx
DP	Desvio Padrão
DST	Doença Sexualmente Transmitida
HGF	Hospital Geral de Fortaleza
HPV	Papiloma Vírus Humano
HSIL	Lesão Intraepitelial de Alto Grau
IVS	Início de Vida Sexual
LSIL	Lesão Intraepitelial de Baixo Grau
NIC	Xxx
NML	Negativo para Lesão Intraepitelial ou Malignidade
PCR	Reação de Cadeia Polimerase
PTGI	Patologia do Trato Genital Inferior
RT-PCR	Reação de Cadeia Polimerase em Tempo Real
TR	Transplante Renal
ZT	Zona de Transformação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	JUSTIFICATIVA	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	Objetivo geral.....	21
3.2	Objetivos específicos.....	21
4	METODOLOGIA.....	22
4.1	Desenho do estudo	22
4.2	População do estudo	22
4.3	Considerações éticas.....	22
4.4	Amostra	23
4.5	Métodos.....	23
4.5.1	Coleta e processamento do material cervical.....	23
4.5.1.1	<i>Técnica de coleta.....</i>	<i>23</i>
4.5.1.2	<i>Técnica de processamento da amostra.....</i>	<i>24</i>
4.5.2	Coleta e processamento do material anal.....	25
4.5.2.1	<i>Técnica de coleta.....</i>	<i>25</i>
4.5.2.2	<i>Técnica de processamento da amostra.....</i>	<i>26</i>
4.5.3	PCR em tempo real.....	28
4.5.4	Colposcopia	30
4.5.4.1	<i>Passos do exame</i>	<i>30</i>
4.6	Análise estatística	31
5	RESULTADOS	32
6	DISCUSSÃO	39
7	CONCLUSÃO.....	43
	REFERÊNCIAS.....	44
	ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	49
	ANEXO B - PROTOCOLO DE PESQUISA.....	51

1 INTRODUÇÃO

O Papiloma vírus humano (HPV) é um Papovavírus composto por cerca de 8.000 pares de bases, cuja variação genômica permite a identificação de mais de 200 tipos virais, dos quais, cerca de 50 são associados a lesões genitais e destes, em torno de 14 identificados como de alto risco oncogênico (BORGES; SCHOR, 2005; GIRALDO et al., 2009). O HPV é um vírus capaz de infectar células basais de todas as camadas mucosas e pele humanas e eles geralmente são classificados em HPV de alto ou baixo risco oncogênico. Sua replicação é lenta e ocorre exclusivamente no núcleo da célula infectada. Eles não se disseminam para outros sítios através do sangue não existindo viremia no curso da infecção (MÜNGER; HOWLEY, 2002).

A transmissão do vírus geralmente acontece por via sexual, mas também pode ocorrer transmissão vertical e através de fômites (COLLINS et al., 2009). O genoma desse vírus codifica 9 proteínas diferentes, onde se destacam E6 e E7. A proteína E6 é responsável por inibir a ação de uma proteína celular chamada p53, que está relacionada a indução da apoptose na célula. Já a proteína viral E7 interage inativando outra proteína celular chamada pRb, que está relacionada a inibição da proliferação celular. As interações das oncoproteínas E6 e E7 com P53 e pRb causam instabilidade no material genético da célula. Isso faz com que ela acabe acumulando mutações que podem levar à formação da neoplasia (COLLINS et al., 2009). A ação oncogênica induzida pelo HPV é um processo que se inicia pela persistência da infecção viral, se fazendo necessárias as alterações genéticas para que a célula infectada se torne totalmente maligna (BAEZ et al., 2012).

Cerca de 80% das mulheres sexualmente ativas irão adquirir, ao longo de suas vidas, infecção por HPV. Em todo o mundo, aproximadamente 291 milhões de mulheres são portadoras do HPV, sendo 32% infectadas pelos tipos 16 e 18 ou ambos (SANJOSÉ et al., 2007).

A integração do genoma do HPV ao genoma humano é uma etapa fundamental para a transformação neoplásica. A infecção por HPV isoladamente não é capaz, por si só, de induzir progressão para neoplasia invasora se fazendo necessário outros eventos moleculares para o surgimento de fenótipo invasivo (VALENTE et al., 2013).

O vírus de alto risco dos tipos 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59, e 68 tem probabilidade maior de persistirem e estarem associados a lesão maligna. Em mais de 90% dos casos de câncer de colo de útero são encontrados DNA de HPV de alto risco. Por outro lado, o câncer anal tem associação com o HPV em 90% dos casos. Vagina e pênis também apresentam lesões associadas ao vírus, porém, com menor frequência (NADAL; MANZIONE, 2010). A associação do vírus HPV com o câncer do colo do útero está muito bem estabelecida, especialmente os tipos 16 e 18, responsáveis por 70% dos cânceres cervicais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Ocorrem aproximadamente 530mil casos novos de carcinoma cervical por ano no mundo, sendo o quarto tipo de câncer mais comum entre as mulheres, responsável por 265 mil óbitos por ano e a quarta causa de morte por câncer em mulheres. A estimativa para câncer do colo do útero no Brasil para 2016 é de 16.340. Em 2013 ocorreram 5.430 óbitos por esta neoplasia no Brasil (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2015).

O câncer anal é raro e representa 1 a 2% de todos os tumores de colón/reto e de 2 a 4% de todos os tipos de câncer que acometem o intestino grosso. São tumores que ocorrem no canal e bordas externas do ânus. Os tumores no canal do ânus são mais frequentes entre as mulheres. Os que surgem nas bordas do ânus são mais comuns no homem. Os tumores malignos surgem em tipos diferentes de tecidos, sendo o carcinoma epidermoide responsável por 85% dos casos (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2015). O grupo mais predisposto a ter esse tipo de câncer são pessoas com mais de 50 anos, fumantes, com história de fístula anal, infectados pelo HPV e com feridas no ânus. O número de mortes por câncer anal, no Brasil, em 2013 foi de 348 casos, sendo 106 homens e 242 mulheres (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2015). Entretanto, o número de casos tem aumentado nos últimos anos, em especial em determinados grupos, como homossexuais masculinos, HIV positivos e imunossuprimidos (DARRAGHet al., 2012).Noventa por cento dessas neoplasias estão associadas ao HPV de alto risco oncogênico (SEHNALet al., 2014).

Em indivíduos imunocompetentes a maioria das infecções é transitória, pois o sistema imune é capaz de eliminar a infecção sem que o vírus cause nenhuma anormalidade. Estudos sugerem que 90%das infecções irão desaparecer em dois anos (BAEZet al., 2012). As NIC(inserir significado da sigla) podem regredir,

persistir ou progredir para carcinomas invasivos. O período de evolução de uma NIC para o carcinoma invasivo é de aproximadamente 12 a 15 anos (SNIJDERS; STEENBERGEN; HEIDEMAN, 2006). As taxas de regressão espontânea entre as mulheres infectadas pelo HPV variam de 56,7%, 50,4% e 12,2% nas NIC 1, 2 e 3, respectivamente. A progressão para carcinomas invasivos nas mulheres positivas para HPV é de 14,2%, 22,4% e 64% nas NIC 1, 2 e 3, respectivamente (BRENNAN; SYRJÄNEN, 2003). Na imunossupressão tem sido atribuída uma maior persistência de infecção cervical por HPV (STRICKLER et al., 2005). O sistema imune dos pacientes imunossuprimidos dificilmente será capaz de conter a infecção e o vírus pode se replicar com maior facilidade. Tomemos como exemplo a incidência de lesões pré-malignas associadas ao HPV em mulheres transplantadas renais. Nestas pacientes o risco de desenvolver câncer cervical aumenta em quatorze vezes e o risco de câncer anal chega a aumentar em cem vezes, fortalecendo que a imunodeficiência é um fator de risco para a malignidade (HINTEN et al., 2012). Por esse motivo, nos pacientes sob terapia imunossupressora o rastreamento e a genotipagem desse vírus deve receber atenção redobrada. A imunossupressão pode também aumentar o risco de progressão da doença (KELLER et al., 2012).

Dentre os muitos fatores presentes na fase pós-transplante capazes de induzirem uma maior incidência desta complicação estão as alterações da imunidade induzida pelo uso crônico de agentes imunossupressores, acarretando distúrbios da vigilância imunológica, da estimulação antigênica crônica e da imunorregulação (PAULA; IANHEZ, 1999).

Estudos anteriores relataram um aumento do risco para lesões pré-malignas, em receptores de transplante renal, causadas pelo Papilomavírus humano (HPV), em regiões anogenitais associadas. Um percentual de três a seis vezes maior risco foi encontrado para câncer cervical e um aumento de dez vezes do risco para câncer anal (ADAMI, 2003; BUELL; GROSS; WOODLE, 2005). Essa incidência tem aumentado nas últimas décadas ascendendo cerca de trinta vezes em pacientes adeptos do sexo anal receptivo (PALEFSKY, 2006). Regimes imunossupressores atuais têm melhorado a aceitação do enxerto e sobrevida do paciente após o transplante renal. O lado negativo do tratamento imunossupressor por tempo prolongado é um aumento na ocorrência acumulada de lesões pré-malignas, especialmente aqueles associados com infecções virais (BUELL; GROSS; WOODLE, 2005).

Savaniet al. (2008) encontraram aumento de prevalência de displasia cervical em pacientes transplantadas, sem vida sexual ativa por um longo tempo, sugerindo a reativação do HPV nesse grupo.

O Brasil é o segundo país no mundo em número de transplante e o segundo em número absoluto em transplante renal, entre 30 países, durante os anos 2013. A estimativa de transplante renal para 2014 foi de 11.445 no Brasil, tendo, no entanto, sido realizados 5.639 (GARCIA; PACHECO, 2015).

Os pacientes que são submetidos a transplante renal devem fazer uso, no período pós-transplante, de imunossuppressores, medicamentos que evitam a rejeição de órgãos transplantados, conhecido como principal causa de perda do enxerto (RIELLA et al., 2003).

Até pouco tempo atrás, o principal problema que os pacientes transplantados enfrentavam, era a rejeição ao órgão transplantado. Mas após a introdução das terapias de imunossupressão aos protocolos de transplantes, o número de rejeições diminuiu consideravelmente. Hoje, pacientes submetidos ao transplante renal (RT), por exemplo, têm sobrevida maior que um ano em mais de 90% dos casos (HINTENet al., 2012).

Técnicas de proteção ao órgão transplantado estão cada vez mais sofisticadas e eficientes, contudo, mesmo com o grande avanço alcançado nos últimos anos, os pacientes transplantados ainda precisam de acompanhamento especial. Apesar dessas drogas, imunossupressoras, serem capazes de aumentar significativamente a qualidade e sobrevida desses pacientes, existe um grande aumento na incidência de infecções oportunistas (HINTENet al., 2012).

Um estudo americano realizou uma comparação da incidência de cânceres associados ao HPV entre uma amostra de 187.649 pacientes transplantados e a população geral. O que se observou foi um elevado aumento na incidência de neoplasias associadas ao HPV no grupo de transplantados (MADELEINE et al., 2013).

Grupos como homens que fazem sexo com homens e HIV positivos têm sido bastante estudados com relação ao uso de citologia intra-anal, principalmente convencional, na prevenção de câncer de ânus (PALEFSKY., 2011). No entanto, outros grupos e mesmo indivíduos imunocompetentes têm sido motivo de pesquisa. Foi possível observar que a prevalência de DNA-HPV entre 222 homens heterossexuais foi 16,6% para canal anal e 21,3% para área perianal (NYITRAY et

al., 2008). Já em um estudo de coorte em mulheres no Havaí (*Hawaii HPV Cohortstudy*) foi observada uma prevalência de 27% de HPV anal. Durante um seguimento médio de 1,3 anos, 70% das mulheres desenvolveram infecção anal por HPV (GOODMAN et al., 2008).

O diagnóstico de infecção por HPV pode se dá por exames de citologia oncológica, estudo anatomopatológico e por detecção do DNA viral em amostras coletadas (VALENTE et al., 2013).

Além do teste de citologia convencional, tradicionalmente usado há mais de 30 anos, novas tecnologias têm se juntado ao arsenal diagnóstico disponível para a detecção precoce desse tipo de neoplasia, entre as quais se incluem a citologia em meio líquido e os testes para detecção do HPV por PCR em tempo real. A citologia em meio líquido é um método segundo o qual as células são imersas em líquido conservante antes da fixação da lâmina, o que evita o ressecamento do material e reduz a quantidade de artefatos. O material residual pode ser utilizado para o diagnóstico, por meio de métodos biomoleculares, de infecções sexualmente transmissíveis (como clamídia e gonococcia) e também para o HPV (BERNADETE et al., 2002).

A reação de amplificação em tempo real (RT-PCR) é uma variante da reação de PCR convencional, tecnologia inovadora que se destaca por facilitar sobremaneira as tarefas de quantificação da expressão gênica em determinado tecido ou amostra biológica, sem a necessidade de eletroforese ou hibridizações posteriores à PCR. Na biologia molecular, a PCR quantitativo em tempo real (*real time quantitative PCR*) é uma técnica de laboratório baseada no princípio da reação em cadeia da polimerase (PCR) para multiplicar ácidos nucleicos e quantificar o DNA obtido. Combina a metodologia de PCR convencional com um mecanismo de detecção e quantificação por fluorescência. A metodologia permite que os processos de amplificação, detecção e quantificação de DNA sejam realizadas em uma única etapa, agilizando a obtenção de resultados e diminuindo o risco de contaminação da amostra e dando maior precisão. No que tange a contaminações por amplicons, é uma técnica muito segura, uma vez diminui, substancialmente, o risco de contaminação ambiente uma vez que não existe a necessidade de se abrir os tubos após o término da reação. Um dos testes comercialmente disponíveis e que se utiliza dessa metodologia é o *Cobas® 4800 Human Papillomavirus* (ROCHE), que se trata de um teste qualitativo *in vitro* para a detecção desse vírus. O teste possibilita a

detecção de 14 tipos de HPV de alto risco (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68) numa única análise sendo capaz de identificar o tipo específico de HPV quando se tratar de infecções causadas pelos tipos 16 e/ou 18.

A citologia anal pode ser útil para rastreio de câncer anal em populações de alto risco, e, associados aos biomarcadores podem ajudar como controle de qualidade da citologia anal (DARRAGH et al., 2013). A sensibilidade e especificidade de uma única amostra de citologia anal são comparáveis a de uma amostra única cervical, mas a interpretação citológica nem sempre se correlaciona com a severidade da lesão (BEAN; CHHIENG, 2010).

A citologia anal é uma ferramenta útil para detecção precoce de displasia intra-anal em pacientes de risco como as mulheres HIV (+) (GINGELMAIER et al., 2010). Portanto, o rastreio de lesão intra-anal e mesmo infecção por HPV em mulheres submetidas à imunossupressão é de extrema importância para a prevenção, avaliação e acompanhamento (SEHNAL et al., 2014).

A citologia anal destaca-se pela sua alta sensibilidade, entre 69% a 98%, no entanto, é um método que não tem uma boa especificidade (NADAL et al., 2007).

A citologia anal pode servir para rastreamento de lesões pré-neoplásicas, selecionando doentes para colposcopia anal e biopsias (JACYNTHO, 2009). Já a pesquisa de HPV de alto risco, por sua maior sensibilidade, pode ser realizada previamente a citologia, principalmente entre imunossuprimidos (SENDAGORTA et al., 2015).

Neste intento, poucos estudos têm avaliados métodos de rastreio para lesão intra-anal em transplantadas renais. Não havendo nenhum no estado de Ceará.

2 JUSTIFICATIVA

Mulheres submetidas a transplante renal sob regime de imunossupressores tendem a ter uma maior possibilidade de infecção por HPV e desenvolvimento de lesões precursoras de carcinoma intra-anal. No entanto, não tem sido realizado estudo em mulheres nestas circunstâncias no Brasil tendo como instrumento de rastreio e diagnóstico, citologia em meio líquido e genotipagem de HPV por RT-PCR. Muito menos avaliando a correlação entre colo e ânus. O diagnóstico precoce de lesões intraepiteliais do ânus, reconhecidas como lesões precursoras do câncer anal, com maior frequência em mulheres imunodeprimidas, favorece tratamento precoce e maior possibilidade de cura.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a frequência de infecção por HPV e lesões associadas de colo de útero e canal anal de pacientes imunodeprimidas por transplante renal, através de citologia em meio líquido e PCR em tempo real.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a frequência de lesão por HPV em colo de útero em mulheres transplantadas renais através de citologia em meio líquido;
- Avaliar a frequência de lesão por HPV em canal anal em mulheres transplantadas renais através de citologia em meio líquido;
- Avaliar a frequência de genótipo de HPV, em especial os tipos 16 e 18 em colo de útero em mulheres transplantadas renais através de PCR em tempo real;
- Avaliar a frequência de genótipos de HPV, em especial o 16 e 18, em canal anal em mulheres transplantadas renais através de PCR em tempo real;
- Avaliar a concomitância e concordância de citologia em meio líquido de colo de útero e canal anal em mulheres transplantadas renais;
- Avaliar a concomitância e concordância de genótipo de HPV de colo de útero e canal anal em mulheres transplantadas renais;
- Identificar risco de citologia intra-anal atípica conforme citologia cervical e pesquisa de DNA-HPV no colo;
- Identificar risco de DNA-HPV intra-anal conforme citologia cervical e pesquisa de DNA-HPV no colo.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de corte transversal, realizado no período de abril de 2015 a setembro de 2015, no Hospital Geral de Fortaleza (HGF), no município de Fortaleza-Ceará.

4.2 População do estudo

Participaram do estudo mulheres submetidas a transplante renal, em uso de drogas imunossupressoras, que procuraram atendimento ginecológico no ambulatório de Patologia do Trato Genital inferior (PTGI) do HGF e encaminhada do setor de transplante. Incluídas pacientes com mais de 18 anos, não grávidas e que aceitaram se submeter ao estudo.

4.3 Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Geral de Fortaleza sob o número de registro 1.021.512 de 09/04/2015 CAAE: 41837615.7.0000.5040.

Os critérios éticos foram baseados em diretrizes e normas regulamentares de pesquisas que envolvem seres humanos no território brasileiro, conforme as regulamentações da Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) N° 466/12 que incorpora, sob a ótica do indivíduo e das coletividades, os referenciais básicos da bioética, e que visa, sobretudo, assegurar os direitos e deveres da comunidade científica, dos participantes da pesquisa e do estado.

Todos os envolvidos foram consultados previamente sobre o interesse de participar da pesquisa, após esclarecimento sobre os objetivos da pesquisa e os seus benefícios. A fase de coleta de exames teve início após terem sido prestados estes esclarecimentos. Foi solicitado que assinassem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE, para a participação na pesquisa (ANEXO A).

4.4 Amostra

Foram incluídas mulheres que realizaram transplante renal, em uso de drogas imunossupressoras, oriundas do setor de transplante do Hospital Geral de Fortaleza e atendidas no ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior (PTGI) com idade acima de 18 anos, que aceitaram se submeter ao estudo. Excluídas mulheres que compareceram à consulta, grávidas, com história de câncer cervical ou anal e em uso de quimioterapia ou radioterapia. Foram obtidos dados como, idade, paridade, uso de drogas, cor, início de vida sexual (IVS), número de parceiros na totalidade e no último ano, DST anteriores, métodos contraceptivos nos últimos dois anos, prática de coito anal, uso de drogas, fumo ou álcool (ANEXO B).

Após os esclarecimentos à paciente, realizado a coleta de citologia do canal cervical com escova de Rovers® Cervex-Brush® e fixada em kit de meio líquido Surepath seguido de coleta de canal anal com escova de Campos da Paz (*cytobrush*), seguindo os mesmos passos. O material foi encaminhado para processamento de citologia em meio líquido com preparo de lâminas e o material residual foi processado em sistema de Cobas® 4800 para genotipagem de HPV.

Feito registro da última citologia e realizado exame de colposcopia do colo do útero em um aparelho DF Vasconcelos.

4.5 Métodos

4.5.1 Coleta e processamento do material cervical

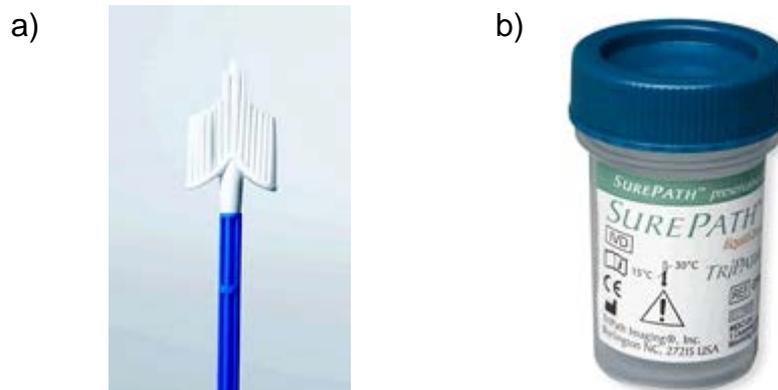
Após posição de litotomia onde a paciente permanece em decúbito dorsal, com as pernas flexionadas, afastadas e apoiadas em perneiras, procedeu-se a coleta da citologia cervical.

4.5.1.1 Técnica de coleta

- a) Afastamento dos pequenos lábios vulvares com introdução do espéculo em posição vertical e ligeiramente inclinado (45° da posição da mesa) em rotação, deixando-o em posição transversa, de modo que a fenda da abertura do espéculo fique na posição horizontal;

- b) Após visualização do colo, iniciado a coleta de material cervical utilizado escova do tipo Rovers® Cervex-Brush® (FIGURA 1a).A seguir foi realizado movimento de rotação em 360° no sentido horário;
- c) Retirada da escova do canal cervical, desconectado a ponta e colocado em um tubo de 10 ml de solução conservante a base de etanol do SurePath, cujo objetivo é preservar as células, possibilitando tanto o estudo molecular como a preparação do esfregaço para a coloração de Papanicolaou (FIGURA 1b);
- d) Retirada do espéculo em movimento rotatório;
- e) Após a transferência da ponta da escova de Rovers® Cervex-Brush® para o frasco e desprezado a haste, o frasco foi fechado, identificado com o nome da paciente, e encaminhado para o laboratório.

Figura1 – Escova de Rovers® Cervex-Brush® e frasco para armazenar amostras BD SurePathLiquid-BasedPap Test.



Fonte: a) Rovers Medical Devices B.V. (2017); b) BD - Becton, Dickinson and Company (2017).

4.5.1.2 Técnica de processamento da amostra

- a) Em laboratório, todo o material contido no frasco foi processado para montagem das lâminas. Em nenhum momento o frasco foi aberto. Utilizado seringas para transferir o líquido para tubos de centrifugação com líquido de densidade, a fim de separar as células de hemácias, muco e leucócitos e facilitar a visualização das células, em equipamento BDPrepMate®. Após a centrifugação retirou-se o sobrenadante com a

bomba de vácuo e utilizou-se solução tampão. Agitou-se o frasco com o material coletado no agitador vortex e pipetado 500 a 1000µl no Mega funil e centrifugado a 1.000rpm por 10 min e, posteriormente, foi lavado com álcool para fixar as células por diversas vezes;

- b) Para coloração foi utilizado corador automático de marca Cellstain-15. Após coradas, as lâminas foram montadas em capela, utilizando lamínulas específicas fornecidas pela BD (*Becton, Dickinson and Company*) e encaminhadas para a microscopia, onde as lâminas foram lidas. A leitura foi feita em microscópio óptico e os laudos foram dados utilizando a nomenclatura do sistema de Bethesda (2001 *apud* INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2012).

4.5.2 Coleta e processamento do material anal

4.5.2.1 Técnica de coleta

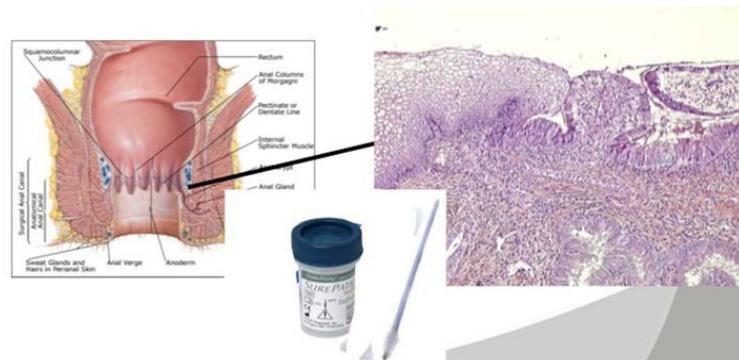
- a) Após a retirada do espécuro vaginal e com a paciente ainda em posição de litotomia, procedeu-se o afastamento das nádegas, visualização do canal anal, com introdução de escova do tipo *cytobrush* (FIGURA 2) até o desaparecimento completo de suas cerdas, cerca de 3 centímetros do esfíncter anal externo até alcançar a linha pectínea, seguido de movimento de rotação de 360°;
- b) Retirada da escova do canal anal, desconectado a porção superior e colocado em um tubo contendo 10 ml de solução conservante a base de etanol do SurePath, cujo objetivo é preservar as células, possibilitando tanto o estudo molecular como a preparação do esfregaço para a coloração de Papanicolaou (FIGURA 3);
- c) Após transferência de parte da escova de *cytobrush* para o frasco e desprezado a haste, o frasco foi fechado, identificado com o nome da paciente, e encaminhado para o laboratório;
- d) Após realizado os exames, a amostra coletada permaneceu refrigerada (2-8°C).

Figura 2 – Coleta de material de canal anal com escova de *Cytobrush*.



Fonte: Benício (2013).

Figura 3 – Representação da junção escamocolunar do canal anal.



Fonte: Internet (2017).

4.5.2.2 Técnica de processamento da amostra

a) Em laboratório, todo o material contido no frasco foi processado para montagem das lâminas. Em nenhum momento o frasco foi aberto. Utilizado seringas para transferir o líquido para tubos de centrifugação com líquido de densidade, a fim de separar as células de hemácias, muco e leucócitos e facilitar a visualização das células, em equipamento BDPrepMate®. Após a centrifugação retirou-se o sobrenadante com a bomba de vácuo e utilizou-se solução tampão. Agitou-se no vortex e pipeta dentro de um delimitador na lâmina, onde ficou por alguns minutos,

e posteriormente foi lavado com álcool por diversas vezes para fixar as células;

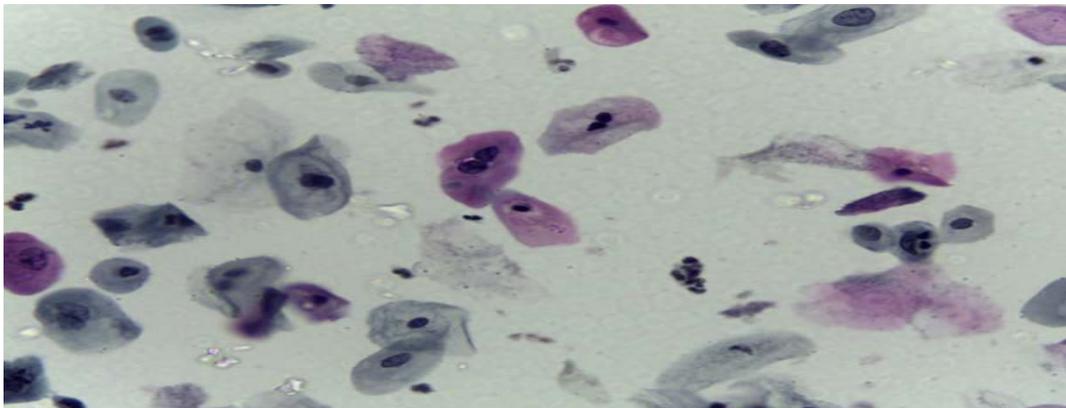
b) Para coloração foi utilizado corador automático de marca Cellstain-15. Após coradas, as lâminas foram montadas em capela, utilizando lamínulas específicas fornecidas pela BD e encaminhadas para a microscopia, onde as lâminas foram lidas. A leitura foi feita em microscópio óptico e os laudos foram dados utilizando a nomenclatura do sistema de Bethesda(2001 *apud* INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2012) (FIGURA4). Negativo para lesão intraepitelial ou neoplasia (NML), atipias de células escamosas de significado indeterminado (ASC US), células escamosas atípicas que não permitem excluir uma lesão de alto grau (ASC H), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) e carcinoma de células escamosas (CEC) (FIGURAS 5 e 6).

Figura 4 – Sistema de Bethesda.

Bethesda (cytology)
Negative for intraepithelial lesions malignancy (NILM)
ASCUS ASC-H
LSIL
HSIL
Cancer

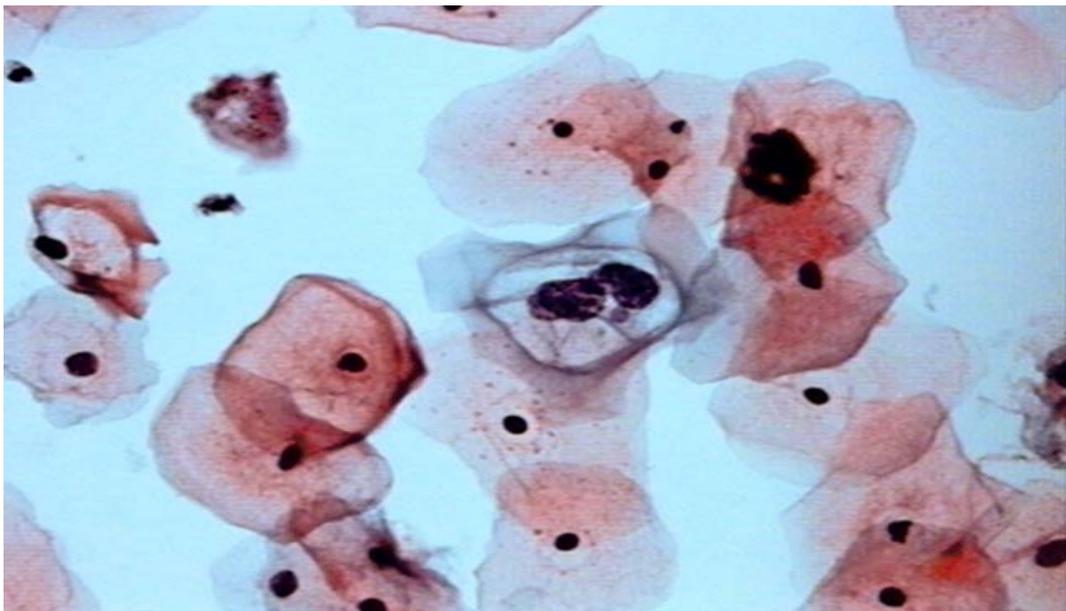
Fonte: Internet (2017).

Figura 5 – Citologia em meio líquido (Surepath®) de colo uterino evidenciando lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (1000x).



Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

Figura 6 – Citologia em meio líquido (Surepath®) de amostra intra-anal evidenciando lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (400x).



evidenciando lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (400x).

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

4.5.3 PCR em tempo real

Para o RT-PCR foi utilizado o restante do material presente no frasco da citologia em meio líquido. O teste é capaz de detectar 14 tipos de DNA HPV, Alto Risco (AR) 31,33,35,39,45,51,52,56,58,66,68, em uma única análise, e os tipos

específicos 16 e 18. É um teste quantitativo *in vitro* que permite a detecção do DNA HPV em amostras do paciente, sem a necessidade de eletroforese ou hibridizações. A análise de positividade ou negatividade se faz em tempo real, na tela do computador. O teste tem a sua própria extração de ácidos nucleicos automatizados e acoplada ao preparo das placas, cabendo ao operador simplesmente colocar as placas de PCR no termociclador.

O princípio do método consiste em multiplicar um trecho específico do DNA (gene ou parte dele, regiões supervariáveis, *Junk* DNA, etc.) utilizando desoxinucleotídeos como monômeros até um ponto em que sua concentração em dada solução seja tão alta que possa ser facilmente detectável por métodos simples e clássicos de separação e identificação de substâncias. A multiplicação destes trechos específicos se dá alternando-se a temperatura de ensaio entre: a) desnaturação das cadeias do DNA genômico; b) anelamento (“annealing”) dos “primers”, usados para delimitar a sequência a ser amplificada; c) temperatura ótima específica da enzima: 72°C; d) reinício do ciclo.

O sistema Cobas® 4800 é um teste automatizado que tem como objetivos eliminar a dificuldade o fluxo manual, reduzir o TAT e aumentar a escala, oferecer uma plataforma para testes de “screening” (ex.: Clamídia/Neisseria Gonorreia e HPV), desempenho tanto do ponto de vista analítico quanto clínico, ajustado aos algoritmos e “guidelines” dos testes atuais (FIGURA 7). É um teste qualitativo multiplex em um único tubo, com detecção simultânea de 12 genótipos de alto risco (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68), identifica separadamente HPV tipos 16 e 18 e tem β -globina como controle interno, que reduz a possibilidade de resultado falso-negativo, alertando quando a amostra não possui células coletadas. E apresenta quatro canais de detecção para medir os diferentes alvos.

Figura 7 – Cobas® 4800 System.



Fonte: Laboratório Professor Eleotério da Costa(LABPEC) (2017).

4.5.4 Colposcopia

Todas as mulheres foram submetidas a exame de colposcopia do colo do útero após a coleta do material cervical, pelo próprio pesquisador. Para o exame foi utilizado um aparelho de marca DFVasconcelos, CP-M1255 (FIGURA 8).

Figura8 – Aparelho colposcópicoDFVasconcelos.



Fonte:DFVasconcelos (2017).

4.5.4.1 Passos do exame

- a) Avaliação macroscópica do colo do útero com descrição dos aspectos gerais (coloração da mucosa, aspecto do muco, etc.);
- b) Registro de exame adequado ou inadequado;
- c) Especificado a visibilidade da junção escamocolunar: completamente visível, parcialmente visível, e não visível bem como o tipo de zona de transformação (ZT) (1, 2 ou 3). ZT tipo 1 é completamente ectocervical e completamente visível, de pequena ou grande extensão. A ZT tipo 2 tem componente endocervical completamente visível e pode ter componente ectocervical de pequena ou grande extensão. A ZT tipo 3 tem componente endocervical que não é completamente visível e pode ter componente ectocervical de pequena ou grande extensão;
- d) Após a aplicação de ácido acético a 5%, descrito os achados colposcópicos utilizados de acordo com as recomendações das diretrizes

brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2016);

e) Achados anormais foram divididos em grau 1, grau 2 e não específicos: Grau 1 (menor): epitélio acetobranco fino, de borda irregular ou geográfica; mosaico fino; pontilhado fino; Grau 2 (maior): epitélio acetobranco denso, acetobranqueamento de aparecimento rápido, orifícios glandulares espessados; mosaico grosseiro; pontilhado grosseiro; margem demarcada; sinal da margem interna;

f) Após a aplicação da solução de lugol, descrito o achado como corado ou não corado.

4.6 Análise estatística

Os questionários foram devidamente revisados pelo pesquisador com os dados digitados em programa Microsoft Excel 2007.

Foram avaliadas as frequências dos achados de citologia e PCR em colo e ânus em planilha de Excel e foram aplicados teste exato de Fisher e risco relativo considerando dois grupos (um com citologia intra-anal negativa e outro com citologia intra-anal atípica) para um intervalo de confiança de 95% (IC95%) utilizando o software GraphPadPrism 6.0.

5 RESULTADOS

Foram avaliadas 31 mulheres transplantadas renais com idade que variou de 31 a 70 anos média de 42,6(\pm 10,4). Em relação ao número de parceiros sexuais, em toda a vida, apresentou uma média de 2,4(\pm 1,8). Sobre o início de vida sexual apresentaram idades variando entre 14 a 30 anos, média de 19,7(\pm 3,8). Quanto a paridade apresentou uma média de gestação de 1,9(\pm 1,7), sendo, partos 1,6(\pm 1,7) e abortos 0,3(\pm 0,7). A prática de coito anal foi referida em 14(45,2%) das mulheres. Dentre os métodos contraceptivos usados o condom representou 10(32,3%), a laqueadura tubária 2(6,5%) e história de vasectomia 1(3,2 %). Nenhuma mulher referiu tabagismo, uso de álcool ou outras drogas. História de DST foi referido 11(35,5%) das mulheres (TABELAS 1 e 2).

Tabela 1 – Características sociocomportamentais do grupo de mulheres transplantadas renais no período de março de 2015 a setembro de 2015 (n=31).

Variáveis	X(DP)
Idade	42,6(10,4)
Paridade	
gestação	1,9(1,7)
partos	1,6(1,7)
abortos	0,3(0,7)
Nº parceiros sexuais na vida	2,4(1,8)
Nº parceiro último ano	1(0,7)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

X=média; DP=desvio padrão.

Tabela 2 – Características sociocomportamentais do grupo de mulheres transplantadas renais no período de março de 2015 a setembro de 2015 (n=31).

Variáveis	n (%)
História de DST	11(35,5)
Coito anal	14(45,2)
Contracepção	
condom	10(32,3)
laqueadura tubária	2(6,5)
vasectomia	1(3,2)
Fumo	0(0)
Álcool	0(0)
Drogas	0(0)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

n(%)= número de casos/%

Em relação aos resultados da última citologia cervical, 15(48,4%) das mulheres apresentaram resultado negativo para lesão intraepitelial ou malignidade (NML), 3(9,7%) ASC US, 5(16,2%) LSIL e 8(25,8%) não portavam os resultados. Já nos achados da colposcopia 22(71%) mostraram resultados normais, 8(25,9%) achados menores e 1(3,2%) achado maior.

Nos achados da citologia cervical em meio líquido, 23(74,2%) das mulheres tinham resultado negativo para lesão intraepitelial ou malignidade, com ASC US em 2(6,2%) dos resultados, ASC H em 1(3,1%) dos resultados, LSIL em 4(12,9%) dos resultados e carcinoma espinocelular em e 1(3,2%) dos resultados(TABELA 3).

Tabela 3 – Citologia em meio líquido (Surepath) do colo uterino em 31 mulheres submetidas a transplante renal.

CML colo	n(%)
NML	23(74,2)
ASC-US	2(6,2)
ASC-H	1(3,1)
LSIL	4(12,9)
HSIL	0(0)
CEC	1(3,2)
Inadequado	0 (0,0)
Total	31(100)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

n(%) = número de casos/%

Nos achados da citologia anal em meio líquido, obteve-se que 20(64,6%) dos resultados foram negativos para lesão intraepitelial ou malignidade, 1(3,2%) mostrou resultado de ASC US, 7(21,7%) mostraram resultados de LSIL e 3(9,7%) o material foi inadequado para estudo citológico (TABELA 4).

Tabela 4 – Citologia em meio líquido (Surepath) intra-anal em 31 mulheres submetidas a transplante renal.

CML ânus	n(%)
NML	20(64,6)
ASC-US	1(3,2)
ASC-H	0(0)
LSIL	7(21,7)
HSIL	0(0)
CEC	0(0)
Inadequado	3(9,7)
Total	31(100)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

n(%) = número de casos/%

NLM: negativo para lesão intraepitelial ou malignidade; ASC US: atipias de células escamosas com significado indeterminado; ASC H: células escamosa atípica que não podem afastar lesão de alto grau; LSIL: lesão intraepitelial de baixo grau; HSIL: lesão intraepitelial de alto grau; CEC: carcinoma espinocelular.

Considerando-se os resultados de citologia cervical em meio líquido e citologia anal em meio líquido, pode-se observar que em 18(58%) dos casos o diagnóstico de NML foi concordante nos dois, enquanto em 3(9,7%) mostraram LSIL na citologia de canal anal e normal no canal cervical. Duas citologias cervicais normais de canal cervical tiveram resultados inadequados na citologia do canal anal. Dentre os diagnósticos de ASC US em citologia cervical, 1(3,2%) se manteve na citologia anal e 1(3,2%) mostrou-se NML na citologia anal. No diagnóstico de LSIL, 3(9,7%) dos casos mantiveram o mesmo diagnóstico na citologia anal e cervical enquanto, 1(3,2%) caso de LSIL de canal cervical mostrou resultado normal no canal anal. Um único caso de carcinoma espinocelular (CEC) foi mostrado na citologia cervical com amostra inadequada na citologia anal. Nenhum dos exames citológico de meio líquido mostrou HSIL (TABELA 5).

Tabela 5 – Comparação entre achados de citologia em meio líquido (Surepath) de colo e intra-anal em 31 mulheres submetidas a transplante renal.

Colo	Ânus					
	NML	ASC-US	ASC-H	LSIL	CEC	INADE
NML	18(58%)	0(0%)	0(0%)	3(9,7%)	0(0%)	2(6,6%)
ASC-US	1(3,2)	1(3,2%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
ASC-H	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(0%)	0(0%)	0(0%)
LSIL	1(3,2%)	0(0%)	0(0%)	3(9,7%)	0(0%)	0(0%)
HSIL	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
CEC	1(3,2)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(3,2%)
Total	21(67,7%)	1(3,2%)	0(0%)	7(22,6%)	0(0%)	3(9,7%)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

NLM: negativo para lesão intraepitelial ou malignidade; ASC US: atipias de células escamosas com significado indeterminado; ASC H: células escamosa atípica que não podem afastar lesão de alto grau; LSIL: lesão intraepitelial de baixo grau; HSIL: lesão intraepitelial de alto grau; CEC: carcinoma espinocelular; INAD: inadequado.

Mediante os resultados observados e criando dois grupos de estudo, um de mulheres com citologia intra-anal negativa e outro de mulheres com citologia intra-anal positiva, foi possível avaliar o risco relativo para citologia intra-anal atípica em casos com citologia cervical com atipias. Assim, aplicando-se o teste exato de Fisher se observou uma significativa diferença com relação possibilidade de uma citologia intra-anal alterada quando de atipia citológica cervical ($p=0,014$), desta forma apresentando um risco relativo de 4,375 (IC 95%:1,3482 a 14,1976) (TABELA 6).

Tabela 6 – Risco relativo para citologia em meio líquido (Surepath) intra-anal atípica conforme os resultados da citologia em meio líquido (Surepath) do colo uterino.

Colo	Ânus			RR
	NML	Atípico	p^*	
NML	18(58%)	3(9,7%)	0,014 (1,3482 a 14,1976)	4,375
ASC-US/LSIL	2(6,6%)	4(12,9%)		
ASC-H/HSIL	0(0%)	1(3,2%)		
CEC	1(3,2%)	0(0%)		
Total	21(67,7%)	8(25,8%)		

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

NLM: negativo para lesão intraepitelial ou malignidade; ASC US: atipias de células escamosas com significado indeterminado; ASC H: células escamosa atípica que não podem afastar lesão de alto grau; LSIL: lesão intraepitelial de baixo grau; HSIL: lesão intraepitelial de alto grau; CEC: carcinoma espinocelular.

*Teste exato de Fisher; RR: risco relativo.

Excluídos 3 testes inconclusivos

Na identificação do DNA HPV cervical por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em tempo real, obteve-se 24(77,5%) de casos negativos, 1(3,2%) de casos positivos para o tipo 16,5(16,2%) de casos positivos para o tipo AR, 1(3,2 %) de caso positivo para os tipos AR+16 e 1(3,2%) inconclusivo (TABELA 7).

Tabela 7 – Resultado da pesquisa de DNA-HPV de alto risco por PCR em tempo real no colo uterino de 31 pacientes transplantadas renais.

PCR colo	n(%)
Negativo	24(77,5)
16	1(3,2)
AR	5(16,2)
AR+1	1(3,2)
Inconclusivo	1(3,2)
Total	31(100)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

n(%) = número de casos/%

PCR: reação de cadeia polimerase; AR: alto risco.

Já a identificação do DNA HPV anal por PCR em tempo real 16(51,2%) dos casos apresentaram resultados negativos, 7(22,6%) dos casos apresentaram resultados positivo para os tipos de AR, 2(6,6%) dos casos apresentaram resultados positivos para os tipos AR+16, 1(3,1%) dos casos positivo para os tipos AR+18 e 1(3,2 %) dos casos foi positivo para os tipos AR+16+18 e 4(12,9%) dos casos foi inconclusivo (TABELA 8).

Tabela 8 – Resultado da pesquisa de DNA-HPV de alto risco por PCR em tempo real no ânus de 31 pacientes transplantadas renais.

PCR ânus	n(%)
Negativo	16 (51,2)
AR	7 (22,6)
AR+16	2 (6,6)
AR+18	1 (3,1)
AR+16+18	1 (3,1)
Inconclusivo	4 (12,9)
Total	31 (100)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

PCR: reação de cadeia polimerase; AR: alto risco.

Considerando-se os resultados dos PCR em tempo real do colo do útero e o PCR em tempo real do canal anal, 15(48,4%) dos casos mostraram resultados negativos nos dois exames. Em 2(6,6%) resultados negativos do colo do útero tinham resultado positivo para o tipo 16 no canal anal. Em 1(3,2%) caso negativo do colo do útero mostrou resultado positivo para o tipo 18 no canal anal, e em 6(19,4%) casos negativos de colo de útero mostraram resultado positivo para os tipos de Alto Risco (AR) no canal anal. Em relação ao tipo 16,1(3,2%) caso mostrou-se positivo para o canal anal e colo de útero na mesma paciente e 1(3,2%) resultado positivo para o tipo 16 no colo do útero mostrou resultado positivo para o tipo de AR no canal anal. Nenhuma positividade isolada para o tipo 18 foi mostrado no PCR do canal anal ou colo do útero. O grupo de AR se mostrou positivo em 1(3,2%) caso de canal cervical com positividade para o tipo 16 no canal anal. Encontrado 5(16,2%) casos positivos para AR no colo do útero e canal anal da mesma paciente e 1(3,2%) único caso inconclusivo no colo do útero com resultado negativo no canal anal (TABELA 9).

Tabela 9 – Comparação dos resultados da pesquisa de DNA-HPV por PCR em tempo real no colo uterino e ânus de 31 pacientes transplantadas renais.

PCR colo útero	PCR ânus			
	Negativo	16	18	AR
Negativo	15(48,4%)	2(6,6%)	1(3,2%)	6(19,4%)
16	0 (0%)	1 (3,2%)	0 (0%)	1 (3,2%)
18	0 (%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)
AR	0 (0%)	1 (3,2%)	1 (3,25%)	5 (16,2%)
Inconclusivo	1 (3,2%)	0 (%)	0 (%)	0 (%)
Total	16 (51,4%)	4 (12,9%)	2 (6,4%)	12 (38,7%)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

PCR: reação de cadeia polimerase; AR: alto risco.

Resultado de associações de tipo de DNA HPV em uma mesma amostra foi observado em 1(3,2%) caso, com resultado de PCR em tempo real do colo do útero para os tipos AR e 16. Em 2(6,5%) casos com resultado de PCR do canal anal para os tipos AR e 16. Em 1(3,2%) caso com resultado no PCR de canal anal para os tipos AR e 18 e 1(3,2%) caso com resultado de PCR no canal anal para os tipos AR, 16 e 18 (TABELA 10).

Tabela 10 – Associação entre genótipos de HPV de alto risco identificados por PCR em tempo real entre 31 mulheres transplantadas renais.

Associações	Colo	Ânus
AR + 16	1 (3,2%)	2 (6,6%)
AR + 18	0 (0%)	1 (3,2%)
AR + 16 +18	0 (0%)	1 (3,2%)
16 + 18	0 (0%)	0 (0%)
Total	1 (3,2%)	4 (12,9%)

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

PCR: reação de cadeia polimerase; AR: alto risco.

Considerando o risco de citologia intra-anal atípica, levando-se em conta a pesquisa de DNA-HPV no colo uterino, observou-se não haver diferença significativa ($p=0,0704$). No entanto, quando de uma pesquisa de HPV positiva intra-anal houve diferença ($p=0,0197$) e um risco relativo de 10 para citologia intra-anal alterada (IC95%: 1.4491 a 71.5385) (TABELA 11).

Tabela 11 – Risco relativo para citologia em meio líquido (Surepath) intra-anal atípica conforme os resultados da pesquisa de DNA-HPV por PCR em tempo real em colo uterino e ânus.

PCR	Cito anal			
	NML	Atípico	p*	RR (IC 95%)
PCR cervical				
Negativo	17(54,8%)	5(12,2%)	0.0704	-
Positivo	2(6,4%)	3(9,7%)		
Total	19(61,2%)	8(25,8%)		
PCR anal				
Negativo	15(48,4%)	1(3,2%)	0.0197	10.1818 (1.4491 a 71.5385)
Positivo	4(12,9%)	7(22,6%)		
Total	19(61,3%)	8(25,6%)		

Fonte: Elaborada pelo autor (2017).

PCR: reação de cadeia polimerase; AR: alto risco

*teste de Fisher; RR: risco relativo

Excluído um teste inconclusivo e não foram levadas em conta associações.

6 DISCUSSÃO

São poucos os estudos mostrando a maior correlação de doenças pré-neoplásicas, causadas pelo vírus HPV, em colo de útero, em concomitância com o canal anal, em imunossuprimidos. No entanto, são muitos os estudos que relacionam a gravidade da imunossupressão com a persistência da infecção HPV em região anal (BEACHLER et al., 2013; GIULIANO et al., 2002; NYITRAY et al., 2011; STRICKLER et., 2003; XUE et al., 2010). Na imunossupressão tem sido atribuída uma maior persistência de infecção cervical por HPV (STRICKLER et al., 2005) como um maior risco de progressão da doença (KELLER et al., 2012). Já foi demonstrado uma maior susceptibilidade de pacientes transplantadas para infecção cervical por HPV. Além disso, sabe-se que as lesões neoplásicas mostram um perfil agressivo muito alto associado com multifocalidade neste grupo.

Dados da literatura demonstram analogia entre carcinogênese anal e cervical independente de ter ou não imunossupressão (JACYNTHO, 2005; MELBYE; SPRØGEL, 1991; SCHOLEFIELD et al., 1989). Vários estudos mostraram que a gravidade da imunossupressão está associada à persistência do HPV anogenital (BRANCA et al., 2003; MOSCICKI; PALEFSKY, 2011; REUSSER et al., 2015).

Neste estudo, em 31 mulheres de transplante renal, quando realizado CML, obtivemos 8(25,8%) de atipias citológicas de colo uterino e 8(25,8%) de atipias citológicas no canal anal. Jacyntho (2005) avaliou 211 mulheres com lesão intraepitelial genital e das nove com lesão anal e genital associadas, três eram imunossuprimidas (2 HIV e 1 transplantada renal) sugerindo a necessidade de maior vigilância anal em pacientes imunossuprimidas com lesão HPV induzida genital. Já em estudo de Eleutério et al. (2014) foi encontrado 17,8% de atipias citológicas em canal anal de um total de 62 pacientes imunocompetentes, sem lesão HPV genital, não diferindo muito dos nossos dados.

Em relação ao RT-PCR para HPV oncogênico, o presente estudo mostrou 22,6% de positividade em colo uterino enquanto, Meeuwiset al. (2015) mostraram uma prevalência de HPV oncogênico cervical em 17,4%.

O tempo de transplante renal não foi incluído em nossas variáveis, embora se saiba que dados na literatura indicam que a infecção por HPV, na forma de lesão condilomatosa aumenta com a duração do efeito imunossupressor em pacientes de transplante renal (DYALL-SMITH et al., 1991).

A idade média foi de 42,6(10,4) e relato de coito anal em 45,2% das mulheres. A idade média foi alta diferindo de estudos em imunocompetente que mostram uma maior prevalência de infecção em mulheres mais jovens. Já a frequência de coito anal não difere de outros estudos (GOODMAN et al., 2008; JACYNTHO, 2005; PIETRZAK et al., 2012; TACHEZY et al., 2007). Beachler et al. (2013) em estudo com homens e mulheres infectadas por HIV demonstraram que a incidência de HPV anal foi alta em homossexuais, mas também entre homens e mulheres heterossexuais sem história de sexo anal receptivo. Mostraram, ainda, ser a pouca idade, o número elevado de parceiros sexuais e a menor contagem de T-CD4, fatores associados a prevalência de infecção do HPV ($p < 0,05$). Benício (2013) mostrou que em 36 mulheres imunocompetentes com atipias celulares, 22(61,1%) tinham história de coito anal, porém com $p = 0,2094$. Nestas pacientes avaliadas, a média no número de parceiros sexuais recentes foi baixa de 1($\pm 0,7$). No entanto, relataram uma média de 2,4(1,8) de parceiros sexual por toda a vida. Hoje se sabe que um único parceiro é suficiente para a transmissão viral e que o estado imunodeprimido pode manter o vírus e por uma reativação da infecção latente devido ao estado imunodeprimido levar a lesões (ADAMI et al., 2013; DOORBAR, 2013).

A *International Agency for Research on Cancer* (2005) classifica o tabagismo como um cofator importante para lesões anogenitais. No entanto, neste estudo nenhuma paciente referiu ou de fumo ou outras drogas.

Neste estudo, o tipo de HPV mais dominante esteve no grupo de AR, sendo que, dos sete resultados de RT-PCR positivos no colo do útero, cinco foram positivos para os tipos de AR e um foi positivo para os tipos 16+AR. Dos onze RT-PCR positivo para o canal anal, sete foram positivos para os tipos AR, dois positivos para os tipos AR+16, um positivo para os tipos AR+18 e um positivo para os tipos AR+16+18. Estudos mostram que infecção por múltiplos HPV está relacionada com fator de risco para persistência do vírus (NIELSEN et al., 2010; SCHMEINK et al., 2011), podendo aumentar a carga viral global superando o controle imunológico. Pode-se especular que esse risco é ainda mais forte em pacientes imunossuprimidos. Em estudo de Aggarwal et al. (2014) realizado no Norte da Índia com mulheres de TR, inclui o 31 como um dos mais prevalentes justificando os nossos resultados. Já a prevalência em estudos de imunocompetentes aponta o 16 como o mais comum (JACYNTHO, 2005; RIBEIRO, 2009).

Levando em consideração os resultados de citologia em meio líquido de canal cervical e da citologia em meio líquido de canal anal, 5(16,2%) das mulheres apresentaram concordância nos resultados, mostrando atipias citológicas, sendo 3(9,7%) resultados para LSIL. Somente 2(6,5%) citologia positiva para o colo do útero mostraram resultado negativo para o canal anal e 1(3,2%) citologia de carcinoma do colo do útero não mostrou material adequado para citologia do canal anal. Em 70,9% dos casos houve concordância de diagnóstico de atipia citológica entre colo uterino e canal anal. Assim obtivemos um risco relativo em torno de 4 vezes maior para atipia citológica anal, quando se tem atipia citológica em colo uterino. Giraldo et al. (2009) em um estudo com 184 mulheres brasileiras, imunocompetentes, mostraram que havia uma importante associação entre lesões intraepiteliais cervicais e lesões intraepiteliais anais, encontrando uma prevalência de 17,4% de lesões anais nas pacientes com lesões genitais ($p=0,001$), o que não difere dos nossos resultados mesmo não tendo sido realizado em mulheres imunossuprimidas. Eleutério et al. (2015) em estudo com mulheres imunocompetentes observaram que em mulheres com lesão de colo HPV induzidas, 56(70%) tinham citologia anal em meio líquido diagnosticado como NML, 11(13,8%) com resultado de ASC US e 13(16,2%) com resultado positivo para LSIL ($p=0,117$).

No presente estudo, de 11(33,5%) mulheres com RT-PCR positivo de canal anal para tipos oncogênicos de HPV, 7(22,6%) apresentavam citologia de canal anal mostrando LSIL. Das 6(19,4%) mulheres com RT-PCR positivo cervical, 4(12,9%) apresentavam LSIL. Em 67,8% dos casos houve concordância de genótipos de HPV entre colo uterino e canal anal.

Estes dados estão de acordo com outros estudos que mostram maior prevalência de LSIL, dentre os achados citológicos alterados em pacientes transplantadas (ORIGONI et al., 2011). Estudo em imunocompetentes, Eleutério et al. (2015) observaram que em caso de positividade para DNA HPV anal, por captura híbrida, 27,7% tinha CML anal atípica ($p=0,0212$).

O presente estudo mostrou que presença de HPV de alto risco por PCR intra-anal e atipias celulares intra-anal está associada a um risco relativo cerca de 10 vezes maior. Já o estudo de Benício (2013), em mulheres imunocompetentes, não demonstrou associação significativa entre presença de DNA HPV anal e as atipias citológicas de canal anal. Um estudo de metanálise demonstrou a presença de DNA HPV por captura híbrida no carcinoma anal 84,3%, nas lesões intraepiteliais anais de

baixo grau 91,5% a nas lesões intraepiteliais anais de alto grau 93,9% (HUGOet al., 2009).

Nossos resultados demonstraram que a presença de HPV de alto risco por PCR no colo não apresentou risco aumentado e o HPV intra-anal identificado foi associado a um risco relativo cerca de 10 vezes maior.

Tratou-se de um estudo com um número relativamente pequeno, 31 mulheres transplantadas renais.No entanto, em um apanhado de 12 trabalhos, com metodologia semelhante a esse, a média de participante foi de 41,9.

7 CONCLUSÃO

Mediante os resultados observados conclui-se que:

- a) a citologia cervical atípica ocorreu em 25,4% das mulheres submetidas a transplante renal, portanto superior ao observado entre mulheres as mulheres imunocompetentes;
- b) a citologia intra-anal atípica ocorreu em 24,9% das mulheres submetidas a transplante renal, portanto superior ao observado entre mulheres as mulheres imunocompetentes;
- c) DNA-HPV de alto risco foi detectado no colo uterino em 25,8%, sendo que o tipo 16 foi observado em 6,6% e o 18 em 16,1% de mulheres transplantadas renais;
- d) DNA-HPV de alto risco foi detectado no ânus em 35,5%, sendo que o tipo 16 foi observado em 18,8% e o 18 em 6,6% de mulheres transplantadas renais;
- e) em 70,9% dos casos houve concordância de diagnóstico de atipia citológica entre colo uterino e canal anal;
- f) em 67,8% dos casos houve concordância de genótipos de HPV entre colo uterino e canal anal;
- g) o risco relativo para citologia em meio líquido intra-anal atípica conforme a citologia cervical anormal foi cerca de 4 vezes maior;
- h) no entanto, a presença de HPV de alto risco por PCR no colo não apresentou risco aumentado. Enquanto HPV intra-anal identificado foi associado a um risco relativo cerca de 10 vezes maior.

REFERÊNCIAS

- ADAMI, J. et al. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. **Br J Cancer**, v. 89, n. 7, p.1221–1227, 2003.
- AGGARWAL, R. et al. Prevalence and genotypes of HPV in female renal transplant recipients in North India. **Int J GynecolPathol**, v. 33, n. 5, p. 537-42, 2014.
- BAEZ, C. F. et al. Human infections and renal transplantation: a review. **DST - J Bras Doenças Sex Transm**, v. 24, n. 2, p. 104-108, 2012.
- BEACHLER, D. C. et al. Natural history of anal vs oral HPV infection in HIV-infected men and women. **J Infect Dis**, v. 208, n. 2, p. 330-9, 2013.
- BEAN, S. M.; CHHIENG, D. C. Anal-rectal cytology: a review. **DiagnCytopathol**, v. 38, n. 7, p.538-546, 2010.
- BENÍCIO, G. C. **Lesão intra-epitelial, DNA anal e fatores de risco associados em mulheres com lesão intra-epitelial genital HPV induzidas**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2013.
- BERNADETE N. et al. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. **Rev SaúdePública**, v. 36, n. 1, p. 95-100, 2002.
- BORGES, A. L. V.; SCHOR, N. Trajetórias afetivo-amorosas e perfil de adolescentes residentes no município de São Paulo. **RevBras Saúde MaterInfant**, v. 5, n. 2, p. 163-70, 2005.
- BRANCA, M, et al. Factors predicting the persistence of genital human papillomavirus infections and PAP smear abnormality in HIV-positive and HIV-negative women during prospective follow-up. **Int J Std Aids**, v. 14, n. 6, p.417-25, 2003.
- BRENNAN, S. M. F; SYRJÄNEN, K. J. Regulation of cell cycles is of key importance in human papillomavirus (HPV)-associated cervical carcinogenesis. **Sao Paulo Med J**, v, 12, n. 3, p. 128-132, 2003.
- BUELL, J. F.; GROSS, T. G.; WOODLE, E. S. Malignancy after transplantation. **Transplantation**, v. 80, p. S254–S264, 2005.
- COLLINS, S. I. et al. Disruption of the E2 gene is a common and early event in the natural history of cervical human papillomavirus infection: a longitudinal cohort study. **Cancer Res**, v. 69, n. 9, p. 3828-32, 2009.
- DARRAGH, T. M. et al. The anal canal and perianus: HPV related disease. In: MAYEAUX, E. J.; COX, J. T. **Modern Colposcopy**. 3. ed. ASCCP, 2012.

DARRAGH, T. M. et al. Interrater agreement of anal cytology. **Cancer Cytopathol**, v. 121, n. 2, p. 72-78, 2013.

DOORBAR, J. Latent papillomavirus infections and their regulation. **CurrOpinVirol**, v. 3, n. 4, p. 416–421, 2013.

DYALL-SMITH, D. et al. Benign human papillomavirus infection in renal transplant recipients. **Int J Dermatol**, v. 30, n. 11, p. 785–789, 1991.

ELEUTÉRIO, J. J. et al. Liquid-based cytology and HPV DNA testing using intra-anal specimens from HIV-negative women with and without genital HPV-induced lesions. **DiagnCytopathol**, v. 43, n. 5, p. 360-5, 2015.

GARCIA, V. D.; PACHECO, L. **Registro Brasileiro de Transplantes**, ano XXI, n. 2, jan./jun. 2015. Disponível em: <<http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2015/rbt2015-1sem-lib2907.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

GINGELMAIER, A. et al. Anal cytology as a screening tool for early detection of anal dysplasia in HIV-infected women. **Anticancer Res**, v. 30, n. 5, p. 1719-23, 2010.

GIRALDO, P. et al. Prevalence of anal squamous intra-epithelial lesion in women presenting genital squamous intra-epithelial lesion. **Eur J ObstetGynecolReprodBiol**, v. 142, n. 1, p. 73-5, 2009.

GIULIANO, A. R. et al; Clearance of oncogenic human papillomavirus (HPV) infection: effect of smoking (United States). **Cancer Causes Control**, v. 13, n. 9, p.839–846, 2002.

GOODMAN, M. T. et al. Acquisition of anal human papilloma virus (HPV) infection in women: theHawai HPV Cohort study. **J Infect Dis**, v. 197, n. 7, p. 957–966, 2008.

HINTEN, F. et. al. HPV-related (pre)malignancies of the female anogenital tract in renal transplant recipients. **Crit Rev OncolHematol**, v. 84, n. 2, p. 161-180, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. **Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero**. 2. ed. Rio de Janeiro: Inca, 2016. 114 p.

_____. Coordenação de prevenção e vigilância. **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Inca, 2015. 122 p. ISBN 9788573182835.

_____.Coordenação-geral de prevenção e vigilância. Divisão de detecção precoce e apoio à organização de rede. **Nomenclaturabrasileira para laudoscitopatológicoscervicais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Inca, 2012. 23 p. ISBN 9788573182088.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **GLOBOCAN**. 2005. Disponível em: < <https://www.iarc.fr/>>. Acesso: 16 dez. 2017.

JACYNTHO, C. M. A. **Prevalência de lesão intra-epitelial escamosa anal em mulheres com lesão intra-epitelial escamosa genital**. 2005. 140 f. Tese (Doutorado em Tocoginecologia) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005

_____. Vulvovaginites. In: Febrasco (Org.). **Manual de Orientação do Trato Genital Inferior**. Rio de Janeiro: Febrasco, 2009. p. 60-92.

KELLER, M. J. et al. Risk of cervical pre cancer and cancer among HIV-infected women with normal cervical cytology and no evidence of oncogenic HPV infection. **Jama**, v. 308, n. 4, p.362–369, 2012.

MADELEINE, M. M. et al. HPV-related cancers after solid organ transplantation in the United States. **Am J Transplant**, v. 13, n. 12, p. 3202-9, 2013.

MEEUWIS, K. A. et al. Cervicovaginal HPV infection in female renal transplant recipients. **Am J Transplant**, v. 15, n. 3, p. 723-33, 2015.

MELBYE, M.; SPRØGEL, P. Aetiological parallel between anal cancer and cervical cancer. **Lancet**, v. 338, n. 8768, p. 657-9, 1991.

MOSCICKI, A. B.; PALEFSKY, M. J. HPV in men: an update. **J Low Genit Tract Dis**, v. 15, n. 3, p. 231–234, 2011.

MÜNGER, K.; HOWLEY, P. M. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. **Virus Res**, v. 89, n. 2, p. 213-28, 2002.

NADAL, S. R. et al. Citologia anal para rastreamento de lesões pré-neoplásicas. **Rev Assoc Med Bras**, v. 53, n. 2, p. 147-15, 2007.

NADAL, S. R.; MANZIONE, C. R. Vacina contra o papilomavírus humano. O que é preciso saber? **Rev Bras Coloproct**, v. 30, n. 2, p. 237-240, 2010.

NIELSEN, A. et al. Persistence of high risk human papillomavirus infection in a population-based cohort of Danish women. **J Med Virol**, v. 82, n. 4, p. 616–623, 2010.

NYITRAY, A. G. et al. Prevalence of and risk factors for anal human papilloma virus infection in hetero sexual men. **J Infect Dis**, v. 197, n. 12, p. 1676–1684, 2008.

_____. Six-month incidence, persistence, and factors associated with persistence of anal human papillomavirus in men: the HPV in men study. **J Infect Dis**, v. 204, n. 11, p. 1711–1722, 2011.

PALEFSKY, J. M. Biology of HPV in HIV infection. **Adv Dent Res**, v. 19, n. 1, p. 99-105, 2006.

_____. Diseases of the anus. In: CRUM, C. P.; NUCCI, M. R.; LEE, K. R. **Diagnostic gynecologic and obstetric pathology**. 2. ed. Philadelphia: Elsevier, 2011.

PAULA, F. J.; IANHEZ L. E. Tumores malignos no pós-transplante renal. **J BrasNefrol**, v. 21, n. 4, p. 161-166, 1999.

PIETRZAK, B. et al. Prevalence of high-risk human papillomavirus cervical infection in female kidney graft recipients: an observational study. **Virology**, v. 9, p. 117, 2012.

REUSSER, N. M. et al. Carcinomas in immunocompromised patients. **J Clin Med**, v. 4, n. 2, p. 260–281, 2015.

RIBEIRO, A. A. **Prevalência de tipos específicos de Papilomavírus humano (HPV) e relação com a severidade da lesão cervical em mulheres encaminhadas por exame citopatológico anormal**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

SANJOSÉ, S. et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **Lancet Infect Dis**, v. 7, n. 7, p. 453-459, 2007.

SAVANI, B. N. et al. Increased risk of cervical dysplasia in long-term survivors of allogeneic stem cell transplantation-implications for screening and HPV vaccination. **Biol Blood Marrow Transplant**, v. 14, n. 9, p. 1072–1075, 2008.

SCHMEINK, C. E. et al. Human papillomavirus persistence in young unscreened women, a prospective cohort study. **PLoS One**, v. 6, n. 11, p. e27937, 2011.

SCHOLEFIELD, J. H. et al. Anal and cervical intraepithelial neoplasia: possible parallel. **The Lancet**, v. 2, n. 8666, p. 765–769, 1989.

SEHNAL, B. et al. The relationship between the cervical and anal HPV infection in women with cervical intraepithelial neoplasia. **J Clin Virol**, v. 59, n. 1, p. 18-23, 2014.

SENDAGORTA E, et al. Human papillomavirus RNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in men who have sex with men infected with HIV. **J Med Virol**, v. 87, n. 8, p. 1397-403, 2015.

SNIJDERS, P. J. et al. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. **J Pathol**, v. 208, n. 2, p. 152-164, 2006.

STRICKLER, H. D. et al. Human papillomavirus type 16 and immune status in human immunodeficiency virus-seropositive women. **J Natl Cancer Inst**, v. 95, n. 14, p. 1062–1071, 2003.

_____. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. **J Natl Cancer Inst**, v. 97, n. 8, p. 577–586, 2005.

TACHEZY, R. et al. Human papillomavirus infection and tumours of the anal canal: correlation of histology PCR detection in paraffin sections and serology. **APMIS**, v. 115, n. 3, p. 195-203, 2007.

VALENTE, N. M. et al. **Biologia Molecular (PCR, Hibridização in situ e Captura Híbrida) no diagnóstico das infecções HPV**. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Noncommunicable diseases country profiles 2014**. Geneva: World Health Organization, 2014. ISBN: 9789241507509.

XUE, X. et al. Marginal and mixed-effects models in the analysis of human papillomavirus natural history data. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v.19, n. 1, p. 159–169, 2010.

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E PESQUISA DE GENÓTIPOS DE HPV POR RT-PCR DE AMOSTRAS CERVICAIS E INTRA-ANAIS EM PACIENTES DE TRANSPLANTE RENAL

Eu, _____, _____ anos
portadora da identificação n.º _____ endereço
_____ cidade de

_____ registrada no ambulatório de Ginecologia de PTGI do Hospital Geral de Fortaleza (HGF), prontuário n.º _____, declaro concordar por minha livre e espontânea vontade em participar dessa pesquisa que objetiva a **Citologia em meio líquido e pesquisa de genótipos de HPV por RT-PCR de amostras cervicais e intra-anaís em pacientes de Transplante Renal**, que será desenvolvido e realizado no Ambulatório de Ginecologia PTGI do Hospital Geral de Fortaleza pelo Programa de Mestrado em Patologia da Universidade Federal do Ceará, pelo aluno Liana Rabelo Cavalcante orientado e supervisionado pelo Prof. Dr. José Eleutério Junior.

Com essa colaboração poderemos traçar a associação de infecção anal por HPV, em mulheres imunodeprimidas, com infecção genital por HPV, através de citologia em meio líquido anal e PCR em tempo real.

Consciente diante do Estudo e seus objetivos, estou sabendo que:

a) Serei examinada pelos profissionais envolvidos na Pesquisa onde será colhido células de canal anal e colo de útero. Os procedimentos podem causar desconforto temporário e não trarão prejuízos na função, nem estrutural a mim.

b) Não serei beneficiada em participar do Estudo, a não ser recebendo o laudo dos exames que a mim foram direcionados, com orientação de tratamento, e serei conduzida a especialistas quando houver necessidade.

c) Tenho o direito de receber respostas sobre minhas dúvidas a respeito da Pesquisa e dos resultados dos exames citológicos e de PCR

d) Tenho o direito de abandonar a Pesquisa quando eu achar necessário sem que me traga prejuízos atuais e no futuro tanto a mim quanto a minha família

e) As informações a meu respeito jamais serão elucidadas usando minha identificação (meu nome)

f) Qualquer dúvida que eu tenha a respeito da pesquisa e minha inserção nela poderei entrar em contato com a pesquisadora Liana Rabelo Cavalcante e o Professor Dr. José Eleutério pelos telefones (85) 99818161 (85) 31013215 e (85)99868350 de segunda a sexta feira entre 8h e 17h ou com o Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital Geral de Fortaleza pelo telefone 31013215.

Fortaleza, __ de _____ de 2015

Colaboradora

Liana Rabelo Cavalcante
PESQUISADORA

ANEXO B - PROTOCOLO DE PESQUISA

Nome _____ Pront _____

Data: _____

Data de Nascimento: ___/___/___

Cor: _____

G ___ P ___ A ___

IVS: _____

Número de parceiros sexuais: Toda vida _____ Último ano _____

Coito anal: sim (); não ()

Outras DST: _____

Hábitos: Tabagismo () Etilismo () Outra droga _____ ()

Contracepção: _____

Uso de medicamentos: _____

Colposcopia: _____

_____Outros exames: _____

Última citologia cervical: data ___/___/___; Resultado: _____

Citologias: _____