

# 1. INTRODUCCIÓN

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. CARCINOMA ANAL. DEFINICIÓN Y GENERALIDADES

El carcinoma anal es una neoplasia asociada a la infección por el virus del papiloma humano (VPH)(1), que afecta al canal, y se origina preferentemente en la zona de transformación entre el epitelio escamoso anal y la mucosa rectal. En los últimos años se han producido grandes avances en la comprensión de la etiopatogenia, diagnóstico y tratamiento de esta entidad(2). Actualmente se engloban bajo el término de carcinoma anal tanto el carcinoma del propio canal como el carcinoma perianal, ya que probablemente comparten un origen común y a pesar de las diferencias en cuanto a evolución, riesgo de diseminación regional y sistémica, y abordaje terapéutico.

Clásicamente, se consideraba que el carcinoma anal se originaba a partir de procesos inflamatorios de la región perianal, y era tratado de forma rutinaria mediante abordajes quirúrgicos radicales- normalmente resección abdominoperineal y colostomía permanente-(3). Gracias a recientes estudios epidemiológicos y clínicos, se ha establecido claramente que se trata de un tumor biológicamente muy similar a las neoplasias de cuello uterino y tiene como factor etiopatogénico fundamental a la infección por el VPH. Este concepto conlleva asumir que el carcinoma anal puede beneficiarse de los procedimientos diagnósticos y terapéuticos de neoplasias genitales más conocidas y de pronóstico bien establecido. Asimismo, este abordaje permite un manejo clínico menos agresivo en muchos casos, con la consiguiente menor morbilidad al preservar el esfínter anal.

## 1.2. ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DEL CANAL ANAL

La región anal comprende dos zonas anatómicas principales, el canal anal y el margen anal, con características anatómicas e histológicas diferentes que determinan el comportamiento biológico y abordaje terapéutico de las neoplasias que se desarrollan en ellas.

Para definir el canal anal pueden utilizarse criterios anatómicos o quirúrgicos. El canal anal anatómico se extiende desde el borde anal externo (orificio anal) hasta la línea dentada, y mide aproximadamente 2 cm. Es más útil la definición quirúrgica o funcional

del canal anal, que lo describe como el trayecto de 3 a 5 cm comprendido entre la unión anorrectal y el borde anal, entendiendo éste como el orificio anal apreciable en la inspección visual sin instrumental adicional. La unión anorrectal se localiza a nivel proximal en la unión de la porción puborectal del músculo elevador del ano y el esfínter anal externo, (palpable como el anillo anorrectal en el examen digital, aproximadamente 1 ó 2 cm sobre la línea dentada). El canal anal se extiende distalmente hasta la unión de la mucosa escamosa no queratinizada con la piel perianal, que coincide aproximadamente con el borde anal (4). La región externa al orificio anal, que ocupa 5 cm de forma radial, se conoce como margen anal.

El canal anal queda dividido macroscópicamente por la línea dentada (pectínea), que constituye la separación visible que corresponde a la transición entre el epitelio glandular del recto y la mucosa escamosa (epitelio plano poliestratificado) del ano; en su margen proximal se localiza una zona variable de mucosa transicional o de transformación histológica, y que determina además el punto de diferenciación del drenaje a los diferentes territorios linfáticos. Por encima de la línea dentada, el drenaje se dirige a los ganglios hipogástricos y mesentéricos inferiores, y en menor proporción a los ganglios iliacos internos. A nivel de la línea dentada, el drenaje principal es hacia los ganglios pudiendo interno, hipogástrico y obturador; finalmente, el área distal drena a los ganglios inguinales superficiales(5).

Histológicamente, se aprecian varios tipos de epitelio en el canal anal: en la región proximal se identifican, de proximal a distal, epitelio glandular, transicional y escamoso no queratinizado, Este último se prolonga a nivel distal con la piel perianal, ya epidermis completa con anejos: unidades pilosebáceas y glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas; esta unión mucocutánea que corresponde al inicio del margen anal no se identifica macroscópicamente.

### 1.3. NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA DE LAS NEOPLASIAS ANALES

Los tumores de la región anal se dividen en dos categorías, según su relación con las localizaciones y variedades histológicas descritas. Los tumores derivados de cualquiera de los tres epitelios mucosos se denominan carcinomas del canal anal, mientras que

aquellos originados en la piel, o distales a la unión mucocutánea, son los carcinomas perianales o de margen anal. El tipo histológico es, junto a la localización del tumor, el factor más determinante a la hora de plantear un diagnóstico y tratamiento apropiados. En este sentido, se diferencian varios tipos que incluyen el carcinoma epidermoide (la variedad más frecuente), adenocarcinoma, melanoma y, raramente, sarcomas(6).

TABLA I. Clasificación del carcinoma anal de la Organización Mundial de la Salud

CARCINOMA DEL CANAL ANAL	TUMORES DEL MÁRGEN ANAL
CARCINOMA ESCAMOSO	Carcinoma de células escamosas
Carcinoma de células grandes queratinizado	Condiloma gigante de Buschke - Lowenstein
Carcinoma de células grandes no queratinizado (transicional)	Carcinoma basocelular
Basaloide	Enfermedad de Bowen
ADENOCARCINOMA	Enfermedad de Paget
Tipo rectal	Melanoma
De glándulas anales	Otros
Asociados a fistulas anorrectales	
Carcinoma de células pequeñas	
CARCINOMA INDIFERENCIADO	

### 1.3.1. TUMORES DEL CANAL ANAL

#### 1.3.1.1. CARCINOMA EPIDERMOIDE O DE CÉLULAS ESCAMOSAS.

Los tumores que se localizan en la mucosa escamosa o epitelio transicional son carcinomas de células escamosas y presentan un comportamiento similar en conjunto, a pesar de que pueden presentar apariencia macroscópica variable(7). Por ello, se han convenido que el término “carcinoma anal” se refiere al carcinoma epidermoide de la región anal, y ambos términos se utilizan de forma indistinta.

Se han diferenciado diversas variantes histológicas de estos carcinomas epidermoides no queratinizantes localizados en el epitelio transicional: basaloide o cloacogénico (25%), transicional, esferoidal(8). En la actualidad, esta nomenclatura tiende a abandonarse, ya que todas esas variedades presentan el mismo comportamiento clínico y respuesta a tratamiento, por lo que se agrupan en el mismo algoritmo terapéutico(9). Por lo tanto, se prefiere mantener únicamente la diferenciación entre carcinomas no queratinizados (los que aparecen proximalmente a la línea dentada) o carcinomas queratinizados (los del canal anal distal).

#### 1.3.1.2. ADENOCARCINOMAS

Los adenocarcinomas se desarrollan a partir de elementos glandulares del canal anal. Son tumores poco frecuentes que se comportan biológicamente como los adenocarcinomas rectales, por lo que son tratados de forma similar.

En cuanto a su localización, la determinación del origen anatómico de los carcinomas que ocupan la unión anorrectal puede ser problemática. En búsqueda de un estadiaje adecuado, dichos tumores se clasifican como carcinomas rectales si su epicentro es proximal al anillo anorrectal y a más de 2 cm de la línea dentada, y carcinoma anales si su unión está a 2 cm o menos de la línea dentada.

#### 1.3.2. CARCINOMAS PERIANALES O DEL MÁRGEN ANAL

La distinción clínica entre los tumores del canal anal y los que se originan en el margen anal (o piel perianal) también puede ser difícil. Como se ha señalado, los tumores derivados del epitelio mucoso del ano se consideran carcinomas del canal anal, incluso si se localizan distalmente al margen perianal. Por el contrario, los tumores asentados en la piel con anejos, en o distales a la unión mucocutánea, se denominan carcinomas del margen anal. No obstante, el término más utilizado es carcinomas perianales dado que, a excepción de los melanomas, los tumores localizados en la piel perianal se comportan como carcinomas cutáneos. Por ello, este segundo grupo de carcinomas se clasifican, estadían y tratan como carcinomas de piel, en contraposición a los carcinomas del canal anal(10). Histológicamente, estos tumores perianales son en su mayoría carcinomas epidermoides bien diferenciados (incluyendo enfermedad de Bowen o carcinoma epidermoide *in situ*), aunque también pueden aparecer en la región

otras neoplasias cutáneas (p ej carcinoma basocelular, melanoma y enfermedad de Paget extramamaria)(11).

#### 1.4. HISTORIA NATURAL DEL CARCINOMA ANAL

No se dispone todavía de estudios a largo plazo que establezcan de forma definitiva todos los aspectos de la historia natural del carcinoma anal.

La neoplasia anal intraepitelial (NIA) fue caracterizada por primera vez en 1981 por Fenger y Nielsen(12). Éste es el punto de partida de un modelo evolutivo que, por analogía con el carcinoma de cérvix(13), incluye una gradación desde lesiones precursoras intraepiteliales (NIA de bajo y alto grado) hasta el desarrollo de carcinomas anales invasivos. Este escenario clínico dinámico ha sido ampliamente demostrado en el caso del carcinoma cervical, y en él es posible la regresión espontánea, la persistencia sin cambios o la progresión a lesiones invasivas de carácter maligno(13) . Existe un consenso generalizado para aplicar el mismo modelo a las lesiones del canal anal, si bien las evidencias clínicas en los que se sustenta son mucho más escasas.

El canal cervical femenino y el canal anal comparten características embriológicas, histológicas y patológicas. Ambos presentan una zona anatómica de transformación, regiones de metaplasia fisiológica en las que el epitelio glandular se sustituye por epitelio escamoso (del ectocérvix o el canal anal, respectivamente). Las células metaplásicas inmaduras son las que presentan mayor riesgo de infección por VPH-AR, posiblemente por la facilidad con la que el virus alcanza las capas basales del epitelio. Tras la infección, VPH puede ocasionar bien infección productiva con diferenciación terminal y maduración de las células epiteliales (con su equivalente morfológico correspondiente, el condiloma acuminado), o bien interrumpir de forma anómala el ciclo de recambio celular, determinando la aparición de lesiones con displasia progresiva (NIA 1 y 2), hasta las de comportamiento indudablemente preneoplásico (NIA-AG ó NIA3)(14), que se consideran precursoras para la aparición de carcinoma epidermoide, tanto anal como cervical(15, 16).

El riesgo de progresión de NIA desde las fases iniciales de atipia basal hasta la aparición del carcinoma invasivo no ha sido determinado de forma definitiva, y supone uno de los mayores condicionantes a la hora de establecer el pronóstico y la necesidad de tratamiento de las lesiones precursoras. Como ya se ha comentado, existe consenso

generalizado en considerar que el grupo de población con mayor incidencia de NIA avanzada y riesgo de progresión tumoral son los varones homosexuales VIH+. En este grupo poblacional, las lesiones de bajo grado que no son tratadas adecuadamente progresan con frecuencia a lesiones claramente preneoplásicas (NIA 3).

En el estudio longitudinal de la cohorte de de San Francisco, el 32% de los pacientes VIH+ sin lesiones anales al inicio del seguimiento, desarrollaron NIA 1 a los dos años de seguimiento, en comparación con el 9% de los pacientes VIH-(17). En el mismo estudio, el 30% de los casos de NIA 1 al inicio habían regresado a los dos años, pero todos estos casos eran VIH-(17). Por el contrario, también fue muy frecuente la progresión de NIA 1 a 2 ó 3: en esta serie, publicada en 1998, el 52% de 346 homosexuales VIH+ presentaban NIA (frente al 17% de los homosexuales VIH-). En dos años de seguimiento, el 62% de los casos de bajo grado pasó a alto grado. El mismo grupo de investigadores demuestra en el análisis de una población de varones homosexuales VIH+ una elevada progresión de NIA 1 a NIA-AG a lo largo de un periodo de seguimiento de 4 años en el 49% de una cohorte de 277 varones homosexuales (VIH+)(18).

En un estudio de Seattle en 1995, se evaluó la historia natural de 158 varones VIH+ y 147 VIH- sin displasia al inicio del seguimiento, que duró 21 meses. Durante dicho periodo, el 15% de VIH+ y el 7% de los VIH- desarrollaron NIA-AG. Los factores de riesgo para la progresión histológica fueron la infección persistente por VPH-16 y 18, así como recuento de CD4 inferior a 500 células/mm<sup>3</sup>(19). Finalmente, los hallazgos de un estudio más reciente de San Francisco son más preocupantes: el 81% de 357 varones homosexuales VIH+ presentaban NIA (52% de alto grado). La TARGA no tuvo ninguna influencia en la reducción de la prevalencia de displasia anal en esta serie(20).

El riesgo de progresión de displasia epitelial grave a carcinoma invasivo es también motivo de debate, ya que los resultados de diversas cohortes estudiadas son muy discordantes. Tres de 35 pacientes diagnosticados y tratados por NIA 3 desarrollaron carcinoma epidermoide invasivo tras 63 meses de seguimiento en la serie de Scholefield y cols.(21) y además se ha constatado en el 5% de los casos de enfermedad de Bowen (NIA 2 y 3 de localización perianal)(22, 23). Además, el riesgo de progresión no sería exclusivo de la población VIH+: en una cohorte de 72 pacientes

no inmunocomprometidos (52 mujeres) con NIA, Watson y cols (16) confirmaron progresión a carcinoma invasivo en 11% de los casos a pesar de seguimiento clínico en un periodo de 42 meses.

Todos estos resultados sugieren que, una vez que se desarrolla NIA 2 ó 3 en el epitelio anal, la posibilidad de regresión espontánea es muy escasa, incluso en individuos VIH-(39). Por ello y desde el punto de vista teórico, el riesgo de progresión de NIA-AR a carcinoma en pacientes inmunodeprimidos, en los que la infección por VPH es más prevalente y de más difícil control, debe ser aún mayor.

No obstante y a pesar del carácter preocupante de estos datos, si se considera la elevadísima prevalencia de NIA en varones homosexuales y pacientes VIH+, es muy probable que tan sólo una minoría de los casos progresen a carcinoma, y que dicho proceso requiera un periodo prolongado, de años a incluso décadas, para completarse. Dentro de esta población de alto riesgo, la duración de la infección VIH ha sido identificado como un factor adicional para la aparición de tumores anales(24). La demostración en análisis multivariante de la TARGA como factor de riesgo para NIA y carcinoma anal podría tener un significado similar, como marcador indirecto de inmunodepresión prolongada en pacientes con infección crónica por VPH-AR, sin que el recuento actual de CD4 ni la carga viral de VIH hayan demostrado la misma importancia.

## 1.5. EPIDEMIOLOGIA Y FACTORES DE RIESGO DEL CARCINOMA ANAL

### 1.5.1. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS DEL CARCINOMA ANAL

El carcinoma anal se ha considerado clásicamente como una neoplasia poco frecuente, que afectaba a individuos de edad avanzada (superior a 60 años) y con predominio de las mujeres (2:1)(25, 26). En la actualidad, si bien se sigue considerando como un tumor inusual, diversos estudios epidemiológicos recientes referidos a diversos países de Europa y Estados Unidos han constatado un incremento significativo en su incidencia. Partiendo de los datos recogidos en el periodo entre 1973 y 1979, con tasas de 1.06 casos/100.000 en varones y 1.39/100.000 en mujeres(27), se estima que en los últimos diez años su incidencia ha experimentado un incremento del 2% la tasa se ha doblado de 10 a 20 casos por millón de individuos(28). El National Cancer Institute de Estados Unidos estimó en 5260 nuevos casos de cáncer anal en 2010, con una

mortalidad de 720 casos en ambos sexos(29). Estas cifras dependen especialmente de un elevado número de nuevos casos diagnosticados en las poblaciones de mayor riesgo, especialmente pacientes inmunodeprimidos(30, 31). En Estados Unidos, la incidencia de carcinoma anal en varones homosexuales es en la actualidad superior a la de carcinoma cervical femenino, por lo que se ha convertido en el origen de elevada morbilidad y mortalidad en esta población(31).

Pese a identificar a la población VIH+ como el principal grupo de riesgo para el desarrollo de neoplasias anales, el incremento en la incidencia de este tumor afecta también a la población general. El seguimiento prolongado de una cohorte de pacientes en San Francisco (Estados Unidos)(32) demuestra que el número de casos de carcinoma anal entre todos los varones de entre 40 y 64 años se cuadruplicó, desde 3 casos/100.000 pacientes entre 1973 y 1979, a 14 casos/100.000 individuos durante 1996-1999. Considerando que tan sólo una pequeña proporción de la población diana era VIH+, es muy posible que las tasas en los pacientes infectados por VIH alcanzaran los 70-100 casos/100.00 individuos.

Aún más significativa es la revisión de los registros de cáncer en San Diego (2005), en la que Diamond y cols. (33) describen un crecimiento de la incidencia de carcinoma anal invasivo de cero a 224/100.000 casos, en 1991 y 2000, respectivamente. Estos datos corresponden a varones homosexuales de entre 25 a 64 años, y convierten a los varones de edad media infectados por VIH en la población de mayor riesgo para carcinoma anal, con una incidencia entre 10 y 50 veces superior frente a la población general(34).

A pesar de que en la práctica clínica se observa un aumento evidente en la incidencia de este proceso, no existen datos exactos acerca de la magnitud del problema en España, debido a la ausencia de registros oficiales.

### 1.5.2. FACTORES DE RIESGO

Tradicionalmente se ha considerado que el cáncer anal se desarrollaba en áreas de inflamación local crónica secundaria a diversos procesos como hemorroides, fisuras o fistulas(35, 36). La aparición de casos en el contexto de la enfermedad inflamatoria intestinal llevó a la conclusión de que el carcinoma anal se justificaría en estos casos por

la inflamación sostenida, de la misma forma que se desarrolla la neoplasia colorrectal en estos pacientes(37, 38).

Posteriormente, estudios de casos y controles descartaron la relación entre los antecedentes de patología benigna y la aparición del carcinoma anal(39, 40). Hay que tener en cuenta que estas lesiones pueden dificultar el diagnóstico clínico de las lesiones precursoras de carcinoma anal, impidiendo su diagnóstico precoz. Tampoco se ha demostrado relación causal entre enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer anal; en una serie danesa extensa, ninguno de los 1160 pacientes estudiados desarrollaron neoplasia anal(41).

Las evidencias epidemiológicas y los conocimientos actuales sobre la etiopatogenia del carcinoma anal otorgan la máxima importancia a la infección por VPH. También hay que destacar otros factores etiológicos, muchas veces coexistentes y cuya interacción supone un aumento indudable del riesgo para la aparición de la enfermedad, además de una probable predisposición genética(42). Entre ellos, destacan los siguientes:

- Relaciones sexuales de riesgo
- Infección VIH
- Inmunodepresión crónica no por causas distintas a la infección VIH
- Tabaquismo

Como se puede apreciar, desde el punto de vista etiológico el carcinoma anal se aproxima más a las neoplasias genitales que a los cánceres gastrointestinales.

#### 1.5.2.1. INFECCIÓN ANOGENITAL POR VPH

La infección anogenital por el VPH es una de las infecciones de transmisión sexual más prevalentes a nivel mundial, especialmente en la población joven sexualmente activa, y explica en gran medida la relación entre carcinoma anal y actividad sexual. Hasta la fecha, se han identificado más de 100 genotipos diferentes de VPH, que se clasifican filogenéticamente dentro uno de los 5 géneros ( $\alpha$ -, $\beta$ -  $\gamma$ -,  $\mu$ - y  $\eta$ -).

Las infecciones por  $\alpha$ -VPH afectan prioritariamente a la región anogenital, y se diferencian clásicamente según su potencial oncogénico en VPH de “bajo riesgo” (VPH-BG) (p ej VPH 6,11,42,43 y 44) y de “alto riesgo” (VPH-AR)(p ej VPH 16, 18, 31,33, 35, 58 y 59)(43).

La infección anogenital por VPH constituye un problema sanitario de importancia creciente. Varios estudios han mostrado una prevalencia llamativamente alta de infección anal por el VPH en la población general(40). En un estudio reciente en varones heterosexuales inmunocompetentes, la infección genital por VPH se observó en 65´4% de los individuos, con presencia de infección anal por VPH en el 24´8%(44); se ha demostrado además que la prevalencia de infección anal en mujeres es muchas veces igual o superior a la de la infección cervical por VPH(45). En un análisis reciente de la Women´s Interagency HIV Study (WIHS), la prevalencia de infección anal por VPH fue del 80%, frente a 45% de la cervical(46, 47), y su incidencia llega a ser prácticamente universal en la edad adulta en algunos grupos poblacionales concretos, como los varones homosexuales. En un estudio poblacional realizado en San Francisco (Chin-Hong, 2008), el 57% de los varones homosexuales VIH- y el 88% de los VIH+ tenían infección anal por cualquier genotipo de VPH(48). Los datos acerca de la prevalencia de infección por VPH genital en España son muy escasos. Torres y cols.(49) reportaron en 2011 los resultados de una muestra de 810 tomas anales en pacientes VIH+ homosexuales de la cohorte CoRIS, con una prevalencia de infección por HPV y por HPV-AR del 95,1% y 85,6%, respectivamente.

Normalmente, la mayoría de estas infecciones en pacientes no inmunodeprimidos son transitorias, y el virus se elimina en un promedio de unos 8(50), siendo bajo el porcentaje de infecciones persistentes. Por el contrario, en la población inmunodeprimida (por infección VIH o trasplante de órganos) se aprecian tasas muy elevadas de infección persistente por VPH.

Desde el punto de vista clínico, la infección por VPH puede permanecer en el canal anal de forma latente o subclínica, o bien producir lesiones benignas (condilomas acuminados, verrugas genitales) y si la infección por VPH se debe a genotipos de alto riesgo y con la latencia temporal suficiente, ocasionar lesiones displásicas intraepiteliales o carcinomas invasivos(1, 51). En la serie en que Varnai(25) estudia la presencia de infección por VPH en 87 pacientes con diagnóstico previo de displasia anal

(47 carcinomas anales y 33 NIA), se encuentra evidencia histológica de infección viral en todos los pacientes, incluyendo los casos con detección negativa para VPH-DNA.

#### 1.5.2.1.1. INFECCIÓN VPH DE ALTO RIESGO

Se admite que la infección persistente por genotipos de VPH alto riesgo (VPH-AR) es el factor etiológico fundamental para la aparición de la mayoría de carcinomas genitales(1, 52). La infección por VPH-AR es muy prevalente en la población general y especialmente en grupos concretos de riesgo. En el estudio de Ching-Hong mencionado en el apartado anterior(48), el 34% y 72% de los varones homosexuales VIH- y VIH+, respectivamente, presentaban infección por VPH-AR.

Se ha confirmado la presencia de VPH-AR en más del 99% de carcinomas cervicales y entre el 90-96% de cánceres anales(53, 54), y esta asociación puede explicar la fuerte relación entre el carcinoma cervical y anal en mujeres(55) En un programa de seguimiento epidemiológico en Estados Unidos, el riesgo relativo para presentar carcinoma anal o vaginal tras el diagnóstico de cáncer invasivo de cérvix fue de 4.6 y 5.6, respectivamente(56).

El espectro de genotipos de VPH-AR implicados en el carcinoma anal y sus lesiones precursoras es similar al descrito en cérvix (1, 57, 58). El tipo más frecuentemente aislado en carcinoma anal es VPH-16, presente en el 65-75% de los casos, seguido del tipo 18. Solos o en asociación, ambos tipos se encuentran en el 78% de todos los carcinomas anales(54).

La mera detección de ADN-VPH en los pacientes VIH+ no implica por sí sola la existencia de alteraciones histológicas, considerando los elevadísimos porcentajes de infección anal por VPH publicados –y superiores a las tasas de infección cervical -.Estas observaciones implican que el canal anal infectado por VPH presenta un riesgo inferior de transformación maligna que el cuello uterino infectado. No obstante, el canal anal puede actuar de reservorio de infección por el VPH y podría desempeñar un papel en su transmisión, incluyendo la diseminación a otras localizaciones genitales en un individuo infectado o a su pareja sexual.

#### 1.5.2.2. ACTIVIDAD SEXUAL DE RIESGO

El primer estudio en el que se sugiere una mayor incidencia del carcinoma anal en varones homosexuales data de 1982(64); desde entonces, se han acumulado datos que confirman el riesgo aumentado de carcinoma anal asociado a las relaciones anales, con independencia de su estatus serológico frente al VIH(53, 65).

La relación entre displasia anal y antecedentes de infecciones de transmisión sexual, como marcadores de prácticas sexuales de riesgo, es convincente. En un estudio poblacional de casos y controles, se evidenció un mayor riesgo relativo con respecto a la población general de las mujeres con carcinoma anal para presentar condilomas genitales (RR 32.5), herpes simple (RR 4.1) o clamidia (RR 2.3). En el mismo estudio, los varones con tumores anales presentaban con respecto a la población control mayores porcentajes de permanecer solteros (RR 8.6), tener antecedentes de relaciones homosexuales (RR 50), haber practicado sexo anal receptivo (RR 33) y haber presentado condilomas genitales (RR 27) o gonorrea (RR 17)(59). Posteriormente, en muchos otros trabajos se ha consolidado la práctica de sexo anal receptivo como la de mayor riesgo para la adquisición de carcinoma anal(19, 34, 39, 60). En varios análisis multivariante, se repiten los mismos factores de riesgo: 10 o más parejas sexuales a lo largo de la vida, historia de condilomas anales o genitales, sexo anal receptivo y antecedentes de otras infecciones de transmisión sexual; la presencia de estos antecedentes aumenta el riesgo de carcinoma anal, tanto en varones heterosexuales como en mujeres(1).

#### 1.5.2.3. INMUNOSUPRESIÓN CRÓNICA NO DEBIDA A VIH

Otras causas de inmunosupresión, como el trasplante de órganos sólidos, puede estar asociada a la aparición de NIA y carcinoma anal(61). Entre los pacientes trasplantados renales, el riesgo es 100 veces mayor que en la población general, y se ha asociado a la infección persistente por VPH(62, 63).

#### 1.5.2.4. TABAQUISMO

El consumo de tabaco se asocia además a riesgo elevado de carcinoma de cérvix, en el que parece actuar como cocarcinógeno(64). Además, varios estudios de casos y controles señalan un riesgo estadísticamente significativo de carcinoma anal en fumadores, especialmente los activos. En una serie que utilizaba como control un grupo

de individuos sin carcinoma anal, el consumo de cigarrillos se asoció con mayor riesgo de neoplasia anal (RR 1.9 para 20 paquetes/año, RR 5.2 para 50 paquetes/año)(39).

## 1.6. INFECCIÓN VIH Y NIA

### 1.6.1. CAMBIOS EPIDEMIOLÓGICOS EN LA POBLACIÓN VIH

### 1.6.2. CARCINOMA ANAL EN LA ÉPOCA INICIAL DE LA INFECCIÓN VIH

En 1986, Frazer(65) describió por primera vez la elevada frecuencia de displasia anal en pacientes VIH(+). Desde entonces, numerosos estudios han confirmado un aumento notable de la incidencia de NIA y NIA-AG en varones homosexuales VIH(+) con respecto VIH(-) (RR de 5.7 y 3.7, respectivamente)(18, 66), así como un riesgo creciente de progresión a lesiones invasivas a medida que la inmunodepresión por el VIH se intensifica. Son muy sólidas las evidencias que asocian la infección VIH avanzada con un aumento de la incidencia de infección oncogénica por VPH y la aparición de lesiones preneoplásicas o tumores invasivos asociados, con independencia del tipo de relación sexual predominante, hetero u homosexual (19, 34, 67-69). Y en sentido inverso, la prevalencia de dichas lesiones es mayor en los pacientes con infección VIH concomitante, que en los individuos seronegativos(42). Además, la infección por VPH puede potenciar la adquisición del VIH. Un estudio realizado en Estados Unidos mostró que la infección anal por VPH estaba asociada a un riesgo aumentado de seroconversión del VIH en varones homosexuales(70).

El aumento progresivo en el número de casos ha convertido al carcinoma anal en una de las neoplasias no definatorios de SIDA más frecuentes en los países occidentales(71-73). Así, mientras que la incidencia de carcinoma epidermoide anal en pacientes homosexuales no infectados por el VIH es de 35/100.000 personas-año(59). Esta tasa es similar a la de carcinoma cervical en mujeres antes de la generalización de los programas de cribado mediante citología, y además se duplica en varones homosexuales infectados por el VIH(74). Existen numerosas series de pacientes publicadas que confirman esta tendencia, y en las que se recogen incidencias de 42-137/100.000 personas-año(71, 74-76). Las diferencias estadísticas más significativas las ofrece el estudio de una cohorte londinense de pacientes VIH+, en la que la incidencia

de carcinoma anal invasivo fue de 60 casos/100.000 pacientes-año, en comparación de 0'52 casos/100.000 personas-año en la población general(77).

Es importante señalar que en algunas de las cohortes publicadas, las tasas de HSIL entre varones homosexuales y el grupo de varones que negaba antecedentes de relaciones anales receptivas fueron similares(44)(78), lo que sugiere que este hallazgo es independiente de la conducta sexual. Así, Piketti y cols(76) describen una prevalencia de displasia anal severa en pacientes VIH+ similares en varones homosexuales y usuarios de drogas parenterales. Del mismo modo, en la serie de Rosa-Cunha y cols(79), compuesta casi exclusivamente por varones (90.8%), el porcentaje de individuos con antecedentes reconocidos de sexo anal fue del 39.7% , frente al 55.7% que se declararon heterosexuales. En ambos grupos, el porcentaje de citologías anormales fue similar, y el antecedente de sexo anal no fue predictivo de displasia anal global; los dos casos de carcinoma registrados en la serie correspondieron a dos pacientes heterosexuales. Sin duda, los elevados datos de prevalencia en todas las subpoblaciones de pacientes VIH+ referidos se justifican por las elevadísimas tasas de infección por VPH-AR asociadas.

Además, numerosos estudios han demostrado que el riesgo para NIA y carcinoma anal invasivo no es exclusivo de los varones VIH+, sino que afecta a ambos sexos, ya que también está aumentado en mujeres infectadas por el VIH(33, 34, 46, 60, 71, 80, 81), en las que la incidencia de carcinoma anal es entre 7 y 28 veces superior a la población general(34).

Como resumen, datos de ámbito nacional en Estados Unidos (US AIDS Cancer Registry Match Study) atribuyen a los pacientes VIH+ un riesgo relativo muy elevado para desarrollar tanto carcinoma anal (RR de 37 para los varones y 6'8 para las mujeres, ambos frente a la población general)(34) como la NIA-AG (60 veces más frecuente que en la población general)(34).

### 1.6.3. CAMBIOS PRODUCIDOS POR LA TARGA

La introducción a partir de 1996 de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) en el tratamiento de la infección VIH constituye el hito terapéutico más importante en el control de la pandemia. Su utilización generalizada se ha traducido en una disminución muy importante de la morbilidad y mortalidad asociadas al SIDA,

obtenida a expensas de la práctica desaparición de muchas de las infecciones oportunistas y tumores clásicamente asociados a la infección VIH(82). Así, se ha confirmado en la práctica clínica habitual una gran disminución de la incidencia de las neoplasias definitorias de SIDA, como el angiosarcoma de Kaposi o el linfoma no Hodgkin(71-73, 82, 83).

Diversos estudios han examinado los cambios en la incidencia de carcinoma anal en relación con la epidemia de SIDA (1980-1990) y la introducción de la TARGA en 1996. Casi todos ellos coinciden en que su utilización sistemática no ha reducido la incidencia de carcinoma anal. Más bien al contrario, la incidencia de neoplasias anales en pacientes VIH+ ha aumentado de manera alarmante en la era post-TARGA(71, 75, 80, 84-86). En una de las series más recientes, Patel y cols (71) describen el aumento progresivo en la incidencia de tumores anales asociados a VIH a lo largo del tiempo; las tasas de incidencia por 100.000 individuos/año aumentan progresivamente desde 19.0 en 1992-95, a 48.3 en 1996-99 y 72.2 en 2000-2003. Los datos referidos a diversos países europeos(75, 77, 85) han confirmado la misma tendencia, con un aumento dramático en la incidencia del cáncer anal, antes y después del uso sistemático de la TARGA. En un estudio de Inglaterra(77) la incidencia aumentó de 35 a 92 de 100.000 pacientes con infección por VIH. Del mismo modo, en la serie de de D'Souza y cols(75) la incidencia pasó de 30 casos/100.000 pacientes VIH+ sin TARGA, a 137 casos/100.000 pacientes VIH+ en tratamiento antirretroviral eficaz. Por último, Piketty y cols. (85) reportan cifras similares a partir del estudio de los 132 casos de carcinoma anal recogidos en Francia, comparando dos periodos (1992-1996 y 1999-2004).

De forma paralela, se ha confirmado que la prevalencia de NIA-AG es muy elevada en pacientes homosexuales: entre el 25% (VIH-) y 50% (VIH+) de estos pacientes presentan displasia de alto grado(18, 48); diversas cohortes analizadas presentan datos similares, que confirman que la TARGA no ha demostrado tampoco ningún efecto beneficioso sobre la evolución de estas lesiones precursoras(20, 87). En el estudio de Palefsky en 2005 sobre 357 varones homosexuales VIH+, se demostró mediante análisis multivariante la relación entre el uso de TARGA y el aumento de riesgo para NIA total y NIA-AG(20).

De todas las evidencias expuestas, se puede concluir que la TARGA no supone ningún efecto beneficioso sobre la prevalencia del carcinoma anal y sus lesiones

precursoras. De hecho parece que el efecto real de la TARGA sobre la historia natural de la enfermedad sería negativo, considerando que no se ha evidenciado que tenga ninguna eficacia en la regresión de las lesiones existentes y sin embargo prolonga significativamente la supervivencia de los individuos en riesgo. Asumiendo que el riesgo de aparición de lesiones precursoras de alto grado es tiempo dependiente, cabe esperar que la incidencia de esta neoplasia siga aumentando de forma progresiva. Según las estimaciones de Palefsky y cols (45) el 32% de los pacientes homosexuales VIH+ con citología normal y el 52% de los casos displasia de bajo grado podrían desarrollar lesiones intraepiteliales de alto grado en un periodo de 4 años.

#### 1.6.4. MODELO ETIOPATOGENICO DE LA INTERACCIÓN VIH-VPH

Los mecanismos fisiopatológicos que explican la interacción entre VPH y VIH no han sido aclarados por completo, ya que no existen estudios que permitan establecerla verdadera importancia de la infección VIH por sí misma en el desarrollo del carcinoma anal, independientemente de la influencia de la infección crónica por VPH-AR. Los datos que sugieren una relación directa entre VIH y neoplasia anal se sustentan en los estudios epidemiológicos que describen una incidencia muy elevada de NIA en los pacientes homosexuales VIH+ en comparación con individuos homosexuales seronegativos(88). Además, la incidencia de VPH y lesiones preneoplásicas anales asociadas está aumentada en los pacientes VIH+ con independencia de sus prácticas sexuales(76). Drobacheff (89) investigó la prevalencia de VPH anal en un serie corta de individuos VIH+(36 varones y 14 mujeres), sin encontrar diferencias en la prevalencia de VPH-AR en varones homosexuales frente a varones heterosexuales y mujeres.

En el escenario teórico de interacción entre VPH y VIH planteado por Ching-Hong y Palefsky(90), las alteraciones inmunológicas progresivas asociadas a la infección VIH avanzada incidirían en un escenario muy favorable para la progresión tumoral, es decir un epitelio metaplásico infectado por múltiples genotipos de VPH entre los que se encuentran las variantes de alto riesgo, y que habrían sido adquiridos con anterioridad, preferentemente a partir de relaciones anales receptivas con múltiples parejas. En las primeras fases de la infección VIH la respuesta inmune se mantendría intacta, lo que explica los bajos niveles de replicación de VPH y relativamente escaso riesgo de NIA. A medida que la inmunidad celular del huésped se deteriora, se aprecia una atenuación de la inmunidad específica frente a VPH, con el correspondiente

incremento en los niveles de VPH, el desarrollo de NIA 1 y la progresión acelerada a NIA 2 y 3.

En todo caso, los mecanismos que relacionan la inmunodepresión progresiva y el desarrollo de NIA no han sido aclarados. En diversos estudios se ha demostrado que, al contrario que en otras neoplasias asociadas al VIH, la incidencia del carcinoma anal permanece estable tras el diagnóstico de SIDA y en pacientes con recuentos de CD4 por debajo de 50 células/mm<sup>3</sup>(74, 91). Por ello se ha sugerido que la inmunodepresión por VIH se debería considerar como un factor facilitador, pero que la progresión hacia carcinomas invasivos requiere la aparición de otros factores adicionales, como mutaciones genómicas en el huésped que se acumularían en etapas más avanzadas del proceso. Datos recientes de las investigaciones de Haga y cols.(92) han caracterizado algunas alteraciones genéticas en la NIA, así como que la proporción de estas lesiones que incluyen cambios genéticos se incrementan de forma paralela al grado de displasia histológica.

En el modelo propuesto por Chin-Hong que se está comentando(90), la infección por VPH juega un papel fundamental en el desarrollo inicial de la NIA, y el deterioro de la respuesta inmune específica frente a ella ocasionada por la coinfección VIH evitaría la eliminación efectiva de las células epiteliales que expresan las proteínas del VPH. La consecuencia de esta sobreexpresión sostenida de proteínas virales, sería un incremento de la expresión de citocinas (IL-6) y factores de crecimiento que promoverían finalmente inestabilidad cromosómica(93, 94). Otro mecanismo complementario de interacción VIH/VPH sería la inducción de los oncogenes E6 y E7 de VPH por parte de la proteína Tat del VIH-1. Estas proteínas ocasionan la inactivación de las proteínas supresores p53 y pRB, induciendo finalmente inestabilidad cromosómica y transformación tumoral. En conclusión, los mecanismos referidos explicarían que los cambios genéticos serían el factor fundamental para la progresión de NIA 2 y 3 a carcinoma establecido, más que la inmunodepresión por sí misma. Se justificaría así el escaso impacto que la reconstitución inmune ha demostrado tanto estadísticamente como en la práctica clínica en la historia natural del carcinoma anal y sus lesiones precursoras.

## 1.7. DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA ANAL

Se ha sugerido que el abordaje más correcto del carcinoma anal y sus lesiones precursoras sería la aplicación secuencial de una serie de pruebas diagnósticas en los pacientes de mayor riesgo. En el primer nivel de este proceso se encuentran las técnicas más sencillas y de menor coste, que deben ser ofrecidas sistemáticamente a toda la población VIH+ como parte de los cuidados médicos generales de su seguimiento. En este primer grupo de procedimientos se incluyen la anamnesis dirigida (incluyendo antecedentes demográficos específicos de la infección VIH y otras infecciones de transmisión sexual, así como de síntomas proctológicos previos), la inspección visual de la zona perianal y el tacto rectal.

### 1.7.1. ANAMNESIS

El diagnóstico clínico del carcinoma anal avanzado es, lamentablemente, sencillo. La importancia de la anamnesis reside en su valor para la detección precoz de sus lesiones precursoras (NIA-AG), que son en la mayoría de los casos asintomáticas, o de cualquier manifestación clínica sugestiva de neoplasias en crecimiento. Estos datos incluyen sangrado anal (confundido frecuentemente con sangrado hemorroidal), dolor, sensación de ocupación o tenesmo(95). Debe recordarse además que el 20% de los carcinomas localmente avanzados son asintomáticos(96, 97), por lo que es mandatorio aplicar en los grupos de riesgo un protocolo de búsqueda activa, a partir de una anamnesis dirigida que incluya los síntomas y signos mencionados y la presencia de lesiones perianales incipientes pueden pasar inadvertidas tanto para la autoexploración del paciente como para el clínico no avezado.

La historia clínica dirigida debe incluir:

- Antecedentes de infección por VPH y otras infecciones de transmisión sexual
- Historia sexual incluyendo específicamente los antecedentes de relaciones anales receptivas.
- Estudio serológico frente a VIH y marcadores de situación inmune (recuento de CD4 y carga viral)
- Antecedentes de lesiones anales o perianales

- Hábitos tóxicos, especialmente tabaquismo
- Síntomas locales: prurito, dolor, sangrado, exudación, tenesmo

### 1.7.2. EXPLORACIÓN FÍSICA

Es obligada en todos los pacientes la inspección visual del área perianal, así como la exploración del canal anal. Esta última requiere siempre efectuar un examen digital, junto a los procedimientos adicionales que se consideren adecuados según el protocolo clínico implantado en cada situación asistencial: citología anal y/o anoscopia de alta resolución.

#### 1.7.2.1. EXAMEN DE LA ZONA PERIANAL

La primera etapa del proceso de cribado del cáncer anal se basa en la inspección visual y el tacto rectal, que debe ser efectuado a todos los pacientes de riesgo con perioricidad anual (y con mayor importancia si no se dispone de otras técnicas adicionales)(18). Los pacientes deben ser instruidos para participar activamente en el proceso diagnóstico, realizando autoexploraciones periódicas, para consultar en caso de percibir cualquier hallazgo o sintomatología inusuales.

Si bien no se conoce el rendimiento del examen perianal para la detección precoz de NIA, es fácil de realizar y presenta el beneficio potencial de detectar lesiones tumorales en estadio precoz. Lamentablemente, la apariencia clínica de las lesiones precursoras de displasia o los carcinomas *in situ* es muy inespecífica, y muchas veces motivo de confusión con patología anal benigna(130). Además, La correlación clínica entre la apariencia clínica de la NIA y la severidad de la displasia subyacente es pobre(130, 131); por ello, se requiere biopsia y estudio histológico para el diagnóstico definitivo y su diferenciación de otras dermatosis perianales. Debe descartarse NIA especialmente en pacientes con antecedentes de condilomas y otras enfermedades perianales, y en mujeres con displasia cervical o vulvar. Además, debe biopsiarse cualquier lesión anal sospechosa, incluyendo las verrugas anogenitales que no respondan adecuadamente a tratamiento convencional o que presente cambios morfológicos. Otros autores van más allá, y sugieren biopsiar todas las lesiones perianales en varones homosexuales VIH+, independientemente de su morfología o apariencia clínica.

La descripción clínica de las lesiones displásicas intraepiteliales ha sido muy poco referida en la literatura dermatológica; los escasos trabajos coinciden en la dificultad diagnóstica de las lesiones perianales, por su variabilidad clínica y el amplio diagnóstico diferencial que plantean. La apariencia clínica de la neoplasia intraepitelial perianal es similar a los carcinomas epidermoides incipientes, y se describe como la aparición en los márgenes del ano de placas eritematosas de tono grisáceo, rosado o parduzco (Fig.1), de aspecto eccematoso o descamativo y en muchas ocasiones liquenificadas por rascado o fisuradas. Kreuter y cols. propusieron recientemente una clasificación de las neoplasias intraepiteliales perianales en 4 subtipos: bowenoide, eritroplásica, verrucoso y leucoplásica(98). Si bien las lesiones verrucosas- en caso de estar infiltradas- pudieran correlacionarse con una displasia histológica más intensa y por tanto mayor agresividad local, no existe evidencia de que las variedades de presentación clínica referidas se correlacionen con un comportamiento biológico diferente(99). Ya se ha comentado que la correlación histológica de estas lesiones se clasifica de forma análoga a la displasia cervical. Se reconocen así tres grados de Neoplasia intraepitelial anal (NIA), basados en la extensión de la displasia celular: NIA 1 describe la displasia que afecta al tercio inferior de la epidermis, NIA 2 los dos tercios inferiores, y finalmente en NIA 3 la displasia afecta a la totalidad de la epidermis(12).

La papulosis bowenoide del área perianal se presenta como lesiones pápulo-verrucosas aplanadas, de pequeño tamaño y tono eritematovioláceo o parduzco, que tienden a coalescer en placas extensas y predominan en adultos jóvenes sexualmente activos(100). Si bien la histología es sugestiva de carcinoma in situ, el curso clínico de la papulosis bowenoide es normalmente menos agresivo y con menor tendencia a la progresión en profundidad que los casos de Bowen perianal. Sin embargo, esta posibilidad ha sido descrita con mayor frecuencia en pacientes inmunodeprimidos y casos de lesiones prolongadas(101-103), por lo que estos casos deben ser controlados con especial interés. Las lesiones displásicas externas plantean diagnóstico diferencial con múltiples procesos de localización perianal, incluyendo dermatosis frecuentes en pacientes con infección por VIH: dermatitis seborreica, eccema crónico, psoriasis invertida, liquen simple crónico. Además, en estos pacientes no debe olvidarse la posibilidad de aparición en la zona perianal de lesiones cutáneas atípicas que pudieran ser de carácter infeccioso o tumoral (herpes simple(104), linfogranuloma venéreo, micobacteriosis, Kaposi, Linfoma no Hodgkin) así como otras variedades menos

frecuentes de cáncer cutáneo: melanoma maligno, enfermedad de Paget extramamaria, ó carcinoma basocelular. No es infrecuente encontrar lesiones clínicamente atípicas que pueden corresponder a orígenes mixtos.

Figura 1. Carcinoma epidermoide perianal en una paciente de la cohorte estudiada.



#### 1.7.2.2. EXPLORACIÓN DEL CANAL ANAL

La presentación clínica del carcinoma anal invasivo es normalmente inespecífica, y muchos de los síntomas iniciales de la enfermedad (dolor, sangrado o aparición de masas rectales) pueden ser superponibles a los de otros procesos frecuentes en varones homosexuales, como enfermedades de transmisión sexual, síndromes diarreicos de diverso origen, o bien fisuras, fistulas y abscesos anales(105). En un estudio reciente en individuos VIH-, se ha confirmado que una gran proporción (70%)(106)de varones homosexuales no tienen información sobre la importancia creciente del carcinoma anal ni identifican sus factores de riesgo. Es lógico asumir que una mejor educación sanitaria en este colectivo contribuiría a mejorar las posibilidades de detección precoz del carcinoma anal.

El mayor problema para el diagnóstico de las neoplasias intraepiteliales incipientes lo constituyen las lesiones de localización intraanal, no diagnosticables sin la ayuda de anoscopia de alta resolución(16) ya que normalmente pasan desapercibidas a la exploración digital. Mediante dicha técnica es posible diferenciar la mucosa anal normal, que aparece brillante, uniforme y de tono rosado, de las áreas patológicas en las

que se aprecian formaciones leucoplasiformes, granulares o friables, con sangrado abundante. Los patrones vasculares anómalos son asimismo sugestivos de neoplasia intraepitelial y se describen como áreas puntiformes o en mosaico, o bien áreas de neovascularización con variaciones de calibre o interrupción brusca de los vasos visibles(107).

#### 1.8. REPERCUSIÓN DEL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO PRECOCES EN LA MORBILIDAD DEL CARCINOMA ANAL.

Ante el riesgo confirmado de progresión tumoral, el diagnóstico de displasia intraepitelial de alto grado mediante biopsia obliga a tratar todos los casos diagnosticados. Se desconoce si el tratamiento de la NIA reducirá el riesgo de carcinoma anal futuro, aunque la experiencia en carcinoma cervical así lo sugiera. El tratamiento de la NIA y el carcinoma anal en pacientes inmunodeprimidos, y especialmente los infectados por el VIH, es especialmente difícil, ya que los resultados de las terapias convencionales son peores que en la población seronegativa(108).

La evolución y pronóstico de los casos tratados ha sido descrita tan sólo ocasionalmente, sin que existan series clínicas extensas, y menos ensayos clínicos bien diseñados, de los que se puedan extraer conclusiones sólidas. Los datos disponibles son preocupantes, ya que en una cohorte reciente de 72 pacientes con NIA se ha descrito la progresión a carcinoma invasivo en 11% de los casos tras un seguimiento de 9 años a pesar de ser adecuadamente tratados (16).

Desde 2004, se han publicado 11 estudios en los que se analiza el pronóstico del carcinoma anal en pacientes VIH+, si bien la mayoría de ellos carece de la solidez estadística como para detectar diferencias entre individuos VIH+ y -. Las cohortes más extensas demuestran que, en la era TARGA, la supervivencia del carcinoma anal es similar en pacientes VIH+ frente a la población no infectada (supervivencia media a los 4 años de 66% y 65% en VIH+ y 62% y 65% en VIH-, en ambos estudios)(80, 109). Sin embargo, el análisis de la edad de los pacientes afectados establece claramente que los pacientes VIH+ son mucho más jóvenes (edad media 45-49 años) que los pacientes VIH- estudiados (mayores de 75 años). En resumen, la misma supervivencia en dos grupos etarios con 20 años de diferencia sugiere una mayor mortalidad en los pacientes VIH+.

En un reciente análisis retrospectivo de registros poblacionales de Estados Unidos sobre el pronóstico del carcinoma anal desde 1972 a 2000, se comprobó que la supervivencia es claramente superior en los casos con enfermedad localizada al momento del diagnóstico (supervivencia a los 5 años del 78%), en comparación con los pacientes diagnosticados de enfermedad regional (supervivencia 56% a 5 años) y enfermedad diseminada (supervivencia 18% a los 5 años)(11, 88). En una revisión retrospectiva, Wexler y cols.(101) confirman en una serie de 32 pacientes VIH+ con carcinoma anal que las recurrencias locorregionales, supervivencia relacionada con el tumor y supervivencia global de los pacientes se asociaban específicamente al tamaño del tumor primario en el momento del diagnóstico.

Y además del lógico aumento del riesgo relacionado con el estadiaje tumoral, la morbilidad y mortalidad asociada al carcinoma epidermoide de ano es mayor en los pacientes seropositivos que en la población general. Incluso en la era TARGA, los pacientes VIH+ presentan peor tolerancia a la quimiorradioterapia (con dificultades de cumplimiento del protocolo oncológico hasta en el 50% de los casos)(102).

Todos estos datos refuerzan la necesidad del diagnóstico precoz de las lesiones precursoras del carcinoma anal, como de las lesiones ya invasivas antes de su diseminación regional o general.

#### 1.9. ANTECEDENTES DEL CRIBADO DEL CARCINOMA ANAL

El método de referencia para evaluar los programas de cribado es la realización de ensayos clínicos aleatorizados. En la práctica, los diseños observacionales como los estudios de casos y controles, y los estudios de cohortes, son también útiles para la evaluación de las estrategias de cribado. Como antecedente cercano, la repercusión de los programas de diagnóstico precoz del carcinoma cervical en la incidencia y mortalidad de las neoplasias invasivas se ha basado únicamente en estudios observacionales(121, 122).

Los programas de cribado del carcinoma de cérvix mediante citología en la población general se iniciaron en Estados Unidos hace 50 años, y la incidencia de carcinoma invasivo ha disminuido desde entonces desde 35-40 casos/100.000 antes de su generalización(116), a 8/100.000 tras ella(117)(106, 107).

El carcinoma de cérvix es una neoplasia oportunista, incluida en los criterios diagnósticos de SIDA en las mujeres infectadas por el VIH, y la incidencia de neoplasia cervical intraepitelial (CIN) confirmada por colposcopia, es 4-5 veces mayor en mujeres y adolescentes seropositivas que en la población VIH- con los mismos comportamientos sexuales(110-112). El motivo principal de tan elevada prevalencia de CIN en este grupo es su asociación a la infección persistente por cepas oncogénicas de VPH, que afecta a un porcentaje elevadísimo de estas mujeres(34, 113). Los datos sobre un posible efecto beneficioso de la TARGA sobre la posible regresión o menor severidad de la neoplasia cervical en mujeres infectadas por VIH son también contradictorios(114-116). Más bien al contrario, las pacientes con infección VIH avanzada y terapia antirretroviral parecen en mayor riesgo de infección persistente por VPH y CIN que las mujeres infectadas por VIH más recientes, si bien no existen datos definitivos que aconsejen un cribado más intensivo en el primer grupo. Como resumen de las evidencias disponibles, se considera que la incidencia de carcinoma invasivo de cérvix permanece inalterada en la era de la TARGA(117).

Actualmente se admite por consenso la eficacia de la citología como prueba de cribado inicial para la neoplasia cervical; así lo confirma el seguimiento de varias cohortes de mujeres VIH+(118) (119). En ellos se confirma la eficacia de la citología como test de cribado solitario, incluso sin que sea necesario asociarla a colposcopias periódicas o tipaje de VPH.

Las guías clínicas del American College of Obstetricians and Gynecologists de Estados Unidos aconseja que las mujeres infectadas por el VIH se sometan a dos citologías cervicales el primer año tras el diagnóstico, y después anualmente en caso de que los resultados sean normales(120). Con esta práctica se asegura evitar una progresión acelerada de la enfermedad, además de la posibilidad de falsos negativos en una sola citología inicial. El análisis de coste eficacia de este abordaje mejora el de otros esquemas con los que se ha comparado(121).

Siguiendo una estrategia similar al cribado cervical, los programas de cribado de la NIA diferencian varios procedimientos, que son ofrecidos de forma secuencial a cada paciente, dependiendo de los resultados de las pruebas iniciales. Éstas incluyen la inspección visual y el tacto rectal, que se consideran las técnicas diagnósticas fundamentales a realizar en todos los pacientes(122), seguidas de la toma de muestras

para citología anal, que se realiza de forma preferente en medio líquido. En los casos en los que se encuentra cualquier alteración citológica, se procede a la realización de una anoscopia de alta resolución (AAR) con toma de biopsias de las zonas sospechosas de displasia (considerada la prueba de referencia para el diagnóstico de NIA). La AAR es un procedimiento similar a la colposcopia cervical, y que utiliza un equipo idéntico (una fuente binocular de alta resolución asociada a una fuente de luz potente) y así permite la visualización directa de las lesiones que han originado las alteraciones citológicas previamente detectadas. Como en la colposcopia cervical, el ácido acético al 3% facilita la visualización del tejido patológico mediante el blanqueamiento de las zonas afectadas, que se diferencian más claramente del tejido sano circundante (Fig.2). Si bien esta técnica facilita la identificación de las áreas a biopsiar, no se debe considerar específica, por lo que debe evaluarse con cautela. Otros hallazgos visualizables mediante AAR son los patrones vasculares atípicos similares a los descritos en la colposcopia cervical (Fig.2)(123), las áreas en empedrado (Fig.3) y los cambios detectados tras la aplicación de solución de lugol, que identifican las áreas patológicas, que permanecen sin teñir en contraposición a las zonas sanas. Desde el punto de vista citológico la displasia anal puede definirse de forma similar a las lesiones del cérvix uterino y, por lo tanto, puede utilizarse la clasificación de Bethesda(124), que diferencia varias categorías: normal, lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (L-SIL), lesión escamosa intraepitelial de alto grado (H-SIL), células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) y células escamosas atípicas-no se excluye HSIL (ASC-H). Esta diferenciación citológica entre lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado y de alto grado tiene una correspondencia histológica cuando se analiza la biopsia efectuada en el canal anal, que es la herramienta fundamental para el diagnóstico de la neoplasia intraepitelial anal. La biopsia se basa en la detección de la displasia y en la determinación de su profundidad en el epitelio estudiado. Así pues, teniendo en cuenta la división del epitelio en 3 partes, la NIA se divide en grado 1, grado 2 y grado 3 en función de la aparición de cambios morfológicos (displasia citológica, maduración/diferenciación escamosa y actividad mitótica) que afecten al epitelio de menor a mayor profundidad, respectivamente(125). La correlación entre los hallazgos citológicos y la biopsia del canal anal asocia las citologías de bajo grado (LSIL) a NIA 1, y las de alto grado (HSIL) a NIA 2 y 3. En cuanto a la interpretación de su significado biológico, generalmente se considera que NIA1/LSIL se refieren a las lesiones con comportamiento evolutivo benigno, es decir con tendencia a la regresión espontánea y escaso potencial maligno. En la otra parte del

espectro de las lesiones precursoras de carcinoma anal se localizan los casos de NIA 2 y 3/HSIL, considerados como lesiones con riesgo de progresión a tumores invasivos(126). Finalmente, la interpretación de las citologías anales diagnosticadas como ASCUS es más discutible, y motivo de debate no resuelto.

Figura 2. Áreas blanquecinas tras al aplicación de lugol (lado derecho) y patrón vascular atípico (margen superior) en un paciente con NIA-AG de nuestra cohorte.

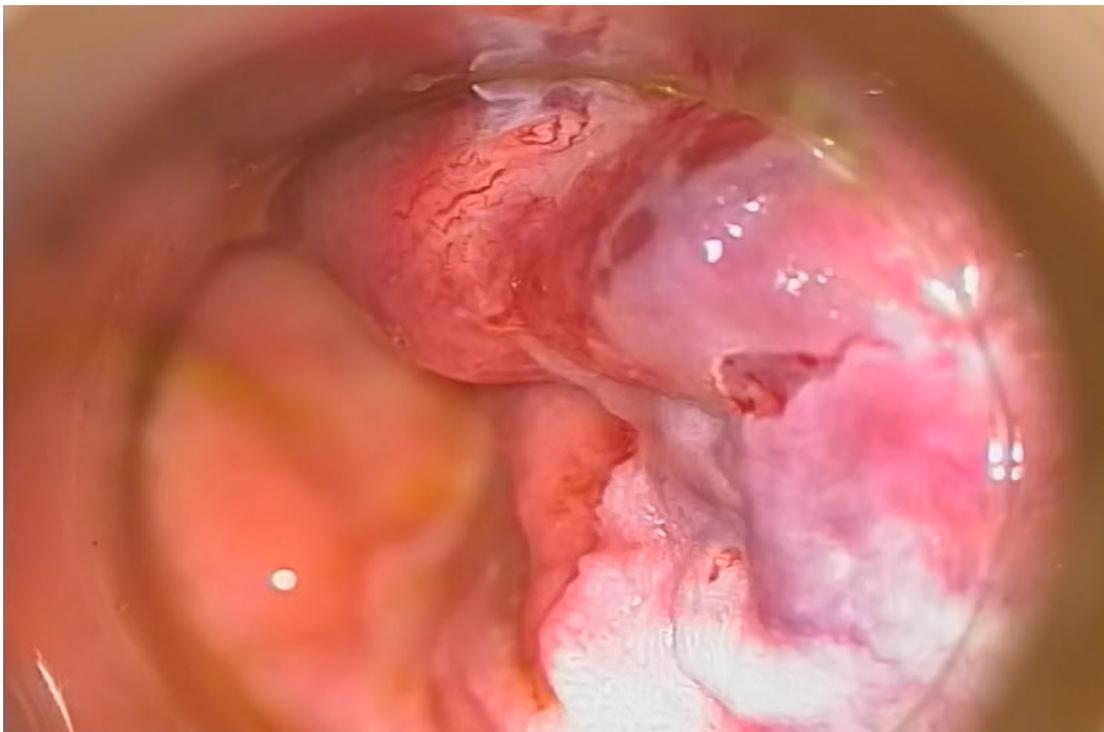


Figura 3. Imagen en empedrado que corresponde a NIA-AG



## 2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

## 2.1. NECESIDAD DEL CRIBADO DE NIA

Puesto que el carcinoma epidermoide anal se desarrolla sobre lesiones precursoras (NIA-AG) que se pueden diagnosticar y tratar, se trata de un tumor teóricamente prevenible, que presenta similitudes evidentes con el carcinoma de cérvix desde el punto de vista epidemiológico, factores de riesgo y características anatómicas e histológicas (18, 21, 124). En los últimos 10 años, se han iniciado programas de detección precoz del carcinoma anal que siguen protocolos de actuación y guías clínicas similares a las establecidas para el carcinoma cervical, con la esperanza de que su aplicación obtenga los mismos efectos positivos.

La primera propuesta de un protocolo sistematizado de cribado de carcinoma anal se remonta a 1997 (125). Posteriormente, se han planteado modificaciones tanto de la estructura del protocolo inicial como de los procedimientos técnicos específicos a utilizar en cada etapa del mismo, con el propósito de facilitar su aplicación rápida y sencilla a los grupos poblacionales de mayor riesgo, y adaptarla a los recursos disponibles en cada ámbito sanitario.

En la actualidad ya se aplican guías terapéuticas que abordan la necesidad de estratificar a los pacientes subsidiarios de cribado en diferentes subgrupos de riesgo, con objeto de priorizar la atención de los pacientes con mayor número de factores pronósticos para la aparición de carcinoma anal. La experiencia más extensa en la aplicación de estos cribados pertenece a Estados Unidos. El protocolo del US Department of Health and Human Services (DHHS) recomienda el tacto rectal anual a todos los pacientes VIH+ de ambos sexos, con objeto de detectar masas palpables, y sugiere la validez del cribado mediante citología anal en los ámbitos en que esté disponible. La guía del estado de New York (NYSAI)(132) aconseja citología anual para las poblaciones VIH+ con mayor riesgo de infección por VPH: varones homosexuales, pacientes de ambos sexos con verrugas anogenitales, y mujeres con antecedentes de atipia cervical o vulvar. Cuando esta prueba demuestre células atípicas (ASCUS) o displasia de alto grado (HSIL), se recomienda anoscopia de alta resolución y biopsia de las zonas alteradas para descartar carcinoma invasivo.

Los protocolos actuales para la detección precoz de lesiones precursoras del carcinoma anal en pacientes VIH+ adolecen de las limitaciones descritas para el cribado cervical.

La mayor de ellas es la ausencia de estudios aleatorizados que hayan podido demostrar hasta la fecha una disminución en los casos de carcinoma anal invasivo, similar a la ya confirmada en el caso del carcinoma de cérvix(98), frente a la conducta expectante. Otras cuestiones pendientes de respuesta definitiva son la falta de evidencia de un efecto positivo de la citología anal en la supervivencia, la eficacia tan sólo modesta de los tratamientos disponibles, y el desconocimiento acerca de la historia natural de la neoplasia anal y, por tanto, la imposibilidad de determinar el riesgo de progresión de la NIA-AG a carcinoma anal.

En todo caso, todas estas cuestiones sin respuesta definitiva no han impedido la generalización, lenta pero progresiva, de las estrategias de cribado de la NIA en pacientes VIH+, y con ello han focalizado el interés en varios aspectos problemáticos de su aplicación práctica. Algunos autores advierte de que el uso indiscriminado de citología, AAR y biopsia puede ser poco rentable, e incluso tener un efecto negativo en el seguimiento de estos pacientes(126). Por una parte, la situación en la mayoría de los ámbitos sanitarios no presenta condiciones adecuadas para la instauración generalizada de las técnicas, tanto por el desconocimiento acerca de la verdadera carga asistencial y el coste económico que supondría, como por las carencias materiales y formativas del personal sanitario(131). Además, las técnicas de cribado, aunque sencillas y poco cruentas, pueden asociarse a problemas médicos y aumentar el nivel de ansiedad del paciente –en muchas ocasiones con muy bajo nivel de conocimientos sobre el tema– ante un posible resultado negativo y la necesidad de seguimiento a largo plazo (125).

La puesta en marcha de estos protocolos obliga a valorar la capacidad de asumir la aplicación práctica de los mismos, considerando los recursos de cada ámbito sanitario concreto. Para ello es imprescindible evaluar el porcentaje de la población VIH subsidiaria de cribado según los criterios que se escojan. En el estudio de Shalev en la Universidad de Columbia(2011) sobre la prevalencia de los factores indicadores de cribado en una población de 200 individuos VIH+(50% varones y mujeres), se estima que de acuerdo con los criterios regionales vigentes en su localización geográfica ( NYSAI), el 48% de la población estudiada debería ser sometida a cribado mediante citología o anoscopia, y se estima que al menos el 30% de los pacientes cribados mediante citología necesitarían seguimiento con anoscopia y biopsia(69, 124).

Todos estos datos justifican el interés de evaluar la prevalencia real de NIA en nuestros pacientes, así como la evaluación de las técnicas disponibles para su diagnóstico, estratificadas en un protocolo de actuación adecuado a las necesidades de cada uno de los subgrupos de pacientes de mayor riesgo.

## 2.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

### A. Primario:

- Describir la prevalencia y factores de riesgo de Neoplasia Intraepitelial Anal (NIA) en una cohorte de pacientes infectados por VIH.

### B. Secundarios:

- Describir la prevalencia de alteraciones en la citología anal de dichos pacientes
- Describir la prevalencia de infección anal por VPH: Cualquier genotipo, genotipos de alto riesgo y genotipo 16
- Determinar la sensibilidad y especificidad como pruebas de cribado de NIA y de la NIA de Alto Grado de la:
  - Citología anal
  - Detección del VPH de alto riesgo / VPH 16
- Evaluar la sensibilidad y especificidad de la Anoscopia de Alta Resolución (AAR) en el diagnóstico de NIA y de la NIA de Alto Grado

### 3. PACIENTES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio observacional de corte transversal.

### 3.1. POBLACIÓN DIANA

Pacientes con infección por el VIH confirmada, atendidos en la Unidad VIH del Servicio de Medicina interna del Hospital La Paz

### 3.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes mayores de 18 años, con diagnóstico previo de infección por el VIH, que los médicos de la Unidad VIH remitieron por consideraron en mayor riesgo para presentar NIA entre junio 2009 y marzo 2011 y que dieron su consentimiento por escrito.

Los pacientes se agruparon de la forma siguiente

- Grupo 1: varones homosexuales
- Grupo 2: varones heterosexuales con antecedentes de condilomas anales o displasia en área anogenital.
- Grupo 3: mujeres con antecedentes de condilomas anales o displasia en la zona anogenital.

### 3.3. ESQUEMA DE CRIBADO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA NIA.

El protocolo de actuación escogido consistió en dos fases, la primera en la que se incluyeron las pruebas para el cribado inicial de los pacientes, y una segunda fase realizada solamente a aquellos en los que se evidenciaron determinadas alteraciones en la visita inicial.

#### 1. Visita inicial

En esta primera visita, todos los pacientes fueron evaluados mediante una historia clínica detallada que incluyó a sus antecedentes personales (hábitos tóxicos, conducta sexual, parámetros relativos a la infección VIH y su tratamiento), así como datos clínicos relacionados con sintomatología anogenital.

Se recogieron las siguientes variables:

- Variables demográficas: Edad, sexo, país de origen.

- Variables acerca de hábitos tóxicos: Tabaquismo, enolismo, consumo actual o pasado de otras drogas.
- Práctica de riesgo para la adquisición de la infección VIH; transmisión parenteral (drogas por vía parenteral, transfusión de sangre), transmisión sexual, y otros (mecanismo no aclarado).
- Hábito sexual: heterosexual, homosexual (incluyendo bisexual), tipo de práctica sexual anal habitual (insertivo, receptivo, ambos), número de parejas sexuales distintas aproximado lo largo de su vida, última relación sexual anal, contactos sexuales distintos en el último mes, tres meses y seis meses, edad de inicio de las relaciones sexuales, uso de preservativo, última relación sexual de riesgo, antecedentes de ITS, incluyendo: sífilis, uretritis, proctitis, herpes simple, hepatitis B, hepatitis C, molluscum contagiosum, condilomas genitales o anales, y antecedentes de displasia cervical en el caso de las mujeres.
- Variables relacionadas con la infección VIH: Fecha de diagnóstico de la infección VIH, recuento de linfocitos CD4/mm<sup>3</sup> en el momento del estudio, CD4 nadir registrado en la historia clínica.
- Anamnesis y exploración locorregional: presencia de sintomatología anal y perianal en el momento de la consulta: prurito, escozor, sangrado, tenesmo, supuración o cambio del ritmo intestinal.

En la primera visita, a todos los pacientes se les realizó una exploración física completa incluyendo inspección visual, tacto rectal y citología anal para estudio citopatológico y detección de VPH.

## 2. Visita de seguimiento

A partir de los resultados de la primera fase, se realizó anoscopia de alta resolución (AAR) y biopsia a los siguientes grupos de pacientes:

1. Pacientes con alteraciones en la citología anal
2. Pacientes con citología normal y detección de VPH16.

### 3.4. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LAS PRUEBAS REALIZADAS:

#### 3.4.1. CITOLOGÍA ANAL

##### 3.4.1.1. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO

Las muestras para estudio citológico se obtuvieron de forma ciega, sin control anoscópico, ya que este método se considera más fiable para la detección de NIA-AG que la citología con control visual, más proclive a presentar errores subjetivos de valoración(127). La técnica de recolección de muestras para estudio citológico fue siempre efectuada por personal médico. Se siguió el procedimiento inicialmente descrito por Palefski(18). Consiste en la inserción de un cepillo de dacron en el canal anal, a una profundidad de 5-6 cm, para posteriormente presionar y rotar en espiral el cepillo hasta su retirada. La muestra es fijada rápidamente para su estudio citológico en medio líquido (ThinPrep Pap Test. PreservCyt®, Marlborough, Estados Unidos). Se considera que esta técnica tiene el mismo rendimiento que la citología convencional para el examen histopatológico, y presenta por el contrario diversas ventajas ya que evita artefactos visuales, además de permitir la detección de DNA de VPH-AR.

Los resultados fueron analizados por un único anatomatólogo especializado en el diagnóstico de estas lesiones, quien determinó tanto los criterios de idoneidad de la muestra, como su clasificación según los criterios citopatológicos previamente establecidos.

##### 3.4.1.2. DETERMINACIÓN DE VPH

La detección del VPH se llevó a cabo de forma complementaria mediante el kit CLART® Papillomavirus 2 (GENOMICA S.A.U, Madrid), que permite la detección, mediante amplificación genómica, de hasta 35 genotipos de papilomavirus, a través de una plataforma de arrays de baja densidad para diagnóstico in vitro. Este kit permite la detección de 35 genotipos de VPH ,clasificados como “alto riesgo”: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 85 y 89, y “bajo riesgo”: 6, 11, 40, 42, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83 y 84.

### 3.4.2. ANOSCOPIA DE ALTA RESOLUCIÓN

La anoscopia de alta resolución (AAR) se efectuó mediante la visualización a través de un videocolposcopio (Zeiss, OPMI pico). La preparación preexploratoria se efectuó utilizando anoscopios desechables de plástico cubiertos de lubricante y gel de lidocaína 5%. Se utilizaron para aplicar en el canal anal una tinción con ácido acético al 3% mediante una torunda de algodón aplicada durante 1 minuto tras la retirada del anoscopio. Consecutivamente, se utilizó el videocolposcopio para examinar las paredes del canal anal para identificar las áreas acetoblancas, seguida de tinción con lugol que aumenta la especificidad de la anoscopia para la detección de NIA- AG (el tejido no afectado se tiñe de marrón oscuro por la presencia de glucógeno, mientras que las áreas patológicas permanecen sin teñir o amarillentas). Durante la exploración, se mantuvieron las aplicaciones con ácido acético mediante una torunda de algodón, para evaluar posibles lesiones ocultas entre los pliegues mucosos o el plexo hemorroidal. Mediante este procedimiento, se visualizó cuidadosamente la circunferencia completa de la unión escamocolumnar. El canal anal distal fue explorado mientras se retiraba el anoscopio.

Tras las tinciones, se tomaron muestras para biopsia de las zonas visualmente atípicas, seleccionadas mediante los criterios predefinidos en el estudio y que corresponden a los utilizados para la identificación de carcinoma cervical(123): placas acetoblancas, áreas con patrón vascular anómalo y áreas Lugol-negativas. Dichas biopsias se llevaron a cabo tras instilación de anestesia local (lidocaína al 2% con epinefrina), y mediante unas pinzas de biopsia tipo Baby-Tischler. Para favorecer la hemostasia se utilizó nitrato de plata (Argenpal®). Todos los enfermos fueron revisados a la semana de la prueba para evaluar complicaciones.

### 3.4.3. BIOPSIA

Las muestras histológicas se enviaron en formol 10% al laboratorio de anatomía patológica donde posteriormente se realizó inclusión en parafina. Las muestras fueron valoradas de forma ciega por un anatomopatólogo diferente al que valoró la muestra citológica.

### 3.5. DEFINICIÓN Y CATEGORÍAS DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS:

#### 3.5.1. INSPECCIÓN Y TACTO RECTAL

En todos los pacientes se realizó una exploración detallada de la piel perianal, antes y después de la aplicación de ácido acético al 3%, registrándose la posible existencia de lesiones mucocutáneas visibles.

Asimismo, todos los participantes fueron explorados mediante tacto digital rectal, utilizando gel de lidocaína al 2%. En todos los casos, el tacto rectal se efectuó después de la toma de muestras para citología anal con objeto de preservar la muestra de posibles artefactos. Se consideró patológico la palpación de cualquier nódulo o irregularidad en canal anal.

#### 3.5.2. CITOLOGÍA ANAL

##### 3.5.2.1. ESTUDIO CITOPATOLÓGICO

Las muestras citológicas se clasificaron en función de los criterios citopatológicos de la clasificación de Bethesda modificada para lesiones escamosas, en los siguientes grupos:

- Normal: negativa para alteración intraepitelial o malignidad.
- Patológico: se consideraron los siguientes apartados:
  - Células escamosas atípicas de significado incierto (ASCUS)
  - Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (L-SIL) o Displasia de Bajo Grado
  - Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (H-SIL) o Displasia de Alto Grado, carcinoma in situ.
  - Carcinoma epidermoide invasivo

### 3.5.2.2. DETERMINACIÓN DE VPH.

Los resultados de la detección del VPH (mediante la técnica detallada previamente) se clasificaron como ausencia de VPH, presencia de VPH de bajo riesgo (vide supra), presencia de VPH de alto riesgo (si al menos un VPH de alto riesgo oncogénico está presente) y presencia de cada genotipo de VPH.

### 3.5.3. ANOSCOPIA DE ALTA RESOLUCIÓN

De acuerdo con la terminología utilizada en los consensos internacionales sobre colposcopia cervical(128), fueron considerados como sugestivos de NIA la presencia de al menos uno de los siguientes patrones morfológicos:

- Epitelio acetoblanco: se aprecia tras la aplicación de ácido acético al 3% en forma de un área opaca de color blanco. Tomando como modelo la colposcopia cervical, se consideró patológica la presencia de epitelio blanco delgado, débil, tardío en aparecer tras la tinción, evanescente, de superficie regular, así como epitelio blanco grueso, rápido en aparecer, nacarado, persistente y con áreas de superficie irregular.
- Mosaico: se trata de una lesión con aspecto de empedrado o adoquinado, con losetas de epitelio blanco de tamaño y forma variables, delimitados por bordes rojizos, que se corresponden con los vasos que discurren paralelamente a la superficie, en el interior de tabiques de tejido conectivo. Tras la aplicación de lugol el epitelio pavimentoso patológico adquiere un tono amarillento, yodo negativo. La lesión suele ser sobreelevada y con frecuencia se asocia a epitelio acetoblanco grueso.
- Negatividad al yodo: definida como la ausencia de tinción de marrón del epitelio escamoso tras la aplicación de la solución de lugol (test de Schiller)
- Vasos atípicos: definidos como los vasos irregulares, dilatados, de curso abrupto, en horquilla, sacacorchos, con interrupciones bruscas o áreas lacunares.,y que pueden alternar con áreas hemorrágicas por fragilidad de los vasos neoformados.

### 3.5.4. BIOPSIA DEL CANAL ANAL

La biopsia y estudio histológico se considera la prueba de referencia (gold estándar) para el diagnóstico de la displasia del canal anal.

Las biopsias se clasificaron como normal, neoplasia intraepitelial anal de bajo grado (NIA-BG) (NIA 1) o neoplasia intraepitelial anal de alto grado (NIA-AG, incluye NIA 2 y 3), de acuerdo a los siguientes criterios histológicos:

- NIA de Bajo Grado (NIA-BG) (NIA-1):

Expansión de la capa parabasal hasta el tercio inferior del grosor de la epidermis, asociada a alteraciones citológicas que incluyen: aumento de la proporción núcleo/citoplasma, hipercromasia, alteraciones de la membrana nuclear y aumento de los nucléolos. Actividad mitótica mínima y sólo presente en el tercio inferior del epitelio, con ausencia de figuras mitóticas atípicas. La maduración y diferenciación escamosa sobre esta capa parabasal anormal están preservadas. Los condilomas acuminados se incluyeron en esta categoría.

- NIA Alto Grado (NIA-AG)

#### NIA 2

Expansión de la capa de células atípicas hasta la mitad inferior del epitelio. Incremento de la actividad mitótica, con ausencia de figuras mitóticas atípicas.

#### NIA 3

Expansión de la capa celular atípica, de características similares a la capa parabasal hasta el tercio superior de la epidermis. Aumento claro del número de mitosis y frecuentes figuras atípicas. Ausencia de diferenciación y maduración escamosas. Pueden apreciarse coilocitosis en las capas superficiales del epitelio, caracterizadas por la presencia de criptas citoplásmicas que engloban uno o varios núcleos agrandados, hipercromáticos y con membranas nucleares atípicas.

Para su análisis posterior, los casos de NIA 2 y NIA 3 fueron agrupados como NIA de alto grado (NIA-AG), con objeto de simplificar los resultados y mejorar su reproducibilidad (NIA BG frente a NIA AG).

### 3.6. MÉTODO ESTADÍSTICO:

El análisis estadístico fue realizado en la Sección de Bioestadística del HULP, utilizando como herramienta el programa informático SPSS para Windows en su versión 9.0.

Las variables cuantitativas se describen mediante media y desviación típica, mediana y rango intercuartílico. En las variables cualitativas se refieren frecuencias absolutas y relativas. La descripción gráfica se hace mediante diagramas de cajas y gráficos de barras.

En el análisis univariante empleamos para la comparación de proporciones las pruebas de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher. A partir de las tablas 2x2 se calcularon los índices de sensibilidad y especificidad de citología y anoscopia. Para comparar variables cuantitativas entre dos grupos independientes se utilizó el test U de Mann Whitney.

El nivel de significación estadística se situó a priori en todas las pruebas en un valor de probabilidad  $p < 0,05$ .

### 3.7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

- Protección de datos

En las bases de datos no se incluyó información que pudiera identificar directa o indirectamente a los participantes en el estudio, de acuerdo con las normas internacionales de protección de datos, así como con la legislación española vigente. Los investigadores del estudio se responsabilizaron de la seguridad de las bases de datos.

- Consentimiento informado

Se administró a todos los pacientes la hoja de consentimiento informado previamente a su inclusión en el estudio, respetando las normas de la Declaración de Helsinki. En ella se explicaron los objetivos y procedimientos del estudio, y se aseguró la confidencialidad de los datos.

- Permisos y autorizaciones.

Se solicitó la autorización del Comité de Ética, que aprobó el protocolo del estudio.

## 4. RESULTADOS

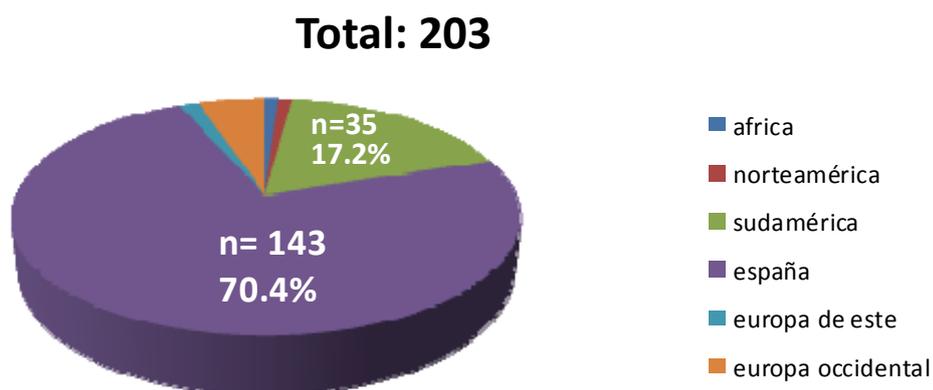
#### 4.1. DESCRIPCIÓN DE LA COHORTE:

##### 4.1.1. VARIABLES DEMOGRÁFICAS:

La cohorte inicial estaba constituida por 205 individuos infectados por VIH, reclutados entre Junio 2009 y Marzo 2011. Se excluyeron dos casos, por detectarse en la primera exploración, lesiones sugestivas de carcinoma epidermoide confirmadas histológicamente. Por tanto, fueron finalmente incluidos 203 pacientes.

La edad media fue de  $42 \pm 10,5$  años, con marcado predominio masculino (95 %). El 71 % de los pacientes eran españoles; respecto al origen del resto destacaba que el 17 % procedían de América del sur (Figura 4).

**Figura 4. Distribución demográfica de la cohorte.**



##### 4.1.2. HÁBITOS TÓXICOS:

El tabaquismo fue el hábito tóxico más frecuente, encontrándose en el 61% de los individuos; la mayoría seguían fumando (45%), y el resto (16 %) afirmaba haber abandonado el hábito. Respecto al consumo de alcohol, el 50% tomaban de forma habitual, aunque la mayoría (75 %) se consideraban “bebedores sociales”, ya que sólo consumían alcohol los fines de semana. En relación con otras drogas, 25 pacientes las consumían en el momento del estudio, y 19 pacientes afirmaban ser ex consumidores. Entre estas otras sustancias predominaba la marihuana (n=20) y la cocaína (n=18); hachis (n=5), extasis (n=5), poper (n=2) y anfetamina (n=1).

#### 4.1.3. HÁBITOS SEXUALES Y ANTECEDENTES DE ENFERMEDADES DE TRASMISIÓN SEXUAL

La distribución según conductas sexuales fue de: grupo 1 (varones homosexuales): 183, grupo 2 (varones heterosexuales): 10 y grupo 3 (mujeres heterosexuales): 10.

La edad media de inicio de las relaciones sexuales fue a los  $16,7 \pm 3,5$  años. El 90% de los pacientes (n=183), refirieron relaciones sexuales anales (anoinsertivos (n=33), anorreceptivos (n=30) y el resto indistintos). Ninguna de las mujeres refirió relaciones sexuales anales. Afirmaban tener pareja estable en el momento de la inclusión el 50% de los pacientes (n =99). Respecto a las parejas previas: 61 pacientes habían tenido más de 100 parejas sexuales diferentes a lo largo de su vida, 50 referían entre 50 y 100 y 17 pacientes entre 26 y 50. Los 75 pacientes restantes referían menos de 25 parejas sexuales distintas. El número medio de parejas sexuales diferentes en los últimos 8 meses fue de  $7,6 \pm 2$ .

El 79% de los pacientes (n=160) presentaba antecedentes de algún tipo de infección de transmisión sexual (ITS) diferente al VIH. De entre ellos, 66 individuos (32,5%) tenían antecedentes de condilomas anales, 21 pacientes (10,3%) de condilomas genitales, 58 pacientes (28,6%) referían antecedentes de sífilis, 7 (3,4%) de herpes simple, 2 (1,3%) de uretritis y 14 (6,9%) de proctitis. Además, se encontraron serologías positivas para hepatitis B (n=28, 13,8%) y hepatitis C (n=11, 5,4%).

Es destacable que la mitad de las mujeres incluidas en la muestra presentaban antecedentes de condilomas anales. Por otra parte, 8/10(80%) de las pacientes presentaba antecedentes de displasia cervical en al menos una citología previa. Dicha displasia había sido confirmada histológicamente en 5 de las pacientes, siendo en 4 de ellas de alto grado.

#### 4.1.4. VARIABLES RELACIONADAS CON LA INFECCION VIH

La edad media al diagnóstico de VIH fue de  $33,3 \pm 8,8$  años. Los valores medios del nadir de los linfocitos CD4 fueron de  $254 \pm 181$  células/mm<sup>3</sup>. Los valores medios de linfocitos CD4 en la el momento del estudio fueron de  $597$  células/mm<sup>3</sup>. La mayoría de los pacientes (80%) recibían TARGA. El resto de los participantes en el estudio no lo habían iniciado en el momento de ser evaluados.

## 4.2. EXPLORACIÓN FÍSICA, CITOLOGÍA ANAL, DETECCIÓN VPH

### 4.2.1. EXPLORACIÓN PERIANAL Y TACTO RECTAL

La inspección de la región perianal permitió detectar dos casos de carcinoma epidermoide en piel perianal, que se excluyeron del estudio.

El tacto rectal fue positivo en 4 pacientes. No se preveía en el protocolo recoger patologías benignas como hemorroides o fisuras.

### 4.2.2. ESTUDIO CITOPATOLÓGICO

Se obtuvieron muestras citológicas representativas en todos los casos. En 10 pacientes el resultado inicial fue de muestra no representativa, por lo que fue preciso repetir la toma. El 37,4% de los pacientes sometidos a cribado inicial presentó alteraciones en la citología, que se repartieron como se recoge en la Tabla II.

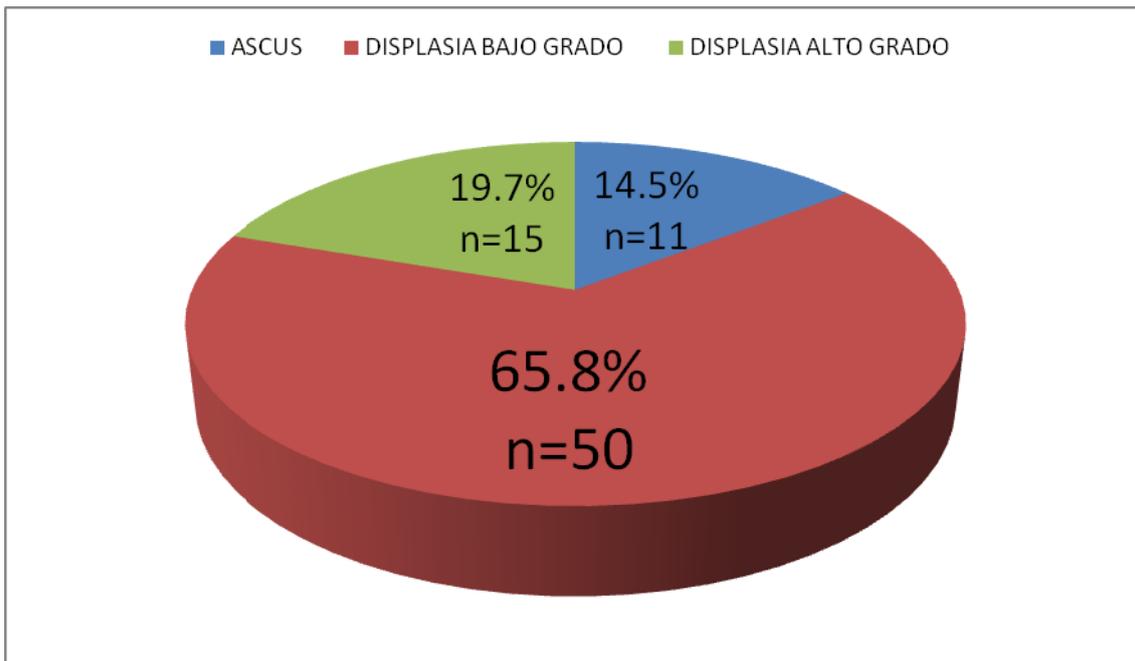
Tabla II. Distribución de las citologías patológicas

Varones Homosexuales	Varones Hetero	Mujeres Hetero	Total
66/183 (36,1%)*	5/10 (50%)*	5/10 (50%)*	76/203 (37,4%)*

*\*Resultados expresados en número/número total y porcentaje (%) Hetero= Heterosexuales*

Respecto a los resultados de las citologías, el 14,5% de los pacientes se clasificaron como ASCUS, el 65,8% como Displasia de Bajo Grado el 19.7% como Displasia de Alto Grado (Fig.5). Estos datos suponen que el 7.4% de total de los pacientes cribados presentaron displasia epitelial de alto grado.

Figura 5. Clasificación de las 76 citologías patológicas



\* ASCUS: células escamosas atípicas de significado incierto

#### 4.2.3. DETECCIÓN DE VPH

En el 89% de los pacientes se detectó algún genotipo de VPH. El reparto por grupos se recoge en la Tabla III. La prevalencia de VPH fue superior en los homosexuales y el conjunto de los pacientes heterosexuales (ambos sexos agrupados), con significación estadística ( $p < 0.05$ ).

En el 81% de los casos se detectaron VPH-AR (Tabla III); igualmente la prevalencia fue mayor en los pacientes homosexuales frente al conjunto de los pacientes heterosexuales (ambos sexos agrupados), con significación estadística ( $p = 0.004$ ).

El 37% de los pacientes estaban infectados por VPH-16 (tabla III). La prevalencia en varones homosexuales también fue superior al grupo de pacientes heterosexuales (de ambos sexos) pero este caso sin llegar a la significación ( $p = 0.142$ ).

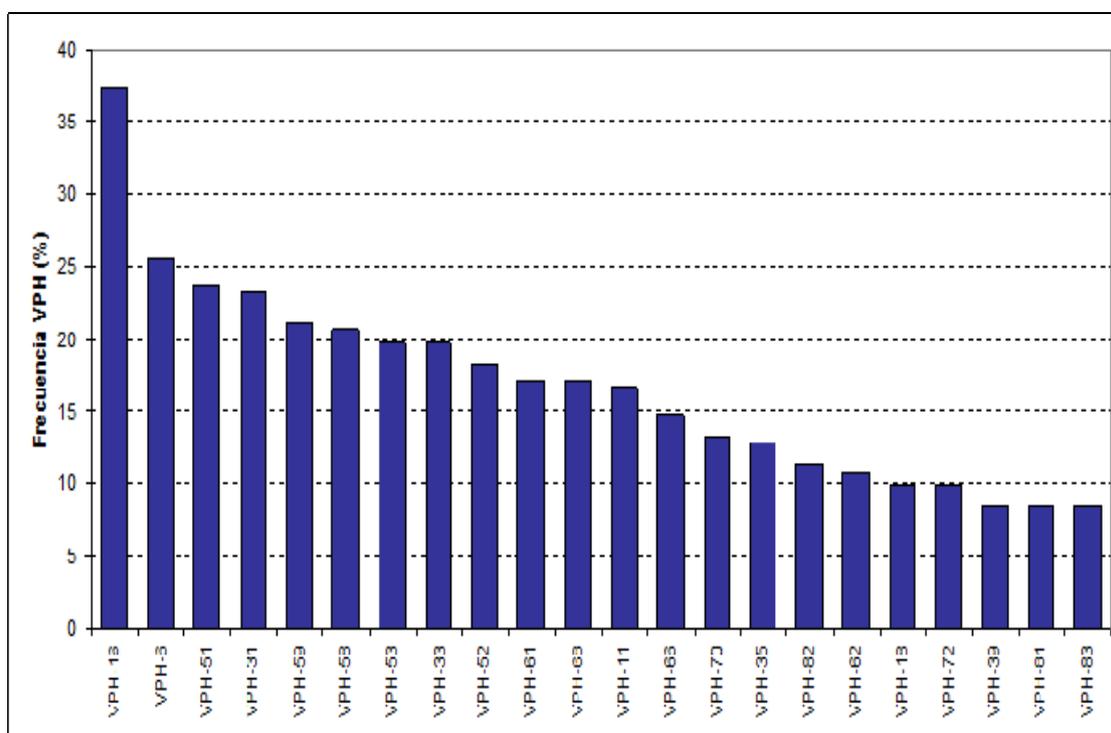
Tabla III. Prevalencia de los genotipos de VPH.

	VPH TOTAL	VPH-AR	VPH-16
Varones Homosexuales	166/183 (91 %) <i>IC 95% (88-95)</i>	154/183 (84 %) <i>IC 95% (78 -90)</i>	72/183 (39 %) <i>IC 95% (28-51)</i>
Varones Heterosexuales	6 /10 (60%) <i>IC 95% (31-99)</i>	6/10 (60%) <i>IC 95% (21-99 )</i>	2 /10 (20%) <i>IC 95% (35 -75 )</i>
Mujeres	8/10 (80%) <i>IC 95%(52.3-107.7)</i>	5/10 (50%) <i>IC 95% (6.2-93.8)</i>	2/10 (20%) <i>IC 95% (35 -75 )</i>
TOTAL	180/203 (89% ) <i>IC 95% (84-93)</i>	165/ 203 (81%) <i>IC 95% (75 -87 )</i>	76 /203 (37 %) <i>IC 95% (26.5-48)</i>

*Resultados expresados en número/n total y porcentaje (%), e intervalo de confianza al 95% (IC ). VPH total (cualquier genotipo de VPH), VPH-AR (cualquier genotipo de VPH de alto riesgo)*

Los genotipos más frecuentemente detectados en las citologías fueron, por este orden, el VPH 16, 6,31, 51 y 58 (Figura 6). El estudio individual de los distintos genotipos no mostró diferencias significativas en cuanto a su prevalencia en pacientes heterosexuales frente a homosexuales. La mayoría de los genotipos fueron notablemente más prevalentes en el grupo de pacientes homosexuales, salvo los genotipos 31,39, 42, 56, 59 y 66 que fueron relativamente más prevalentes (en porcentaje, no en frecuencia absoluta) en pacientes heterosexuales (datos no mostrados).

Figura 6. Distribución de los genotipos de VPH más frecuentes



El número medio de genotipos diferentes de VPH por paciente fue de  $3,57 \pm 3,23$ . Diferenciando los resultados por grupos de pacientes: en los varones homosexuales se aislaron  $4,28 \pm 3$  genotipos diferentes, en los varones heterosexuales  $3,40 \pm 3,5$  y en las mujeres, la media fue de  $3,30 \pm 3,4$  genotipos diferentes. Agrupando a la población heterosexual de ambos sexos, la media de genotipos diferentes de VPH fue de  $3,3 \pm 3,3$  frente a  $4,3 \pm 3$  en los pacientes homosexuales. En cuanto a diferencias por sexo, el número medio de VPH en el subgrupo de las mujeres fue de  $3,6 \pm 3,2$ , algo menor que el de los varones que fue de  $4,2 \pm 3,1$ .

#### 4.2.4. CORRELACIÓN ENTRE LA DETECCIÓN DE VPH Y LAS ALTERACIONES CITOLÓGICAS

En el grupo de pacientes con citologías anómalas, se identificó VPH de cualquier genotipo en el 97% de los casos. (Tabla IV). La prevalencia de VPH-AR fue también muy elevada (Tabla IV) mientras que la del VPH16 fue del 37%. La prevalencia de

VPH16 en el grupo de displasias de alto grado fue significativamente superior a la encontrada en el grupo de displasia de bajo grado más ASCUS ( $p < 0,05$ ).

TABLA IV. Genotipos VPH y citologías patológicas

	VPH TOTAL	VPH-AR	VPH-16
ASCUS	11/11 100%	11/11 100%	2/11 (18%) IC (35.3%-71.8%)
DISPLASIA BG	49/50 (98%) IC (94.1%-101.9%)	47/50 (94%) IC (87.2%-100.8%)	23/50 (46%) IC (25.6%-66.4%)
DISPLASIA AG	14/15 (93%) IC (80.2%-106.4%)	14/15 (93%) IC (87.5%-99.1%)	10/15 (67%) IC (37.5%-95.9%)
TOTAL	74/76 (97%) IC (94%-101%)	72/76 (95%) IC (89%-100%)	35/76 (37%) IC (26.5%-48.3%)

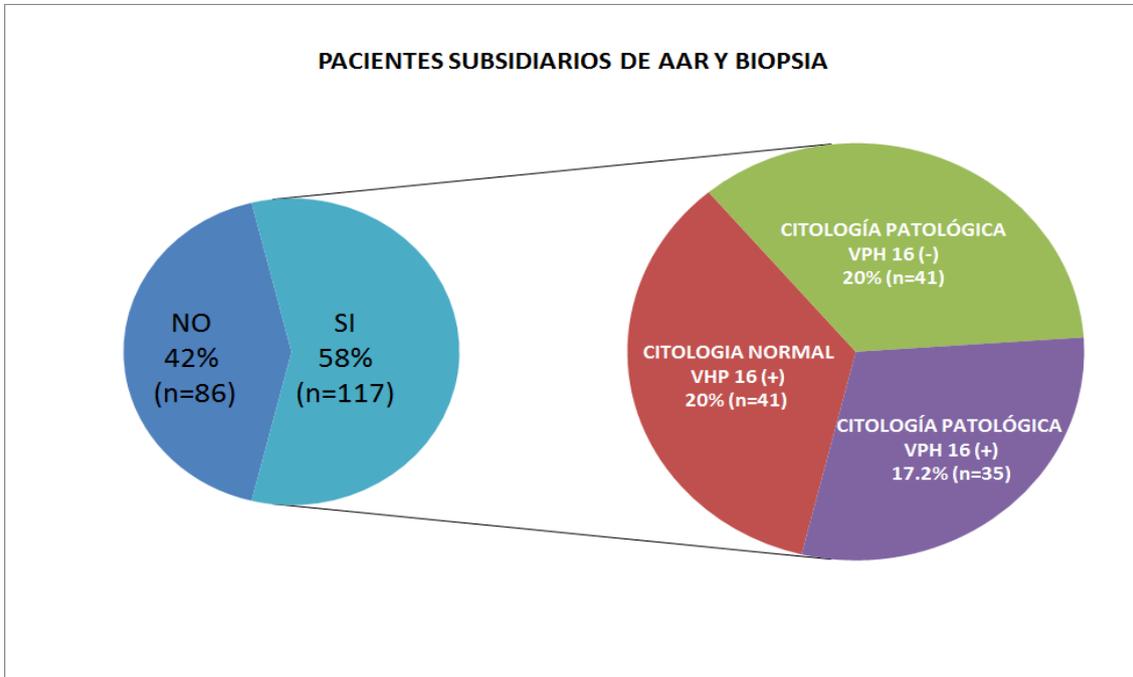
*Resultados expresados en número / número total , porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC) .  
VPH total: cualquier genotipo de VPH); VPH-AR: cualquier genotipo de VPH de alto riesgo; ASCUS: células escamosas atípicas de significado incierto; displasia BG: displasia de bajo grado; displasia AG: displasia de alto grado; VPH-AR: VPH de alto grado; VPH-BG: VPH de bajo grado.*

#### 4.3. ANOSCOPIA DE ALTA RESOLUCIÓN (AAR) Y BIOPSIA.

El grupo subsidiario de pasar a la segunda fase del estudio (AAR y biopsia) lo formaron 117 de los 203 pacientes iniciales (58%). Los criterios que definieron el paso a esta segunda fase fueron: en el 20% ( $n = 41$ ) pacientes la presencia aislada de VPH 16,

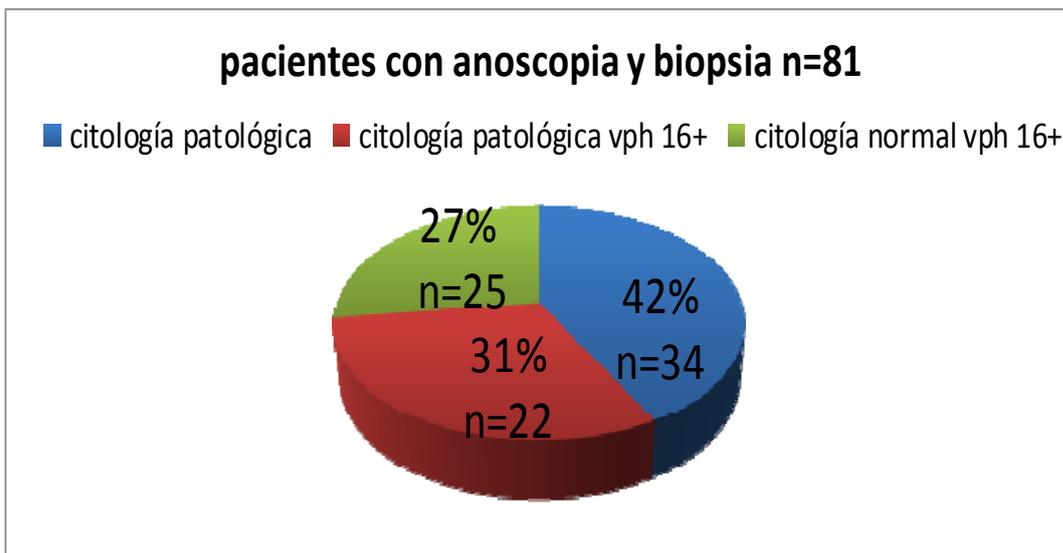
en el 38% restante (n = 76) fue el hallazgo de citología patológica .En 35 pacientes se cumplían ambos criterios (citología anormal y VPH 16+) (Figura 7).

Figura 7. Criterios de inclusión para la segunda fase del estudio



De los 117 pacientes, solo 81 acudieron finalmente para realizar la AAR y biopsia. Su distribución fue en 22 casos solamente por aislamiento de VPH y en los 59 restantes por citología patológica (de ellos 25 eran también VPH16+). (Figura 8)

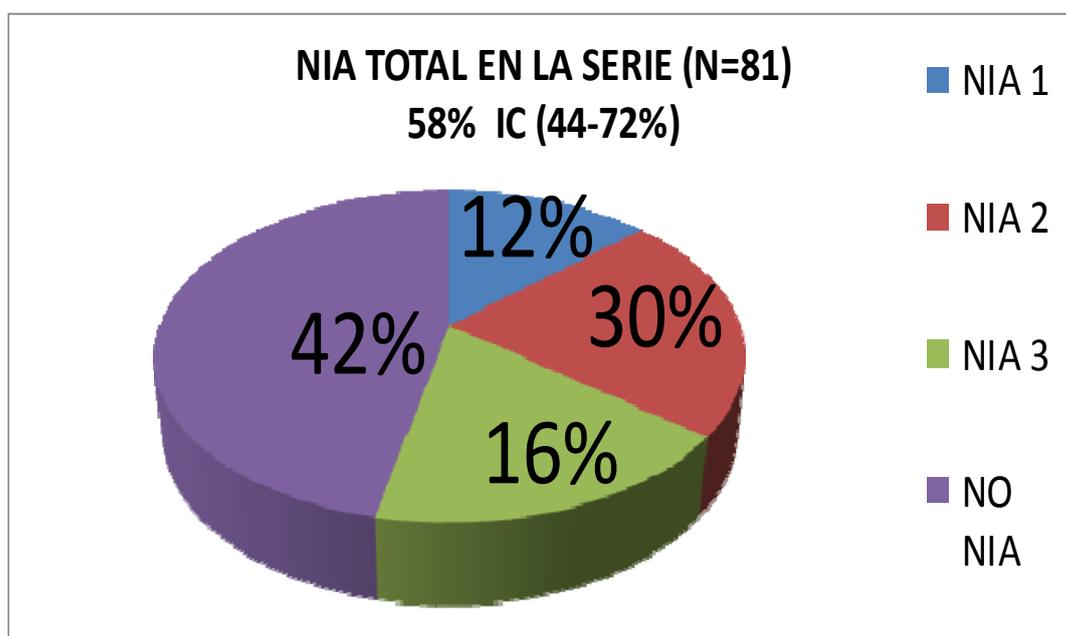
Figura 8 . Distribución según los criterios de inclusión para AAR y biopsia



#### 4.4. RESULTADOS HISTOLÓGICOS DE LAS BIOPSIAS ANALES

De las 81 biopsias realizadas, se obtuvieron 47 casos de NIA. La prevalencia de NIA de cualquier grado en la cohorte fue del 58% (IC 95% 44%-72%), mientras que la prevalencia de NIA-AG fue del 46% (IC 95% 30% -62 %). La distribución por gravedad histológica de las NIA se muestra en la Figura 6.

Fig. 9. Gradación histológica de los casos de NIA.



##### 4.4.1. PREVALENCIA DE NIA SEGÚN EL CRITERIO DE INCLUSIÓN EN LA SEGUNDA FASE

Clasificando a los pacientes según el criterio por el que pasaron a la segunda fase, se obtienen los siguientes resultados de prevalencia de NIA. En los pacientes biopsiados por solo VPH16 la prevalencia fue del 36%; en los individuos biopsiados por solo citología patológica la prevalencia subió al 62%, y en aquellos pacientes biopsiados por ambos criterios alcanzó el 72%.

Tabla V. Prevalencia de NIA según el criterio de derivación a AAR

VPH16 (+)	CITOLOGIA PATOLÓGICA	AMBOS CRITERIOS	TOTAL
8/22 (37%)	21/34 (62%)	18/25 (72%)	47/81 (58%)
IC(3-70 %)	IC (51%- 81%)	IC (51% -92%)	IC (44%-72 %)

*Resultados expresados en número / número total , porcentaje (%), e intervalo de confianza al 95% (IC )*

#### 4.4.2. PREVALENCIA DE NIA POR CONDUCTAS SEXUALES

La prevalencia de NIA en los varones homosexuales fue del 56%. En los varones heterosexuales fue sólo del 20%, mientras que en las mujeres fue del 40% (Tabla VI). Agrupando a los pacientes por orientación sexual, la prevalencia de NIA en los heterosexuales fue del 75%, frente al 56% en varones homosexuales.

Tabla VI. Distribución de NIA por orientación sexual.

HETEROSEXUALES	6 /8 (75%) IC (40 %-110 %)
HOMOSEXUALES	41 /73 (56%) IC (41%-71% )

*Resultados expresados en número/número total, porcentaje (%), e intervalo de confianza al 95% (IC) .*

#### 4.5. CITOLOGÍA, DETERMINACIÓN DE VPH Y ANOSCOPIA DE ALTA RESOLUCIÓN COMO PRUEBAS DE CRIBADO PARA LA DETECCIÓN DE NIA Y NIA-AG.

##### 4.5.1. CITOLOGÍA ANAL COMO PRUEBA DE CRIBADO PARA NIA TOTAL Y NIA-AG.

Si analizamos la citología como prueba de cribado inicial para detectar NIA, encontramos una sensibilidad de 83% y una especificidad de 41%. El VPP fue 66% (39/59) y el VPN de 41% (14/34) (tabla VII). Debe destacarse que 8 de los 22 (36%) pacientes con citología normal presentaban NIA.

Tabla VII. Valor de la citología anal como prueba de cribado para NIA de cualquier grado.

	NIA NEGATIVO n=34	NIA POSITIVO n=47
CITOLOGÍA NEGATIVA n=22	14/34 41% IC (26%-58%)	8/47 17%
CITOLOGÍA POSITIVA n=59	20/34 59%	39/47 83% IC (70%-91%)

*Resultados expresados en número/número total, porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC). NIA: neoplasia intraepitelial anal.*

Si evaluamos el valor de la citología como test para detectar solamente NIA-AG, observamos que se mantiene la misma sensibilidad (84%) y disminuye algo la especificidad (36 %). El VPP fue de 52.5% (n=31/59), y el VPN fue de 36% (16/44). Además, hasta un 20% de las NIA-BG no fueron detectados por la citología, y el 27% de las NIA-AG presentaban citologías normales.

En nuestros datos, confirmamos que las citologías que demuestran displasia de alto grado se correlacionan por lo general a NIA-AG en la biopsia. Así, el 91 % de los casos de displasia de alto grado citológica se asoció a NIA-AG histológica en 10/11 casos (3 NIA 2, 7 NIA 3). La correlación es mucho menos clara en cuanto a la displasia citológica de bajo grado: tan sólo el 25% de los casos presentan NIA-BG, mientras que el resto se diagnostica finalmente de displasia grave.

En el análisis de los resultados debe destacarse que el 36, 5% de los pacientes con citología normal (8/22) presentaban NIA en la biopsia. Estos pacientes suponen el 8/47 (17%) del total de NIA y fueron finalmente diagnosticados de 2 NIA-BG y 6 NIA-AG. Además, hasta un 20% de las NIA-BG no fueron detectados por la citología, y el 26% las NIA-AG presentaron citologías normales.

TABLA VIII. Valor de la citología anal como prueba de cribado para NIA de Alto Grado

	<b>Biopsia normal Y NIA BG</b> n=44	<b>NIA AG</b> n=37
<b>CITOLOGIA NEGATIVA</b> n=22	16/44 36% IC (24%-51%)	6/37
<b>CITOLOGIA POSITIVA</b> n=59	28/44	31/37 84% IC (69%-92%)

*Resultados expresados en número/número total, porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC). NIA: neoplasia intraepitelial anal.. AG: Alto Grado, BG: Bajo Grado*

#### 4.5.2. VALOR DE LA DETECCIÓN DE VPH COMO PRUEBA DE CRIBADO PARA NIA

En el 98% de los pacientes con NIA se detectó VPH (un solo caso fue negativo). Un 59% de los pacientes con VPH+ tenían NIA histológica. Si sólo tenemos en cuenta la presencia de VPH-AR, en tan sólo un paciente con NIA no se detecta VPH-AR, y en el 98 % de los pacientes con NIA-AG presentan VPH-AR. Si lo analizamos desde la perspectiva contraria, sigue existiendo correlación consistente: el 80% (VPN) de los pacientes sin VPH-AR presentaron una biopsia normal (solo 3 pacientes de los biopsiados no tenían VPH de alto riesgo). De forma adicional, si estudiamos las características de la detección de VPH-AR como test de cribado para NIA de cualquier tipo, la sensibilidad es de 46/47 (98%); (94-102 %, IC 95%); la especificidad es 11.7% (4/34) (IC 95% 20-43 %), el VPP: 60.5% (46 %-74 %, IC 95%) y VPN: 80% (41-119 %, IC 95%). Si consideramos el VPH-AR como predictor de NIA-AG, encontramos valores muy similares de sensibilidad: (98%, (IC: 86 %-99,5%) y especificidad: 9% (IC 19-17%), VPP 47.3 (IC 31-63.6%), VPN 80% (IC 41-119%).

Si analizamos aisladamente el genotipo 16, la sensibilidad sería 55 % (44-66 %) y la especificidad 38% (12-65%), con VPP de 55% (36 %-74 %, IC95%), y VPN 38 % (12-65%, IC95). En el estudio de genotipos específicos de VPH, se aprecia que VPH16

está presente en 26/47 (55,3%) de los pacientes con NIA frente al 61,8% que no la presentan .

Tabla IX. Valor de la detección de VPH-16 como prueba de cribado para NIA.

	<b>NIA NEGATIVO</b> n=34	<b>NIA POSITIVO</b> n=47
<b>VPH 16 NEGATIVO</b> n=34	13/34 38% IC (12%-65%)	21/47 61.8%
<b>VPH 16 POSITIVO</b> N=47	21/34 44,7%	26/47 55% IC (44%-66%)

*Resultados expresados en número/número total, porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC). NIA: neoplasia intraepitelial anal.*

En cuanto a la detección de NIA-AG, la sensibilidad del VPH 16 sería del 51% y la especificidad 48%, con VPP del 65% y VPN del 62%. El VPH 16 estaba presente en 23/37 (62%) de las NIA-AG frente al 38% de las biopsias normales o de bajo grado ( $p>0,05$ ). La mayoría de los pacientes con NIA y VPH16 presentaban NIA-AG (solo un paciente tenía NIA-BG).

Tabla X. Valor de la detección de VPH-16 como prueba de cribado para NIA AG

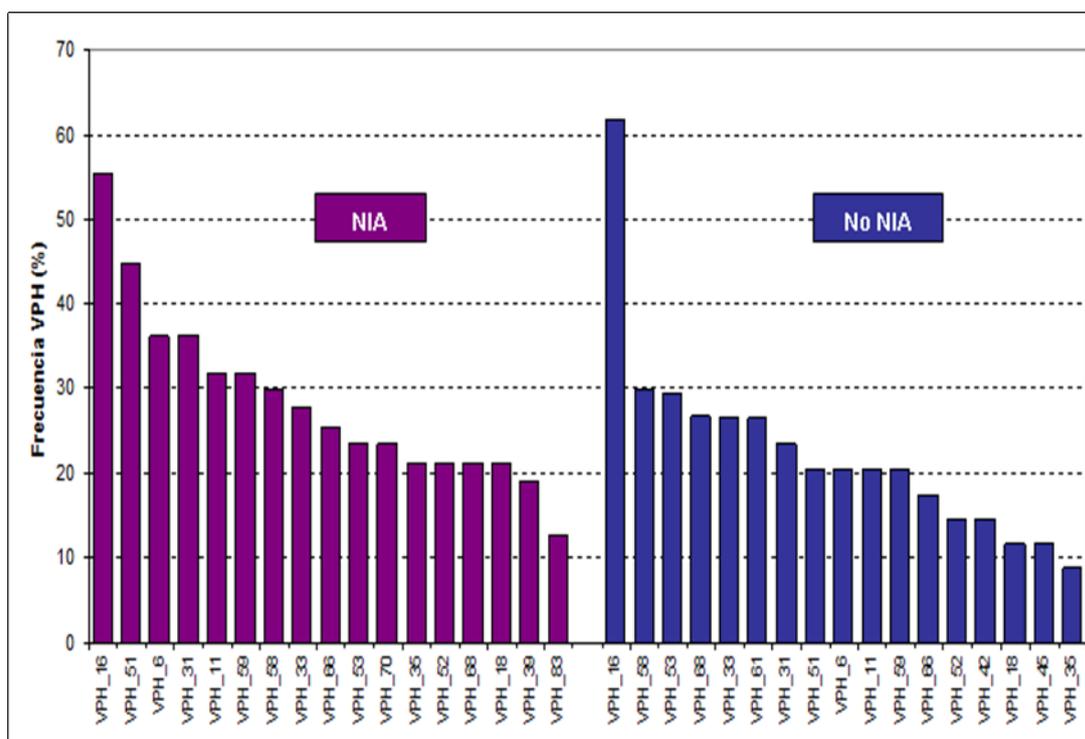
	<b>Biopsia normal Y NIA BG</b> n=44	<b>NIA AG</b> n=37
<b>VPH 16 NEGATIVO</b> n=34	21/44 48% IC 26%-69%	13/37
<b>VPH 16 POSITIVO</b> n=47	23/44	24/37 51% IC 31%-71%

*Resultados expresados en número/número total, porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC). NIA: neoplasia intraepitelial anal.. AG: Alto Grado, BG: Bajo Grado*

#### 4.5.2.1. ESTUDIO DE OTROS GENOTIPOS DE VPH

En cuanto al resto de tipos específicos de VPH detectados, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas en los casos de VPH18 y VPH51. El 21% de las NIA estaban infectadas por VPH18, lo que supone el 71% de los pacientes infectados por dicho tipo. Además, el 45% de los pacientes con NIA presentan VPH51; del total de pacientes en los que se detectó tipo, el 75% presentaban NIA de cualquier grado (esta diferencia es estadísticamente significativa  $p:0,033$ ). A diferencia del VPH16, estas diferencias dejaron de ser significativas al considerar exclusivamente los casos de NIA-AG. El número medio de genotipos diferentes de VPH es más alto en los pacientes con NIA (6,04 en pacientes con NIA vs 4,67 sin NIA),  $p:0,044$ .

FIGURA 10. Detección de genotipos específicos de VPH en pacientes con y sin NIA.



#### 4.5.3. VALOR DE LA ANOSCOPIA DE ALTA RESOLUCIÓN COMO PRUEBA DE CRIBADO PARA NIA

Del total de 81 pacientes sometidos a AAR y biopsia, en 61 casos (75%) se identificaron uno o más de los patrones definidos como patológicos en la inspección visual. De ellos, se confirmó NIA de cualquier grado en 45/61 (74%). La presencia de hallazgos anoscópicos sugestivos de NIA fue más frecuente en el subgrupo de pacientes

con citología patológica 49/59 (83%) en comparación con los pacientes incluidos por VPH16 12/22, (54.5%).

La sensibilidad de la AAR para la detección de NIA de cualquier grado fue del 96%, con especificidad del 53%. El VPP fue del 73% (45/61), y el VPN fue del 90% (18/20).

Tabla XI. Rentabilidad diagnóstica de la AAR para el cribado de NIA de cualquier grado

	NIA NEGATIVO n=34	NIA POSITIVO n=47
AAR NEGATIVA n=20	18/34 53% IC 29.9-76%	2/47
AAR POSITIVA n=61	16/34	45/47 96% IC 92-102%

*Resultados expresados en número/número total y porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC). NIA: neoplasia intraepitelial anal*

Si se calcula la sensibilidad de la AAR para diagnosticar NIA-AG la sensibilidad fue de 97% y la especificidad de 45%. El VPP es de 59% y el VPN es de 95%.

Tabla XII. Valor de la AAR de alta resolución como prueba de cribado para NIA-AG.

	BIOPSIA NORMAL Y NIA BG n=44	NIA AG n=37
AAR NEGATIVA n=20	19/44 45% IC 35%-56%	1/37
AAR POSITIVA n=61	25/44	36/37 97% IC 94%-101%)

*Resultados expresados en número/número total, porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC). NIA: neoplasia intraepitelial anal.. AG: Alto Grado, BG: Bajo Grado. AAR: Anoscopia de Alta Resolución*

Las complicaciones de la AAR y biopsia fueron escasas: 6 pacientes (7,5%) presentaron episodios de síncope vasovagal y 2 pacientes sufrieron reagudización de patología hemorroidal preexistente. Ningún paciente presentó estenosis, sangrado importante o episodios de infección. Todos los pacientes presentaron dolor leve a moderado en las 48 horas siguientes a la anoscopia, controlado con analgésicos menores en caso necesario.

#### 4.5.4. FACTORES DE RIESGO PARA PRESENTAR NIA. ANALISIS UNIVARIANTE

Como se refleja en la Tabla XIII, no se encontró correlación estadísticamente significativa entre la presencia y ausencia de NIA y diversas variables, como las demográficas que incluyeron género, edad en el momento de la realización de la biopsia, y consumo de tabaco, alcohol u otras drogas. De las variables relacionadas con la infección VIH tampoco ninguna mostró valor predictivo, incluyendo tiempo de duración de la infección, uso de TAR o los valores de linfocitos CD4. Respecto a estos últimos queremos destacar que tanto los valores actuales como los del nadir fueron más bajos en los pacientes con NIA que en los que no tenían NIA, pero la diferencia no llegó a la significación. En las variables relacionadas con hábitos y antecedentes sexuales tampoco se encontró correlación entre el número de parejas sexuales previas –partiendo

en mayor o menor de 25 diferentes- la orientación homo versus la heterosexual ni las diferentes prácticas sexuales anales o no anales. Cuando se comparaba linealmente sí se observaron más casos de NIA entre los pacientes con más contactos sexuales a lo largo de su vida pero tampoco alcanzó la significación. Los antecedentes de algún tipo de ITS no tuvieron valor predictivo. La detección de VPH16 no predijo la presencia de NIA.

La única variable que alcanzó el nivel de significación fue el antecedente de condilomas. El haberlos presentado en el pasado multiplicó por 3 la probabilidad de NIA.

Tabla XIII. Factores de riesgo para la presencia de NIA.

	NIA (-)	NIA (+)	OR (IC 95%)	p
EDAD (años)	40+/-10	40+/-9	0,99(0,9-1,0)	0,794
CD4 (células/mm <sup>3</sup> )	603+/- 250	505+/-236	0,99(0,99-1)	0,103
CD4 NADIR (células/mm <sup>3</sup> )	281+/-188	233+/-189	0,99(0,99-1,00)	0,270
TABAQUISMO	17(50%)	23(49%)	0,97(0,37-2,5)	0,962
ENOLISMO	15(44%)	22(46%)	1,08(0,42-2,8)	0,873
PAREJAS ≥25	26(76%)	40(85%)	1.4 (0.42-4.8)	0.579
ANTECEDENTE ITS	9(26,5%)	11(23,4%)	1,18(0,42-3,21)	0,752
TAR	5(14,7%)	13(27,3%)	0,45(0,14-1,4)	0,172
VPH 16	21(61,8%)	26(55,3%)	0,76(0,3-1,8)	0,766
TIPO RELACION	20(58,8)	29(61,7%)	1,16(0,45- 3)	0,759
ANTECEDENTE CONDILOMAS	7(20%)	22(46%)	3,40 (1,2-9,3)	0,018

Resultados expresados en número, porcentaje, e intervalo de confianza al 95% (IC). NIA: neoplasia intraepitelial anal., OR, odds ratio.

## 5. DISCUSIÓN

El carcinoma anal y sus lesiones precursoras constituyen una patología cuyo conocimiento ha experimentado grandes avances en los últimos años en cuanto a su etiología, historia natural, diagnóstico y tratamiento. Gran parte de este impulso investigador se debe a su reconocimiento como un problema médico de importancia creciente en los pacientes infectados por el VIH, en los que actualmente se considera una de las neoplasias que mayor aumento de prevalencia ha demostrado, al contrario que la patología tumoral incluida en los criterios diagnósticos de sida.

Este interés creciente contrasta con el escenario clínico predominante hasta hace poco tiempo, en el que la patología tumoral de la región anal y perianal podía considerarse como “tierra de nadie” no tanto porque su interés no fuera reconocido, como por estar situada en mitad de las competencias de varias especialidades médicas.

Las diferentes especialidades encargadas del diagnóstico y tratamiento de las neoplasias anales (coloproctología, dermatología, infectología, oncología médica, oncología radioterápica...) han trabajado de manera independiente, estanca y bajo criterios de valoración divergentes, probablemente por ser de naturaleza muy diferente, bien médica o quirúrgica. Como ejemplo, no existen programas de formación consensuados para el entrenamiento y formación de especialistas en anoscopia de alta resolución. Esta ausencia de un marco cooperativo de trabajo entre especialistas explica las dificultades tanto para evaluar adecuadamente casos clínicos individuales como para establecer consensos y protocolos clínicos multidisciplinares, y posiblemente no ha favorecido los avances diagnósticos y terapéuticos en el campo de las neoplasias anales. Afortunadamente, en los estudios más recientes se reconoce la necesidad de una valoración multidisciplinaria como el método más eficaz para el abordaje de estos procesos.

Nuestro estudio ha sido realizado en condiciones de práctica clínica, por lo que refleja de forma fidedigna la problemática del reclutamiento para estudio y seguimiento de los pacientes en mayor riesgo para desarrollar carcinoma anal.

Es preciso señalar que ninguna de las pruebas utilizadas han sido validadas para el cribado del carcinoma anal. Su utilización práctica se basa en la analogía con su aplicación en el despistaje del carcinoma de cérvix femenino. Esta posible limitación del protocolo de estudio es común a todos los trabajos publicados.

En la comparación de las características demográficas de nuestra serie y con objeto de evaluar los resultados obtenidos frente a trabajos previos de estructura lo más uniforme posible, debe resaltarse de la presente cohorte su carácter prospectivo, lo que supone una gran oportunidad para evaluar la contribución de la citología anal y el estudio de VPH a la detección

de NIA-AG por AAR y biopsia. Además, los pacientes fueron reclutados de forma aleatoria, sin que en ningún caso hubieran sido cribados previamente para patología anorrectal, ni se considerara necesario para ser remitidos a nuestra consulta la presencia de sintomatología local actual.

Los estudios sobre carcinoma anal y NIA en pacientes VIH+, de características similares al presente, que hayan sido publicados en los últimos años son muy escasos. Debe mencionarse la cohorte prospectiva de Anderson y cols.(129) sobre pacientes australianos, que además es muy similar a la nuestra en cuanto a predominio de varones homosexuales (124 de 126), edad media de los pacientes (45 años) y situación inmunológica (540 CD4 medios). La serie de Berry y cols. (2009) (130) también es de carácter prospectivo e incluye como la anterior pacientes reclutados sin considerar los antecedentes de patología anal (125 varones homosexuales, 85 VIH- y 35VIH+). El estudio de la Universidad de Miami ( Rosa-Cunha y cols.)(79) es también comparable al presente por su carácter prospectivo, la elección al azar de los participantes, sin antecedentes de patología anal conocida o cribados previos; la distribución por orientación sexual es diferente, ya que su población inicial de 131 varones VIH+ incluye tan sólo 40% de homosexuales. La cohorte de Salit y cols.(2010)(131), que estudia 414 varones homosexuales reclutados de 2001 a 2005, es de una estructura similar, si bien en ella predominan los pacientes con sintomatología anorrectal previa (92%), aunque este dato no era criterio de inclusión y fue constatado en los resultados finales.

Los datos de todos los individuos incluidos en nuestra muestra, en especial los referentes a la infección por el VIH, fueron obtenidos a partir de la historia clínica y datos analíticos registrados en el sistema informático del hospital. En ningún caso se recurrió a datos autorreportados por parte del paciente y que no constaran en el historial médico previo. En contraste, diversas series clínicas revisadas basan sus datos epidemiológicos en la mera entrevista personal, sin confirmación analítica del estatus serológico del paciente frente al VIH(48). Lógicamente y de forma similar a todas las series publicadas, el único dato que admitimos como autorreportado por los pacientes fue la orientación y conducta sexual. En cuanto a la fiabilidad de la información referente al tipo de prácticas en cada paciente, creemos que la atmósfera de confianza y nuestro comportamiento asertivo evita cualquier sentimiento de vergüenza o discriminación que pudiera interferir en la veracidad de las respuestas de los pacientes referidas a sus prácticas sexuales .

Se obtuvieron muestras válidas para su examen citológico en todos los pacientes. Esta situación es óptima para la valoración de la cohorte, y difiere de otros estudios en condiciones similares, en los que se pierden para evaluación un porcentaje estimable de citologías. En la serie de Rosa-Cunha y cols., 33 pacientes (25%) del total de 131 fueron excluidos por muestra

citológica insuficiente(79). Esta cifra es anormalmente alta, pero la mayoría de estudios reconocen que entre el 4-85% de las citologías anales son inadecuadas para análisis(78, 132-134).

En nuestro trabajo, todas las muestras fueron obtenidas por personal médico. Se ha reportado en estudios previos que las muestras obtenidas por el propio paciente pueden ofrecer porcentajes más bajos de sensibilidad y especificidad. En el estudio comparativo de Chin-Hong(48) se describen porcentajes de sensibilidad del 90% frente al 75%, y especificidades del 64% frente al 50%, para las tomas realizadas por el médico y el propio paciente, respectivamente. Finalmente, nuestras muestras fueron interpretadas por citopatólogos expertos a los que no se ofreció información clínica sobre cada caso concreto, con objeto de asegurar una valoración ciega.

En cuanto a la validez externa de la muestra, el Hospital Universitario La Paz es un centro de tercer nivel en el que se atienden pacientes seropositivos con características demográficas comparables a otros hospitales españoles, por lo que es poco probable que la localización geográfica suponga un sesgo para el estudio. Sin embargo, la distribución por prácticas de riesgo de los pacientes incluidos en este estudio difiere un tanto con respecto a la distribución general de Madrid. En la población estudiada, el 90% de los pacientes eran varones homosexuales. En el conjunto de pacientes VIH positivos de la Comunidad de Madrid, este grupo supone el 40%(135). Esta diferencia depende, fundamentalmente, de dos factores: por una parte, los clínicos de la Unidad VIH seleccionaron, para este estudio piloto, los pacientes que ellos consideraron de mayor riesgo para el desarrollo de NIA. Los pacientes fueron incluidos en la primera parte del estudio por pertenecer a los subgrupos dentro del conjunto de la población VIH que han sido descritos en trabajos previos como de mayor riesgo para el desarrollo de NIA. Estos criterios fueron similares a los utilizados en la guía del New York State Department of Public Health AIDS Institute (NYSAI)(136): varones homosexuales, varones heterosexuales con antecedente de condilomas anales o antecedente de displasia en área anogenital, y mujeres con antecedente bien de condilomas anales o de displasia en área anogenital. Estos sesgos explican tanto la elevada prevalencia de homosexuales como que los heterosexuales fueran también seleccionados. En cualquier caso, la estructura poblacional de nuestra cohorte es muy similar a recogida en la mayoría de los trabajos previos, referidos a Estados Unidos y Europa occidental. En referencia al origen étnico de los pacientes, el predominio de raza caucásica es acorde con la mayoría de las series europeas y norteamericanas, aunque difiere de otros estudios similares(79). En todo caso, no existe ninguna evidencia de que la raza sea un factor influyente en la aparición de displasia anal(20).

El número de pacientes perdido entre la fase 1(examen físico y citología) y fase 2 (AAR y biopsia) fue del 30.7% de los pacientes (n=37). Para explicar este dato pueden encontrarse varias justificaciones. En primer lugar, las dificultades del reclutamiento en condiciones de práctica clínica habitual, ya que a los pacientes se les propuso su inclusión en el estudio a medida que acudían a las revisiones periódicas programadas para seguimiento de la infección VIH. La pérdida de pacientes cribados y que cumpliendo criterios de AAR y biopsia no completan esta segunda parte del protocolo es un problema común, que se describe en las cohortes publicadas. En la serie de la Universidad de Miami, Rosa-Cunha y cols(79) reconocen una pérdida para seguimiento de 33/131 pacientes.

Por otra parte, la escasa adherencia a los protocolos de cribado de carcinoma anal es conocida y ha sido descrita en trabajos aislados, en los que la pérdida de pacientes en seguimiento presenta cifras similares a las de nuestra cohorte. El resultado más optimista corresponde a Palefsky(18), que consigue un seguimiento del 80% de 608 pacientes; el más negativo lo registra Matthews(134), en cuya serie de 1732 pacientes VIH+ se mantienen en seguimiento tan sólo el 40% a los 3 años. En diversos trabajos se ha mencionado el bajo nivel educacional o la falta de cobertura sanitaria universal como factores decisivos a la hora de una mejor adherencia al protocolo de cribado, si bien ninguno de estos factores afectaría a nuestra serie. En el estudio más reciente sobre este tema, Truesdale y cols.(137) identifican varios factores predictivos positivos por parte de los pacientes para una mejor adherencia, incluyendo la presencia de sintomatología anal previa como motivo de consulta (factor que debe descartarse en nuestra muestra), la situación emocional impactante durante la primera visita – especialmente importante en pacientes jóvenes y con diagnóstico reciente de VIH(138)-, un elevado número de parejas sexuales recientes y el diagnóstico de displasia severa en la primera citología. Por el contrario, la adherencia no parece ser influida por la duración de la infección VIH o la situación inmunológica del paciente. Y desde el punto de vista organizativo, el riesgo de abandono de los protocolos de cribado también es influido negativamente tanto por la ausencia de guías clínicas oficiales, como por la imposibilidad de asumir por parte de las organizaciones sanitarias, de forma inmediata, la carga asistencial que supone el cribado de todos los individuos que teóricamente lo requerirían.

Sin embargo, y aunque no se hayan incluido los datos en el presente estudio, hemos localizado a la gran mayoría de los pacientes que cumplían criterios de anoscopia y en un porcentaje importante de ellos se ha finalizado la segunda parte del protocolo, si bien no ha dado tiempo a incluir estos datos en el presente trabajo.

La nomenclatura utilizada en este estudio para definir el grado de displasia epitelial en las lesiones diagnosticadas se corresponde con los términos utilizados clásicamente en los

trabajos de referencia(20, 90, 139). Por el contrario, en algunas revisiones más recientes (Hoots y cols.(2009)) (140) se utiliza indistintamente la terminología referida a la citología y biopsia (HSIL y NIA-AG, frente a LSIL y NIA-BG, para referirse a las lesiones de bajo y alto riesgo, respectivamente). Por nuestra parte, hemos considerado más adecuado mantener la diferenciación entre los hallazgos citológicos (ASCUS, LSIL y HSIL) y la biopsia (NIA-BG, NIA-AG, carcinoma) con objeto de comparar el rendimiento de cada uno de los procedimientos diagnósticos.

En referencia a los criterios para pasar a la segunda parte del estudio (AAR y biopsia), se escogieron los pacientes que presentaron bien alteraciones en la citología, o infección por VPH-16 (aún sin alteraciones citológicas). Estos criterios fueron elegidos tras el análisis de trabajos recientes que confirman que los factores predictores más sólidos para la existencia de NIA-AG en varones homosexuales son junto a la infección por VIH, la infección anal por VPH-AR y la presencia de alteraciones en la citología; en el análisis multivariante de Swedish y cols., son los únicos factores con significación estadística para la existencia de NIA(141). La elección de estos criterios supone que, además de los individuos con alteraciones en la citología, fueron también biopsiados los portadores de VPH6. Esta decisión diferencia claramente nuestro planteamiento del utilizado en la mayoría de estudios previos, en los que tan sólo se ofrece anoscopia y biopsia a los pacientes con citología patológica. Tan sólo en un trabajo previo (Nahas, 2009) se ha empleado una metodología similar(142).

Es conocido que los pacientes VIH+ presentan frecuentemente enfermedades anales y perianales, tanto de carácter inflamatorio, infeccioso o tumoral, aunque los datos acerca de la prevalencia real de estos procesos son muy escasos(105). Las dificultades de su estudio pueden deberse a varios factores, entre los que se mencionan el escaso número de consultas médicas que generan los problemas proctológicos, bien por desconocimiento, sentimientos de culpa o pudor por parte de los pacientes, además de que también es frecuente la escasa experiencia por parte del personal médico en el diagnóstico y manejo de este tipo de procesos.

En nuestros pacientes, la inspección de la región perianal permitió detectar dos casos de carcinoma epidermoide en piel perianal, lesiones evidentes desde el punto de vista de un dermatólogo con experiencia, aunque habían pasado desapercibidas hasta entonces tanto para el paciente como para los médicos que los habían atendido previamente. Esto confirma una prevalencia del 1% de carcinoma epidermoide en nuestra serie.

En un estudio retrospectivo en 87 pacientes diagnosticados de carcinoma anal y NIA, Varnai y cols.(25) otorgan al diagnóstico clínico del carcinoma anal invasivo mediante inspección visual una sensibilidad del 93.6%, con especificidad del 80%, VPP de 84.6% y VPN

de 94.1%. Así pues, el diagnóstico de las lesiones tumorales avanzadas es sencillo y no requiere técnicas diagnósticas adicionales, salvo para el estudio de extensión tumoral.

El tacto rectal fue positivo en 4 pacientes, correspondientes a condilomas acuminados (n=3) y NIA-AG (n=1), confirmados mediante biopsia y estudio histológico. En nuestro trabajo, no se registraron en los resultados los casos de hemorroides, fisuras anales u otros procesos comunes. Ello justifica la escasez de otros hallazgos en la exploración perianal, en contraste con los del único estudio sistemático sobre la prevalencia de patología anal en pacientes VIH+, que corresponde a Abramowitz en 2009(105). Se trata de una cohorte de 516 pacientes VIH+, todos en TARGA y con buena situación inmune (promedio CD4: 454 células/mm<sup>3</sup>), por lo tanto de características similares a nuestros pacientes. De ellos, 473 (92%) aceptaron ser evaluados de forma prospectiva en busca de patología anal, independientemente de la presencia de síntomas locales. Se utilizó para el diagnóstico la anoscopia convencional, con biopsia de las lesiones macroscópicas encontradas. A pesar de la escasa sensibilidad de esta técnica en comparación con la AAR, se diagnosticó algún tipo de patología en el 44% del total de individuos (53.5% de varones homosexuales, 41.5% de varones heterosexuales y 33.3% de mujeres). Los hallazgos más frecuentes fueron los condilomas acuminados (22.8%), seguidos de la enfermedad hemorroidal y las fisuras anales. Los condilomas fueron especialmente frecuentes en varones homosexuales (36.5% de 200 individuos) pero también frecuente en heterosexuales (14.6% de 123 pacientes) y mujeres (11.3% de 150). Por lo tanto, se destaca el riesgo de infección anal por VPH incluso en ausencia de relaciones anales y de patología infecciosa previa. En el análisis de estos pacientes debe resaltarse que 61 de los 108 pacientes con condilomas (13% del total de la población estudiada) tuvieron displasia histológica (NIA-BG en 59 casos y NIA-AG en 2 pacientes)(143).

De los datos expuestos se sugiere la clara infravaloración de la displasia anal en la serie que se está comentando(105), en la que se utiliza únicamente la inspección visual y anoscopia convencional, y sólo son biopsiados los casos en que estas técnicas detectan alteraciones. Por lo tanto, es lógico esperar porcentajes mayores de displasia en los estudios que incluyen pacientes que son derivados a cirugía colorrectal porque ya presentan lesiones activas. El primer trabajo de estas características se debe a Goldstone en 2001(144), y en sus conclusiones se confirma una clara infravaloración de la displasia anal severa en varones homosexuales remitidos por problemas anales considerados benignos. En su serie se incluyen 131 varones homosexuales VIH+, que presentan displasia anal en 89% de los casos (con HSIL en 57% (n= 75)). Estos porcentajes que se recogen son sorprendentemente altos, con un 59% de NIA-AG en las biopsias de los pacientes que presentaban condilomas acuminados. Estos datos pueden explicarse por la elevada prevalencia de infecciones mixtas por VPH-AR y BR en la región anal de los pacientes VIH+, y llevan al autor a sugerir que los condilomas acuminados sean

considerados como marcador de riesgo de HSIL. En el mismo estudio, debe destacarse además que el 33% (n=13) de los pacientes remitidos por presentar patología anal benigna no relacionada con VPH, presentaron HSIL. Nuestra experiencia es similar, ya que todos nuestros pacientes con antecedentes de proctitis presentaron NIA en la biopsia, lo que refuerza la necesidad de evaluar con especial interés la anamnesis, en busca de sintomatología local sospechosa.

En el estudio de Varnai y cols.(25), la sencillez para el diagnóstico clínico del carcinoma anal avanzado, previamente mencionada, contrasta con la dificultad de diagnóstico clínico de la NIA: en su cohorte se incluyen 33 NIA de severidad variable, todas diagnosticadas mediante citología y anoscopia ya que en ningún caso se sospechó el diagnóstico clínico. Además, es importante destacar la escasa fiabilidad de la exploración visual para evaluar el grado de displasia, ya que en la serie de Abramowitz y cols.(105) la gran mayoría de los casos corresponden a lesiones de bajo grado, en oposición al elevado porcentaje de NIA-AG en nuestra serie y en los estudios similares en los que se utiliza la AAR. Como conclusión de la experiencia disponible, el diagnóstico clínico del carcinoma anal avanzado es sencillo. Por el contrario, la inspección visual perianal presenta muy escaso valor diagnóstico para la detección de NIA, tanto por la dificultad de identificación de las lesiones incipientes(muchas veces enmascaradas por procesos benignos coexistentes(26)), como por el riesgo de infravalorar su presencia cuando se asocian a condilomas genitales(144) ya que, de acuerdo con los estudios de Giacaman y cols.(145) y Papaconstantinou y cols.(146), no existen predictores clínicos o datos morfológicos asociados que determinen la presencia de NIA subyacente en los pacientes VIH+ con condilomas acuminados perianales.

En nuestros resultados, la prevalencia de atipia citológica de cualquier grado fue de 37% para toda la población estudiada. Analizando por orientación sexual, la prevalencia en varones homosexuales fue inferior a la de varones heterosexuales y mujeres). Para la interpretación de este dato, debe recordarse que en los pacientes heterosexuales, se dio prioridad para remitir a estudio a los que tenían antecedentes de patología anal previa por VPH o displasia, mientras que este requisito no fue exigido para la inclusión de los varones homosexuales.

Además, debe destacarse que la prevalencia de displasia citológica de Alto Grado fue del 7.4% del total de nuestra población. Este dato es muy relevante, considerando que las lesiones displásicas de alto grado son precursoras directas del carcinoma invasivo.

En los últimos años, se han publicado varias series en las que se evalúa la prevalencia de displasia anal en la población VIH+, pero no es siempre fácil establecer comparaciones exactas entre los resultados publicados, tanto por su diferente metodología (prospectiva o

retrospectiva), criterios de selección de pacientes, parámetros estudiados y técnicas diagnósticas empleadas.

Una limitación importante de muchas de dichas cohortes es que no incluyen pacientes de forma aleatoria, por lo que potencialmente pudieran ofrecer una imagen distorsionada o sobrevalorada de la prevalencia real de la displasia anal. El ejemplo más claro es la serie inicial de Goldstone y cols. en 2001(144), en la que se evalúan prospectivamente los hallazgos en el cribado mediante citología de una serie de pacientes con patología coloproctológica activa y remitidos para evaluación quirúrgica ( VIH autorreportados, sin confirmación analítica). En este estudio, la prevalencia de displasia citológica total fue muy elevada, del 89%, y 57% la de HSIL. Por el contrario, parecen más fiables las series prospectivas y de características similares a la nuestra, en las que el reclutamiento fue al azar . Lamentablemente, los resultados de estos estudios tampoco son uniformes, por lo que es difícil establecer la prevalencia real de displasia citológica en los pacientes VIH+ a partir de su análisis.

En la serie publicada en 2009, Anderson y cols.(129) estudian una serie de 126 varones homosexuales VIH+ con cifras elevadas de CD4 y sin lesiones anales valorables, encontrando un porcentaje de HSIL del 13%. Esta cifra es alarmantemente alta, ya que de ser cierta obligaría en la práctica a monitorizar y tratar a toda la población homosexual infectada por VIH, lo que sería prácticamente imposible desde el punto de vista asistencial y económico. Sin embargo, esta visión se contrapone a los resultados menos alarmistas de otros estudios, en los que la incidencia de displasia anal grave en los pacientes VIH+ es menor. Como ejemplo, Scott y cols.(78) estudian en 2008 una población similar, en la que el 28% de los pacientes presentaron citologías anormales. Sólo el 5% de los pacientes presentarían HSIL, además con datos similares para varones homosexuales, heterosexuales y mujeres. Una cifra alrededor del 5%, más tranquilizadora es la misma que describen varios estudios anteriores(66, 68, 139) y se acerca a los datos de la época previa a la TARGA, o a la encontrada en varones homosexuales VIH-(67, 69). El estudio más reciente sobre el tema, Nahas y cols.(2009) confirman una prevalencia de displasia citológica global del 46%, mientras que diagnostican HSIL en 4.2%. Finalmente, es muy interesante mencionar la cohorte de Salit y cols.(131), que se ha convertido en referente sobre el tema al comparar de forma ciega la rentabilidad de citología y detección de VPH en 401 varones homosexuales VIH+ sin antecedentes de displasia anal; se recoge un 67% de citologías atípicas, y una prevalencia de HSIL más elevada (12%).

En nuestra población, confirmamos que más de un tercio de nuestros pacientes presentaban displasia citológica, y lo que es más preocupante, con un porcentaje global de HSIL del 7.4%. Se trata de datos significativos, considerando la ausencia de sintomatología en nuestros pacientes, y en consonancia con los estudios previamente comentados de

Abramowitz(105) y Varnai(25), que demuestran que la ausencia de lesiones anales macroscópicas no descarta la presencia de displasia epitelial. Por otra parte, en nuestra muestra existe un elevado porcentaje (22%) de pacientes de reciente diagnóstico de infección VIH, cuya presencia pudiera haber influido en una menor proporción de displasia anal, dado que estos pacientes presentan menos riesgo de displasia citológica, de acuerdo a los trabajos de Chin-Hong (2005)(147) y Nathan (2010)(148), que concluyen que los años de diagnóstico de la infección por el VIH son un factor de riesgo importante en el desarrollo de displasia anal. De todas formas, esta variable no es fácil de objetivar, ya que no es lo mismo duración de la infección VIH conocida que duración real. Algunos de nuestros pacientes de reciente diagnóstico presentaban unos valores de linfocitos CD4 inferiores a 200 células./mm<sup>3</sup>, lo que apuntaba a una media de 10 años de infección previa no conocida.

En cuanto a la prevalencia de infección VPH en las muestras citológicas, se demostró en casi el 90% de nuestros pacientes. Los porcentajes varían en los diferentes subgrupos, con predominio de los varones homosexuales (90%), siendo menor en mujeres (80%) y varones heterosexuales (60%). Los porcentajes de detección de VPH-AR fueron asimismo muy elevados (82%) en todos los grupos. Esta prevalencia es similar al 83.3% recogido por Del Amo y cols.(149) en su cohorte de 505 varones homosexuales VIH+, que supone una de las escasas referencias al tema publicadas en España.

Los resultados de la detección de VPH16 en las muestras citológicas son similares a todos los trabajos previos, ya que es el tipo que predomina en todos los subgrupos de pacientes, con el predominio ya conocido del grupo de varones homosexuales.

Ya ha sido comentado que el grupo de población con mayor riesgo para la infección anal por VPH son los homosexuales VIH+ (151, 152). En diversos estudios de cohortes se ha descrito que entre el 72-92% de estos pacientes están coinfectados por VPH, mientras que los valores descienden al 57-61% en varones homosexuales VIH-(18, 48). En la serie inicial de Palefsky (1998), la prevalencia de VPH anal en varones homosexuales VIH+ fue del 93%, frente al 60% de 362 homosexuales VIH-(66). Estos porcentajes parecen haberse mantenido hasta la actualidad, ya que las cohortes más recientes se describen datos similares, siempre con porcentajes de infección por VPH de cualquier tipo superiores al 75%(153) y con una elevadísima proporción de genotipos de alto riesgo (84% de infecciones por VPH-AR en la serie de Anderson y cols.(154)). En su estudio poblacional realizado en San Francisco en 2008, Chin-Hong y cols. refieren que el 57% de los homosexuales VIH- y el 88% de los homosexuales VIH+ presentaban infección anal por VPH. Asimismo, en el 34% y el 72% de estos sujetos, respectivamente, se identificó al menos un tipo oncogénico de VPH(48). En el

estudio de Salit y cols.(131) se detecta VPH anal en 93% de las muestras, con tipos oncogénicos en el 88% (VPH 16 38%, VPH 18, 20%; VPH 31, 15%).

#### PREVALENCIA DE NIA

Se han publicado numerosas series que recogen las alteraciones en la citología anal, pero son mucho más escasos los estudios en los que se recogen datos de prevalencia de NIA con confirmación histológica.

La prevalencia de NIA de cualquier grado y de NIA/AG en nuestros pacientes es del 58% y 46%, respectivamente. Las cohortes de Wilkin y cols.(2004)(150) y Kreuter y cols.(2005) presentan porcentajes menores ( 40% y 20% de NIA, y 9% y 6% de NIA-AG, respectivamente) Sin embargo, nuestros datos son más cercanos a los de la serie de Chin-Hong y cols.(2008)(48) , que describió una prevalencia de NIA de cualquier grado del 57%, y de 43% para NIA-AG en los infectados por VIH v frente a 35% y 25% en pacientes VIH-, respectivamente.

Otros estudios ofrecen porcentajes de NIA más preocupantes: Palefsky en 2005(20) sobre 345 homosexuales VIH+ reporta el 81% de NIA, y 52% de NIA-AG, y Rosa-Cuhna y cols. (2011)(79), obtienen un 94% de NIA total y 55% de NIA-AG. Estos resultados, que corresponden a pacientes sin cribado previo, se aproximan a los de las series quirúrgicas como la de Goldstone y cols.(144), que reporta un 96% y 68% para NIA y NIA-AG, respectivamente.

#### PREVALENCIA DE INFECCIÓN VPH ANOGENITAL Y NIA

La prevalencia y distribución de la infección por VPH en carcinoma anogenital y lesiones precancerosas ha sido evaluada extensamente en un metaanálisis reciente(2009) que revisa 29 estudios (151). Globalmente, destaca una prevalencia de infección VPH de 91.5% en NIA-BG (679 casos analizados), 93.9% en NIA-AG (609 casos) y 84.3% en carcinoma anal (955 casos). Comparativamente, estos datos son muy superiores a los encontrados en el mismo estudio para carcinoma vaginal (69.9%) y vulvar (40.4%), y se aproximan a la prevalencia de VPH en carcinoma de cérvix descrita en un metaanálisis anterior (87.3%)(152).

Si se estudia específicamente la distribución de los genotipos de VPH, tanto en el carcinoma anal invasivo como en NIA-AG y NIA-BG, el trabajo de referencia corresponde a Hoots y cols.(140), que analizan 37 estudios que incluyen 1824 casos de carcinoma anal y lesiones precursoras. Globalmente, se describe una prevalencia de VPH de 71%, 91% y 88% en carcinoma anal invasivo, HSIL y LSIL, respectivamente. Los trabajos incluidos en este estudio son muy heterogéneos por lo que su análisis global es difícil; como conclusiones, la prevalencia de VPH es mayor en los estudios norteamericanos y europeos, así como en los trabajos más

recientes (64.7% en estudios de 1989 a 1998 frente a 83.8% en las series de 2005 a 2007); sugieren los autores que la mejoría en la fiabilidad de las pruebas diagnósticas pudiera contribuir a estos resultados. La prevalencia es asimismo mayor en mujeres (86.5%) que en varones (76.7%). El estudio de los genotipos demuestra prevalencias combinadas de VPH16 y/o 18 del 72.2%, 68.7% y 27.4% en carcinoma invasivo, HSIL y LSIL respectivamente.

En nuestros pacientes, el 97% de las citologías alteradas mostraban infección por VPH de cualquier tipo. Del mismo modo, la prevalencia de infección por VPH-AR fue muy elevada (95%). Los resultados son por lo tanto muy similares a la prevalencia de infección por VPH y VPH-AR en el total de citologías realizadas, por lo que la detección de VPH-AR no aporta ventajas como prueba de cribado primario para NIA en nuestros pacientes. En la correlación con el grado de displasia, la totalidad de ASCUS presentaron VPH-AR, y en tan sólo uno de los 15 casos de HSIL no se detectó VPH-AR. Por otra parte, atendiendo únicamente a la infección por VPH16, se aprecian diferencias significativas entre los grados histológicos, ya que mientras tan sólo dos ASCUS están infectados, 10 de 15 de las HSIL presentan VPH16 +. Así pues, la detección de VPH 16 pudiera asociarse al riesgo de NIA AG.

El espectro de genotipos de VPH asociados a todos los grados de NIA y carcinoma anal es muy amplio, si bien VPH16 se aísla en más del 75% de los casos publicados. De la misma forma que en el carcinoma cervical, la importancia relativa de VPH16 se incrementa progresivamente con la severidad histológica, resaltando por tanto su potencial para inducir la progresión a carcinoma en comparación con otros genotipos(151). En sentido opuesto, VPH18 es mucho más infrecuente en el carcinoma anal que en el cervical. Se conoce el tropismo de este genotipo por el epitelio glandular, y por tanto su asociación a adenocarcinoma cervical. Más aún, si se evalúan tan sólo los carcinomas epidermoides cervicales frente a los anales, VPH18 continúa siendo mucho más infrecuente en estos últimos(153), por lo que el interés de su aislamiento en carcinoma anal parece escaso y por ello fue desestimado en nuestro estudio. Esta impresión se desprende también de dos trabajos adicionales: en la serie de Varnai y cols.(25), la gran mayoría de casos de carcinoma anal en los que se detectó infección por VPH (80.9%, 33/47) estaban asociados a VPH16 (33/38, 86.8%); por el contrario, la infección por el subtipo 18 sólo se demostró en 1 caso. Y de la misma forma, en el metaanálisis de Hoots y cols.(140), en el subgrupo de pacientes con carcinoma anal e infección VPH, el 85.1% presentaban VPH16 y tan sólo el 7.2% estaban infectados por VPH18.

En nuestros pacientes, se identificó VPH16 en el 58% de los pacientes (sin que se apreciaran diferencias en relación con la severidad histológica: de los 47 casos con VPH16, el 51% presentaba NIA-AG y el 49% fueron normales ó NIA-BG). Sin embargo, debe resaltarse que VPH16 infectaba al 64% de nuestros pacientes con NIA-AG. Estos datos se corresponden

con los descritos en el metanálisis ya mencionado de Vuyst y cols.(151). En este trabajo, además de constatarse que la infección por cualquier tipo de VPH es muy elevada en los pacientes con NIA-AG (96.7% en VIH+ frente a 90.1% en VIH-), se describen porcentajes de infección por VPH16 menores en los VIH+ frente a los VIH- (55.3% frente a 76.6%), y en estos últimos su lugar parece estar ocupado por otros tipos de VPH-AR que son mucho menos frecuentes en los casos de NIA-AR de pacientes seronegativos (VPH18: 25.5% y 6.3% ; VPH31: 13.2% y 2.7%; VPH33:19.2% y 6.7%; VPH51:3.8% y 0%, en pacientes VIH+ y VIH-, respectivamente). Estos resultados aparentemente paradójicos son similares a los ya conocidos en CIN-AG, y pueden deberse a la interrelación entre el grado de inmunosupresión por el VIH junto al potencial oncogénico de los distintos genotipos de VPH. Se ha sugerido que la inmunodepresión progresiva de la infección VIH potenciaría la actividad oncogénica de los genotipos del alto riesgo menos habituales (18, 31, 33, 51), que en estos casos serían capaces de inducir progresión tumoral con mayor facilidad. Este mecanismo tendría menos influencia en las infecciones por VPH16, de mayor capacidad oncogénica intrínseca y por tanto independiente de la situación inmunológica del individuo(154).

Así pues, el aislamiento de VPH16 fue sugestivo de displasia grave en nuestros pacientes. No obstante, el 38.2% de nuestras NIA-AG presentaban infección por otros tipos de alto grado. Esta distribución de genotipos podría justificarse por la interacción entre la inmunodepresión prolongada por el VIH, como factor favorecedor de la capacidad de genotipos de VPH-AR distintos de VPH-16, que se incrementaría aún más al aumentar la supervivencia de los pacientes infectados a partir de su buena situación inmunológica actual.

#### RENDIMIENTO DE LA CITOLOGÍA COMO PRUEBA DE CRIBADO PARA NIA

Considerando el valor de la citología como prueba de cribado para detectar NIA de cualquier grado, hemos encontrado una sensibilidad de 83% y una especificidad de 41%.

Al estudiar el valor de la citología como test para detectar la NIA-AG, observamos que se mantiene la misma sensibilidad (84%) y disminuye algo la especificidad al 36%. También se aprecia una reducción moderada de los VPP (52.5% frente a 61%) y VPN (41.1% frente a 52%), si bien consideramos que, en ninguno de los dos casos, estas diferencias parecen tener repercusión desde el punto de vista práctico en el seguimiento futuro de los pacientes. Se ha confirmado que el VPP de la citología aumenta con la repetición de las tomas a lo largo del seguimiento de los pacientes, lo que es utilizado por algunos autores para mejorar el rendimiento de la técnica. En el estudio longitudinal de la cohorte de Palefsky(139) el VPP de la citología mejoró del 46% al 79% tras dos tomas en años consecutivos.

En lo que se refiere al rendimiento diagnóstico de la citología, los resultados recogidos en nuestros pacientes son muy similares a los referidos en los primeros trabajos de prestigio sobre el tema. El estudio de referencia corresponde a Palefsky y cols. (1997)(139), cuya cohorte incluye 407 varones homosexuales VIH+ y es comparable a la nuestra en cuanto a su carácter prospectivo y elección de pacientes sin síntomas locales, y con edad media (41 años) y origen étnico (86% caucásicos) también similares a nuestra población. Desde el punto de vista metodológico, se diferencia de nuestro protocolo en que tan sólo se biopsian los casos con alteración anoscópica visible (este método es el utilizado en la gran mayoría de los protocolos publicados). Utilizando citología convencional, los autores describen una sensibilidad para atipia de cualquier grado del 61% en una primera toma citológica (que mejora con la adición de una segunda citología al 81%); la especificidad es del 59%, con VPP 38% y VPN 84%. El estudio de Ruitter y cols.(1994)(155) describe la serie de Londres que incluye 215 varones homosexuales, y en ellos una sensibilidad para NIA de 87% y especificidad de 16.3% (VPP 37.4%, 69.6 VPN%).

Posteriormente, se han publicado desde el año 2001 hasta la actualidad, diversas cohortes de con una amplia distribución geográfica, en las que se reevalúa el rendimiento diagnóstico de la citología anal (126, 130, 133, 134, 139, 156). La sensibilidad para el diagnóstico de NIA se ha estimado entre el 42-98%, mientras que la especificidad encontrada es del 16-97% (126, 132, 139, 142, 146, 155-160). Las diferencias más amplias corresponden a Bean(161), que en su estudio retrospectivo sobre 118 pacientes VIH+ (116 varones) encuentra una sensibilidad de 92% y una especificidad muy baja (8%), con VPN de 33% y VPP 67%; los autores no mencionan la presencia de patología anal asociada que pudiera modificar los resultados. Este dato sí aparece expresamente señalado en la serie de Salit y cols.(131) sobre 404 varones homosexuales VIH+, en la que se confirma una sensibilidad para NIA-AG del 84%, con especificidad 39%, VPP 31% y VPN 88%, y es la que más concordancia presenta con nuestros datos.

Debe mencionarse expresamente el estudio prospectivo de Nahas y cols.(142), ya que es el único que utiliza una metodología similar a la nuestra, y en la que se biopsian los pacientes con citología negativa. Se analiza una población de 222 pacientes (85% varones, 82% de ellos homosexuales) que presentan lesiones condilomatosas visibles en el 65% de los casos. Reporta una sensibilidad y especificidad similares (61%) para NIA cualquier grado; en el caso de la lesiones de alto grado, la sensibilidad es muy baja (17%) y sin embargo la especificidad sube de forma sorprendente al 97%.

Por último, resulta interesante analizar la cohorte inglesa más reciente, publicada por Nathan y cols. en 2010(148). Se trata del estudio prospectivo (2005-2007) de una población de

características demográficas superponibles a la nuestra: predominio de raza caucásica, 36 años de edad media y gran mayoría de varones (93%), y de ellos el 75.2% homosexuales. El 54% de los pacientes eran VIH+ (N=212) frente a 156 VIH-. En esta serie se incluyeron pacientes remitidos expresamente por sospecha de patología anal activa. En el subgrupo de pacientes VIH+, la sensibilidad de la citología para detectar NIA fue del 76% (frente a 59% en VIH-), mientras que la sensibilidad para HSIL fue superior en VIH- (93%) que en VIH +(80%). En la comparación directa con los datos de nuestra serie, el rendimiento de la citología para el cribado de NIA total y NIA-AG es similar en ambos trabajos (83.3% en nuestra población, frente al 80% obtenido por Nathan y cols.). Considerando que la metodología en el reclutamiento de pacientes es opuesta en ambos trabajos (aleatorizada en nuestro caso, frente a pacientes remitidos expresamente por procesos anorrectales activos en la serie comparada), parece sorprendente que el rendimiento de la citología sea el mismo, y refuerza a la vez la idea de infravaloración de la sospecha clínica de displasia anal en el colectivo VIH y que ya había sido sugerida por Goldstone en 2001(144).

Por otra parte, al analizar la sensibilidad de la citología en el grupo de pacientes VIH+, se comprueba que los resultados en los pacientes de Nathan y cols.(148) son claramente dependientes del recuento de CD4, siendo menor en recuentos superiores a 400 células /mm<sup>3</sup> (67%) frente a los pacientes con 400-200 CD4/mm<sup>3</sup> y menos de 200 CD4/mm<sup>3</sup> ((90%) en ambos casos(148)). Por el contrario, la situación inmunológica de los pacientes incluidos en nuestra serie, muy homogénea y con valores elevados, no permite evaluar la influencia de este parámetro.

Valorando en conjunto los datos de las series disponibles, el rendimiento de la citología anal es similar al de la citología y biopsia cervicales. De la misma forma, la variabilidad intra e interobservador se considera moderada, también en los mismos niveles que la citología cervical(162). En cuanto al método de recogida de muestras, la sensibilidad es equivalente en los estudios en los que se utiliza la autocitología (muestras recogidas por el propio paciente) frente a las muestras recogidas por el médico (68% frente a 70%)(163). La serie de Ching-Hong (2008) incluye 30 varones homosexuales VIH+. La citología muestra una sensibilidad del 75% en muestras autorrecogidas por el paciente y 90% en muestras recogidas por el médico.

En los varones homosexuales VIH-, la citología es menos sensible y más específica para detectar displasia que en los pacientes seropositivos, con sensibilidades reportadas del 50-60% y especificidad del 76-84%(48, 130). En los pacientes VIH- de la serie de Chin-Hong(48), la sensibilidad disminuye con respecto a los VIH+ (62% frente a 90%), pero la especificidad aumenta claramente (85% frente a 65%).

A pesar de ser reconocida como el método más adecuado para el cribado primario de la displasia anal en la actualidad, la verdadera utilidad de la citología anal plantea algunas controversias, basadas sobretodo en la falta de correlación entre los hallazgos citológicos y la biopsia en una proporción estimable de casos.

En nuestros datos, confirmamos que las citologías que demuestran lesión epitelial de alto grado se correlacionan por lo general a NIA-AG en la biopsia. El 91% de nuestros pacientes con displasia de alto grado citológica presentaron NIA-AG histológica; esta correlación es recogida en las revisiones previas. Lamentablemente, no es infrecuente encontrar casos de NIA-AG asociadas a alteraciones citológicas menos evidentes (ASCUS o citologías de bajo grado)(156). De los 31 casos de NIA-AG correspondientes a las citologías alteradas, se incluyen 18 LSIL y 3 ASCUS. Éste es el resultado citológico más frecuente en nuestra cohorte de 203 pacientes (66% frente a 20% de HSIL), y constatamos que la presencia de ASCUS predice mal el grado de afectación histológica (el 100% de los pacientes con ASCUS presentaban NIA, 3 de ellos NIA-AG). Del mismo modo, el hallazgo de displasia de bajo grado en la citología no tiene buena correlación con el grado histológico, ya que el 75%(18/24) de los pacientes con este resultado presentaban en realidad displasia de alto grado en la biopsia. En conclusión, nuestros datos sugieren la tendencia del cribado citológico a infravalorar la displasia histológica real.

En el análisis de nuestros resultados debe destacarse que uno de cada 3 casos con citología normal (8/22) presentaban NIA en la biopsia. Estos pacientes suponen el 17% (8/47) del total de NIA y fueron finalmente diagnosticados de 2 NIA-BG y 6 NIA-AG. Además, hasta un 20% de las NIA-BG no fueron detectados por la citología, y uno de cada cuatro pacientes con NIA-AG presentaban citologías normales. Esta preocupación por el infradiagnóstico de la NIA-AG es compartida por otros autores. Salit y cols.(131) encuentran una elevada prevalencia de NIA-AG en su cribado inicial (24%), que no había sido adecuadamente valorada por la citología previa (sólo se registraron un 12% de HSIL).

Este problema de la infraestimación de la displasia grave ya se había mencionado en la serie prospectiva de Goldstone en 2001(144), incluso en el cribado secundario de pacientes remitidos directamente a coloproctología por ser portadores de lesiones condilomatosas visibles. De todos los pacientes estudiados, en tan sólo el 2% se sospechó clínicamente lesiones más graves que condilomas, y sin embargo la presencia de HSIL se confirmó en el 60% de los casos. En la misma serie, el 50% y 42% de los casos de ASCUS y LSIL, respectivamente, presentaron NIA-AG(144). Y aún es más preocupante que de los 5 casos registrados de carcinoma invasivo, en ninguno se detectaron células cancerosas en la citología.

Esta preocupación por la inespecificidad de los hallazgos citológicos se ha mantenido a lo largo del tiempo, y se confirma en el estudio más reciente que correlaciona citología y biopsia, que corresponde a Zhao y cols.(2012)(164). En una serie de 198 pacientes en los que se establece la correlación entre citología y biopsia (91% VIH+), los autores describen que el diagnóstico final de NIA-AG se asoció a hallazgos citológicos previos de ASCUS (46.5%), ASC-H(65%) LSIL (56.6%) y HSIL (80.8%%). La inexactitud de la citología para diagnosticar NIA-AG puede justificarse en las lesiones en las que las zonas de displasia más severa están incluidas dentro de condilomas acuminados o lesiones de bajo grado(144). Conceptualmente, la citología proporciona una muestra de la celularidad más superficial de la lesión, por lo que es razonable que en muchos casos no sea representativa de las zonas de NIA más profundas(146).

En sentido contrario, el 33,9% (20/59) de nuestros pacientes con citología alterada presentaron una biopsia normal. Esta preocupación ya había sido apreciada en la cohorte de Palefsky (139)y el estudio ya comentado de Goldstone(144), que demuestran que la presencia de HSIL en la citología no siempre se asocia a NIA-AG, con un 30% y 21% respectivamente, de pacientes con menor displasia histológica que citológica. Aunque la citología pudiera haber sobreestimado la gravedad real, es más probable que la biopsia no haya identificado los focos de mayor displasia. En estos casos debe mantenerse un elevado índice de sospecha y remitir al paciente para AAR de nuevo, máxime cuando existe además el riesgo teórico de que la inmunodepresión crónica en los pacientes VIH+ pudiera acelerarla progresión de las lesiones de bajo grado a HSIL, y por tanto contribuir a la infraestimación de la gravedad de la displasia. En estas discrepancias en la correlación entre los resultados citológicos y la histología final pueden intervenir además de otros factores, entre los que se menciona la experiencia del personal médico. En dos estudios similares en varones homosexuales, correspondientes al grupo de Goldstone y separados por 10 años de experiencia(141, 144), la correlación entre citología con HSIL y NIA-AG se incrementó del 79% al 95%, lo que sugiere la existencia de una curva de aprendizaje en estas técnicas que asegure su rentabilidad.

Así pues, existen muchos factores involucrados en la conocida inexactitud de la citología anal para detectar NIA-AG. La conclusión de nuestra experiencia, que refuerza la de los estudios previos mencionados, es que la detección de cualquier alteración citológica se asocia a riesgo significativo de displasia anal grave, y por ello es conveniente remitir para AAR y biopsia a todos los pacientes con alteraciones citológicas atípicas (ASCUS) o de mayor grado (164, 165).

VALOR DE LA DETECCIÓN DE VPH EN EL PROTOCOLO DE CRIBADO DE NIA

El concepto de que la infección por genotipos oncogénicos de VPH es un precursor necesario para la carcinogénesis anogenital ha justificado la introducción de los test de detección de DNA-VPH-AR como parte del cribado del carcinoma cervical femenino, tanto de forma aislada como en asociación a la citología convencional.

Los ensayos aleatorizados a gran escala han mostrado que las pruebas de detección de ADN del VPH-AR ofrecen una mayor sensibilidad pero menor especificidad en comparación con la citología cervical para la detección de CIN-3 y cáncer. Sin embargo, este concepto sólo parece ser aplicable a las mujeres mayores de 30 años, ya que en mujeres más jóvenes, las tasas de regresión espontánea de la infección por VPH son muy elevadas, por lo que en este segmento de edad la detección de VPH no estaría indicada, para evitar derivaciones y tratamientos innecesarios.

Sin embargo, la potencial utilidad de la detección de VPH-AR en muestras cervicales en mujeres inmunocompetentes no parece extrapolable a las condiciones que presentan los pacientes VIH+, sometidos a inmunosupresión crónica durante años, y en los que a pesar del uso de TARGA no se ha demostrado que la inmunidad específica frente a VPH se reconstituya de forma eficaz.

También en mujeres sanas, el valor pronóstico de una determinación negativa frente a VPH para el desarrollo futuro de CIN-AG(166), puede ser mayor que el de la propia citología (que presenta un VPN bajo a largo plazo), por lo que podría incluso plantearse su uso como prueba de elección para el cribado primario del carcinoma de cérvix, ya que ofrecería una mayor seguridad a largo plazo y con intervalos de cribado más espaciados.

Los test de detección genómica de VPH-AR no han sido validados para su utilización en varones, ni existen hasta la fecha estudios randomizados que establezcan su utilidad real en muestras anales tanto como prueba aislada de cribado, como asociada a la citología(165). Sin embargo, en la práctica clínica se utilizan desde 1997, y por lo general, no han demostrado ventajas en cuanto a sensibilidad y, y adolecen de escasa especificidad frente al estudio citológico, por lo que no se recomienda su uso como prueba de cribado aislada. De hecho, no se han publicado trabajos en los que se describa el rendimiento (sensibilidad y especificidad) de la detección de VPH para el diagnóstico de NIA, como método único de cribado. La aportación de la determinación de VPH-AR como prueba complementaria a la citología es también motivo de controversia, si bien parece tener mayor valor. Se conoce que el riesgo de alteraciones citológicas en las mujeres VIH+ con determinación negativa para VPH-AR y con recuentos elevados de CD4 parece muy bajo. En una cohorte en seguimiento durante 3 años, las pacientes VIH+ (con 37 años de edad media) con situación basal de CD4 superiores a 500 células/mm<sup>3</sup>, citología normal y VPH- presentaron al final del estudio muy baja incidencia de displasia

cervical (similar a la población general)(167). De forma similar, se ha planteado que, en el cribado de displasia anal, una determinación negativa para VPH se relacionaría con un menor riesgo de alteraciones histológicas. En este sentido, Roka y cols(155) estudian la infección anal por VPH en una serie de 555 varones homosexuales (sin determinar estatus VIH). En sus resultados aparece un 58.6% de infecciones por VPH de cualquier tipo, y 51.4% de infecciones por VPH-AR, y concluyen que los mayores grados de displasia histológica se corresponden con el aislamiento de genotipos oncogénicos; más aún, no encuentran NIA-3 en los pacientes VPH-. De estudios similares, en los que se evalúan varones homosexuales tanto VIH+ como VIH-, puede concluirse que la detección de VPH sería más rentable en los grupos de población con menor tasa de infecciones (es decir, los homosexuales VIH- frente a los seropositivos), en los que se aumentaría la sensibilidad de la citología para el diagnóstico de NIA-AG, aunque con escasa especificidad y bajo VPP (130), pero con un mejor VPN(165). En la misma dirección, Papaconstantinou y cols(2005) reportaron un aumento de la sensibilidad (del 42% al 84.2%) a expensas de una disminución de la especificidad (96% al 43%) en una serie de pacientes (91.5% varones, 79% VIH+) portadores de condilomas acuminados, cuando se combinó la citología anal con la detección de VPH-AR(146).

Lamentablemente, esta capacidad discriminatoria de la adición de la detección de VPH a la citología parece disminuir en las poblaciones de mayor prevalencia de infección VPH, como los pacientes VIH+. En una población de 103 mujeres VIH+ y con recuentos de CD4 menores a 500 células/mm<sup>3</sup>, la detección de VPH-AR se asoció con fuerza a la presencia de displasia citológica, pero por el contrario tan sólo mejoró mínimamente la sensibilidad y los valores predictivos de la citología en solitario(168). La ausencia de beneficio pudiera ser atribuida a la elevadísima prevalencia de VPH-AR en mujeres VIH+, que con frecuencia están infectadas por genotipos de alto riesgo diferentes a 16 y 18(169) y que no se detectan en los test convencionales. Esta sería la misma situación constatada tanto por nosotros como por Salit y cols.(131). Aunque la ausencia de VPH oncogénico descarta la presencia de NIA-AG (VPN 100%), la utilidad práctica de su detección es muy limitada, ya que la infección de la práctica totalidad de la muestra no permite establecer un subgrupo de pacientes con menor riesgo de displasia grave, y que por lo tanto pudieran ser evaluados con mayor tranquilidad a medio plazo.

Otra posible aportación del tipaje adicional de VPH a la citología anal sería su valor en la discriminación de ASCUS, el diagnóstico citológico más frecuente en muchos estudios y que corresponde al 14.5% de nuestros pacientes. En los individuos VIH+, este hallazgo presenta muy escasa especificidad, y muchos pacientes de ambos sexos finalmente no presentan displasia severa asociada cuando estas lesiones son finalmente biopsiadas(170, 171). De nuevo se debe recurrir a la experiencia en citología cervical para extrapolar los resultados a las lesiones anales. Se ha sugerido que, en mujeres mayores de 30 años, la capacidad predictiva de ASCUS

mejora con la determinación paralela de VPH-AR. Este concepto justifica que las mujeres con ASCUS y VPH-AR son remitidas a colposcopia inmediata, mientras que los mismos hallazgos citológicos sin VPH-AR se mantienen en observación debido a su bajo riesgo(170, 172). Del mismo modo, los tests de detección de DNA de VPH, aplicados a los ASCUS anales, han demostrado mejorar la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la citología aislada(173). El valor predictivo negativo de ASCUS junto a la ausencia de VPH-AR sería del 98% en cérvix y 94% en ano(144).

Aunque las recomendaciones actuales sugieren que todos los varones homosexuales (de cualquier estatus frente a VIH) con citología anormal –incluyendo ASCUS- sean sometidos a AAR para descartar NIA-AG, se conoce que aproximadamente la mitad de los casos de ASCUS son VPH-AR-, por lo que probablemente podrían ser evaluados con mayor seguridad y no requerirían AAR de inicio si confiamos en su excelente VPN. Lamentablemente y al igual que en nuestro estudio, el poder discriminatorio de VPH-AR en ASCUS desaparece cuando estos pacientes están infectados por el VIH+ (131), ya que la infección casi universal por VPH oncogénicos impide que mejore la especificidad de la prueba.

Hemos estudiado el valor de la adición de la detección de VPH16 a la citología, comprobando que esta estrategia conjunta incrementa la sensibilidad para la detección de NIA, de un 83% de la citología aislada a un 94% de la combinación de ambas técnicas.

En resumen, la citología anal sigue considerándose una prueba útil para el cribado de NIA por su sencillez, rapidez, rápido aprendizaje por parte del personal médico y escaso coste económico. Pero dado que su especificidad en la detección de NIA-AG deja bastante de desear, pues oscila entre el 32 y el 59% (156), su utilidad práctica es limitada, ya que muchos pacientes son enviados innecesariamente a AAR y biopsia, con el consiguiente gasto económico. Por ello, está justificada la evaluación de pruebas adicionales que, combinadas o en solitario, mejoren los resultados actuales. El estudio de diversos biomarcadores en muestras citológicas anales, como la integración de VPH16, constituye uno de los campos de desarrollo más interesantes(174).

El interés por identificar los subgrupos de pacientes infectados por genotipos oncogénicos de VPH no se limita a las mejoras diagnósticas, sino que tiene además gran interés terapéutico. En la actualidad, la ausencia de tratamientos estandarizados y de eficacia comprobada en pacientes VIH con carcinoma anal, es uno de los argumentos utilizados para desaconsejar la generalización de los protocolos de cribado de la NIA, ya que supondrá sin duda un aumento del número de lesiones displásicas diagnosticadas, cuya historia natural queda por determinar y a las que no se puede ofrecer una opción terapéutica claramente eficaz(165). Son conocidas las limitaciones de la cirugía convencional o los tratamientos locales(175-177)

utilizados para el tratamiento de la displasia anal avanzada, que se traducen en dificultades técnicas para abordar el canal anal, y porcentajes muy elevados de fracasos terapéuticos, enfermedad persistente y recidivas locales(178, 179).

Afortunadamente, también se están produciendo avances en el tratamiento de la displasia anal que permiten manejar con mayor fiabilidad los casos diagnosticados, y por lo tanto restan argumentos a los partidarios de mantener una conducta meramente expectante frente a la terapia activa.

Las nuevas líneas de tratamiento se dirigen específicamente a la detención de la progresión tumoral desde sus etapas iniciales. El objetivo terapéutico a conseguir, la erradicación completa de la infección VPH de la mucosa anogenital, podría beneficiarse de programas de vacunación proactiva en pacientes de alto riesgo(180). De acuerdo con el metaanálisis de Vuyst y cols.(151), el 80% de los carcinomas anales recogidos, así como un porcentaje similar de NIA-AG, se habrían beneficiado de la vacunación profiláctica frente a VPH16/18. En 2009, la FDA aprobó la vacuna cuadrivalente frente a VPH para la prevención de verrugas genitales en varones jóvenes. El Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) recomienda su uso permisivo (no rutinario) en varones de 9 a 26 años; esta indicación se ha expandido a la prevención de displasia anal(181). Muy recientemente, un estudio aleatorizado frente a placebo y conducido por Giuliano y cols.(2012)(182) ha demostrado que la vacuna cuadrivalente frente a VPH 6, 11, 16 y 18 puede ser efectiva para la prevención de NIA en varones: obtiene unos porcentajes de prevención de lesiones genitales externas por dichos genotipos del 90.4%, con una eficacia frente a la aparición de condilomas acuminados del 89.4% y sin que se registraran casos de displasia epitelial a nivel genital en el grupo vacunado. Se trata de datos prometedores, pero no extrapolables a la población homosexual infectada por VIH, en la que todavía no se han publicado estudios.

Por otra parte, el desarrollo de vacunas terapéuticas se encuentra en sus primeras fases de desarrollo, pero representan una posibilidad esperanzadora no sólo en pacientes con infección demostrada por VPH-AR, sino también en casos establecidos de neoplasia intraepitelial anogenital(183, 184). Los resultados de los primeros estudios en pacientes VIH-son esperanzadores. Palefsky y cols. ensayaron una vacuna diseñada mediante la fusión de una proteína de choque térmico Hsp65 del bacilo de Calmette-Guerin con la proteína E7 de VPH 16; se apreció regresión de NIA-AG a normal en el 50% de 82 pacientes VIH-(185). En resumen, todas estas posibilidades de tratamiento futuro suscitan el interés de la identificación de los casos de NIA asociada a VPH-AR, en especial VPH 16, ya que este subgrupo de pacientes podría beneficiarse de estos proyectos de inmunoterapia específica.

RENDIMIENTO DE LA AAR COMO PRUEBA DE CRIBADO

La segunda parte del estudio (anoscopia de alta resolución y biopsia) fue ofrecida a los pacientes que presentaron bien alteraciones en la citología, o infección por VPH-16 (aún sin alteraciones citológicas). Estos criterios son acordes con el concepto de que los factores predictores más sólidos para la existencia de NIA-AG en varones homosexuales son la infección por VIH, la infección anal por VPH-AR y la presencia de alteraciones en la citología(141). No se consideraron los antecedentes de patología anal o la presencia de lesiones visibles por VPH como criterio de anoscopia, ya que se ha comentado previamente la escasa rentabilidad de la inspección visual de la región anal para el diagnóstico de NIA.

En referencia al cribado del carcinoma de cérvix en mujeres VIH-, aún asumiendo la superioridad de la citología cervical como test de cribado, la realización conjunta de una colposcopia como parte del cribado inicial de CIN a todas las mujeres VIH+ es una opción admitida(152). Con la visualización directa de la zona genital se pretende, además de mejorar la sensibilidad de la citología, reducir el riesgo de posibles neoplasias vulvares o perianales asociadas (considerando la multifocalidad de la displasia genital(186, 187)). Por todo ello, en algunos protocolos (New York) se prefiere su utilización en mujeres frente a la citología. Además, la visualización directa permitiría soslayar la conocida mala adherencia a los protocolos de seguimiento por parte de estas pacientes, ya que se ha comprobado que muchas de ellas abandonan el seguimiento, tarde o temprano.

Esta experiencia en carcinoma cervical puede servir de ejemplo para valorar la utilidad de la AAR con biopsia como prueba diagnóstica en NIA y carcinoma anal. En este sentido, debe evaluarse su eficacia tanto como test diagnóstico inicial, como parte del cribado secundario de pacientes con patología anal ya conocida.

En nuestros pacientes, la anoscopia diagnosticó correctamente el 96% de los casos con biopsia patológica (45/47). En 3 de cada 4 pacientes se identificaron uno o más de los patrones definidos como patológicos en la inspección anoscópica. De ellos, se confirmó NIA de cualquier grado en 45/61 (73.7%). Esta correlación entre los hallazgos anoscópicos e histológicos es más que aceptable. Además, observamos que entre los pacientes con anoscopia normal encontramos 18/20 (90%) biopsias normales, por lo que el VPP de la técnica es muy bueno. Los dos pacientes con anoscopia normal pero displasia histológica presentaban NIA-BG en un caso y en un caso NIA-AG. Respecto a la NIA-AG, un resultado normal en la anoscopia la descartaba en un 95% de los casos.

Si comparamos la rentabilidad de la AAR como test de cribado inicial para el diagnóstico de NNIA Y NIA-AG frente a la citología, encontramos que la sensibilidad de la anoscopia es superior a la de la citología (83%), tanto en lo referente al diagnóstico de NIA de cualquier grado (sensibilidad del 96% y especificidad del 58%) como para NIA-AG; en este

caso, la sensibilidad aumenta todavía más (97.3%) con un ligero descenso de la especificidad al 45%. Estos hallazgos son los esperables, y se demuestra su eficacia como prueba de cribado inicial: el 96% y 97.3% de los pacientes con NIA y NIA-AG respectivamente, hubieran sido diagnosticados mediante anoscopia. A pesar de ello y considerando la elevada prevalencia de NIA en la población VIH+, y basándonos en los datos de sensibilidad y especificidad de forma aislada, la anoscopia no aportarían ventajas sobre la citología anal como prueba de cribado primario. Nuestra experiencia no es compartida por los autores que describen peor rendimiento de la citología que el aportado por nosotros. Nahas y cols.(142) aportan datos de sensibilidad y especificidad limitadas (61% en ambas, para NIA de cualquier grado), y sugieren por ello que la anoscopia sea utilizada como método de cribado inicial al ser más sensible, para realizar el seguimiento posterior con citologías periódicas.

En otros casos, se propone la utilización directa de la anoscopia como método de cribado inicial al considerar el pobre valor predictivo negativo de una única citología anal en varones homosexuales VIH+(131). En este caso, una citología negativa obliga a mantener la vigilancia y repetir las determinaciones en intervalos cortos de tiempo, con objeto de evitar la aparición de la enfermedad. Sin embargo, en nuestros pacientes, el VPN de la AAR fue claramente superior (90% y 95.2%) para el diagnóstico de NIA de cualquier grado y NIA-AG, respectivamente. Así pues, el hallazgo de una anoscopia normal aporta mucha mayor tranquilidad para el seguimiento de los pacientes frente a una citología normal, ya que el 95.2% de nuestras anoscopias normales correspondían a pacientes sin displasia de alto grado (bien con biopsia normal o NIA-BG). No obstante y con objeto de disminuir aún más el riesgo de NIA oculta, el grupo de la Universidad de California aconseja repetir las anoscopias a los pacientes con resultados inicialmente negativos, en intervalos diferentes que dependerán de los hallazgos de la citología previa: aconsejan una anoscopia inmediata en caso de HSIL previo, y repetirla a los 4, 6 y 12 meses si los resultados citológicos eran ASC-H, LSIL o ASCUS, respectivamente(188).

A pesar de que se trata de abordaje ventajoso en el manejo a largo plazo de los pacientes, en la práctica no es factible ofrecer inicialmente la exploración anoscópica dentro de un periodo de tiempo razonable a todos los pacientes en riesgo(130). En nuestro caso, éste ha sido uno de los motivos fundamentales por los que no se pudo completar el protocolo de cribado en un porcentaje estimable de nuestros pacientes, si bien estos casos se mantienen en seguimiento en la actualidad. No debe olvidarse tampoco que la AAR no está exenta de complicaciones, que aunque son normalmente leves, pueden ser causa de morbilidad en algunos pacientes.

En resumen y por motivos prácticos la AAR se mantiene como método secundario de cribado, salvo casos puntuales en los que pasaría a ser el método de elección: en el caso de pacientes con patología anorrectal ya conocida, se sugiere utilizar la AAR como método directo de cribado, ya que es conocida la escasa fiabilidad de la citología para estimar la prevalencia de NIA-AG incluso en lesiones supuestamente benignas(144). Otra indicación de cribado directo con anoscopia, soslayando la citología previa, serían los antecedentes de displasia anogenital tanto en varones como en mujeres (8/10 en nuestra serie presentaban dicho antecedente)(136, 189).

Por otra parte, la citología es útil como método de control de calidad de la anoscopia, considerando que los pacientes con citologías de alto grado deben presentar NIA-AG en la biopsia guiada por anoscopia, cuya rentabilidad está condicionada por la subjetividad y preparación del anoscopista. Siguiendo esta premisa, los protocolos publicados aconsejan la repetición de la anoscopia en los casos de citologías de alto riesgo en los que la biopsia sea negativa o poco relevante, con objeto de evitar el infradiagnóstico de lesiones de alto grado(144). De acuerdo con Nathan, esta actitud sería especialmente relevante en lesiones incipientes, de pequeño tamaño o localizadas en 1 ó dos cuadrantes de la circunferencia del canal anal(122), y es además de gran interés para evaluar la pericia de los anoscopistas en formación.

#### ANÁLISIS DE LOS FACTORES DE RIESGO PARA NIA

En varias cohortes previas de pacientes tanto VIH+ como VIH- se han estudiado los factores de riesgo para NIA-AG y carcinoma anal. El más extenso y reciente corresponde a Swedish y cols(2011), que evalúan retrospectivamente la experiencia del grupo de Goldstone en una serie de 770 varones VIH- y 472 VIH+. En modelos de regresión univariante se encontró que los factores predictivos de mayor importancia para la presencia de NIA-AG son la infección VIH, la infección anal por VPH-AR y la presencia de displasia citológica grave. En el análisis multivariante de los datos, los factores críticos para NIA-AG eran la infección por VPH-AR y la citología con displasia de alto grado, perdiendo significación estadística la infección VIH. La presencia de HSIL es el factor predictivo más potente para NIA-AG, y la infección por VPH-AR incrementa 18 veces el riesgo de displasia severa, con respecto a la citologías benignas (143).

En el análisis multivariante de los datos de la cohorte de Palefsky y cols. (2005)(20) que incluye únicamente varones homosexuales VIH+, se concluyó que el riesgo estimado para NIA se asociaba a la presencia de un mayor número de genotipos de VPH. El 88% de los pacientes con VPH anal presentaban más de un tipo específico, y el 42% más de 6 genotipos de VPH. El 94% de los casos infectados por más de 6 tipos presentaban NIA, y el 66% NIA-AG. En nuestra

serie no pudo evaluarse de forma independiente el número de tipos de VPH implicados, considerando que todos los pacientes con dicho factor de riesgo se habían incluido en el cribado por cualquiera de los dos requisitos solicitados (citología anómala o VPH 16). Los valores de CD4 también parece influir en la rentabilidad de las pruebas diagnósticas. En el estudio de Nathan y cols.(2010), la sensibilidad de la citología para el cribado de NIA se demostró dependiente de los valores de CD4, siendo menor en recuentos superiores a 400 células /mm<sup>3</sup> (67%) frente a los pacientes con 400-200 CD4 y menos de 200 CD4 ((90%) en ambos casos(150). En nuestros pacientes, la buena situación inmunológica de toda la cohorte no permite comprobar estas diferencias.

El único factor de riesgo confirmado en nuestra serie para la aparición de NIA fue el antecedente de condilomas acuminados anales y genitales, que triplica el riesgo de displasia anal. Si bien los condilomas acuminados son lesiones benignas y sin riesgo de malignización ya se ha comentado que es muy frecuente la existencia de focos o áreas displásicas en su interior, así como la coexistencia de genotipos de alto y bajo riesgo en el mismo individuo; ambas evidencias contribuyen a explicar la elevada presencia de NIA en pacientes con condilomas tanto activos como ya resueltos(144).

Los intentos de relacionar NIA con la actividad sexual reciente, uso de alcohol, tabaco ni drogas recreacionales han sido casi siempre negativos, de forma similar a los hallazgos en nuestros pacientes, o a la cohorte de Gimenez y cols (190). Tampoco hemos podido demostrar en nuestra cohorte relación estadística entre NIA y el uso de drogas alucinógenas, en contradicción con hallazgos anteriores: Ching-hong refiere en su serie diferencias significativas ( $p=0.03$ ), mientras Piketty y cols. describe el 34% de NIA en varones heterosexuales VIH+(76, 147) . En todo caso, la relación entre el uso de drogas recreacionales se basaría en su papel facilitador tanto de la infección anal por VPH-AR como por otras ITS, ya que su consumo condicionaría una reducción de la percepción del riesgo en las relaciones sexuales. No se plantea en este caso una relación fisiopatológica más directa, como se ha sugerido con el tabaquismo. Aunque nuestra serie no demostró dicha relación, dos estudios previos plantean la asociación entre tabaco y carcinoma anal(191, 192), y Daling confirma un riesgo relativo de 3.9 para desarrollar carcinoma anal en fumadores(191).

En nuestro estudio, no se encontraron diferencias en cuanto a la incidencia de NIA entre heterosexuales y homosexuales (el 75% de los heterosexuales estudiados y el 57,57 % de los homosexuales estudiados la presentaban). El 82,97% de los pacientes con NIA tenían antecedente de practicar sexo anal frente al 17% de los pacientes con NIA que no referían este tipo de relación sexual. Tampoco se encontraron diferencias en la incidencia de NIA entre los pacientes con hábitos sexuales anoreceptivos, insertivos e indistintos. Por el contrario, sí se

observaron una tendencia a mayor prevalencia de NIA entre los pacientes con más contactos sexuales a lo largo de su vida. El 76,59% de los pacientes con NIA presentaba antecedente de alguna otra ETS. Analizado desde la perspectiva contraria, el 59% de los pacientes con antecedentes de ETS presentaba NIA, frente a un 23,45% de NIA de los pacientes sin antecedentes de otras ETS.

En el estudio de Del Amo y cols., se identifican además como factores de riesgo la edad (máxima incidencia a los 34 años) y el número de parejas sexuales recientes(149). Nuestros datos confirman la existencia de riesgo creciente de NIA con la edad, y son similares a la mayoría de estudios previos, aunque sin alcanzar significación estadística. La justificación estaría en la mayor prevalencia de VPH-AR en los pacientes de mayor edad a la que se refiere el estudio de Del Amo(149). Al contrario que en otras poblaciones en las que desciende con la edad, la prevalencia de la infección por VPH a lo largo de la vida en varones homosexuales seronegativos se mantiene muy alta incluso en la sexta década(32), y es probable que estos datos sean más elevados en homosexuales VIH+.

En nuestra serie, tampoco se encontró correlación estadísticamente significativa entre los siguientes factores y la presencia de NIA histológica: edad en la primera visita, edad de la primera relación sexual, edad al diagnóstico del VIH, antecedentes de tratamiento VIH, CD4 medios, carga viral y CD4 nadir.

En el análisis multivariante de los datos de la cohorte de Palefsky y cols. (2005)(20) asocia además que el uso de TARGA estaba asociado a un aumento de riesgo para NIA y NIA-AG(20). La interpretación más extendida sobre el significado de la TARGA como factor de riesgo para NIA y carcinoma anales que debe valorarse como ausencia de efecto protector, más que como factor potenciador de NIA.

El análisis retrospectivo de la situación inmunológica pasada del paciente infectado por VIH parece clave para evaluar el riesgo de carcinoma anal, más que la reconstitución inmune reciente obtenida por la TARGA. En la era pre TARGA, el carcinoma anal no constituía una neoplasia oportunista asociada a recuentos bajos de CD4 (como el Kaposi o LNH). Pero a la vez, se conoce que los pacientes con mala situación inmune presentaban mayor riesgo de progresión de NIA-AG a carcinoma invasivo(19). Ambos datos complementarios plantean un modelo patogénico en el que la inmunosupresión tendría un papel en las fases tempranas del desarrollo de NIA, pero otros factores adicionales –como alteraciones cromosómicas progresivas- serían más importantes en la progresión a NIA-AG y cáncer(193) El tercer factor a considerar sería la variable tiempo. Si la supervivencia del paciente es corta, no sería posible el desarrollo de carcinoma. Esta visión justificaría la escasa influencia de la TARGA en la reversión de las

lesiones de alto grado ya establecidas, y por otro lado, dado que aumenta la supervivencia del paciente, su uso se correlacionaría positivamente con la aparición de NIA.

En esta misma línea, la duración de la infección VIH ha sido identificado como un factor favorecedor para la aparición de tumores anales(24). Chin-Hong y cols.(53) estiman que los pacientes infectados por más de 15 años tienen un riesgo para carcinoma anal 12 veces superior al de los individuos infectados por menos de 5 años. De forma complementaria, el uso prolongado de TARGA podría interpretarse como indicador de infección VIH prolongada, y por tanto de inmunosupresión acumulativa – y por tanto portadores crónicos de VPH-AR- en los que el riesgo de NIA sería mayor, frente al grupo de pacientes sin TARGA, muchos recientemente infectados por VIH como los descritos en nuestra serie .

Los niveles de CD4, como indicadores de la situación inmunológica, se han considerado factores de riesgo clásico para la aparición de NIA- Se ha demostrado que la prevalencia y el riesgo relativo de NIA en varones VIH+ aumenta al disminuir el recuento de CD4(17, 19, 66, 139), y se considera que los pacientes con CD4 <200 presentan un riesgo doble con respecto a los casos con CD4> 500 de presentar displasia anal(17). En todo caso, estos trabajos mencionados son más antiguos (1997-98) y probablemente recogen pacientes con recuentos más bajos de CD4 (sin reconstitución inmune en muchos casos) que las cohortes más actuales, en las que los pacientes presentan una situación basal mucho mejor en conjunto (CD4 superiores a 400 en casi todas las series) y por lo que es más difícil establecer diferencias con significación estadística. Los trabajos publicados en los últimos años han confirmado la asociación, pero casi siempre de forma más débil y sin significación estadística. Como ejemplo debe citarse la cohorte de Bean (2010)(161), y el estudio de Palefsky y Holly(20), con datos similares a nuestra serie. En la serie de Rosa-Cunha y cols., el recuento bajo de CD4 es el único factor de riesgo para el desarrollo de NIA y NIA-AG(79).

En nuestros resultados, observamos que los CD4 medios y los CD4 nadir son más bajos en los pacientes con NIA. Este dato parece ser importante como marcador de riesgo de NIA, ya que reflejaría la severidad de la inmunodepresión crónica previa del paciente. Su importancia ha sido ya comentada por Chin-Hong(48). En la cohorte de Wilkin (2004) (150), también se encontró correlación entre la presencia de NIA de cualquier grado y CD4 nadir bajo. Este dato podría reflejar la relación entre el deterioro inmunológico basal severo (reflejado en CD4 nadir) y el riesgo aumentado para displasia anal.

Queremos concluir afirmando que el diagnóstico precoz y tratamiento del carcinoma anal y sus lesiones precursoras en pacientes VIH+ debe incluirse de forma sistemática en los procedimientos de seguimiento clínico, en el marco de las unidades clínicas especializadas de carácter multidisciplinario. Los dermatólogos encargados del seguimiento de poblaciones de

riesgo se encuentran en posición de privilegio para iniciar el cribado de la NIA perianal y de canal anal. Reiteramos que esta actitud de intervención activa ofrece una oportunidad para abordar precozmente una patología asociada a múltiples secuelas orgánicas y funcionales, y que siempre conlleva un gran impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes afectados.

## 6. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de NIA de cualquier grado en nuestra cohorte fue del 58%, destacando que el 72% de ellas correspondían a Alto Grado. La prevalencia varió en función del criterio de inclusión en el estudio, pasando desde un 36% en los biopsiados por criterio exclusivamente virológico hasta el 72% en los pacientes biopsiados por criterios citológicos y virológicos.
2. El único factor predictivo para la presencia de NIA fue el antecedente de condilomas acuminados. El haberlos presentado multiplicó por tres la probabilidad de NIA.
3. En nuestra cohorte, no tuvieron valor predictivo ni las variables demográficas, hábitos o antecedentes sexuales, ni las relacionadas con la infección VIH ni tampoco la detección de VPH 16.
4. La citología fue patológica en el 37.4% de los pacientes. Debe destacarse que el 7.4% de la cohorte presentó displasia de alto grado.
5. La prevalencia de infección anal por VPH fue del: 89% para algún genotipo, 81% para genotipo de alto riesgo, y 37% para el VPH 16. En los pacientes homosexuales, estas prevalencias fueron mayores que en los heterosexuales. Los pacientes estaban infectados por múltiples genotipos (media de 3), siendo el más común el VPH 16.
6. La citología anal como prueba de cribado para detección de NIA y NIA de Alto Grado mostró una sensibilidad del 83% y 84%, y una especificidad del 41% y 36%, respectivamente.
7. La sensibilidad de la detección de VPH-AR fue del 98% tanto para cualquier tipo de NIA, como para NIA de Alto Grado. Su especificidad fue muy baja, del 11% y 9%, respectivamente.
8. La sensibilidad de VPH 16 fue del 55% y 51%, tanto para cualquier tipo de NIA, como para NIA de Alto Grado. Su especificidad fue del 38% y 48%, respectivamente.
9. La sensibilidad de la Anoscopia de Alto Grado para la detección de NIA de cualquier tipo y NIA de Alto Grado fue del 96% y 97%, y su especificidad del 58% y 48% y respectivamente.
10. La realización conjunta de citología y determinación de VPH 16 mostró una sensibilidad del 94% para la detección de NIA, por ello proponemos esta aproximación como estrategia de cribado más eficaz.

# 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Frisch M, Glimelius B, van den Brule AJ, Wohlfahrt J, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. *N Engl J Med*. 1997;337(19):1350-8.
2. Myerson RJ, Karnell LH, Menck HR. The National Cancer Data Base report on carcinoma of the anus. *Cancer*. 1997;80(4):805-15.
3. Klotz RG, Pamukcoglu T, Souillard DH. Transitional cloacogenic carcinoma of the anal canal. Clinicopathologic study of three hundred seventy-three cases. *Cancer*. 1967;20(10):1727-45.
4. American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 7th, Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al (Eds), Springer, New York 2010.p.165.
5. Garrett K, Kalady MF. Anal neoplasms. *Surg Clin North Am*. 2010;90(1):147-61, Table of Contents.
6. Klas JV, Rothenberger DA, Wong WD, Madoff RD. Malignant tumors of the anal canal: the spectrum of disease, treatment, and outcomes. *Cancer*. 1999;85(8):1686-93.
7. Flam M, John M, Pajak TF, Petrelli N, Myerson R, Doggett S, et al. Role of mitomycin in combination with fluorouracil and radiotherapy, and of salvage chemoradiation in the definitive nonsurgical treatment of epidermoid carcinoma of the anal canal: results of a phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol*. 1996;14(9):2527-39.
8. Glynne-Jones R, Northover J, Oliveira J, Group EGW. Anal cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2009;20 Suppl 4:57-60.
9. Gordon PH. Current status--perianal and anal canal neoplasms. *Dis Colon Rectum*. 1990;33(9):799-808.
10. American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 7th, Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al(Eds), Springer, New York 2010. p.301.
11. Henquet CJ. Anogenital malignancies and pre-malignancies. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25(8):885-95.
12. Fenger C, Nielsen VT. Dysplastic changes in the anal canal epithelium in minor surgical specimens. *Acta Pathol Microbiol Scand A*. 1981;89(6):463-5.
13. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine*. 2006;24 Suppl 3:S3/42-51.
14. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(8):550-60.
15. Devaraj B, Cosman BC. Expectant management of anal squamous dysplasia in patients with HIV. *Dis Colon Rectum*. 2006;49(1):36-40.

16. Watson AJ, Smith BB, Whitehead MR, Sykes PH, Frizelle FA. Malignant progression of anal intra-epithelial neoplasia. *ANZ J Surg.* 2006;76(8):715-7.
17. Palefsky JM, Holly EA, Hogeboom CJ, Ralston ML, DaCosta MM, Botts R, et al. 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;17(4):314-9.
18. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Jay N, Berry JM, Darragh TM. High incidence of anal high-grade squamous intra-epithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men. *AIDS.* 1998;12(5):495-503.
19. Critchlow CW, Surawicz CM, Holmes KK, Kuypers J, Daling JR, Hawes SE, et al. Prospective study of high grade anal squamous intraepithelial neoplasia in a cohort of homosexual men: influence of HIV infection, immunosuppression and human papillomavirus infection. *AIDS.* 1995;9(11):1255-62.
20. Palefsky JM, Holly EA, Efirde JT, Da Costa M, Jay N, Berry JM, et al. Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. *AIDS.* 2005;19(13):1407-14.
21. Scholefield JH, Castle MT, Watson NF. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg.* 2005;92(9):1133-6.
22. Marfing TE, Abel ME, Gallagher DM. Perianal Bowen's disease and associated malignancies. Results of a survey. *Dis Colon Rectum.* 1987;30(10):782-5.
23. Cleary RK, Schaldenbrand JD, Fowler JJ, Schuler JM, Lampman RM. Perianal Bowen's disease and anal intraepithelial neoplasia: review of the literature. *Dis Colon Rectum.* 1999;42(7):945-51.
24. Fagan SP, Bellows CF, Albo D, Rodriguez-Barradas M, Feanny M, Awad SS, et al. Length of human immunodeficiency virus disease and not immune status is a risk factor for development of anal carcinoma. *Am J Surg.* 2005;190(5):732-5.
25. Varnai AD, Bollmann M, Griefingholt H, Speich N, Schmitt C, Bollmann R, et al. HPV in anal squamous cell carcinoma and anal intraepithelial neoplasia (AIN). Impact of HPV analysis of anal lesions on diagnosis and prognosis. *Int J Colorectal Dis.* 2006;21(2):135-42.
26. Frisch M. On the etiology of anal squamous carcinoma. *Dan Med Bull.* 2002;49(3):194-209.
27. Robinson D, Coupland V, Møller H. An analysis of temporal and generational trends in the incidence of anal and other HPV-related cancers in Southeast England. *Br J Cancer.* 2009;100(3):527-31.
28. Johnson LG, Madeleine MM, Newcomer LM, Schwartz SM, Daling JR. Anal cancer incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results experience, 1973-2000. *Cancer.* 2004;101(2):281-8.

29. National Cancer Institute, Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER9 Cancer Stats Fact Sheets.
30. Melbye M, Rabkin C, Frisch M, Biggar RJ. Changing patterns of anal cancer incidence in the United States, 1940-1989. *Am J Epidemiol.* 1994;139(8):772-80.
31. Palefsky J. Human papillomavirus and anal neoplasia. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2008;5(2):78-85.
32. Cress RD, Holly EA. Incidence of anal cancer in California: increased incidence among men in San Francisco, 1973-1999. *Prev Med.* 2003;36(5):555-60.
33. Diamond C, Taylor TH, Aboumradi T, Bringman D, Anton-Culver H. Increased incidence of squamous cell anal cancer among men with AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy. *Sex Transm Dis.* 2005;32(5):314-20.
34. Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(18):1500-10.
35. Kline RJ, Spencer RJ, Harrison EG. Carcinoma associated with fistula-in-ano. *Arch Surg.* 1964;89:989-94.
36. Buckwalter JA, Jurayj MN. Relationship of chronic anorectal disease to carcinoma. *Ama Arch Surg.* 1957;75(3):352-60; discussion 60-1.
37. Slater G, Greenstein A, Aufses AH. Anal carcinoma in patients with Crohn's disease. *Ann Surg.* 1984;199(3):348-50.
38. Daly JJ, Madrazo A. Anal Crohn's disease with carcinoma in situ. *Dig Dis Sci.* 1980;25(6):464-6.
39. 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;81(22):1726-31.
40. Frisch M, Olsen JH, Bautz A, Melbye M. Benign anal lesions and the risk of anal cancer. *N Engl J Med.* 1994;331(5):300-2.
41. Frisch M, Johansen C. Anal carcinoma in inflammatory bowel disease. *Br J Cancer.* 2000;83(1):89-90.
42. Sobhani I, Vuagnat A, Walker F, Vissuzaine C, Mirin B, Hervatin F, et al. Prevalence of high-grade dysplasia and cancer in the anal canal in human papillomavirus-infected individuals. *Gastroenterology.* 2001;120(4):857-66.
43. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004;324(1):17-27.
44. Nielson CM, Harris RB, Dunne EF, Abrahamsen M, Papenfuss MR, Flores R, et al. Risk factors for anogenital human papillomavirus infection in men. *J Infect Dis.* 2007;196(8):1137-45.

45. Nyitray A, Nielson CM, Harris RB, Flores R, Abrahamsen M, Dunne EF, et al. Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection in heterosexual men. *J Infect Dis.* 2008;197(12):1676-84.
46. Hessol NA, Holly EA, Efird JT, Minkoff H, Schowalter K, Darragh TM, et al. Anal intraepithelial neoplasia in a multisite study of HIV-infected and high-risk HIV-uninfected women. *AIDS.* 2009;23(1):59-70.
47. JM P. Perspectives: anal cancer in HIV infection. *Topics HIV Med.* 2000;8:14-7.
48. Chin-Hong PV, Berry JM, Cheng SC, Catania JA, Da Costa M, Darragh TM, et al. Comparison of patient- and clinician-collected anal cytology samples to screen for human papillomavirus-associated anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men. *Ann Intern Med.* 2008;149(5):300-6.
49. Torres M GC, Del-Romero J, Viciano P, Gutierrez F, Hernández-Novoa B, Blanco JR, CoRIS - HPV Study Group, Ortiz M. Anal HPV genotype distribution in HIV-positive MSM by cytological status. Paper presented at: 27th International Papillomavirus Conference and Clinical Workshop. 2011 Sept 17-22 Berlin, Germany.
50. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998;338(7):423-8.
51. Northfelt DW, Swift PS, Palefsky JM. Anal neoplasia. Pathogenesis, diagnosis, and management. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996;10(5):1177-87.
52. Palefsky J. Human papillomavirus infection in HIV-infected persons. *Top HIV Med.* 2007;15(4):130-3.
53. Chin-Hong PV, Vittinghoff E, Cranston RD, Buchbinder S, Cohen D, Colfax G, et al. Age-Specific prevalence of anal human papillomavirus infection in HIV-negative sexually active men who have sex with men: the EXPLORE study. *J Infect Dis.* 2004;190(12):2070-6.
54. Chaturvedi AK. Beyond cervical cancer: burden of other HPV-related cancers among men and women. *J Adolesc Health.* 2010;46(4 Suppl):S20-6.
55. Peters RK, Mack TM, Bernstein L. Parallels in the epidemiology of selected anogenital carcinomas. *J Natl Cancer Inst.* 1984;72(3):609-15.
56. Rabkin CS, Biggar RJ, Melbye M, Curtis RE. Second primary cancers following anal and cervical carcinoma: evidence of shared etiologic factors. *Am J Epidemiol.* 1992;136(1):54-8.
57. Joseph DA, Miller JW, Wu X, Chen VW, Morris CR, Goodman MT, et al. Understanding the burden of human papillomavirus-associated anal cancers in the US. *Cancer.* 2008;113(10 Suppl):2892-900.
58. Zaki SR, Judd R, Coffield LM, Greer P, Rolston F, Evatt BL. Human papillomavirus infection and anal carcinoma. Retrospective analysis by in situ hybridization and the polymerase chain reaction. *Am J Pathol.* 1992;140(6):1345-55.

59. Daling JR, Weiss NS, Hislop TG, Maden C, Coates RJ, Sherman KJ, et al. Sexual practices, sexually transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. *N Engl J Med*. 1987;317(16):973-7.
60. Melbye M, Coté TR, Kessler L, Gail M, Biggar RJ. High incidence of anal cancer among AIDS patients. The AIDS/Cancer Working Group. *Lancet*. 1994;343(8898):636-9.
61. Penn I. Incidence and treatment of neoplasia after transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 1993;12(6 Pt 2):S328-36.
62. Penn I. Cancers of the anogenital region in renal transplant recipients. Analysis of 65 cases. *Cancer*. 1986;58(3):611-6.
63. Arends MJ, Benton EC, McLaren KM, Stark LA, Hunter JA, Bird CC. Renal allograft recipients with high susceptibility to cutaneous malignancy have an increased prevalence of human papillomavirus DNA in skin tumours and a greater risk of anogenital malignancy. *Br J Cancer*. 1997;75(5):722-8.
64. Sood AK. Cigarette smoking and cervical cancer: meta-analysis and critical review of recent studies. *Am J Prev Med*. 1991;7(4):208-13.
65. Frazer IH, Medley G, Crapper RM, Brown TC, Mackay IR. Association between anorectal dysplasia, human papillomavirus, and human immunodeficiency virus infection in homosexual men. *Lancet*. 1986;2(8508):657-60.
66. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Arthur SP, Jay N, Berry JM, et al. Anal squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative homosexual and bisexual men: prevalence and risk factors. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998;17(4):320-6.
67. Caussy D, Goedert JJ, Palefsky J, Gonzales J, Rabkin CS, DiGioia RA, et al. Interaction of human immunodeficiency and papilloma viruses: association with anal epithelial abnormality in homosexual men. *Int J Cancer*. 1990;46(2):214-9.
68. Kiviat N, Rompalo A, Bowden R, Galloway D, Holmes KK, Corey L, et al. Anal human papillomavirus infection among human immunodeficiency virus-seropositive and -seronegative men. *J Infect Dis*. 1990;162(2):358-61.
69. 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;83(2):205-11.
70. Chin-Hong PV, Husnik M, Cranston RD, Colfax G, Buchbinder S, Da Costa M, et al. Anal human papillomavirus infection is associated with HIV acquisition in men who have sex with men. *AIDS*. 2009;23(9):1135-42.
71. Patel P, Hanson DL, Sullivan PS, Novak RM, Moorman AC, Tong TC, et al. Incidence of types of cancer among HIV-infected persons compared with the general population in the United States, 1992-2003. *Ann Intern Med*. 2008;148(10):728-36.

72. Engels EA, Pfeiffer RM, Goedert JJ, Virgo P, McNeel TS, Scoppa SM, et al. Trends in cancer risk among people with AIDS in the United States 1980-2002. *AIDS*. 2006;20(12):1645-54.
73. Crum-Cianflone N, Hullsiek KH, Marconi V, Weintrob A, Ganesan A, Barthel RV, et al. Trends in the incidence of cancers among HIV-infected persons and the impact of antiretroviral therapy: a 20-year cohort study. *AIDS*. 2009;23(1):41-50.
74. Goedert JJ, Coté TR, Virgo P, Scoppa SM, Kingma DW, Gail MH, et al. Spectrum of AIDS-associated malignant disorders. *Lancet*. 1998;351(9119):1833-9.
75. D'Souza G, Wiley DJ, Li X, Chmiel JS, Margolick JB, Cranston RD, et al. Incidence and epidemiology of anal cancer in the multicenter AIDS cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;48(4):491-9.
76. Piketty C, Darragh TM, Da Costa M, Bruneval P, Heard I, Kazatchkine MD, et al. High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. *Ann Intern Med*. 2003;138(6):453-9.
77. Bower M, Powles T, Newsom-Davis T, Thirlwell C, Stebbing J, Mandalia S, et al. HIV-associated anal cancer: has highly active antiretroviral therapy reduced the incidence or improved the outcome? *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;37(5):1563-5.
78. Scott H, Khoury J, Moore BA, Weissman S. Routine anal cytology screening for anal squamous intraepithelial lesions in an urban HIV clinic. *Sex Transm Dis*. 2008;35(2):197-202.
79. Rosa-Cunha I, Degennaro VA, Hartmann R, Milikowski C, Irizarry A, Heitman B, et al. Description of a Pilot Anal Pap Smear Screening Program Among Individuals Attending a Veteran's Affairs HIV Clinic. *AIDS Patient Care STDS*. 2011;25(4):213-9.
80. Chiao EY, Krown SE, Stier EA, Schrag D. A population-based analysis of temporal trends in the incidence of squamous anal canal cancer in relation to the HIV epidemic. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;40(4):451-5.
81. Panther LA, Schlecht HP, Dezube BJ. Spectrum of human papillomavirus-related dysplasia and carcinoma of the anus in HIV-infected patients. *AIDS Read*. 2005;15(2):79-82, 5-6, 8, 91.
82. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998;338(13):853-60.
83. Mocroft A, Sabin CA, Youle M, Madge S, Tyrer M, Devereux H, et al. Changes in AIDS-defining illnesses in a London Clinic, 1987-1998. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1999;21(5):401-7.
84. Chaturvedi AK, Madeleine MM, Biggar RJ, Engels EA. Risk of human papillomavirus-associated cancers among persons with AIDS. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(16):1120-30.

85. Piketty C, Selinger-Leneman H, Grabar S, Duvivier C, Bonmarchand M, Abramowitz L, et al. Marked increase in the incidence of invasive anal cancer among HIV-infected patients despite treatment with combination antiretroviral therapy. *AIDS*. 2008;22(10):1203-11.
86. Chiao EY, Giordano TP, Richardson P, El-Serag HB. Human immunodeficiency virus-associated squamous cell cancer of the anus: epidemiology and outcomes in the highly active antiretroviral therapy era. *J Clin Oncol*. 2008;26(3):474-9.
87. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Da Costa M, Bonner H, Jay N, et al. Effect of highly active antiretroviral therapy on the natural history of anal squamous intraepithelial lesions and anal human papillomavirus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001;28(5):422-8.
88. 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;177(2):361-7.
89. Drobacheff C, Dupont P, Mougin C, Bourezane Y, Challier B, Fantoli M, et al. Anal human papillomavirus DNA screening by Hybrid Capture II in human immunodeficiency virus-positive patients with or without anal intercourse. *Eur J Dermatol*. 2003;13(4):367-71.
90. Chin-Hong PV, Palefsky JM. Natural history and clinical management of anal human papillomavirus disease in men and women infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 2002;35(9):1127-34.
91. Frisch M, Biggar RJ, Engels EA, Goedert JJ, Group A-CMRS. Association of cancer with AIDS-related immunosuppression in adults. *JAMA*. 2001;285(13):1736-45.
92. Haga T, Kim SH, Jensen RH, Darragh T, Palefsky JM. Detection of genetic changes in anal intraepithelial neoplasia (AIN) of HIV-positive and HIV-negative men. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001;26(3):256-62.
93. Arany I, Muldrow M, Tyring SK. Correlation between mRNA levels of IL-6 and TNF alpha and progression rate in anal squamous epithelial lesions from HIV-positive men. *Anticancer Res*. 2001;21(1A):425-8.
94. Arany I, Muldrow M, Tyring SK. The endogenous interferon system in anal squamous epithelial lesions with different grades from HIV-positive individuals. *Int J STD AIDS*. 2001;12(4):229-33.
95. Ryan DP, Mayer RJ. Anal carcinoma: histology, staging, epidemiology, treatment. *Curr Opin Oncol*. 2000;12(4):345-52.
96. Robb BW, Mutch MG. Epidermoid carcinoma of the anal canal. *Clin Colon Rectal Surg*. 2006;19(2):54-60.
97. Welton ML, Sharkey FE, Kahlenberg MS. The etiology and epidemiology of anal cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2004;13(2):263-75.

98. Kreuter A, Brockmeyer NH, Hochdorfer B, Weissenborn SJ, Stücker M, Swoboda J, et al. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52(4):603-8.
99. Palefsky JM. Anal human papillomavirus infection and anal cancer in HIV-positive individuals: an emerging problem. *AIDS.* 1994;8(3):283-95.
100. Beck DE, Fazio VW, Jagelman DG, Lavery IC. Perianal Bowen's disease. *Dis Colon Rectum.* 1988;31(6):419-22.
101. Degener AM, Laino L, Pierangeli A, Accappaticcio G, Innocenzi D, Pala S. Human papillomavirus-32-positive extragenital Bowenoid papulosis (BP) in a HIV patient with typical genital BP localization. *Sex Transm Dis.* 2004;31(10):619-22.
102. Stafford EM, Greenberg H, Miles PA. Cervical intraepithelial neoplasia III in an adolescent with Bowenoid papulosis. *J Adolesc Health Care.* 1990;11(6):523-6.
103. Rüdinger R, Buchmann P. HPV 16-positive bowenoid papulosis and squamous-cell carcinoma of the anus in an HIV-positive man. *Dis Colon Rectum.* 1989;32(12):1042-5.
104. Ranu H, Lee J, Chio M, Sen P. Tumour-like presentations of anogenital herpes simplex in HIV-positive patients. *Int J STD AIDS.* 2011;22(4):181-6.
105. Abramowitz L, Benabderrahmane D, Baron G, Walker F, Yeni P, Duval X. Systematic evaluation and description of anal pathology in HIV-infected patients during the HAART era. *Dis Colon Rectum.* 2009;52(6):1130-6.
106. Pitts MK, Fox C, Willis J, Anderson J. What do gay men know about human papillomavirus? Australian gay men's knowledge and experience of anal cancer screening and human papillomavirus. *Sex Transm Dis.* 2007;34(3):170-3.
107. Berry JM, Palefsky JM, Welton ML. Anal cancer and its precursors in HIV-positive patients: perspectives and management. *Surg Oncol Clin N Am.* 2004;13(2):355-73.
108. Kim JH, Sarani B, Orkin BA, Young HA, White J, Tannebaum I, et al. HIV-positive patients with anal carcinoma have poorer treatment tolerance and outcome than HIV-negative patients. *Dis Colon Rectum.* 2001;44(10):1496-502.
109. Oehler-Jänne C, Huguet F, Provencher S, Seifert B, Negretti L, Riener MO, et al. HIV-specific differences in outcome of squamous cell carcinoma of the anal canal: a multicentric cohort study of HIV-positive patients receiving highly active antiretroviral therapy. *J Clin Oncol.* 2008;26(15):2550-7.
110. Wright TC, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Van Devanter N, Sun XW. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus: prevalence, risk factors, and validity of Papanicolaou smears. *New York Cervical Disease Study. Obstet Gynecol.* 1994;84(4):591-7.

111. Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Sun XW, Sawo D, Brudney K, et al. Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. *JAMA*. 2000;283(8):1031-7.
112. Moscicki AB, Ellenberg JH, Crowley-Nowick P, Darragh TM, Xu J, Fahrat S. Risk of high-grade squamous intraepithelial lesion in HIV-infected adolescents. *J Infect Dis*. 2004;190(8):1413-21.
113. Strickler HD, Burk RD, Fazzari M, Anastos K, Minkoff H, Massad LS, et al. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(8):577-86.
114. Robinson WR, Freeman D. Improved outcome of cervical neoplasia in HIV-infected women in the era of highly active antiretroviral therapy. *AIDS Patient Care STDS*. 2002;16(2):61-5.
115. Robinson WR, Hamilton CA, Michaels SH, Kissinger P. Effect of excisional therapy and highly active antiretroviral therapy on cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184(4):538-43.
116. Soncini E, Zoncada A, Condemi V, Antoni AD, Bocchialini E, Soregotti P. Reduction of the risk of cervical intraepithelial neoplasia in HIV-infected women treated with highly active antiretroviral therapy. *Acta Biomed*. 2007;78(1):36-40.
117. Heard I, Palefsky JM, Kazatchkine MD. The impact of HIV antiviral therapy on human papillomavirus (HPV) infections and HPV-related diseases. *Antivir Ther*. 2004;9(1):13-22.
118. Massad LS, Evans CT, Strickler HD, Burk RD, Watts DH, Cashin L, et al. Outcome after negative colposcopy among human immunodeficiency virus-infected women with borderline cytologic abnormalities. *Obstet Gynecol*. 2005;106(3):525-32.
119. Anderson JR, Paramsothy P, Heilig C, Jamieson DJ, Shah K, Duerr A, et al. Accuracy of Papanicolaou test among HIV-infected women. *Clin Infect Dis*. 2006;42(4):562-8.
120. Bulletins--Gynecology ACoP. ACOG Practice Bulletin No. 117: Gynecologic care for women with human immunodeficiency virus. *Obstet Gynecol*. 2010;116(6):1492-509.
121. Goldie SJ, Weinstein MC, Kuntz KM, Freedberg KA. The costs, clinical benefits, and cost-effectiveness of screening for cervical cancer in HIV-infected women. *Ann Intern Med*. 1999;130(2):97-107.
122. Mathews C, Caperna J, Cachay ER, Cosman B. Early impact and performance characteristics of an established anal dysplasia screening program: program evaluation considerations. *Open AIDS J*. 2007;1:11-20.
123. Jay N, Berry JM, Hogeboom CJ, Holly EA, Darragh TM, Palefsky JM. Colposcopic appearance of anal squamous intraepithelial lesions: relationship to histopathology. *Dis Colon Rectum*. 1997;40(8):919-28.

124. solomon D NR, editor. The Bethesda system for reporting cervical cytology definitions, criteria and explanatory notes. New York: springer; 2004.
125. Bean SM, Chhieng DC. Anal-rectal cytology: a review. *Diagn Cytopathol*. 2010;38(7):538-46.
126. Fox PA, Seet JE, Stebbing J, Francis N, Barton SE, Strauss S, et al. 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;81(2):142-6.
127. Vajdic CM, Anderson JS, Hillman RJ, Medley G, Grulich AE. Blind sampling is superior to anoscope guided sampling for screening for anal intraepithelial neoplasia. *Sex Transm Infect*. 2005;81(5):415-8.
128. Walker P, Dexeus S, De Palo G, Barrasso R, Campion M, Girardi F, et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol*. 2003;101(1):175-7.
129. Anderson J, Hoy J, Hillman R, Gittleson C, Hartel G, Medley G, et al. Abnormal anal cytology in high-risk human papilloma virus infection in HIV-infected Australians. *Sex Transm Infect*. 2008;84(2):94-6.
130. Berry JM, Palefsky JM, Jay N, Cheng SC, Darragh TM, Chin-Hong PV. Performance characteristics of anal cytology and human papillomavirus testing in patients with high-resolution anoscopy-guided biopsy of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Dis Colon Rectum*. 2009;52(2):239-47.
131. Salit IE, Lytwyn A, Raboud J, Sano M, Chong S, Diong C, et al. The role of cytology (Pap tests) and human papillomavirus testing in anal cancer screening. *AIDS*. 2010;24(9):1307-13.
132. Arain S, Walts AE, Thomas P, Bose S. The Anal Pap Smear: Cytomorphology of squamous intraepithelial lesions. *Cytojournal*. 2005;2(1):4.
133. Cranston RD, Hart SD, Gornbein JA, Hirschowitz SL, Cortina G, Moe AA. The prevalence, and predictive value, of abnormal anal cytology to diagnose anal dysplasia in a population of HIV-positive men who have sex with men. *Int J STD AIDS*. 2007;18(2):77-80.
134. Mathews WC, Sitapati A, Caperna JC, Barber RE, Tugend A, Go U. Measurement characteristics of anal cytology, histopathology, and high-resolution anoscopy visual impression in an anal dysplasia screening program. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;37(5):1610-5.
135. Madrid RdMCdICd. Varicela. Período analizado: Año 2010, semanas 22 a 25 (del 30 de mayo a 26 de junio de 2010). *Boletín Epidemiológico de la Comunidad de Madrid*. 2010 jun 16;16(6):1-51.
136. New York State Department of Public Health AIDS Institute. Clinical Guidelines: Neoplastic complications of HIV infection; Section V- Anal dysplasia and cancer.

<http://www.hivguidelines.org/clinical-guidelines/adults/neoplastic-complications-of-hiv-infection/> - V.Anal dysplasia and cancer. Accessed September 25,2010. 2010.

137. Truesdale MD, Goldstone SE. The fear factor: drivers and barriers to follow-up screening for human papillomavirus-related anal cancer in men who have sex with men. *Int J STD AIDS*. 2010;21(7):482-8.
138. Tinmouth J, Raboud J, Ali M, Malloch L, Su D, Sano M, et al. The psychological impact of being screened for anal cancer in HIV-infected men who have sex with men. *Dis Colon Rectum*. 2011;54(3):352-9.
139. 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;14(5):415-22.
140. Hoots BE, Palefsky JM, Pimenta JM, Smith JS. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. *Int J Cancer*. 2009;124(10):2375-83.
141. Swedish KA, Lee EQ, Goldstone SE. The changing picture of high-grade anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men: the effects of 10 years of experience performing high-resolution anoscopy. *Dis Colon Rectum*. 2011;54(8):1003-7.
142. Nahas CS, da Silva Filho EV, Segurado AA, Genevcus RF, Gerhard R, Gutierrez EB, et al. Screening anal dysplasia in HIV-infected patients: is there an agreement between anal pap smear and high-resolution anoscopy-guided biopsy? *Dis Colon Rectum*. 2009;52(11):1854-60.
143. Abramowitz L, Benabderrahmane D, Ravaud P, Walker F, Rioux C, Jestin C, et al. Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV-infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. *AIDS*. 2007;21(11):1457-65.
144. Goldstone SE, Winkler B, Ufford LJ, Alt E, Palefsky JM. High prevalence of anal squamous intraepithelial lesions and squamous-cell carcinoma in men who have sex with men as seen in a surgical practice. *Dis Colon Rectum*. 2001;44(5):690-8.
145. Giacaman P, Martínez MJ, Chnaiderman J, Ampuero S, Santander E, Ramis C, et al. No clinical predictors of intraepithelial neoplasia in HIV-positive patients with external condilomata acuminata. *Indian J Sex Transm Dis*. 2011;32(1):30-3.
146. Papaconstantinou HT, Lee AJ, Simmang CL, Ashfaq R, Gokaslan ST, Sokol S, et al. Screening methods for high-grade dysplasia in patients with anal condyloma. *J Surg Res*. 2005;127(1):8-13.
147. Chin-Hong PV, Vittinghoff E, Cranston RD, Browne L, Buchbinder S, Colfax G, et al. Age-related prevalence of anal cancer precursors in homosexual men: the EXPLORE study. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(12):896-905.
148. Nathan M, Singh N, Garrett N, Hickey N, Prevost T, Sheaff M. Performance of anal cytology in a clinical setting when measured against histology and high-resolution anoscopy findings. *AIDS*. 2010;24(3):373-9.

149. Del Amo J GC, Geskus R, Torres M, Del Romero J, Viciano P, Hernández-Novoa B, Masiá M, Ortiz M and CoRIS HPV. What drives the number of high risk human papillomavirus types in the anus in HIV-positive men who have sex with men? 2011.
150. Wilkin TJ, Palmer S, Brudney KF, Chiasson MA, Wright TC. Anal intraepithelial neoplasia in heterosexual and homosexual HIV-positive men with access to antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2004;190(9):1685-91.
151. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. *Int J Cancer.* 2009;124(7):1626-36.
152. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer.* 2007;121(3):621-32.
153. Clifford G, Franceschi S. Members of the human papillomavirus type 18 family (alpha-7 species) share a common association with adenocarcinoma of the cervix. *Int J Cancer.* 2008;122(7):1684-5.
154. Strickler HD, Palefsky JM, Shah KV, Anastos K, Klein RS, Minkoff H, et al. Human papillomavirus type 16 and immune status in human immunodeficiency virus-seropositive women. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(14):1062-71.
155. de Ruiter A, Carter P, Katz DR, Kocjan G, Whatrup C, Northover J, et al. A comparison between cytology and histology to detect anal intraepithelial neoplasia. *Genitourin Med.* 1994;70(1):22-5.
156. Panther LA, Wagner K, Proper J, Fugelso DK, Chatis PA, Weeden W, et al. 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;38(10):1490-2.
157. Friedlander MA, Stier E, Lin O. Anorectal cytology as a screening tool for anal squamous lesions: cytologic, anoscopic, and histologic correlation. *Cancer.* 2004;102(1):19-26.
158. Velasco J, Palacio V, Vazquez S, Mosquera C, Sampedro A. Diagnostic accuracy of the cytologic diagnosis of anal human papillomavirus infection compared with DNA hybridization studies. *Sex Transm Dis.* 1993;20(3):147-51.
159. Lacey HB, Wilson GE, Tilston P, Wilkins EG, Bailey AS, Corbitt G, et al. A study of anal intraepithelial neoplasia in HIV positive homosexual men. *Sex Transm Infect.* 1999;75(3):172-7.
160. Nadal SR, Calore EE, Nadal LR, Horta SH, Manzione CR. [Anal cytology for screening of pre-neoplastic lesions]. *Rev Assoc Med Bras.* 2007;53(2):147-51.

161. Bean SM, Chhieng DC, Roberson J, Raper JL, Broker TR, Hoesley CJ, et al. Anal-rectal cytology: correlation with human papillomavirus status and biopsy diagnoses in a population of HIV-positive patients. *J Low Genit Tract Dis.* 2010;14(2):90-6.
162. Colquhoun P, Nogueras JJ, Dipasquale B, Petras R, Wexner SD, Woodhouse S. Interobserver and intraobserver bias exists in the interpretation of anal dysplasia. *Dis Colon Rectum.* 2003;46(10):1332-6; discussion 6-8.
163. Cranston RD, Darragh TM, Holly EA, Jay N, Berry JM, Da Costa M, et al. Self-collected versus clinician-collected anal cytology specimens to diagnose anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;36(4):915-20.
164. Zhao C, Domfeh AB, Austin RM. Histopathologic outcomes and clinical correlations for high-risk patients screened with anal cytology. *Acta Cytol.* 2012;56(1):62-7.
165. Park IU, Palefsky JM. Evaluation and Management of Anal Intraepithelial Neoplasia in HIV-Negative and HIV-Positive Men Who Have Sex with Men. *Curr Infect Dis Rep.* 2010;12(2):126-33.
166. Kjær SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T. Long-term absolute risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse following human papillomavirus infection: role of persistence. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102(19):1478-88.
167. Harris TG, Burk RD, Palefsky JM, Massad LS, Bang JY, Anastos K, et al. Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions associated with HIV serostatus, CD4 cell counts, and human papillomavirus test results. *JAMA.* 2005;293(12):1471-6.
168. Cohn JA, Gagnon S, Spence MR, Harrison DD, Kluzak TR, Langenberg P, et al. The role of human papillomavirus deoxyribonucleic acid assay and repeated cervical cytologic examination in the detection of cervical intraepithelial neoplasia among human immunodeficiency virus-infected women. Cervical Disease Study Group of the American Foundation for AIDS Research Community Based Clinical Trials Network. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184(3):322-30.
169. McKenzie ND, Kobetz EN, Hnatyszyn J, Twigg LB, Lucci JA. Women with HIV are more commonly infected with non-16 and -18 high-risk HPV types. *Gynecol Oncol.* 2010;116(3):572-7.
170. Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D, et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis.* 2007;11(4):201-22.
171. Goldstone SE, Kawalek AZ, Goldstone RN, Goldstone AB. Hybrid Capture II detection of oncogenic human papillomavirus: a useful tool when evaluating men who have sex with men with atypical squamous cells of undetermined significance on anal cytology. *Dis Colon Rectum.* 2008;51(7):1130-6.

172. Spitzer M. Screening and management of women and girls with human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol*. 2007;107(2 Suppl 1):S14-8.
173. Goldstone SE, Moshier E. Detection of oncogenic human papillomavirus impacts anal screening guidelines in men who have sex with men. *Dis Colon Rectum*. 2010;53(8):1135-42.
174. Cañadas MP, Darwich L, Sirera G, Cirigliano V, Bofill M, Clotet B, et al. New molecular method for the detection of human papillomavirus type 16 integration. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(7):836-42.
175. Pehoushek J, Smith KJ. Imiquimod and 5% fluorouracil therapy for anal and perianal squamous cell carcinoma in situ in an HIV-1-positive man. *Arch Dermatol*. 2001;137(1):14-6.
176. Abbasakoor F, Boulos PB. Anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg*. 2005;92(3):277-90.
177. Jephcott CR, Paltiel C, Hay J. Quality of life after non-surgical treatment of anal carcinoma: a case control study of long-term survivors. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2004;16(8):530-5.
178. Herat A, Whitfeld M, Hillman R. Anal intraepithelial neoplasia and anal cancer in dermatological practice. *Australas J Dermatol*. 2007;48(3):143-53; quiz 54-5.
179. Chang GJ, Berry JM, Jay N, Palefsky JM, Welton ML. Surgical treatment of high-grade anal squamous intraepithelial lesions: a prospective study. *Dis Colon Rectum*. 2002;45(4):453-8.
180. Geretti AM, Doyle T. Immunization for HIV-positive individuals. *Curr Opin Infect Dis*. 2010;23(1):32-8.
181. (MMWR) MaMWR. FDA Licensure of Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine (HPV4, Gardasil) for Use in Males and Guidance from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. 2010 May; 59(20):[630-2 pp.].
182. Giuliano AR, Palefsky JM, Goldstone S, Moreira ED, Penny ME, Aranda C, et al. Efficacy of quadrivalent HPV vaccine against HPV infection and disease in males. *N Engl J Med*. 2011;364(5):401-11.
183. Karim R, Meyers C, Backendorf C, Ludigs K, Offringa R, van Ommen GJ, et al. Human papillomavirus deregulates the response of a cellular network comprising of chemotactic and proinflammatory genes. *PLoS One*. 2011;6(3):e17848.
184. Anderson JS, Hoy J, Hillman R, Barnden M, Eu B, McKenzie A, et al. A randomized, placebo-controlled, dose-escalation study to determine the safety, tolerability, and immunogenicity of an HPV-16 therapeutic vaccine in HIV-positive participants with oncogenic HPV infection of the anus. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;52(3):371-81.
185. Palefsky JM, Berry JM, Jay N, Krogstad M, Da Costa M, Darragh TM, et al. A trial of SGN-00101 (HspE7) to treat high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive individuals. *AIDS*. 2006;20(8):1151-5.

186. Palefsky JM. Human papillomavirus-associated anogenital neoplasia and other solid tumors in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Curr Opin Oncol.* 1991;3(5):881-5.
187. Abercrombie PD, Korn AP. Lower genital tract neoplasia in women with HIV infection. *Oncology (Williston Park).* 1998;12(12):1735-9; discussion 42, 45, 47.
188. Berry JM JN, Rubin M, Palefsky J. Aspectos sociales de las infecciones por VPH: Establecimiento de un centro de neoplasias anales. *Newsletter on Human Papillomavirus.* 2011;22:4-5.
189. Shalev N, Olender SA, Chiasson MA. Targeted anal cancer screening in HIV-infected patients: prevalence of screening indicators. *AIDS.* 2009;23(12):1613-5.
190. Gimenez F, da Costa-e-Silva IT, Dumas A, de Araújo J, Medeiros SG, Ferreira L. The value of high-resolution anoscopy in the diagnosis of anal cancer precursor lesions in HIV-positive patients. *Arq Gastroenterol.* 2011;48(2):136-45.
191. Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG, Schwartz SM, Shera KA, Wurscher MA, et al. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. *Cancer.* 2004;101(2):270-80.
192. Tseng HF, Morgenstern H, Mack TM, Peters RK. Risk factors for anal cancer: results of a population-based case--control study. *Cancer Causes Control.* 2003;14(9):837-46.
193. Palefsky JM, Holly EA. Chapter 6: Immunosuppression and co-infection with HIV. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003(31):41-6.