

UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



Universidad
Rey Juan Carlos

TESIS DOCTORAL

**Desarrollo de un modelo de detección de lesiones
pre malignas precursoras del carcinoma escamoso del
canal anal**

Autora: Rocío Franco Herrera

Directores: Dr. Jesús Lago Oliver
Dr. Rafael Linares García-Valdecasas

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud
Escuela Internacional de Doctorado

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



Universidad
Rey Juan Carlos

Programa de doctorado en Ciencias de la Salud

D. RAFAEL LINARES GARCÍA-VALDECASAS, Profesor Titular de Anatomía de la Universidad Rey Juan Carlos de Madrid y D. JESÚS LAGO OLIVER, Profesor Asociado de Anatomía de la Universidad Rey Juan Carlos de Madrid

CERTIFICAN:

Que el proyecto de Tesis Doctoral que presenta ROCÍO FRANCO HERRERA titulado “ DESARROLLO DE UN MODELO DE DETECCIÓN DE LESIONES PREMALIGNAS DEL CÁNCER EPIDERMOIDE DEL CANAL ANAL” ha sido realizado bajo la dirección de los Dres. Rafael Linares García-Valdecasas y Jesús Lago Oliver y reúne todos los requisitos científicos y formales exigidos para ser presentado y defendido ante el Tribunal Calificador correspondiente.

Y para que así conste, a los efectos oportunos, se firma el presente certificado:

Dr. Linares García-Valdecasas

Dr. Lago Oliver

*A mis padres,
por dármele todo sin pedirme nunca nada a cambio.*

“La medicina es una ciencia de la incertidumbre y un arte de la probabilidad”

William Osler.

“Cada vez que un médico no puede hacer el bien, debe evitar hacer el daño”

Hipócrates.

“El hombre cree en lo imposible, no en lo improbable”

Oscar Wilde.

1. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría dar las gracias a mis directores de tesis, el Dr. Jesús Lago y el Dr. Linares García-Valdecasas, por su apoyo incondicional durante todo el proceso de este manuscrito. En especial, al Dr. Lago verdadero artífice de este proyecto, amigo y compañero, por acompañarme desde el inicio de mi carrera profesional y darme siempre la mano, alentándome a superarme cada día, a ser mejor profesional y mejor persona, nunca olvidaré toda tu ayuda, te has convertido en mi ejemplo a seguir, gracias.

A todas aquellas personas que se han cruzado en algún momento en mi carrera profesional. Sin cada uno de ellos nunca hubiese conseguido mis metas, cada uno de ellos me ha enseñado algo de un valor incuantificable. A mis adjuntos del Servicio de Cirugía General II del Hospital Universitario Gregorio Marañón de Madrid, por acogerme como mi segunda familia y enseñarme a amar esta profesión con sus luces y sombras. A todos y cada uno de mis compañeros de residencia, mayores y pequeños, por hacer de cada momento que pasamos juntos algo especial y a ti Dra. Cuadrado por acompañarme en todos los momentos de desánimo que acompañan a esta tesis, animarme y ayudarme a creer en mí cuando ni siquiera yo lo hacía.

A mis compañeros del Hospital Universitario Rey Juan Carlos, por compartir cada día momentos duros de trabajo que nos acercan más en el plano personal, sé que puedo contar con cada uno de vosotros. A mi jefe de servicio, el Dr. Durán, por darme la oportunidad de poder seguir creciendo en el terreno profesional.

Al equipo humano de compañeros de otras especialidades, enfermeras, y auxiliares, sin vuestro trabajo y amor por los pacientes nuestra profesión no sería posible.

A mi familia, a quienes todo les debo. A mis padres, María Teresa y José Manuel, los pilares básicos de mi vida, mi motor para seguir y mi refugio para descansar. Sois un ejemplo inmejorable de trabajo y constancia y una fuente inagotable de amor, os quiero. A mi hermana Carolina porque aunque sean nueve los años que nos separan me ha enseñado ella más a mí que yo a ella,

gracias por quererme como soy. A mi abuelos, los que están y los que no están pero nunca se fueron, sois las raíces de lo que soy, gracias a todos y cada uno de vosotros, y a ti en especial.

A mi marido Manuel, por ser un espejo en el que mirarme cada día, te admiro. Gracias por estar a mi lado de manera incondicional.

2. ÍNDICE

0. PORTADA	página 1
1. AGRADECIMIENTOS	página 9
2. ÍNDICE	página 13
3. ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	página 19
4. RESUMEN-SUMMARY	página 23
5.INTRODUCCIÓN	página 33
5.1 NEOPLASIAS ANALES	página 35
5.1.1 Anatomía e histología del canal anal	página 35
a) Anatomía	página 35
b) Histología	página 39
c) Clasificación de las neoplasias de canal anal	página 40
c.1 Cáncer de células escamosas	página 40
c.2 Adenocarcinoma	página 40
c.3 Neoplasias de la piel perianal	página 41
5.1.2 Situación actual del cáncer escamoso de canal anal	página 43

5.1.3 Epidemiología del cáncer escamoso de canal anal y lesiones precursoras	página 46
5.1.4 Historia natural del carcinoma escamoso de canal anal	página 52
5.2 POBLACIÓN DE RIESGO	página 54
5.3 VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO	página 60
5.3.1 Organismo patógeno	página 60
5.3.2 Epidemiología	página 61
5.3.3 Biopatología	página 62
5.3.4 Tipología y manifestaciones clínicas	página 64
5.3.5 VPH y cáncer	página 66
5.3.6 Métodos de detección del virus	página 68
5.3.7 Vacuna del VPH en varones	página 69

5.4 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LESIONES PRENEOPLÁSICAS Y NEOPLASIAS DE CANAL ANAL

página 72

5.4.1 Inspección del margen anal y citología

página 73

5.4.2 Anoscopia de alta resolución y tinciones

página 75

5.4.3 Genotipado VPH de alto riesgo

página 80

5.4.4 Biomarcadores

página 80

5.4.5 Recomendaciones

página 81

6. JUSTIFICACIÓN

página 85

7. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

página 89

8. MATERIAL Y MÉTODOS

página 93

8.1 Tipo de estudio

página 95

8.2 Periodo de estudio

página 95

8.3 Institución donde se realiza el estudio y servicios implicados

página 95

8.4 Criterios de inclusión

página 96

8.5 Criterios de exclusión

página 96

8.6 Protocolo de diagnóstico y seguimiento

página 96

8.7 Variables de estudio

página 98

8.8 Metodología estadística

página 101

9. RESULTADOS	página 105
10. DISCUSIÓN	página 141
11. CONCLUSIONES	página 153
12. BIBLIOGRAFÍA	página 157

3. ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

AAR/ HRA: Anoscopia de Alta Resolución/ High Resolution Anoscopy

ABC/ AUC: Área Bajo la Curva/ Area Under Curve

ADC: Adenocarcinoma

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ARN: Ácido Ribonucleico

ARN-m: Ácido Ribonucleico Mensajero

ASCUS: Atipias en Células Escamosas de Significado Incierto

CCE: Cáncer de Células Escamosas

CIN: Neoplasia Intraepitelial Cervical

FDA: Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos

HSH: Hombres que tienen sexo con hombres

HSIL: Lesiones Escamosas Intraepiteliales de Alto Riesgo

LSIL: Lesiones Escamosas Intraepiteliales de Bajo Riesgo

NIA: Neoplasia Intraepitelial Anal

NIA-BG: Neoplasia Intraepitelial Anal de Bajo Grado

NIA-AG: Neoplasia Intraepitelial Anal de Alto Grado

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

RR: Riesgo Relativo

SIDA: Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida

TARGA: Tratamiento Antiretroviral de Gran Actividad

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

VPH: Virus del Papiloma Humano

VPH-AR: Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo

ZT: Zona de Transición

4. RESUMEN - SUMMARY

INTRODUCCIÓN

El cáncer anal ha experimentado un aumento de incidencia en los últimos años. Al igual que el cáncer cervical está mediado por el VPH. Ambas entidades van precedidas de una serie de cambios precancerosos planteando la posibilidad de dirigir los esfuerzos preventivos hacia los grupos de alto riesgo. Con la evidencia disponible en la actualidad sigue siendo controvertida la indicación de cribado y cuáles serían los métodos de detección ideales para la realización del mismo.

HIPÓTESIS:

¿Permiten la citología, la anoscopia de alta resolución y el genotipado del virus del papiloma humano de forma aislada o combinada establecer un modelo predictivo para la detección precoz del carcinoma epidermoide del canal anal en población de riesgo?

OBJETIVOS:

1. Validar la anoscopia de alta resolución como herramienta útil en la detección precoz de lesiones precursoras de cáncer de canal anal, en población de riesgo, comparándolo con el estándar que en nuestro caso será la biopsia.
2. Validar la citología como método de screening comparándola con el estándar.
3. Validar el genotipado del VPH como método de screening comparándolo con el estándar.
4. Establecer un modelo epidemiológico comparativo entre el estado de inmunosupresión de los pacientes y el desarrollo de lesiones premalignas o malignas, con el objetivo de definir estadios inmunológicos que nos orienten hacia un mayor riesgo de desarrollo de

neoplasias.

5. En función de los resultados de los objetivos anteriores, desarrollar un modelo predictivo basado en las diferentes pruebas para la detección precoz de neoplasias de canal anal.
6. Estudiar nuevos métodos de despistaje que contribuyan en el futuro a un mejor diagnóstico de lesiones preneoplásicas de canal anal.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio transversal en el que la recogida de datos se ha llevado a cabo de manera prospectiva, en una cohorte de pacientes VIH+ que tienen sexo con hombres pertenecientes al área protegida del Hospital Gregorio Marañón e Infanta Leonor en un periodo de 2 años.

Cada uno de los pacientes remitidos en primera visita y/o revisión a la consulta específica de screening de cáncer anal seguía el siguiente circuito diagnóstico: exploración proctológica, citología anal y exploración mediante AAR con toma de biopsia guiada de las lesiones sospechosas y, en caso de no haberlas, una biopsia aleatoria, considerando como sospechosas aquellas lesiones con alteraciones tintoriales o morfológicas. Las muestras citológicas fueron informadas según el sistema de Bethesda y se establecieron 4 categorías: normal, ASCUS, lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado y lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado. Todas las AAR fueron llevadas a cabo por el mismo cirujano y se clasificaron en 5 categorías según el riesgo de displasia: normal, bajo riesgo, riesgo intermedio, riesgo alto y lesión sospechosa de cáncer. Finalmente se realizó la toma de biopsia que se clasificó en 4 categorías: normal, bajo grado de displasia, alto grado de displasia y cáncer. La detección del VPH se realizó en la muestra de citología anal mediante captura de híbridos y el genotipado del virus mediante PCR. Los genotipos del VPH identificados en nuestra muestra fueron clasificados en dos

grupos en función de su implicación en la carcinogénesis: alto riesgo y bajo riesgo.

RESULTADOS:

Se seleccionaron 179 pacientes con 286 visitas a la consulta de screening de cáncer de canal anal en las que se llevaron a cabo 3 pruebas de cribado en paralelo (citología anal, genotipado del VPH y anoscopia de alta resolución [AAR] con toma de biopsia dirigida sobre zona sospechosa o aleatoria en caso de no presentar alteraciones). La sensibilidad y especificidad para la detección de displasia de alto grado y cáncer y su grado de concordancia con la biopsia fue la siguiente: citología 3,23% / 94,43% (k: 0,03), genotipado de VPH de alto riesgo 90,32% / 27,45% (k: 0,05), AAR 32,26% / 87,45 (k: 0, 17). En todas las pruebas el ABC fue bajo, pero se detectaron diferencias al compararlas ($p=0,029$). Estas diferencias se obtuvieron al comparar la citología (prueba de screening con el rendimiento más bajo) con la presencia de algún VPH de alto riesgo ($p=0,017$). La combinación de AAR y genotipo de VPH-AR mostró la mayor sensibilidad (96,77%), sin embargo la especificidad fue muy baja (24,71%). No se demostró una ganancia diagnóstica significativa en la combinación de las pruebas en paralelo, respecto a su realización de manera individual.

CONCLUSIONES:

1. La citología y la AAR presentan una baja sensibilidad y alta especificidad. El genotipado (presencia de algún genotipo de alto riesgo para VPH) presenta una alta sensibilidad y baja especificidad.
2. El rendimiento diagnóstico, evaluado mediante el área bajo la curva, es bajo para las 3 pruebas de screening y presenta diferencias significativas entre ellas. La citología es la prueba que presenta un rendimiento diagnóstico

significativamente más bajo comparado con el genotipado de VPH, que es el que presenta mayor rendimiento diagnóstico.

3. La combinación de las pruebas de screening evaluadas en paralelo no muestra una ganancia diagnóstica significativa en relación a la aplicación de las pruebas de manera individual.

4. La combinación de genotipado de alto riesgo con la AAR es la combinación que presenta una mayor sensibilidad y mayor VPN.

5. A la luz de nuestros resultados, los protocolos clínicos de cribado utilizados en la actualidad deberían de ser abandonados hasta que existan estudios que analicen las pruebas de cribado comparadas sistemáticamente con el “gold standard” que es el resultado histopatológico.

6. El estudio de diversos biomarcadores tales como el ARN mensajero de determinados genotipos del VPH y la tinción citológica de proteínas como la P16ink4a y el Ki67 abren nuevas puertas a la investigación para la mejora en la detección de lesiones preneoplásicas en el futuro.

INTRODUCTION:

The incidence of anal cancer has increased in recent years. Similarly to cervix cancer, anal cancer is also mediated by HPV. Both are preceded by precancerous changes, raising the possibility of directing preventive efforts towards high-risk groups. Despite the actual evidence available, the indication of screening remains controversial and which methods would be the ideal ones.

HYPOTHESIS:

Does cytology, high-resolution anoscopy, and genotyping of the human papillomavirus, combined or not, allow to establish a protocol for early detection of squamous cell carcinoma of the anal canal in risk population?

OBJECTIVES:

1. To validate high resolution anoscopy as a useful tool in the early detection of precursor lesions of anal canal cancer in risk population, comparing it with the standard procedure, that in our case will be the biopsy.
2. To assess the cytology as a screening method comparing it with the standard procedure.
3. To validate HPV genotyping as a screening method, comparing it with the standard approach.
4. To establish a comparative epidemiological model between the immunosuppression status of patients and the development of premalignant or malignant lesions, with the aim of defining immunological stages, that might guide us about the risk of developing neoplasms.
5. Based on the results of the previous objectives, to develop a predictive model based on the different tests for the early detection of anal canal neoplasms.

6. To study new methods of screening that contribute in the future to a better diagnosis of preneoplastic lesions of the anal canal.

MATERIALS AND METHODS:

A cross-sectional study was performed, with prospective data collection in a cohort of VIH+ patients, who have male homosexual anal relations, belonging to the protected area of Gregorio Marañon and Infanta Leonor Hospitals in a period of 2 years.

Each patient referred at first visit and / or revision to the specific Outpatient Clinic for anal canal screening, followed the next diagnostic circuit: Proctological examination, anal cytology and high resolution anoscopy (HRA) with a biopsy directed on suspicious lesions or random area, considering as suspicious those lesions with dye staining or morphological alterations. The cytological samples were evaluated according to the Bethesda system and 4 categories were established: normal, ASCUS, low-grade squamous intraepithelial lesions and high-grade squamous intraepithelial lesions . All the AARs were performed by the same general surgeon and were classified into 5 categories, according to the risk of dysplasia: Normal, low risk, intermediate risk, high risk and suspicious lesion of cancer. Finally, a biopsy was taken and classified into 4 categories: Normal, low degree of dysplasia, high degree of dysplasia and cancer. HPV detection was performed on anal cytology sample by capturing hybrids and virus genotyping by PCR. The HPV genotypes identified in our sample were classified into two groups according to their involvement in carcinogenesis process: High Risk and Low Risk.

RESULTS:

A total of 179 patients were selected with 286 visits to the specific Outpatient Clinic in which 3 parallel screening tests were performed (anal cytology, HPV genotyping and high resolution anoscopy (AAR) with a biopsy directed on a suspicious or random area in case of not presenting alterations). The sensitivity and specificity for the detection of high-grade dysplasia and

cancer and their degree of agreement with the biopsy was as follows: cytology 3.23% / 94.43% (k: 0.03), high HPV genotyping. risk 90.32% / 27.45% (k: 0.05), AAR 32.26% / 87.45 (k: 0, 17), In all the tests the AUC was low, but differences were detected when comparing them ($p = 0.029$). These differences were obtained by comparing the cytology (screening test with the lowest diagnostic accuracy) with the presence of a high-risk HPV ($p = 0.017$). The combination of AAR and HPV-HR genotype showed the highest sensitivity (96, 77%), however the specificity was very low (24.71%). No significant diagnostic gain was found in the combination of the tests in parallel, respect to their performance individually.

CONCLUSIONS:

1. Cytology and AAR have low sensitivity and high specificity. Genotyping (presence of some high risk genotype for HPV) has a high sensitivity and low specificity
2. The diagnostic accuracy, evaluated by the area under the curve, is low for the 3 screening tests and presents significant differences between them. Cytology is the test that has a significantly lower diagnostic accuracy compared to HPV genotyping, which has the highest.
3. The combination of the 3 tests in parallel does not show a significant diagnostic gain in relation to their individual application.
4. The combination of high-risk genotyping with HRA is the combination that presents a higher sensitivity and higher NPV.
5. In light of our results, clinical protocols as they are currently being developed should be abandoned, until there are studies that analyze the screening tests systematically compared with the "gold standard" which is the histopathological result.

6. The study of diverse biomarkers such as the messenger RNA of certain HPV genotypes, the cytological staining of proteins such as P16ink4a and Ki67 open new doors to improvement the detection of preneoplastic lesions in the future.

5. INTRODUCCIÓN

5.1 NEOPLASIAS ANALES:

5.1.1 ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DEL CANAL ANAL:

a) Anatomía:

El canal anal es el segmento más terminal del tracto digestivo y se encuentra situado por debajo del nivel del suelo pélvico en la región denominada periné. Los límites del periné se aprecian mejor cuando el sujeto está en posición de litotomía. El perímetro del periné se muestra de esta manera como un contorno en forma de diamante que está delimitado anteriormente por el borde inferior de la sínfisis púbica, lateralmente por las tuberosidades isquiáticas derecha e izquierda y posteriormente por el cóccix. El límite superior del periné (techo del periné) es la superficie inferior del suelo pélvico. Si se dibuja una línea transversal que discurre entre los extremos anteriores de las tuberosidades isquiáticas derecha e izquierda, podemos dividir el periné en dos áreas triangulares. El triángulo urogenital anterior y el triángulo anal, posteriormente. El triángulo anal contiene el canal anal en el medio, limitado por las fosas isquio-rectales derecha e izquierda (1). (Figura 1)

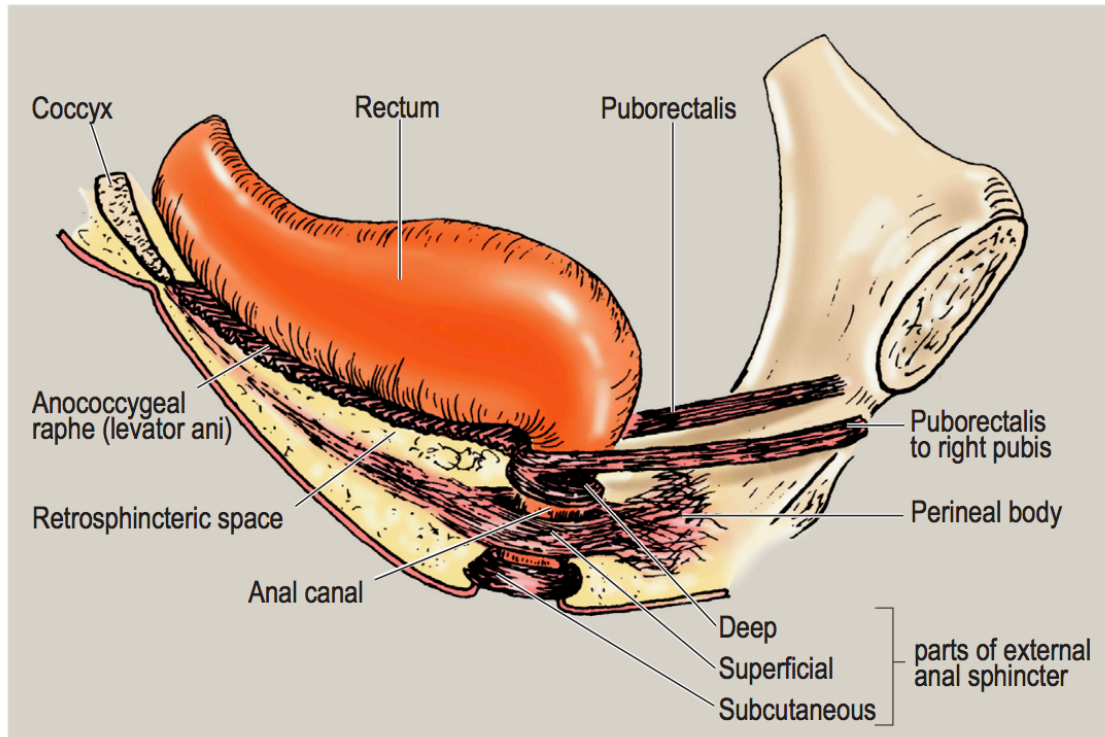


Figura 1: Visión lateral derecha de la unión anorrectal, anillo puborectal y el esfínter anal externo .Tomado de: Mahadevan V, Anatomy of the rectum and anal canal, Surgery (2017).

El canal anal en el adulto mide aproximadamente entre 4 y 5 cm de longitud. Su pared anterior es algo más corta que su pared posterior. Desde su inicio en el hiato del elevador hasta su continuación directa con el recto, el canal anal pasa hacia abajo y hacia atrás.

La distinción entre el canal anal y el margen anal es un aspecto importante a tener en cuenta. El canal anal se extiende desde el límite superior del músculo puborrectal hasta el borde anal, coincidiendo con el surco interesfintérico. La región radial de 5 cm que se extiende a partir de este punto se conoce como margen anal (2).

El canal anal se encuentra dividido por la línea dentada o línea pectínea, una referencia visible macroscópicamente que marca la zona de transición (ZT) de epitelio glandular del recto a epitelio escamoso anal.

La parte superior del canal anal, sobre la línea dentada, presenta un número variable de rugosidades mucosas verticales (entre 8-10), denominadas columnas de Morgagni. Transcurriendo entre los extremos terminales de las columnas de Morgagni existen una serie de pliegues mucosos llamados válvulas anales. La disposición circunferencial de estas válvulas anales conforman la línea pectínea.

Sobre cada válvula anal hay un repliegue mucoso denominado sinus anal, sobre los que desembocan las glándulas mucosecretoras. Estas glándulas se sitúan en la mucosa anal, submucosa y más profundamente en el esfínter interno (1). (Figura 2)

Desde un punto de vista eminentemente clínico, algunos autores diferencian estas regiones en intraanal, perianal y cutánea. Las lesiones intraanales son aquellas que no se visualizan o lo hacen de forma incompleta al separar las nalgas; las perianales se visualizan completamente al separar las nalgas y se localizan dentro de los 5 cm radiales al orificio anal y, por último, las lesiones cutáneas son aquellas que están situadas a más de 5 cm del orificio anal, una vez separadas las nalgas.

El canal anal abarca de tres tipos de epitelios diferentes: glandular, de transición y escamoso no queratinizado (de proximal a distal, respectivamente). Distalmente, el epitelio escamoso no queratinizado (que está desprovisto de apéndices epidérmicos tales como folículos pilosos, glándulas apocrinas y glándulas sudoríparas) se confunde con la piel perianal (epidermis verdadera). Esta unión mucocutánea se ha referido como el borde o margen anal.

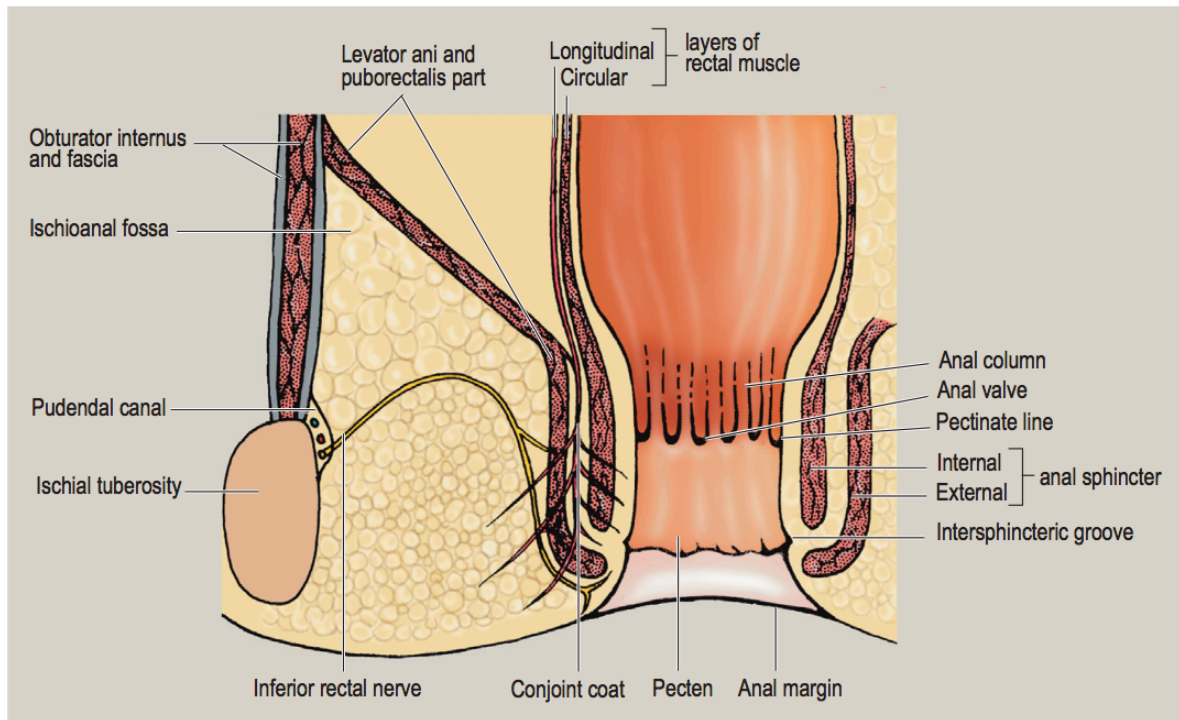


Figura 2: Corte coronal esquemático del canal anal y fosa isquiorectal derecha. Tomada de: *Mahadevan V, Anatomy of the rectum and anal canal, Surgery (2017)*.

- *Vascularización, Drenaje venoso y Linfático:*

El aporte arterial de los esfínteres interno y externo, como también el de la mucosa de la porción inferior del canal anal viene dada por las ramas derecha e izquierda de la arteria rectal inferior, sin embargo, la mucosa cercana a la línea dentada está vascularizada por ramas terminales de la arteria rectal superior.

Las arterias rectales medias hacen una contribución insignificante. Dentro de la pared del canal anal hay una rica red anastomótica entre las terminaciones de las arterias rectales inferiores y rectales superiores y algunas ramas terminales de las arterias rectales medias.

El drenaje venoso de la parte superior del canal anal se realiza a través de la vena rectal superior y finalmente al sistema portal, mientras que, la parte distal drena de manera directa a las venas ilíacas internas a través de las venas rectales medias, o indirectamente a través de la vena rectal inferior y las venas pudendas internas.

La línea dentada marca dos zonas de drenaje bien definido. La mitad distal del canal anal (es decir, por debajo de la línea dentada) tiene un drenaje linfático a los ganglios linfáticos inguinales superficiales bilateralmente. Proximal a la línea dentada, sin embargo, el canal anal drena su linfa principalmente a los ganglios linfáticos ilíacos internos bilateralmente, y en una medida muy limitada, a los ganglios linfáticos mesentéricos preaórticos inferiores en la pared abdominal posterior.

b) Histología:

Histológicamente la región anal y la perianal presentan una gran diversidad. Durante el desarrollo embrionario, el epitelio escamoso del anodermo se va transformando gradualmente en un epitelio cuboideo no queratinizado hasta la línea pectínea, lugar donde comienza la llamada zona de transición. Esta zona, de unos 12-15 mm, resulta de la fusión del endodermo y el ectodermo y está compuesta por un epitelio transicional, cloacogénico o escamoso, que además puede contener células endocrinas o melanocitos (3).

En el anodermo y la zona de transición, las neoplasias más frecuentes se agrupan bajo la denominación de carcinoma epidermoide o escamoso, aunque también pueden surgir, de manera excepcional, otros tumores como el melanoma o los tumores neuroendocrinos. Próxima a la zona de transición y hasta el límite superior del canal anal, la mucosa es similar a la rectal, por lo que se podrán originar neoplasias del tipo “adenocarcinoma” (2) . El margen anal presenta un epitelio queratinizado que no difiere del epitelio cutáneo y, por ello, puede ser asiento de cualquier tipo de tumor propio de la piel.

No hay un punto de referencia fácilmente identificable entre el recto y el canal anal; además, la ZT tiene un aspecto histológico muy variable, por lo que la clasificación de los tumores que surgen en este área puede ser difícil.

c) Neoplasias de canal anal

c.1. Cáncer de Células Escamosas (CCE):

Los tumores que surgen tanto en la mucosa transicional como en la escamosa del canal anal son CCE y parecen comportarse de manera similar, a pesar de su apariencia morfológica a veces variable (4). La mayoría de las series que hablan de "cáncer anal" se refieren exclusivamente a este tipo de tumores. Las características basaloideas se identifican en aproximadamente el 25 por ciento de los CCE del canal anal y se deben distinguir de los carcinomas basocelulares de la piel perianal, que como se indica a continuación, se clasifican como cánceres de piel. El carcinoma basaloide (también denominado de la unión o cloacogénico) es una variante de CCE que surge de la zona de transición epitelial. Sin embargo, estos términos han sido en gran parte abandonados debido a que estos tumores son ahora reconocidos como tumores no queratinizantes de células escamosas. Los tumores que surgen en el canal anal por encima de la línea dentada se denominan CCE no queratinizantes, mientras que los que surgen en el canal anal distal a la línea dentada a menudo son CCE queratinizantes.

c.2. Adenocarcinoma (ADC):

Los adenocarcinomas que surgen de elementos glandulares dentro del canal anal son raros, pero parecen compartir una historia natural similar a los adenocarcinomas rectales y se tratan de manera similar. La determinación del sitio anatómico de origen de los carcinomas que se superponen a la unión anorrectal puede ser problemática, sobre todo porque la mucosa rectal puede

extenderse a 1-2 cm del borde anal. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) se pueden distinguir 3 tipos de ADC en relación, principalmente, a su origen: los que tiene su origen en la porción superior del canal anal, los que derivan de las glándulas o ductos anales y aquellos asociados a fístulas anorrectales crónicas (3), (5).

c.3. Neoplasias de la piel perianal:

Los tumores que surgen dentro de la piel con vello o distales a la unión mucocutánea escamosa se han denominado cánceres de margen anal. Sin embargo, el término preferido es el de cáncer de piel perianal, ya que a excepción de los melanomas, los tumores que surgen dentro de la piel perianal se comportan biológicamente como cánceres de piel.

Los tumores más frecuentes de la piel perianal son los CCE, pero otros tipos como por ejemplo, carcinoma basocelular, melanoma, enfermedad de Bowen, y enfermedad de Paget pueden surgir en esta región.

En relación con lo descrito anteriormente, se muestra la clasificación más aceptada y utilizada internacionalmente, que corresponde a la clasificación de la OMS (Tabla 1):

Canal Anal	Margen Anal
<p><i>Carcinoma de células escamosas (Cloacogénico)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> * De células grandes queratinizadas * De células grandes no queratinizadas (transicional) * Basaloide <p><i>Adenocarcinoma</i></p> <ul style="list-style-type: none"> * Tipo rectal * De glándulas anales * Relacionado con fistula anorectal <p><i>Carcinoma de células pequeñas</i></p> <p><i>Indiferenciado</i></p>	<p><i>Carcinoma de células escamosas</i></p> <p><i>Condiloma gigante</i></p> <p><i>Carcinoma de células basales</i></p> <p><i>Enfermedad de Bowen</i></p> <p><i>Enfermedad de Paget</i></p> <p><i>Otros</i></p>

Tabla 1: *Clasificación del cáncer anal según la OMS.*

5.1.2 SITUACIÓN ACTUAL DEL CÁNCER ESCAMOSO DE CANAL ANAL

Hasta la década de los años 90 el cáncer de canal anal no se consideraba como una neoplasia que supusiese un problema preocupante para el sistema público de salud, ya que constituía el 5% de todas las neoplasias gastrointestinales y afectaba fundamentalmente a personas de edad avanzada con una mayor prevalencia entre las mujeres (6).

A partir de los años 90 comienza a detectarse como un problema preocupante de salud en Europa y Estados Unidos. Esta preocupación deriva de un aumento de la incidencia ligada a un grupo de población más joven, mayoritariamente varones, homosexuales infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), donde la frecuencia de la enfermedad era el doble comparada con la población en general (7).

La implantación de Tratamiento Antirretroviral de Gran Actividad (TARGA) a principios del siglo XX se ha acompañado de un descenso de la incidencia de aquellas neoplasias consideradas como enfermedades definitorias del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA), probablemente secundario a la mejora de la función inmunológica de estos pacientes. Sin embargo, otras neoplasias, como el carcinoma anal, han aumentado su incidencia en la era TARGA a pesar del mejor control inmunológico de los pacientes. En el año 2007 Hessol y colaboradores (8), describieron un riesgo 2,9 veces mayor de desarrollar cáncer de canal anal en la era post-TARGA que en la era pre-TARGA en varones VIH positivos en San Francisco, siendo seguido por numerosos estudios que confirmaban esta realidad, haciéndonos pensar que existen más factores de riesgo relacionados en el desarrollo de esta enfermedad (9), (10). Asimismo, una cohorte retrospectiva australiana situó al cáncer de canal anal como el tercer cáncer más frecuente en pacientes VIH positivos en el año 2009 (11), en Europa la "French Hospital data Base" demostraba una tendencia similar (12).

El cáncer anal representa en la actualidad el 2.5% de todas las neoplasias digestivas en los EE.UU, con un diagnóstico de 8200 casos nuevos cada año (13).

El aumento de la incidencia se ha relacionado de manera directa con un aumento de la infección por el virus del papiloma humano (VPH), número de parejas sexuales, presencia de verrugas genitales, hábito tabáquico, relaciones sexuales receptivas anales e infección por VIH (14).

Desde un punto de vista etiológico presenta una mayor similitud con enfermedades genitales que con los cánceres gastrointestinales.

Existe un progreso en el tiempo, tanto en la manera de entender la fisiopatología como el tratamiento del mismo. En los años 60 el conocimiento disponible le buscaba el origen en una inflamación crónica de la zona, si bien actualmente se sabe que hay muchos factores que contribuyen a su desarrollo. Respecto al tratamiento, implicaba la realización de una amputación abdominoperineal de rutina con colostomía permanente con la consiguiente morbilidad añadida a los pacientes en los casos avanzados de detección tardía, frecuentes en esa época (15).

El cáncer de canal anal comparte numerosas similitudes con el cáncer de cérvix, del que hemos aprendido mucho en las últimas décadas. Sabemos que el cribado de lesiones preneoplásicas cervicales mediante citología ha reducido en un 75% el cáncer de cuello de útero en países desarrollados en los últimos 50 años. En un intento de obtener los mismos resultados conseguidos con el cribado del cáncer cervical en la mujer, en los últimos años han surgido multitud de estudios dirigidos a intentar demostrar una utilidad semejante de la citología anal para la detección temprana de lesiones premalignas de cáncer anal.

La finalidad del cribado de lesiones preneoplásicas anales es la de detectar la displasia precozmente para poder erradicar las lesiones

intraepiteliales anales (NIA) y, así, poder prevenir la progresión de dichas lesiones hacia cáncer invasivo (16).

Tanto el cáncer de canal anal como el cáncer de cérvix asientan sobre epitelios de transición, están asociados a la infección por el virus del papiloma humano (VPH) y ambos se desarrollan a partir de lesiones precancerosas displásicas, las cuales son prácticamente idénticas histológicamente. Aunque hay cierto paralelismo, existen importantes diferencias. La edad media de aparición del cáncer de canal anal es más tardía, la localización anatómica del canal anal impide escisiones como la conización en mujeres y en el caso de la NIA no existen protocolos estandarizados consensuados.

En una población de alto riesgo, como lo son los varones homosexuales con infección por el VIH, el screening para la prevención del cáncer de canal anal podría estar justificado. Sin embargo, no existe una estrategia de cribado óptima en la actualidad entre otras razones por falta de datos acerca de su repercusión respecto a la morbimortalidad (17).

El objetivo fundamental de los programas de cribado en la actualidad es la detección de pacientes con neoplasias intraepiteliales anales (NIA), más concretamente las de alto grado (NIAAG) que son los casos que con mayor probabilidad progresaran a formas infiltrantes (18).

Además, se han publicado estudios recientemente que proponen el genotipado de VPH como una herramienta de cribado clave y útil con una alta sensibilidad y especificidad, para la detección de la NIA en una población de alto riesgo (19).

5.1.3 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER ESCAMOSO DE CANAL ANAL Y LESIONES PRECURSORAS:

Los tumores anales son neoplasias poco frecuentes del tubo digestivo, representan el 5% de todas las neoplasias anorrectales y un 1,5% de los tumores gastrointestinales. Las claves microscópicas en los tumores del canal anal han ido cambiando progresivamente con los años. El aumento de la experiencia y el apoyo de técnicas inmunohistoquímicas y estudios moleculares han provocado numerosos cambios en la nomenclatura. La lesión más frecuente, tanto del canal anal como de la piel perianal, es el carcinoma escamoso, que representa entre el 70 y el 80% (20).

El ADC anal supone alrededor del 10% de todas las lesiones anales malignas (5-19%), presenta una historia natural más agresiva que el carcinoma escamoso con menor supervivencia y mayores tasas de recurrencia, tanto local como a distancia (3), (20), (21).

La incidencia del carcinoma escamoso de canal anal en EE.UU. en varones sanos es de 0,8 casos por cada 100.000 habitantes (6). Desafortunadamente no podemos precisar con exactitud la incidencia y prevalencia del mismo en España por no existir ningún registro oficial que recoja estos datos. No obstante, estudios epidemiológicos recientes en otros países, fundamentalmente en Europa (12), (16), (22) y Estados Unidos (23), reflejan un incremento importante en la incidencia, que se estima que es aproximadamente del 2% anual en los últimos 10 años, especialmente en determinados grupos de riesgo.

Se suele presentar en la 6^a-7^a década de la vida, con un ratio mujer: hombre de 2:1. Este ratio está cambiando en la actualidad fundamentalmente por un aumento de este tipo de cáncer entre la población homosexual VIH que tiene relaciones anales. (24).

Los factores de riesgo fundamentales para el desarrollo de cáncer escamoso de canal anal son la infección por el VIH, la infección por el VPH, el número de parejas sexuales, ámbito urbano y relaciones anales.

La incidencia estimada de cáncer anal entre la población masculina homosexual VIH fue de hasta 35 por 100.000 habitantes antes de la epidemia de VIH y ha aumentado presumiblemente. La población blanca tiene el mayor rango de incidencia seguida de la población negra, asiática e hispana.

El agente etiológico predominante es la infección del VPH, aunque en la mayoría de las publicaciones se sugiere un estado de inflamación crónica como factor de riesgo importante a tener en cuenta como el provocado por la enfermedad fistulosa. Sin embargo, numerosos estudios de casos y controles y de cohortes posteriores no lo han demostrado (25), (26), (27), (28).

LESIONES PRECURSORAS DEL CÁNCER ESCAMOSO DE CANAL ANAL:

La neoplasia intraepitelial anal es la lesión precursora del carcinoma escamoso anal. La incidencia de NIA es baja en la población general, pero rivaliza con el cáncer de colon en grupos de alto riesgo, particularmente en aquellos con infección por el VIH y los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (HSH). Por lo tanto, la detección de NIA y de cáncer anal precoz así como el tratamiento de estas lesiones en centros con experiencia debe considerarse en las poblaciones de alto riesgo (29).

El cáncer anal es precedido por una neoplasia intraepitelial (30), una lesión premaligna que ha sido descrita por una variedad de esquemas de clasificación a través de la literatura, debido a la evolución de la comprensión de su fisiopatología subyacente. Las lesiones displásicas en la región anal se informaron inicialmente como "leve", "moderada" y "grave" por los patólogos. Sin embargo, a medida que se estableció la conexión entre la displasia anal y el VPH, se desarrollaron nuevos criterios de toma de préstamos del sistema de clasificación de patología cervical, utilizando la terminología NIA I, II y III del

sistema de Bethesda (31), (32). Desafortunadamente, esto llevó a la incertidumbre sobre la importancia de las lesiones NIA II, dejando a los clínicos inseguros de qué lesiones requerían un seguimiento cercano y cuáles podrían ser seguidas de forma expectante (33). La aclaración adicional de la relación entre la NIA y el VPH, junto con el descubrimiento de que las vías oncogénicas de los cánceres anales y genitales están estrechamente relacionados ha llevado recientemente a un sistema más simple consistente en un enfoque de dos clases de lesiones intraepiteliales escamosas de "Bajo grado/ Low grade" (LSIL) y de "Alto grado/ High grade" (HSIL) (29). Bajo este sistema, NIA I corresponde a LSIL y AIN II / III a HSIL. Las lesiones de "alto grado" (HSIL) se consideran premalignas, mientras que las lesiones de "bajo grado" (LSIL) no se consideran premalignas, pero tienen el potencial de progresar a HSIL. Para ser incluidos como HSIL, las lesiones AIN 2 deben ser positivas para la tinción de p16 de acuerdo con las recomendaciones del proyecto de Terminología Escamosa Anogenital Inferior (LAST) (34).

Los informes citológicos incluirán ocasionalmente el término "ASCUS", o "células escamosas atípicas de importancia indeterminada", que pueden incluirse generalmente en la categoría LSIL, a pesar de que un diagnóstico de células escamosas atípicas no puede descartar la presencia de una lesión de grado superior.

Normal	Lesiones de bajo grado de carcinogénesis	Lesiones de alto grado de carcinogénesis
	Condiloma/NIA I/ASCUS	NIA II/NIA III
	Displasia leve	Displasia moderada/severa

Tabla 2: Unificación de terminología relacionada con la neoplasia intraepitelial anal: NIA: Neoplasia intraepitelial anal; ASCUS: Atipias en células escamosas de significado incierto.

Una biopsia se diagnostica como HSIL cuando las células basaloides anormales, caracterizadas por un aumento de la relación nuclear a citoplasma, reemplazan más de la mitad del epitelio. LSIL se diagnostica cuando el 20 al 25 por ciento del epitelio es reemplazado por células anormales. LSIL también se caracteriza por la presencia de coilocitos, células agrandadas con un halo citoplásmico que rodea el núcleo, el cual, es indicativo de la replicación activa de HPV (35).

Las lesiones que muestran evidencia de LSIL pueden regresar espontáneamente, como está bien documentado en el cuello del útero, o progresar a HSIL. Por el contrario, HSIL es menos probable que regrese, independientemente de la condición de VIH (36, 37). Mientras que es menos probable que regresen las lesiones que contienen la infección por el genotipo 16 del VPH (SPANC estudio).

Hasta la fecha no se han realizado estudios prospectivos aleatorizados para determinar si el tratamiento de HSIL anal es eficaz para reducir la incidencia de cáncer anal. Sin embargo, un estudio prospectivo aleatorizado apoyado por el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos y los Institutos

Nacionales de Salud de Investigación del SIDA está en curso para abordar esta cuestión (ANCHOR estudio).

En el cuello del útero, la regresión y las tasas de progresión para cada grado de lesión cervical han sido caracterizadas (38). Sin embargo, relativamente poco se sabe hasta la fecha sobre la historia natural a largo plazo de lesiones intraepiteliales escamosas anales.

A continuación se exponen recomendaciones generales de tratamiento de HSIL recogidas en la literatura:

Lesiones intraanales:

- ✓ Para lesiones pequeñas solitarias, o lesiones que representan menos del 50 por ciento de la circunferencia del epitelio de transición, se sugieren enfoques locales. Esto puede incluir la aplicación de ácido tricloroacético al 80 por ciento, coagulación infrarroja, ablación por radiofrecuencia o electrocauterización.
- ✓ Para lesiones que representan más del 50 por ciento de la circunferencia, el tratamiento puede ser con electrocauterización o coagulación infrarroja. Si existe una preocupación por la estenosis, estos procedimientos se pueden llevar a cabo localmente de una manera escalonada sin tratar más del 50% de la circunferencia en una visita. Alternativamente, se puede usar por vía endoanal el inmunomodulador imiquimod (en formulaciones al 3 o 5 por ciento) o fluorouracilo al 5 por ciento. Esto puede resultar en una resolución completa de las lesiones o una reducción en el tamaño cuando las terapias locales pueden ser utilizadas. Ninguno de estos enfoques está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) en EE.UU y los datos disponibles sobre su eficacia para reducir o eliminar HSIL son muy limitados (39), (40).

Lesiones perianales:

Los tratamientos han tendido inicialmente a involucrar modalidades más conservadoras que dependen de la extensión de la lesión/es. Las lesiones pequeñas se pueden tratar con ablación local o extirpación quirúrgica, mientras que las lesiones más extensas se pueden abordar inicialmente con la aplicación de imiquimod o 5-fluorouracilo, además de una observación estrecha continua, antes de considerar la intervención quirúrgica. El tratamiento de las lesiones diagnosticadas como LSIL, incluido el condiloma, en la biopsia (para excluir la HSIL) es opcional ya que estas lesiones no progresan directamente a cáncer invasivo. Sin embargo, los pacientes con LSIL pueden optar por recibir tratamiento por una variedad de razones que incluyen síntomas (ardor, picor y sangrado) o angustia psicológica. Los pacientes con LSIL que no reciben tratamiento deben ser seguidos cada seis meses debido a la alta tasa establecida de progresión a HSIL. Antes del tratamiento, se debe realizar una evaluación exhaustiva para excluir el cáncer anal.

5.1.4 HISTORIA NATURAL DEL CÁNCER ESCAMOSO DE CANAL ANAL

La carcinogénesis es un proceso gradual determinado por la presencia del VPH. Se requieren cambios genéticos y citológicos para que se lleve a cabo. El proceso comienza por la infección persistente por el VPH, secundariamente, daños genéticos contribuyen a la transformación de células normales a cancerosas (41) aunque este proceso no es conocido con exactitud a nivel del canal anal.

Se acepta que la evolución es similar a la del cáncer de cérvix. Se ha demostrado la asociación con el VPH y la predilección que este tiene por la unión escamo-columnar. La mayoría de estas lesiones se localizan en la ZT, aunque se trata de una enfermedad multifocal que puede afectar tanto al canal anal como a la piel perianal. Sin embargo, la historia natural de la neoplasia intraepitelial cervical y anal es diferente y el motivo de esta diferencia puede ser debido a las diferencias anatómicas, fisiológicas (actividad hormonal) e inmunológicas entre ambas localizaciones (42).

El VPH infecta los queratinocitos de la capa basal a través de zonas discontinuas en la capa más superficial del epitelio (lesiones, micro-heridas o microabrasiones). Estas heridas proporcionan el contacto entre los receptores presentes en la células basales y los viriones, que entran así por endocitosis (43). Cuando el VPH se asocia a lesiones benignas como condilomas, la replicación del genoma viral es extracromosomal, mientras que para que se produzca una lesión maligna el Ácido Desoxirribonucleico (ADN) viral se ha de integrar en el cromosoma del huésped. La integración del VPH es obligatoria para la progresión hacia HSIL y tumor invasivo, y es el paso principal en la transición del LSIL a HSIL, siendo el origen de la multiplicación de células monoclonales (44).

Una acumulación secuencial de cambios moleculares y la integración del DNA del VPH, con la consiguiente inestabilidad cromosómica, caracteriza la evolución de una mucosa anormal a un carcinoma invasor. La inestabilidad de los cromosomas inicia la secuencia de mutación de carcinogénesis causando un desequilibrio en el número de cromosomas y un aumento de la tasa de

pérdida de heterocigosidad, lo cual es un importante mecanismo de inactivación de genes supresores de tumores (45). La progresión hacia carcinoma invasor requiere además pérdidas en los cromosomas de genes supresores de tumores como el APC (5q), 17p (p53) y 18 q (DDC) (46).

En los últimos años la incidencia de la progresión de la enfermedad premaligna a invasora se ha movido en un rango de entre el 2% y el 9%. Sin embargo, las series más recientes han informado de tasas de entre 13% y el 50% en pacientes inmunocomprometidos gestionados con actitud expectante (47). Scholefield y colaboradores (48) cifraron el riesgo estimado de progresión de NIA hasta cáncer anal invasivo en el 10% en 5 años. Sin embargo, esta tasa debe ser interpretada con precaución ya que las tasas de progresión pueden variar de acuerdo a factores como la erradicación de la enfermedad y los factores de riesgo que aumentan el riesgo de progresión a enfermedad invasiva (49). Además, Simard y colaboradores mostraron que la incidencia de displasia de alto grado en los hombres en San Francisco había aumentando en un 11,48% por año entre 2000 y 2009 (50). (Figura 3)

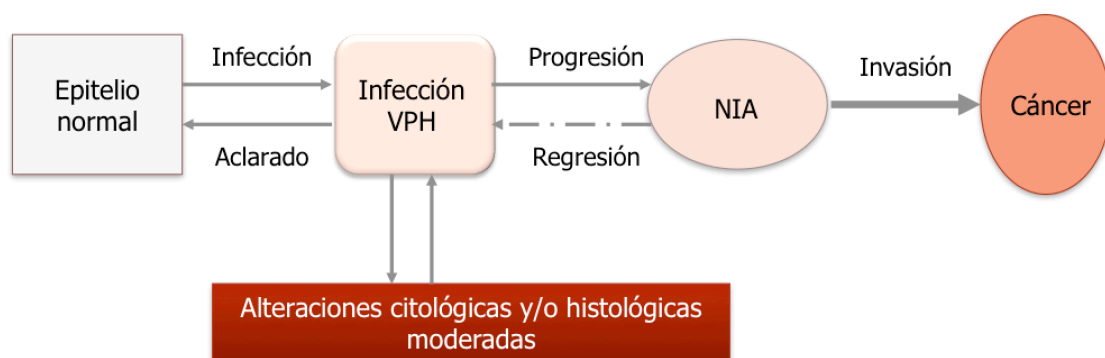


Figura 3: Carcinogénesis. *Esquema secuencial de la historia natural del cáncer escamoso de canal anal.*

5.2 POBLACIÓN DE RIESGO

Históricamente se creía que el cáncer anal se desarrollaba en áreas de inflamación local crónica o irritación asociada con afecciones benignas anales y perianales, como hemorroides, fisuras y fístulas (51, 52). Los informes de casos de cáncer anal en el desarrollo de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) llegaron a la conclusión de que este tumor resultó de la inflamación crónica, de una manera similar al desarrollo de una neoplasia colorrectal en pacientes con EII subyacente (53). Sin embargo, estudios posteriores de casos y controles encontraron poco o ningún impacto de una historia de hemorroides, fístulas y fisuras en el desarrollo de cáncer anal (54). Además, en una gran serie danesa, ninguno de los 1160 pacientes con EII desarrolló cáncer anal (55), lo que hizo abandonar esta teoría, e investigar la relación con los factores de riesgo que actualmente conocemos.

Actualmente es el 26° tipo de cáncer más común en los Estados Unidos con aproximadamente 7000 casos al año. Aunque la evidencia sugiere que la mayoría de los cánceres anales son inicialmente asintomáticos, una probabilidad tan baja pre-prueba no hace viables pruebas de detección para la población en general. Sin embargo, hay poblaciones con una prevalencia desproporcionada de cáncer anal donde sería más propicio el cribado grupal (56).

1. Estado de inmunosupresión:

Los pacientes inmunosuprimidos son cada vez más reconocidos como uno de los grupos de mayor riesgo de padecer cáncer anal (57). Gran parte de esta asociación se desarrolló sobre el aumento de la epidemia de VIH/SIDA en las últimas tres décadas. Aunque las prácticas sexuales, en particular las relaciones anorreceptivas, se han asociado con el cáncer anal, estudios recientes han demostrado que el riesgo de cáncer anal en individuos seropositivos existe independientemente de las prácticas sexuales (58). El riesgo de progresión de la displasia anal parece correlacionarse directamente

con el grado de inmunosupresión medida por el recuento de CD4 + de células T, con un recuento de células menor de 200 células / mm³ (59), aunque sorprendentemente las terapias antiretrovirales de alta actividad no han conseguido disminuir el cáncer anal. Se piensa que la restauración del sistema inmunológico no elimina por completo el aumento del riesgo de cambios displásicos ya establecidos y además los pacientes tratados con antirretrovirales están viviendo más tiempo aumentando la incidencia de la enfermedad (12).

De manera similar, otras poblaciones inmunosuprimidas comparten una mayor incidencia de cáncer anal. Existen estudios que demuestran un aumento de las tasas de cáncer anal en trasplantados renales y hepáticos (60), (61). La terapia con glucocorticoides crónica para el tratamiento de enfermedades autoinmunes puede predisponer tanto a la infección por VPH como al cáncer anal invasivo relacionado con el VPH (62).

2. Actividad sexual:

La mayor incidencia de la enfermedad descrita en hombres homosexuales en publicaciones iniciales, proporcionó el vínculo entre la actividad sexual y el desarrollo de cáncer anal (25), (63).

Existen varios estudios de casos y controles que demuestran un mayor riesgo relativo de desarrollar cáncer anal en relación con haber padecido anteriormente verrugas genitales (RR 32,5), herpes simple 2 (RR 4,1) o *Chlamydia Trachomatis* (RR 2,3) en mujeres. En hombres, el riesgo de padecer cáncer anal aumentaba en aquellos que no tenían pareja estable (RR 8,6), habían participado en alguna actividad sexual homosexual (RR 50), habían practicado relaciones sexuales anales receptivas (RR 33) o tenían un historia previa de verrugas genitales (RR 27) o gonorrea (RR 17) (25). Estudios posteriores confirmaron la relación entre el cáncer anal y el coito anal receptivo en hombres (54), (64), (65).

Un segundo estudio de casos y controles en heterosexuales comparó 417 pacientes con cáncer anal, 534 pacientes con cáncer de recto y 554 controles normales. En el análisis multivariante, los factores de riesgo más relevantes para desarrollar cáncer anal en mujeres fueron 10 o más parejas sexuales de por vida (RR 4,5), antecedentes de verrugas anales (RR 11,7), verrugas genitales (RR 4,6), gonorrea (RR 3,3), displasia cervical (RR 2,3) o parejas sexuales con antecedentes de enfermedades de transmisión sexual (RR 2,4). Historia de relaciones anales receptivas antes de los 30 años y por lo menos dos compañeros de sexo anal también fueron factores de riesgo significativo en las mujeres. Entre los hombres heterosexuales, el análisis multivariante reveló riesgos significativamente elevados de cáncer anal con 10 o más parejas sexuales (RR 2,5), antecedentes de verrugas anales (RR 4,9) o antecedentes de sífilis o hepatitis (RR 4,0) (66).

También existe un mayor riesgo de desarrollar cáncer anal después de un diagnóstico de cáncer de cuello de útero recogido en el Registro de cáncer Danés (65) y en la base de datos SEER en los Estados Unidos (67).

3. Infección por el Virus del Papiloma Humano:

La infección por el VPH es la enfermedad de transmisión sexual más comúnmente diagnosticada en los Estados Unidos y proporciona parte del vínculo entre la actividad sexual y el cáncer anal. Existe una estrecha asociación entre la infección por cepas oncogénicas del VPH y muchas lesiones premalignas y malignas del tracto genital, el ano y el recto (66), (68). El ADN del VPH se ha aislado en el 46 al 100% de los SCC in situ e invasivos del ano y los estudios epidemiológicos han demostrado que hasta el 93 por ciento de los CCE anales están asociados con la infección por VPH.

Existen varios tipos de VPH en el tracto anogenital, aunque solo unos pocos se han relacionado con el cáncer. Al igual que en el cáncer de cuello de útero, el genotipo 16 es el tipo más frecuentemente aislado y su presencia

indica una mayor probabilidad de desarrollar cáncer invasivo y lesiones preneoplásicas (69).

La infección de VPH en el canal anal y la región perianal puede ser subclínica o clínicamente aparente como condilomas.

La prevalencia de la infección por VPH entre los hombres que tienen sexo con hombres (HSH), un grupo con alto riesgo tanto de NIA como de cáncer anal invasivo, es mayor en presencia de infección por VIH (70).

Una minoría sustancial de cánceres anales no están asociados con la infección por VPH. No se han observado diferencias entre los tumores VPH positivos y los tumores VPH negativos en cuanto a la edad del paciente, la presencia de displasia adyacente, la diferenciación ductal o el pronóstico (71). La epidemiología, vías de transmisión, tropismo celular, mecanismos de infección, replicación e integración del virus serán comentados más adelante.

4. Infección por VIH:

No está claro si la infección del VIH en sí misma tiene un efecto directo en el desarrollo del cáncer de anal o si está mediada por el VPH.

Existen datos epidemiológicos publicados que respaldan una relación directa entre el VIH, el VPH y el cáncer anal:

Las tasas crecientes de cáncer anal en los Estados Unidos entre 1980 y 2005 fueron fuertemente influenciadas por la epidemia de VIH en hombres, pero fueron independientes de la infección por VIH entre mujeres. Entre los hombres, las tasas de incidencia aumentaron en un 3,4 por ciento anual en general y en un 1,7 por ciento anual en hombres sin infección por el VIH. Entre las mujeres, las tasas de incidencia de cáncer anal aumentaron un 3,3 por ciento anualmente en general y un 3,3 por ciento anualmente en aquellos sin infección por el VIH (72). Existe una incidencia notablemente más alta de lesiones displásicas y cáncer anal en hombres infectados con VIH,

particularmente entre HSH, lo que nos hace pensar que efectivamente existen más factores como la actividad sexual, comentada anteriormente, que influyen en el desarrollo de esta enfermedad.

En un informe de 13 cohortes (34.189 personas infectadas por el VIH y 114.260 personas no infectadas por el VIH) que se incluyeron en la Colaboración de Investigación y Diseño de Cohortes de América del Norte (NA-ACCORD) durante los años 1996 a 2007, las tasas de incidencia de cáncer anal no ajustadas por 100,000 personas-año fueron 131 para HSH infectados por el VIH, 46 para otros hombres infectados con VIH y 2 para hombres no infectados con VIH (73).

Por otro lado la incidencia de infección por VPH y malignidad preinvasiva e invasiva asociada al VPH aumenta en pacientes infectados por VIH, independientemente de la práctica sexual (74).

Entre los individuos infectados con VPH, la prevalencia de carcinoma y de displasia de alto grado es mayor en aquellos con infección concomitante por VIH en comparación con aquellos que son VIH negativos (75).

A pesar de estas observaciones, el impacto general de la infección por el VIH en las tasas de incidencia de cáncer anal sigue sin estar claro, ya que los estudios poblacionales han producido resultados contradictorios (22), (65), (72), (76), (77).

Los pacientes con una mayor duración de la infección por el VIH tienen una tasa sustancialmente mayor de cáncer de anal, pero a diferencia de otros cánceres asociados al SIDA, el uso de terapia antirretroviral de gran actividad no ha llevado a una disminución en la incidencia de cáncer de anal (12). Sin controlar las relaciones anales receptivas y la infección previa por VPH es difícil discernir el verdadero efecto del VIH sobre la incidencia del cáncer anal. Es posible que la infección por el VIH interactúe con el VPH para predisponer al cáncer anal.

En una cohorte de 346 hombres homosexuales infectados por el VIH y 262 VIH negativos, la infección con múltiples tipos anales de VPH fue más común en los pacientes infectados por VIH (73% frente a un 23%) y se asoció con inmunosupresión significativa (recuento de CD4 por debajo de 200 / microL) (78). Este hallazgo podría reflejar una mayor replicación del VPH en pacientes con SIDA, lo que permitiría que más tipos de VPH lleguen a una concentración detectable. La infección con más de un tipo de VPH se asocia con un mayor riesgo de citología anal anormal.

La inmunosupresión crónica en la infección por VIH también está asociada con un mayor riesgo de cáncer anal y de progresión de displasia de bajo grado a alto grado o a cáncer invasivo (41), (56), (78). Existe un estudio suizo de casos y controles anidado en una cohorte en el que recuentos bajos de CD4 se asociaron significativamente con el cáncer anal, tanto en nadir como en el momento del diagnóstico de cáncer (79).

5. Hábito tabáquico:

Varios estudios de casos y controles han observado un riesgo mayor estadísticamente significativo de cáncer anal en fumadores, especialmente en fumadores actuales (64), (69), (79).

El tabaquismo está altamente asociado con la neoplasia cervical y se cree que actúa como un cocarcinógeno (80).

5.3 VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

5.3.1 ORGANISMO PATÓGENO

Los virus del papiloma humano constituyen un grupo de pequeños virus de ADN causantes de numerosas lesiones benignas y malignas en piel y membranas mucosas.

El VPH pertenece a la familia *Papillomaviridae*. Como todos los virus del papiloma, carece de envoltura, mide 55 nm de diámetro y presenta un genoma de ADN circular bicatenario con unos 7.900 pares de bases incluidos en una cápside icosaédrica. El genoma del VPH contiene tres regiones funcionales: una de genes tempranos (seis en total: E1, E2, E4, E5, E6 y E7), expresados poco después de la infección y que controlan la replicación, la transcripción y la proliferación nuclear; una de genes tardíos (dos en total: L1 y L2), expresados en fases posteriores de la infección y codificantes de las proteínas estructurales de la cápside; y una región de control larga, que contiene las secuencias reguladoras encargadas de coordinar la replicación y transcripción de genes tempranos y tardíos. Los virus del papiloma completan su ciclo vital solo en células epiteliales diferenciadas terminalmente, por lo que es difícil que crezcan en cultivo celular.

La mayor parte de los tipos del VPH se incluyen en tres grandes géneros: α (tipos principalmente mucosos o genitales), β y γ (causantes ambos de lesiones cutáneas). Se han identificado más de 150 tipos de VPH, más de 40 de los cuales infectan la piel y las mucosas genitales. De los tipos genitales, unos 15 se consideran de alto riesgo, por asociarse a lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado y a cánceres de cuello uterino, ano, pene, vulva, vagina y orofaringe, mientras que otros se consideran de bajo riesgo por relacionarse mayoritariamente con verrugas genitales y lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado.

5.3.2 EPIDEMOLOGÍA

La infección por el VPH se transmite principalmente por contacto directo de la piel o las membranas mucosas con una lesión infectada. La infección genital por el VPH suele contraerse durante el coito, aunque también son posibles vías de transmisión como contacto sexual sin penetración o contacto orogenital o manual-genital.

Por lo que respecta al VPH genital, en EE. UU. es la infección de transmisión sexual más frecuente (81). La mayoría de las infecciones son asintomáticas y remiten sin tratamiento; se estima que solo el 10% persisten más de 2 años (82).

La incidencia de la infección genital por el VPH y las verrugas genitales parece estar disminuyendo en países que han abordado programas de vacunación (83).

Las infecciones con potencial oncogénico causadas por el VPH son infrecuentes en hombres sanos y la mayoría remiten en el primer año (84). Todos los tipos y manifestaciones de infección por el VPH son más comunes en personas con deterioro de la inmunidad de mediación celular, como los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o con tratamiento inmunodepresor. Entre HSH infectados por el VIH, la prevalencia de HSIL alcanza casi el 30%, y la de cáncer anal es de 46 por 100.000 (85). Es reseñable que la infección por el VPH aumenta la propensión a la infección por el VIH y otras infecciones de transmisión sexual, lo que implica la posibilidad de que las vacunas contra el VPH pudiesen contribuir a prevenir la infección por el VIH.

5.3.3 BIOPATOLOGÍA

La infección por el VPH provoca enfermedad por crecimiento celular aberrante. En los tipos cutáneos y de bajo riesgo, lesiones como las verrugas sobrevienen por proliferación benigna inducida por el VPH de capas epidérmicas. En los tipos genitales de alto riesgo se desarrollan lesiones precancerosas y cancerosas al producirse sustitución del epitelio por células indiferenciadas, por interferencia inducida por el VPH en el crecimiento celular normal.

La infección empieza en la capa inferior y menos diferenciada del epitelio, la de células basales, en la que la exposición se ve facilitada por microtraumatismos. Se requiere una discontinuidad de la integridad del epitelio para que la partícula viral pueda unirse a los proteoglicanos de heparán presentes en la membrana basal y las células basales, tras lo que inicia un proceso que incluye una modificación de la conformación de la cápside y las proteínas, lo que permite la entrada por endocitosis facilitada por varias posibles moléculas candidatas del huésped. A medida que las células basales se diferencian y se desplazan hacia la superficie del epitelio, tienen lugar la replicación y la transcripción del ADN del VPH y se ensamblan las partículas virales en el núcleo. En última instancia, se liberan viriones completos, lo que posiblemente está muy relacionado con el proceso de eliminación de los restos de los queratinocitos muertos (descamación de la piel) (86).

La patogenia del cáncer inducido por el VPH conlleva integración viral en el genoma del huésped, con la consiguiente alteración del gen regulador de la transcripción de E2 y aumento de la expresión de las proteínas E6 y E7. Estas proteínas presentan actividad oncógena y afectan al crecimiento celular, uniéndose a las proteínas supresoras tumorales, E6 con p53 y E7 con proteína de supresión tumoral del retinoblastoma, alterando la apoptosis y la regulación del ciclo celular.

La respuesta inmunitaria a la infección por el VPH es menos intensa que la de otras infecciones virales. Las proteínas virales y los viriones infecciosos

se desarrollan en células superficiales, con limitado contacto con el sistema inmunitario, sin lisis celular o viremia desencadenantes de una respuesta inflamatoria. Por otro lado, el VPH inhibe diversos componentes de la respuesta inmunitaria, como la vía de los interferones y la expresión de citocinas inflamatorias y del complejo principal de histocompatibilidad de clase I.

La proliferación celular inducida por el VPH también se asocia con el aumento del tráfico de leucocitos y la angiogénesis, que es el resultado de la producción de numerosas citocinas y quimiocinas, como el factor de necrosis tumoral- α ; la proteína quimiotáctica monocítica-1; la quimiocina CCL27; el factor de crecimiento celular endotelial vascular; los interferones α , β y γ ; la proteína inducible por interferón γ -10, CXCL10; el ácido retinoico y el factor de crecimiento tumoral- β (87).

Después de una infección por VPH, se desarrolla una respuesta inmunitaria humoral y celular, pero su correlación con las pruebas de laboratorio no es necesariamente uniforme o constante. Las proteínas E7 y L1 son los antígenos más potentes. La estimulación tras la inmunización de la formación de anticuerpos neutralizantes frente a la proteína L1 nativa se ha aprovechado para producir las vacunas actualmente disponibles (88).

La infección persistente por varios tipos de VPH genital de alto riesgo está firmemente establecida como causa del carcinoma escamoso y el adenocarcinoma de cuello uterino, y el VPH 16 en particular desempeña una función causal en otros cánceres escamosos anogenitales y orofaríngeos (89).

5.3.4 TIPOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS:

Actualmente se han caracterizado al menos 184 tipos de VPH y se han reconocido otros muchos. Los VPH muestran especificidad de huésped y cada tipo se asocia, en gran medida, a un proceso histopatológico distintivo.

A continuación se muestran diferentes tipos de VPH y su asociación con diferentes enfermedades en función del tropismo celular del VPH que puede infectar superficies cutáneas y mucosas (90) : (Tabla 3)

La distinción entre la asociación frecuente y menos frecuente es arbitraria en muchos casos. La estadística descriptiva a gran escala de la distribución del tipo de VPH por enfermedad no está disponible para la mayoría de los tipos de VPH. Además, muchos tipos de VPH se han buscado o identificado una sola vez.

Enfermedad	Genotipo HPV
Verrugas plantares	1, 2, 4, 26, 27, 29, 41, 57, 63, 65, 77, 117, 125, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 148, 149
Verrugas comunes	1, 2, 4
Verrugas comunes de manipuladores de carne, aves y pescado	2, 7, 1, 3, 4, 10, 28
Verrugas planas e intermedias	3, 10, 26, 27, 28, 38, 41, 49, 75, 76, 126
Epidermodisplasia verruciforme	5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 36, 37, 38, 47, 49, 50, 93
Condilomas acuminados	6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 153
Neoplasia intraepitelial, sin especificar	26, 30, 34, 39, 40, 53, 57, 59, 61, 62, 67, 68, 69, 71, 81, 83
Bajo grado	6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 54, 61, 70, 72, 74
Alto grado	6, 11, 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 66, 67
Carcinoma de cérvix	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 73, 82
Papilomatosis respiratoria recidivante	6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39
Hiperplasia epitelial focal de Heck	16, 32, 18, 33, 45
Papilomas y carcinomas conjuntivales	6, 11, 16
Otras lesiones cutáneas	36, 37, 38, 41, 48, 60, 72, 88, 92, 93, 94, 95, 96, 107, 110, 111, 155, 174
Otras lesiones genitales	30, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 97, 101, 102, 103, 106, 175, 180
Tejido sano cutáneo o de mucosas	80, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 127, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 150, 151, 156, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173

Tabla 3: Relación entre genotipo de VPH y manifestaciones clínicas.

5.3.5 VPH Y CÁNCER :

El potencial oncogénico de los papilomavirus animales se mostró hace años en pacientes con epidermodisplasia verruciforme. En estos pacientes, las lesiones cutáneas características inducidas por tipos específicos de VPH sufren a menudo transformación maligna, sobre todo cuando aparecen en zonas expuestas a la luz solar . La mayor parte de la investigación sobre el potencial oncogénico de los VPH se ha centrado en cánceres del tracto genital (91).

En los últimos 30 años, una serie amplia y coherente de observaciones biológicas y epidemiológicas ha demostrado que la infección por VPH es la causa necesaria aunque no suficiente, para el desarrollo del cáncer de cuello uterino:

- ✓ Existe una fuerte asociación entre los tipos de VPH denominados de alto riesgo oncogénico (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 66 de la clasificación de la International Agency for Research on Cancer) y el cáncer de cuello uterino.
- ✓ La asociación ha sido específica, de forma que entre los cerca de 40 tipos de VPH asociados con los órganos genitales o, más ampliamente, las superficies mucosas, sólo un subconjunto de los tipos (por lo menos 15) son oncogénicos para el cuello uterino.
- ✓ La infección por VPH precede al desarrollo de anomalías cervicales y de cáncer. La mayoría de las infecciones por VPH son transitorias y duran una media de 13,5 meses para los VPH de alto riesgo y 4,8 meses para los tipos de bajo riesgo. Sin embargo, entre el 15% y el 30% de las mujeres con citología cervical normal, pero con alto riesgo de infección por VPH, desarrollan en los siguientes 4 años una neoplasia intraepitelial cervical (CIN) de grado 2 o 3. Por el contrario, la CIN 2 o 3 es poco probable que se desarrolle en las mujeres con anomalías citológicas escamosas leves que sean negativas para el VPH de alto riesgo. Aunque la eliminación del ADN del VPH parece preceder a la

desaparición de las lesiones cervicales, la persistencia de ADN del VPH después del tratamiento para la CIN 2 o 3 es un factor predictivo de recaída.

- ✓ La asociación temporal entre el VPH y las lesiones premalignas del cuello uterino ha demostrado ser útil para las estrategias de prevención. Por tanto, el análisis de VPH es más sensible que la citología cervical repetida en la identificación de mujeres con células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US, por su acrónimo en inglés) que en aquéllas con CIN 2 o 3. El número de parejas sexuales, la edad de la primera relación sexual y la conducta sexual del varón son factores de riesgo para las infecciones por VPH y el cáncer de cuello uterino, que ocurre más adelante en la vida. Esta secuencia temporal es compatible con una relación de causalidad entre la infección y el cáncer (92).
- ✓ En algunos estudios, se ha observado una relación directa entre la carga viral y el riesgo de cáncer, que es compatible con un gradiente biológico.
- ✓ Diversas líneas de evidencia biológica apoyan el papel oncogénico del VPH. Casi todas las células neoplásicas en los tejidos del cáncer de cuello uterino contienen ADN del VPH, incluidas las metástasis. Los genes E6 y E7 tienen un mayor nivel de expresión en neoplasias que en lesiones benignas.
- ✓ Existen ensayos clínicos de la vacuna del VPH que han demostrado ampliamente que la inmunización contra los tipos 6, 11, 16 y 18 del VPH protege no sólo contra la infección posterior, sino también contra enfermedades (verrugas y neoplasias intraepiteliales de todos los grados) causadas por el genotipo homólogo en el cuello uterino, la vagina y la vulva y en la parte externa de los genitales masculinos y el ano (90).

5.3.6 MÉTODOS DE DETECCIÓN DEL VIRUS :

La detección del VPH se ve facilitada por los avances recientes en biología molecular. Las pruebas de detección del VPH se dividen en tres categorías (93):

- Prueba de ADN del VPH: La prueba de ADN del VPH fue el primer método desarrollado aplicable a la práctica clínica. Muchos estudios demostraron que las pruebas de ADN del VPH sumado a la citología cervical mejoraba la sensibilidad para la detección de lesiones precursoras del cáncer de cuello uterino, como la neoplasia intraepitelial cervical (CIN) 2 y 3. Sin embargo, la especificidad también disminuyó, lo que ocasionaba la posible derivación innecesaria de mujeres para la realización de una colposcopia.
- Prueba de Ácido Ribonucleico (ARN) del VPH: la prueba del ARN del VPH, busca la expresión del ARN en las proteínas E6 y / o E7, puede realizarse con la expectativa de que la expresión activa del oncogén del VPH proporcione una sensibilidad y especificidad equivalentes a las del ADN del VPH. La prueba basada en ARN ha recibido la aprobación de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) para la detección del VPH cervical, ya que mejora significativamente la especificidad de detectar CIN grado 2 y superior, disminuyendo así la tasa de falsos positivos en comparación con las pruebas de detección ADN del VPH.
- Detección de marcadores celulares: la detección de marcadores celulares utiliza un enfoque distinto para diagnosticar la enfermedad asociada al VPH. La proteína E7 del VPH altera el ciclo celular, lo que conduce a un aumento en la expresión de la proteína p16 celular. Las lesiones CIN de alto grado contienen altos niveles de p16 y los patólogos a menudo inmunizan las biopsias cervicales para ayudar a distinguir entre CIN de alto grado y metaplasia escamosa inmadura, que no está asociada con el VPH y no es precancerosa. Un extenso estudio que investiga la combinación de citología de doble tinción p16 / Ki-67 ha demostrado una sensibilidad superior y una especificidad no

inferior a la citología oncológica de Papanicolau para detectar las lesiones intraepiteliales escamosas cervicales de alto grado (HSIL) (94). Ninguna de las pruebas basadas en p16 está aprobada por la FDA para detección en este momento.

Hay varias pruebas de ADN del VPH que actualmente están aprobadas por la FDA para uso clínico. Estos incluyen Captura de híbridos (HC2 HPV test), test Cervista y el test Cobas 4800 basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). HC2 detecta 13 tipos diferentes de VPH de alto riesgo oncogénico e informa los resultados como positivos para uno o más de estos tipos, o negativos para todos. Las pruebas de Cervista y Cobas detectan HPV 66 además de los 13 tipos de HPV detectados por HC2. La prueba de Cobas identifica los tipos de VPH 16 y 18, mientras que detecta los 12 tipos restantes en una mezcla de sonda. La prueba de Cervista indica positividad para uno o más tipos en la mezcla de 14 sondas, pero también ofrece la opción de realizar pruebas específicamente para HPV 16/18. La prueba Aptima HPV es una prueba basada en ARN aprobada también por la FDA.

5.3.7 VACUNA DEL VPH EN VARONES :

Las vacunas frente al VPH son vacunas de subunidades hechas de la proteína principal de la cápside viral del VPH. Partículas similares a virus (VPL, por sus siglas en inglés, Virus-Like Particles) que se preparan a partir de proteínas recombinantes. Las VPL imitan la estructura del virus nativo, pero no contienen ningún ADN viral por lo que no tienen ni capacidad infectiva, ni replicativa ni oncogénica.

Todas son vacunas profilácticas, diseñadas para prevenir la infección inicial por VPH y las lesiones posteriores asociadas con el mismo. Las vacunas terapéuticas, diseñadas para inducir la regresión de las lesiones asociadas al VPH ya existentes, están en desarrollo, pero no están clínicamente disponibles en la actualidad.

Se han desarrollado tres tipos de vacunas diferentes, aunque no todas están disponibles en todos los países. A continuación se describen los tres tipos de vacunas junto con sus nombres comerciales:

- La vacuna tetravalente contra el VPH (Gardasil®) se dirige a los tipos de VPH 6, 11, 16 y 18.
- La vacuna nonavalente (Gardasil®9) tiene como objetivo los mismos tipos de VPH que la vacuna tetravalente (6, 11, 16 y 18), así como los tipos 31, 33, 45, 52 y 58.
- La vacuna bivalente (Cervarix®) se dirige a los tipos de VPH 16 y 18.

Las vacunas han demostrado diferentes grados de protección cruzada para otros tipos de VPH oncogénicos no incluidos en los preparados, lo que permite obtener una eficacia protectora global frente a lesiones preneoplásicas por VPH superior a la esperada.

La vacuna contra el VPH proporciona un beneficio directo a los receptores masculinos protegiendo de forma segura contra los cánceres que pueden resultar de la infección persistente por VPH. Los tipos de VPH 16 y 18 causan casi el 90 por ciento de los cánceres anales y una proporción sustancial de cánceres de la orofaringe y de pene. La vacunación con vacuna nonavalente o cuadrivalente también protege contra las verrugas anogenitales (90 por ciento de las cuales son causadas por los tipos de VPH 6 y 11). La carga general de los cánceres y precánceres asociados al VPH entre los hombres es menor que la carga del cáncer de cuello uterino en las mujeres. Sin embargo, a pesar de un beneficio absoluto directo menor de la vacunación contra el VPH en los hombres en comparación con las mujeres, el beneficio general de la vacunación de los hombres supera sus riesgos potenciales debido a los beneficios poblacionales adicionales de la inmunidad colectiva y la seguridad documentada de las vacunas contra el VPH.

Varios modelos han indicado que la vacunación tanto en hombres como en mujeres es más beneficiosa en la reducción de la infección y enfermedad por VPH que vacunar solo a mujeres, aunque la vacunación masculina es menos rentable que la vacunación femenina en términos de coste-efectividad (95).

En el ensayo clínico aleatorizado realizado por Palefsky y colaboradores, en el cual participaron 602 HSH, se comparó la vacuna tetravalente frente a placebo y se observó una eficacia global del 50% y una reducción significativa de NIA de bajo y de alto grado (96).

El Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización (ACIP), recomienda la vacunación del VPH con Gardasil® a los 11-12 años de edad pudiéndose administrar a partir de los 9, y se recomienda la vacunación para hombres de entre 13 y 21 años que no hayan sido vacunados previamente o que no hayan completado la vacunación. Entre los hombres de 22 a 26 años de edad, se recomienda la vacunación contra el VPH cuando se trata de HSH o inmunocomprometidos (incluidos los hombres infectados por el VIH). De lo contrario, se recomienda el "uso permisivo" de la vacuna contra el VPH para este rango de edad.

En entornos de recursos limitados, los grupos de expertos recomiendan que los esfuerzos de salud pública se centren principalmente en vacunar a las mujeres jóvenes, el grupo en el cual el beneficio absoluto y la rentabilidad de la vacunación contra el VPH son los más altos.

5.4 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LESIONES PRENEOPLASICAS Y NEOPLASIA DE CANAL ANAL:

El mejor tratamiento del cáncer de células escamosas del canal anal es la prevención. La interrupción de su historia natural en estadios iniciales, antes de que se desarrolle un cáncer invasivo es el tratamiento conocido más efectivo hasta el momento. A pesar de que carecemos de evidencia basada en ensayos clínicos sobre el impacto del cribado de las lesiones preneoplásicas sobre la incidencia real de esta neoplasia, el éxito en la reducción de la incidencia del cáncer de cuello uterino basado en el cribado mediante la citología cervical, hacen pensar en la citología como la herramienta ideal para su detección a priori.

Aunque no existe consenso sobre la utilidad del cribado sistemático en la prevención del cáncer de células escamosas del canal anal, este procedimiento es cada vez más habitual entre los especialistas a cargo de pacientes de grupos de riesgo y sensibilizados sobre este problema de salud. Las técnicas actuales para detectar precursores del cáncer anal incluyen la citología, la detección del Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo (HPV-AR), la Anoscopia de Alta Resolución (AAR) y el tacto rectal. Todos menos el último tienen la detección de HSIL anal como su objetivo; lo que se espera del tacto rectal es que detecte un cáncer en una etapa más temprana que el de una presentación sintomática.

Tampoco existe consenso sobre cuál es el mejor protocolo de cribado. El patrón oro para el diagnóstico de las NIA es la biopsia anal con el consiguiente diagnóstico histológico. Este último nos informa del grado de displasia y de la profundidad de la lesión. No obstante, el primer paso llevado a cabo en la actualidad por la mayoría de los especialistas es la realización de una citología anal. El objetivo de este primer paso es identificar a los individuos con citología anormal (células escamosas atípicas de significado indeterminado, lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado y lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado), para la realización de anoscopia de

alta resolución con toma de biopsia, y así poder identificar las lesiones displásicas para su tratamiento y evitar su progresión hacia carcinoma invasor.

Existen ya publicaciones que hablan de una pobre concordancia entre el diagnóstico citológico e histológico, siendo posible que un número no despreciable de pacientes con citología anal normal pueda tener una lesión intraepitelial preneoplásica (97).

A la espera de un tratamiento específico contra el VPH y que la vacuna muestre efectividad entre la población VIH+, el mejor tratamiento es el control periódico y la prevención de la infección.

5.4.1 INSPECCIÓN DE MARGEN ANAL Y CITOLOGÍA :

La infección por HPV anal es asintomática, aunque en ocasiones se pueden observar lesiones exofíticas y palpables o pequeñas áreas hiper o hipopigmentadas, por lo general no pruriginosas. El diagnóstico de la NIA puede ser también incidental, en hemorroidectomías o extirpación de colgajos anales “skin tags” y desde luego en resecciones de condilomas anales, por lo que sin duda el comienzo de la exploración debe ser la inspección del margen anal llevado a cabo por personal entrenado.

La citología exfoliativa anal debe realizarse con un hisopo de fibra de poliéster humedecido con agua (no de algodón) para recoger las células antes de realizar la anoscopia de alta resolución o del tacto rectal, ya que el ácido acético o el lubricante pueden influir en la interpretación. Los pacientes deben recibir instrucciones de evitar el sexo anal, y el uso de enemas antes de este procedimiento, ya que estas prácticas disminuyen el rendimiento celular.

El paciente se coloca en posición proctológica de navaja “Jack-knife”, y el hisopo se inserta suavemente hasta que no se pueda avanzar más porque ha llegado a la pared del recto, posicionando el hisopo proximal a la unión escamo-columnar. El hisopo se retira con presión lateral utilizando un movimiento en espiral para muestrear toda la circunferencia del canal anal.

Debido a que el procedimiento se realiza a ciegas, se toman muestras de las células del recto inferior, la zona de transformación escamamo-columnar y el canal anal.

La muestra puede extenderse y fijarse convencionalmente con etanol o procesarse usando una técnica de citología líquida específica (Thin-prep) antes de teñir con el método de Papanicolaou. El último método es preferible cuando existe disponibilidad, ya que puede producir mejores resultados entre médicos con experiencia limitada en la realización de la citología anal.

La citología nos da la oportunidad de poder realizar estudios inmunohistoquímicos (P16 y Ki67) y moleculares (genotipado de VPH por PCR). Se precisa de un citopatólogo entrenado específicamente en citología anal. Las muestras se clasificaran en función de la nomenclatura de Bethesda de manera similar al cérvix.

Según una revisión sistemática de Chiao y colaboradores (24), la citología anal muestra una sensibilidad del 69-93% y una especificidad del 32-59% en la era de los antirretrovirales. Dada su baja especificidad, muchos pacientes serían sometidos a una anoscopia de alta resolución, con el gasto y consecuencias psicológicas que esto conllevaría. Por otra parte diversos trabajos señalan que la alteración citológica se correlaciona pobremente con la alteración histológica (98), existiendo varios estudios que constatan que la citología infradiagnostica la enfermedad (70), (99), siendo un mal predictor para la NIA de alto grado en población VIH+ (100). La diferencia entre una lesión premaligna y maligna es la integridad de la membrana basal y para ello precisamos de una biopsia con cortes histológicos y por ello las lesiones sospechosas deben tener un diagnóstico histológico y no citológico (101).

Actualmente existen estudios que apuestan por la autocolectión de muestras de citología anal que parece tener una sensibilidad similar a la de las muestras obtenidas por los médicos, de manera que puede servir para aumentar el cumplimiento por parte del paciente y disminuir el coste del cribado (102).

Independientemente de que existan estudios a favor y en contra de la citología como método de cribado, ésta debe realizarse en centros con experiencia, donde se pueda realizar un seguimiento, confirmación histológica por biopsia y tratamiento de las lesiones como avala el grupo de Palefsky con más de 10 años de experiencia (41).

Un problema fundamental radica en que no existe consenso ni recomendaciones definitivas para el cribado de lesiones preneoplásicas anales. Algunos autores recomiendan la inspección visual de la zona perianal, tacto rectal para detectar si existen masas palpables a nivel del canal anal y una citología basal seguida de control anual en pacientes VIH y cada dos años en sujetos inmunocompetentes.

5.4.2 ANOSCOPIA DE ALTA RESOLUCIÓN (AAR):

Esta exploración se debe de llevar a cabo por personal entrenado específicamente. La anoscopia de alta resolución ha resultado ser muy eficaz en el diagnóstico de la NIA y en la literatura se recoge como técnica de elección para despistaje de este tipo de lesiones. No obstante a pesar de facilitar la identificación de pacientes con NIA, su utilización seriada, para valorar la progresión de NIA a carcinoma anal, no parece ofrecer ventaja alguna respecto a la inspección simple y observación (103).

Ante una citología anal anormal, el siguiente paso en la evaluación diagnóstica es la anoscopia de alta resolución. Este procedimiento permite al médico visualizar lesiones que podrían corresponderse con la existencia de células anormales y obtener muestras de biopsia para la evaluación histopatológica. Al igual que en el cuello uterino, la histopatología anal es necesaria para evaluar la gravedad de la enfermedad, ya que no se puede establecer con precisión mediante evaluación visual o citología sola.

Antes de la visualización, para la que se necesita un colposcopio de alta resolución para magnificar las alteraciones de la superficie mucosa del canal anal, se realizan dos tinciones de manera secuencial (Figura 4). En primer lugar, se introduce un hisopo de algodón impregnado en ácido acético al 3-5%. Se deja aproximadamente unos dos minutos de forma que se impregne de manera uniforme toda la circunferencia. El ácido acético produce una apariencia blanquecina en áreas de epitelio de transición anormal y facilita el examen de la mucosa para la anoscopia, como lo hace para la colposcopia cervical. Esta tinción puede tomar distintos aspectos interpretándose como mayor o menor grado de displasia.



Figura 4: Colposcopio de alta resolución utilizado en consulta para poder magnificar las alteraciones de la superficie mucosa del canal anal.

El ácido acético produce una coagulación reversible de las proteínas llamada "acetoblanqueamiento" anal, con características específicas en las lesiones susceptibles de ser preneoplásicas (lesiones acetoblancoas). Las lesiones acetoblancoas pueden ser: punteadas, granuladas (granulado fino y grueso), en mosaico, con vascularización atípica, ulceraciones, cerebriformes y multipapilares (generalmente estas dos últimas corresponden a condilomas). No todas las lesiones acetoblancoas son NIA, por lo que la utilización en exclusiva de ácido acético para definir las lesiones subsidiarias de biopsia induce a la realización de biopsia de todas las lesiones interpretadas como acetoblancoas y, por lo tanto, a un número importante de biopsias innecesarias en pacientes en seguimiento controlados con AAR periódicas.

En segundo lugar se realiza la aplicación del lugol mediante hisopo empapado (test de Schiller) que aunque prolonga algo el estudio AAR, es aceptablemente tolerada y nos permite seleccionar para biopsia aquellas lesiones acetoblancoas no captantes, además de hacer evidentes algunas lesiones premalignas no observadas en el acetoblanqueamiento difuso de la mucosa anal. Ante un coloreado marrón de manera uniforme, la mayor posibilidad es que se trate de células no neoplásicas cuyo alto contenido glucogénico permite la captación del yodo aportado por el lugol. Algunas lesiones acetoblancoas son «lugol parcialmente negativas» y también son biopsiadas en el área correspondiente.

Para la biopsia de zona sospechosa no sobreelevada se infiltra en la submucosa de la lesión anestésico local con vasoconstrictor antes de la toma de muestra mediante pinzas de biopsia tipo Tischler. (Figuras 5, 6 y 7)

La muestra se envía a anatomía patológica para su análisis fijada en formol. Tras esto, se hace revisión del canal anal para realizar hemostasia.



Figura 5: Material necesario para llevar a cabo las pruebas de cribado. Se muestra, de izquierda a derecha: paño estéril, funda protectora transparente de colposcopio, anoscopio de plástico transparente de un solo uso, torunda para la realización de tinciones, tijera, pinza de biopsia, gel lubricante, cepillo para la toma de citología y cubiletes con tinciones (ácido acético al 3% y lugol).



Figura 6: Realización de AAR, paciente en posición de "Jack-Knife"



Figura 7: Lesión acetoblanca sugestiva de NIA-AG.

A continuación se muestra una tabla orientativa de clasificación de los hallazgos en la AAR:

	Características de superficie	Características de epitelio	Características vasculares	Tinción con Lugol
NIA Bajo Riesgo	Plana o elevada	Papilar, micropapilar	Punteado fino o grueso, vasos verrugosos	Negativa parcial o completa
NIA Alto Riesgo	Plana o ligeramente elevada	Liso	Punteado grueso, patrones en mosaico, aumento de la vascularización	Negativa
Cáncer	Elevada, ulcerada, raramente plana	Deslustrado, depapilado	Vasos atípicos, grandes, no ramificados, muy dilatados, friables	Negativa

Tabla 4: Características típicas de neoplasia intraepitelial anal y cáncer en anoscopia de alta resolución. Tomada y adaptada de *Pfenninger and Fowler's Procedures for Primary Care 2011*. J. Michael Berry y Naomi Jay. *High-resolution anoscopy. Chapter 99, 677-684. Textbook .3 ed.*

Los programas formales de capacitación para realizar AAR han sido creados recientemente. El primer curso en AAR se llevó a cabo en San Francisco junto con la Sociedad Estadounidense de Colposcopia y Patología Cervical (ASCCP) en agosto de 2005. Actualmente se ofrece anualmente.

5.4.3 GENOTIPADO DE VIRUS DEL PAPILOMA DE ALTO RIESGO (VPH-AR):

El VPH es altamente prevalente en las poblaciones con alto riesgo de cáncer anal. La prueba de VPH-AR (por ejemplo, con la captura de híbridos) se ha considerado como una herramienta de detección para HSIL en HSH VIH-positivos para clasificar a que pacientes referir a AAR. Tiene una sensibilidad más alta que la citología pero la especificidad de la detección de VPH-AR sola es demasiado baja como para mejorar la citología sola (24).

El estudio de Goldstone encontró que los pacientes con citología de ASCUS que tenían HSIL comprobada por biopsia en AAR eran positivos para VPH-AR. No hubo pacientes con citología de ASCUS que eran VPH negativos que tenían HSIL en AAR. Por lo tanto, una combinación de pruebas de citología y VPH-AR puede evitar la necesidad de una AAR innecesaria para ASCUS (104).

La evidencia de la persistencia y regresión de VPH-AR se puede utilizar para la clasificación dentro de los esquemas de seguimiento, evitando el seguimiento innecesario para los pacientes de menor riesgo, aunque se requiere más evidencia.

5.4.4 BIOMARCADORES :

Una forma de mejorar la especificidad en el futuro será utilizar biomarcadores para identificar las lesiones que tienen un mayor potencial de transformación maligna.

Aquellos estudiados hasta ahora usando muestras de citología o VPH incluyen proteínas de mantenimiento de minicromosoma (MCM2 y 5) (105), p16, Ki-67 y detección de ARN-m con carga viral VPH 16 que predice HSIL y ARN-m de AR-HPV que duplica la especificidad sobre la detección de ADN de VPH (106).

En un estudio, se observó el índice más alto de Youden (sensibilidad + especificidad - 1) para el ARNm del VPH E6 / 7 en comparación con HPV 16/18, la citología p16 / Ki-67 y la prueba del ADN del VPH 21, aunque la sensibilidad es menor con E6 / 7. Como las proteínas E6 / E7 son específicas de la infección por VPH oncogénica, se espera que las lesiones que tienen más probabilidades de progresar a cáncer sean las que se detecten (107). Actualmente, muchas de estas pruebas no están disponibles en muestras de citología.

5.4.5 RECOMENDACIONES:

No hay ensayos clínicos aleatorizados que documenten el valor del cribado de lesiones intraepiteliales escamosas anales en una población de riesgo. En cambio, el fundamento de la detección se basa en las similitudes entre el canal anal y el cuello uterino y el éxito establecido de las pruebas de citología cervical para reducir la incidencia del cáncer de cuello uterino.

Existe evidencia indirecta que respalda el uso del cribado en poblaciones de alto riesgo que deriva de varios puntos (24): la alta incidencia de cáncer anal en las poblaciones para las cuales se propone la detección, la disponibilidad de modalidades de detección que pueden diagnosticar eficazmente la lesión precursora HSIL, la disponibilidad de tratamientos efectivos que pueden eliminar HSIL, la morbilidad y mortalidad significativas asociadas con el cáncer anal si no se previenen mediante un cribado y tratamiento efectivos y la relación coste-efectividad de la detección avalada por el modelo de Markov (108).

El Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos no ha adoptado directrices formales que recomienden el cribado de lesiones precancerosas. Para pacientes infectados por VIH, la Asociación Médica del VIH de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América hace una recomendación

débil basada en pruebas de calidad moderada para la detección con citología anal en HSH, mujeres con antecedentes de relaciones anales receptivas o resultados anormales de pruebas de Papanicolau y aquellos con verrugas genitales.

La última guía de recomendaciones disponible es la Germano-Austríaca publicada en 2015 aplicable solo a personas con VIH y el algoritmo es complejo, teniendo en cuenta las técnicas de detección actualmente disponibles. Se recomienda una evaluación anual con examen clínico y citología para los borderline / ASCUS antes de la AAR. A todos los pacientes de riesgo en la historia clínica, el examen o la citología se realizará una AAR inmediata. Estas pautas son las primeras en proporcionar una guía práctica basada en la evidencia para los médicos con respecto a los pacientes con un riesgo tan alto de una enfermedad aparentemente prevenible (109).

En la mayoría de los centros hasta el momento se ha llevado a cabo el algoritmo de cribado propuesto por Palefsky y colaboradores, reiterando que no existe un esquema estandarizado, ni universalmente aceptado. A los pacientes con factores de riesgo se les realiza como primera prueba una citología anal. Si el resultado es negativo y se trata de un paciente inmunodeprimido, se repetirá la citología en un año. Por el contrario, cualquier alteración en la citología será indicación de exploración mediante AAR y biopsia. Si se detecta en la biopsia una NIA de bajo grado, está indicada repetir la anoscopia en 6 meses. Si se encuentra una NIA de alto grado, estará indicado tratarla. Si tras una citología alterada no encontramos hallazgos en la anoscopia, la actitud propuesta depende de los autores, aunque lo más prudente es repetir la anoscopia en 6 meses. En situaciones concretas, puede ser aconsejable la realización directa de anoscopia y biopsia, sin necesidad de citología previa. Es el caso de los pacientes con hallazgos positivos en tacto rectal inicial y los que presentan antecedentes de displasia genital, además del seguimiento de pacientes ya tratados (110).

A continuación se muestra el algoritmo propuesto por este grupo:

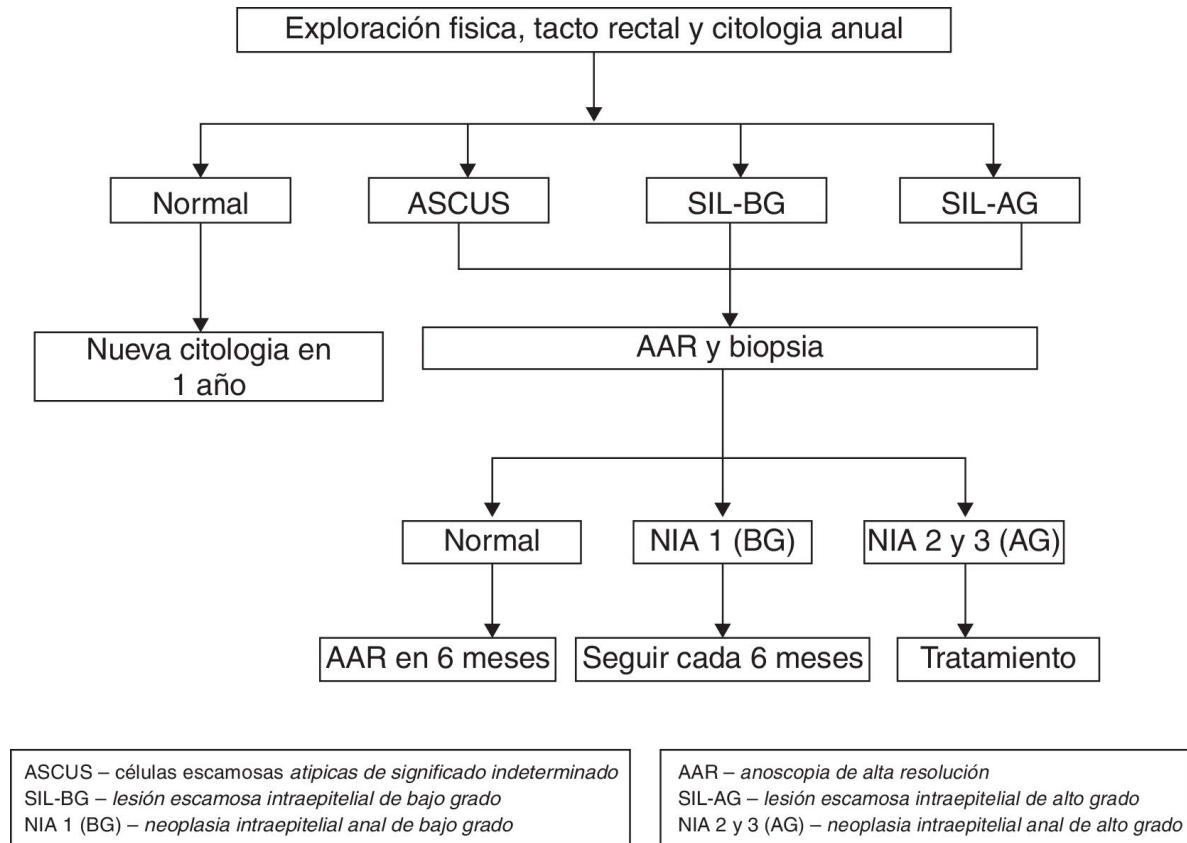


Figura 8: Tomado de *Palefsky JM, Holly EA, Hogeboom CJ, Berry JM, Jay N, Darragh TM. Anal cytology as a screening tool for anal squamous intraepithelial lesions. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol. 1997;14(5):415-22.*

6. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el modo de transmisión de la infección por VIH en nuestro país ha cambiado en relación a la de los años 90. La transmisión entre HSH es la más frecuente suponiendo un 46,1% del total. Las manifestaciones clínicas de la infección por VIH también han ido cambiando y la mayor supervivencia de estos pacientes ha dado lugar a algunos cambios en la clínica de esta infección. En pacientes VIH el cáncer de canal es el segundo tumor no definitorio de SIDA más frecuente, además la introducción del TARGA no ha supuesto un descenso de la prevalencia de esta enfermedad sino todo lo contrario.

El cáncer anal ha experimentado un aumento de incidencia en los últimos años. Al igual que el cáncer cervical esta mediado por el VPH. Ambas entidades van precedidas de una serie de cambios precancerosos planteando la posibilidad de dirigir los esfuerzos preventivos hacia los grupos de alto riesgo.

Aún con la evidencia disponible en la actualidad sigue siendo controvertida la indicación de cribado y cuáles serían los métodos de detección ideales para la realización del mismo.

Existen argumentos claros a favor del cribado tales como el indiscutible aumento del cáncer anal en la población en general y en pacientes VIH en particular, la evidencia disponible de la progresión de neoplasia intraepitelial de alto grado hacia cáncer anal, la identificación de las lesiones preneoplásicas y su tratamiento disponible como base para la reducción de la enfermedad y la disminución de la morbilidad asociada a la detección del cáncer en fases tardías.

Existen varios estudios que demuestran que la correlación entre la citología como prueba de cribado y la biopsia como “gold standard” de diagnóstico no es buena creándose la necesidad de la realización de AAR con toma de biopsias. En el año 2010 Salit y colaboradores publican un estudio transversal que incluye 401 pacientes HSH, VIH+ correlacionando los resultados de la citología con la biopsia. La citología fue anormal en el 67% de los casos (HSIL 12%, LSIL 43%, ASCUS 12%). Se detectó VPH en el 93% de

las muestras. Las biopsias fueron patológicas en el 68% de los casos (NIAAG 25%, NIABG 43%). La importancia radica en que el 16% de las citologías sin alteraciones correspondían con NIIAG y solo se habrían diagnosticado por citología 47 pacientes de los 98 que diagnosticó la anoscopia con toma de biopsia (111).

En la misma línea Goldstone y colaboradores en el año 2009 estudian la correlación entre citología y la AAR con toma de biopsia en 200 pacientes HSH de ellos el 60% con infección por VIH y encuentran nuevamente una correlación mala entre los resultados de la citología y la histología en los mismos pacientes. El 20% de las NIA de alto grado correspondían a citologías de bajo grado (112).

En estos años se ponen en marcha en distintos centros diferentes estrategias de cribado para intentar reducir la incidencia de cáncer anal y desarrollar modelos óptimos para la detección de lesiones preneoplásicas.

En este marco, en el año 2012, se pone en marcha en el Hospital Universitario Gregorio Marañón de Madrid un programa de screening sobre población de riesgo con el objetivo de mejorar las estrategias de cribado disponibles y la evidencia acerca de la mala correlación existente entre las pruebas de cribado que venían usándose hasta el momento.

7. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS DE TRABAJO:

¿Permiten la citología, la anoscopia de alta resolución y el genotipado del virus del papiloma humano de forma aislada o combinada establecer un modelo predictivo para la detección precoz del carcinoma epidermoide del canal anal en población de riesgo?

OBJETIVOS:

1. Validar la anoscopia de alta resolución como herramienta útil en la detección precoz de lesiones precursoras de cáncer de canal anal, en población de riesgo, comparándolo con el estándar que en nuestro caso será la biopsia.
2. Validar la citología como método de screening comparándola con el estándar.
3. Validar el genotipado del HPV como método de screening comparándolo con el estándar.
4. Establecer un modelo epidemiológico comparativo entre el estado de inmunosupresión de los pacientes y el desarrollo de lesiones premalignas o malignas, con el objetivo de definir estadios inmunológicos que nos orienten hacia el riesgo de desarrollo de neoplasias.
5. En función de los resultados de los objetivos anteriores, desarrollar un modelo predictivo basado en las diferentes pruebas, para la detección precoz de neoplasias de canal anal.
6. Estudiar nuevos métodos de despistaje que contribuyan en el futuro a un mejor diagnóstico de lesiones preneoplásicas de canal anal.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 TIPO DE ESTUDIO:

Estudio transversal en el que la recogida de datos se ha llevado a cabo de forma prospectiva.

8.2 PERIODO DE ESTUDIO:

Desde 1 Enero de 2013 hasta 31 de diciembre de 2014 (2 años).

8.3 INSTITUCIÓN DONDE SE REALIZA EL ESTUDIO Y SERVICIOS IMPLICADOS:

El estudio se lleva a cabo en el Hospital Universitario Gregorio Marañón, con pacientes pertenecientes al área protegida del mismo hospital y del Hospital Universitario Infanta Leonor. En el estudio participan los siguientes servicios:

- Servicio de Enfermedades Infecciosas: realizando el reclutamiento de los pacientes que son incluidos en el estudio, diagnóstico, tratamiento y seguimiento del estado inmunológico de los mismos.

- Servicio de Cirugía General y Digestiva: en cada visita específica a la consulta de screening de cáncer de canal la exploración proctológica, toma de citología, AAR con tinciones y toma de biopsia es realizada por un cirujano general con más de 15 años de experiencia profesional y 2 años de experiencia en AAR al inicio del estudio.

- Servicio de Anatomía Patológica: interpretación de los resultados de la citología y la biopsia. La citología fue informada siguiendo el sistema de clasificación Bethesda y un sistema paralelo a la clasificación histopatológica de las neoplasias intraepiteliales cervicales en el caso de las biopsias.

- Servicio de Microbiología: genotipado del VPH

- Servicio de Oncología Radioterápica: tratamiento del cáncer en estadio seleccionado.

8.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Pacientes hombres que tienen sexo con hombres VIH+ .

8.5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Mujeres con antecedentes de neoplasia intraepitelial cervical de alto grado (CIN III) .

8.6 PROTOCOLO DE DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO:

Cada uno de los pacientes remitidos en primera visita por el Servicio de Enfermedades Infecciosas y en revisión, en función de los resultados de la biopsia, a la consulta específica de screening de cáncer anal seguía el siguiente circuito diagnóstico:

Exploración proctológica, citología anal y exploración mediante AAR con toma de biopsia guiada de las lesiones sospechosas y, en caso de no haberlas, una biopsia aleatoria, considerando como sospechosas aquellas lesiones con alteraciones tintoriales o morfológicas. En caso de objetivarse presencia de verrugas múltiples dentro del canal anal, los pacientes no fueron incluidos en el presente estudio hasta no ser tratados, ya que, la presencia de condilomas acuminados puede ocultar áreas displásicas que pueden pasar desapercibidas en la AAR.

Previa a la realización de AAR se realizó cepillado circunferencial mediante la técnica previamente descrita para la toma de muestra citológica y envió en medio líquido (*Thinprep pap test: Hologic Inc*). Las muestras fueron informadas según el sistema de Bethesda (113) y se establecieron 4 categorías: normal, ASCUS, lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado, y lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado. Para el presente estudio se excluyeron aquellas citologías con resultado no valorable.

Las AAR se llevaron a cabo por mano de un cirujano general, en una mesa proctológica con el paciente en posición de “Jack-Knife” utilizando un anoscopio de plástico transparente de un solo uso y un colposcopio como

fuente de luz con visión binocular de gran aumento. Todas las anoscopias fueron llevadas a cabo por el mismo cirujano general con 15 años de experiencia profesional y 2 años de experiencia en anoscopias al inicio del estudio.

Las tinciones se llevaron a cabo mediante la aplicación tópica secuencial de solución de ácido acético al 3% manteniéndola durante 2 minutos y posterior visualización de la captación y finalmente introducción de una gasa empapada en lugol durante 2 minutos y exploración posterior.

Para la descripción de las lesiones se siguió el esquema horario en prono del paciente, y se clasificaron tanto según sus características tintoriales como morfológicas en 5 categorías: normal, bajo riesgo de displasia, riesgo intermedio de displasia, riesgo alto de displasia y lesión sospechosa de cáncer.

Finalmente se realizó la toma de biopsia mediante pinza de biopsia, de la zona sospechosa de malignidad, y en caso de no existir se tomó biopsia al azar. Control de hemostasia y revisión. La biopsia fue clasificada en 4 categorías: Normal, bajo grado de displasia, alto grado de displasia y cáncer.

La detección del VPH se realizó en la muestra de citología anal mediante captura de híbridos (*HC2 HPV test (Qiagen GmbH Hiden, Alemania)*), y el genotipado del virus mediante PCR, (*CLART® Papillomavirus humano2 genómica, Madrid, España*). Los genotipos del VPH identificados en nuestra muestra, fueron clasificados en dos grupos en función de su implicación en la carcinogénesis en las distintas publicaciones: alto riesgo y bajo riesgo.

Las revisiones de los pacientes se establecieron en función de los resultados de citología y biopsia:

- Pacientes con ambas pruebas negativas, revisión anual.
- Pacientes con displasia de bajo grado concordantes en citología y biopsia, revisión en 6 meses.

- Pacientes con displasia de alto grado concordantes en citología y biopsia, tratamiento y revisión en tres meses.
- Discordancia entre citología y biopsia, se selecciona la prueba con el resultado de mayor gravedad.

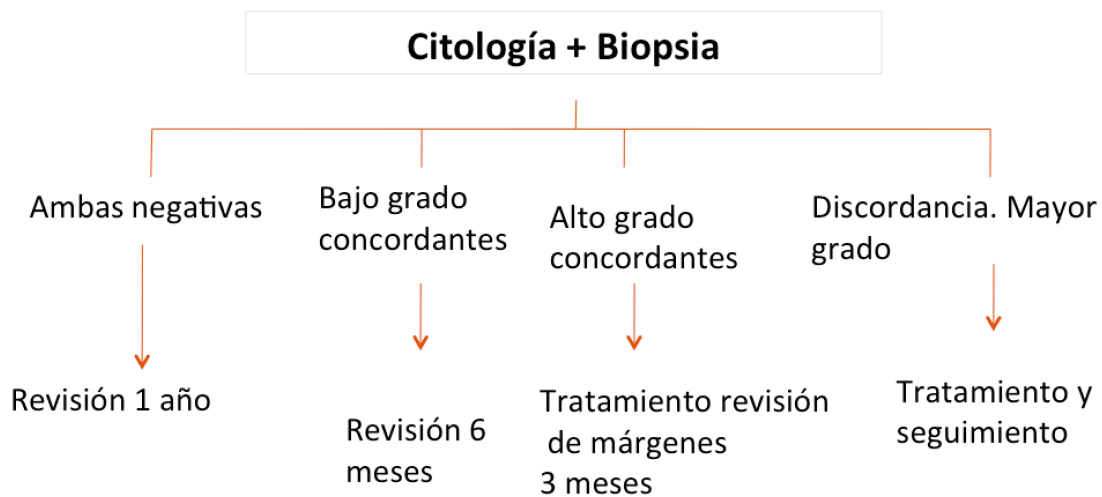


Figura 9: Algoritmo de seguimiento.

8.7 VARIABLES DE ESTUDIO

- Edad
- Hábito tabáquico
- Niveles de linfocitos CD4 Nadir: Menor cifra de linfocitos CD4 detectados desde el diagnóstico de VIH. Se agruparon para el análisis en 3 categorías (<200, 200-400, >400)
- Año de diagnóstico de VIH
- Año de inicio de TARGA

- Tiempo en tratamiento con TARGA

- Estudio citológico (técnica de Papanicolau), fue clasificado según el sistema de Bethesda, en analogía con el cérvix, y según la nueva terminología de unificación por el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Gregorio Marañón en 4 categorías: normal, ASCUS, lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (LSIL) y lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (HSIL).

- Normal: Sin alteraciones citológicas
- ASCUS: Atípicas en células escamosas de significado incierto.
- Bajo grado: Cambios celulares con displasia leve asociados al VPH
- Alto grado: Cambios celulares con displasia moderada y severa, núcleos marcados e hipercromáticos, que aumentan su relación con el citoplasma celular.

- Resultado de AAR clasificado en 5 categorías en función de las alteraciones morfológicas y tintoriales:

- Normal: tras impregnación con ácido acético no se aprecian zonas de captación ni existen zonas morfológicas llamativas que hagan sospechar una lesión potencialmente displásica.
- Bajo Riesgo: captación débil al ácido acético, capta Lugol, epitelio papilar.
- Riesgo Intermedio: captación más intensa del ácido acético, punteado fino que desaparece rápidamente,

lesiones en mosaico regular, epitelio papilar o micropapilar, captación a veces parcheada con Lugol.

- Riesgo Alto: captación muy intensa del ácido acético, en ocasiones con patrón columnar, epitelio liso, depapilado, Lugol negativo, punteado grosero que desaparece lentamente.
- Lesión sospechosa de cáncer: Lesión/es elevadas, ulceradas, epitelio deslustrado, vascularización atípica con vasos muy dilatados y friables, captante al ácido acético, negativa al Lugol.

- Resultado de la biopsia, clasificado en 4 categorías:

- Normal: sin alteraciones histológicas.
- Bajo grado de displasia: las alteraciones se limitan al tercio inferior del epitelio.
- Alto grado de displasia: las alteraciones afectan al menos a dos tercios del grosor del epitelio.
- Cáncer: infiltración por células con alteraciones arquitecturales y/o nucleares de alto grado que sobrepasan la membrana basal.

-Determinación de genotipo de VPH, clasificándose en dos grupos en función de su potencial oncogénico: bajo riesgo y alto riesgo. Fueron definidos como genotipos de VPH de alto riesgo (VPH-AR) que pueden participar en el proceso de carcinogénesis los siguientes: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 70.

8.8 METODOLOGÍA ESTADÍSTICA :

Análisis descriptivo:

Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias absolutas y relativas. Las variables cuantitativas que se ajustan a una distribución normal se resumen con su media y desviación estándar (DE). El estudio de la normalidad se realizó mediante la inspección gráfica del histograma y diagrama de cajas de cada una de las variables continuas. Las variables que no se ajustaron a una distribución normal se presentan con la mediana y el rango intercuartílico (RIC).

Relación del genotipado con el resultado de la biopsia:

Se estudió la relación del genotipo del VPH con el resultado de la biopsia mediante la aplicación del test de chi-cuadrado o prueba exacta de Fisher, en el caso de que más de un 25% de los esperados fueran menores de 5. Como medida de asociación se calculó el Odds Ratio (OR) junto a su intervalo de confianza al 95%. La comparación del número de genotipos positivos de VPH y el resultado de la biopsia se realizó mediante la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney cuando se agruparon los resultados de la biopsia en dos categorías (Normal/Bajo; Alto/Cáncer) o mediante el test de Kruskal-Wallis cuando se comparó con las 4 categorías de la variable biopsia.

Validez y concordancia de las pruebas de screening:

Se estudio la concordancia entre la anoscopia, la citología y el genotipado con el resultado de la biopsia mediante el cálculo del índice kappa. Dicho índice puede tomar valor -1, cuando existe una discordancia sistemática, y 1, cuando existe concordancia sistemática. La clasificación para interpretar los valores del índice kappa es la siguiente: >0,8 excelente, 0,61-0,8 bueno 0,41-6 moderado 0,21-0,4 bajo y <0,21 pobre. Para cada una de las pruebas de screening se calcularon los índices de validez diagnóstica tomando como referencia el resultado obtenido en la biopsia. Se calculó la sensibilidad,

especificidad, valores predictivos positivos (VPP), valores predictivos negativos (VPN), y las razones de verosimilitud positivas (RV+) y negativas (RV). La RV+ o cociente de probabilidad positivo nos indica cuánto más probable es tener un positivo en un enfermo que en un sano. La RVN expresa cuánto más probable es encontrar un negativo en un enfermo que en un sano. Un cociente de probabilidad igual a 1 indica que el resultado de la prueba no modifica la probabilidad de estar enfermo. Si es mayor que 1 aumenta esta probabilidad y, si es menor, la disminuye. Este parámetro es el que usamos para determinar la potencia diagnóstica de la prueba. Valores >10 en RV+ (ó $<0,1$ RV-) indican que se trata de una prueba muy potente que apoya (o contradice) fuertemente el diagnóstico; de 5-10 en RV+ (ó de 0,1-0,2 RV-) indican poca potencia de la prueba para apoyar (o descartar) el diagnóstico; de 2-5 en RV+ (ó de 0,2-0,5 en RV-) indican que la aportación de la prueba es dudosa: y, por último, de 1-2 en RV+ (ó de 0,5-1 en RV-) indican que la prueba no tiene utilidad diagnóstica.

Se calcularon diversos valores predictivos positivos y negativos para el resultado en cada una de la prueba de screening, en distintos grados de prevalencia, mediante el teorema de Bayes y aplicando los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos en este estudio.

Para la selección de un punto de corte para la prueba de screening: número de genotipos positivos de alto riesgo para VPH, utilizando el resultado de la biopsia como "gold standard", se realizó una curva ROC ("Receiver Operating Characteristic"). El área bajo la curva ROC (se simboliza como ABC "Área Bajo la Curva") es un valor comprendido entre 0,5 y 1 que se utiliza como medida de exactitud global; un área igual a 1 indica que una prueba diagnóstica perfecta, mientras que una prueba sin poder diagnóstico le corresponde un área igual a 0,5. Se seleccionó el punto de corte de la variable que mantuviera una buena relación entre sensibilidad y especificidad (índice de Youden mayor).

Rendimiento diagnóstico de las 3 pruebas

Para la comparación del rendimiento diagnóstico de las 3 pruebas de screening en función del resultado obtenido en la biopsia se calcularon y compararon las ABC de cada una de las variables estudiadas. Se realizó un análisis de aplicación de pruebas diagnósticas en paralelo con el objetivo de evaluar el rendimiento diagnóstico en la aplicación de dos o tres pruebas en paralelo para el diagnóstico positivo en la biopsia (alto/cáncer). Para ello se evaluaron los pares de pruebas anoscopia/citología, anoscopia/algún VPH alto riesgo, citología/algún VPH alto riesgo y, finalmente, la aplicación de los tres resultados en paralelo.

Para todas las pruebas se aceptó un valor de significación del 5%. El procesamiento y análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS v.21.0.

9. RESULTADOS

RESULTADOS DESCRIPTIVOS:

En la figura 10 se observa el número de pruebas de cribado realizadas durante el periodo de estudio: 1 enero de 2013 - 30 diciembre de 2014. Se realizaron un total de 366 visitas a la consulta específica de screening de cáncer de canal anal (teniendo en cuenta primera visita y revisiones), donde se realizaron: 366 (100%) anoscopias, 340 (92,9%) biopsias y 270 (73,8%) citologías. Estas pruebas se realizaron en un total de 207 pacientes. Para el presente análisis sólo se van a tener en cuenta aquellas visitas a la consulta de screening donde se realizaron las tres pruebas (286). Estas tres pruebas realizadas en paralelo corresponden a 179 pacientes. De éstos, 98 solo tienen una visita, 61 dos visitas, 17 tres visitas, 1 cuatro visitas, 1 cinco visitas y, finalmente, 1 paciente tiene hasta 6 visitas. El número medio de visitas por paciente fue de 1,60.

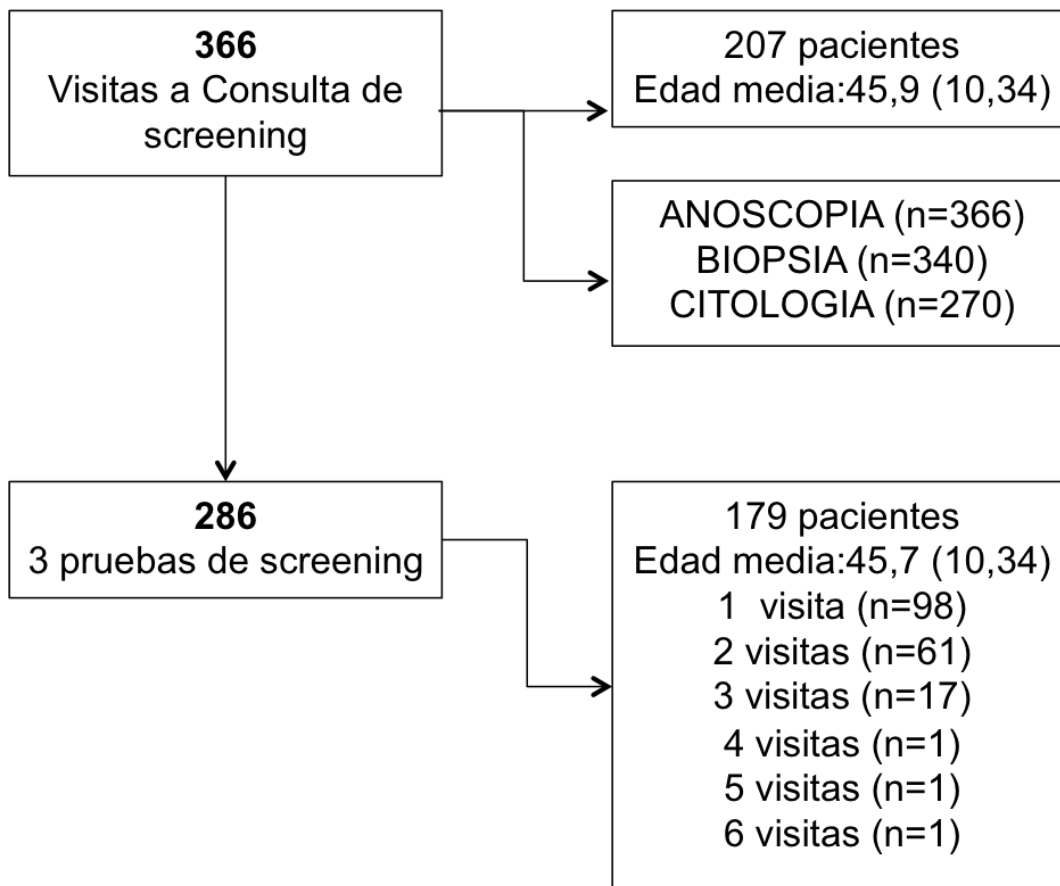


Figura 10. Distribución de pruebas de screening/pacientes.

La tabla 5 muestra el descriptivo de las variables sociodemográficas y relacionadas con el VIH. La edad media de los pacientes fue de 45,7 años, el 31,8% mostró un recuento de CD4 nadir menor de 200, el 43,6% entre 200-400 y el 24,6% mayor a 400. La mediana de tiempo de diagnóstico del VIH fue de 10 años (RIC: 4-17), con una mediana de 8 años en tratamiento con tratamiento antirretroviral de gran actividad y una mediana de 0 años con RIC (0-3) entre el diagnóstico y el inicio del TARGA. El 34,7% de los pacientes eran fumadores.

Tabla 5. Variables sociodemográficas y relacionadas con el VIH. (N=179)

Variable	N (%)
Edad (años)*	45,7 (10,3)
CD4 nadir (células/ μ l)**	299 (161-400)
CD4 nadir (células/ μ l)	
	<200 57 (31,8)
	200-400 78 (43,6)
	>400 44 (24,6)
Fumador actual	
	Si 61 (34,7)
	No 115 (65,3)
Tiempo de diagnóstico VIH (años)**	10 (4-17)
Tiempo hasta inicio tratamiento TARGA (años)**	0 (0-3)
Tiempo en tratamiento TARGA**	8 (3-15)

* datos expresados en media y DE; ** datos expresados en mediana y rango intercuartílico.

En relación a los resultados obtenidos en las 3 pruebas de screening realizadas (tabla 6), en la anoscopia el 14,7% mostró un resultado de riesgo alto o lesión sospechosa de cáncer. Respecto a la citología, en la mayoría de los casos (82,2%) el resultado fue normal, sólo en un 1,7% se detectaron lesiones de alto grado, un 10,8% de ASCUS y un 5,2% de lesiones de bajo grado. Finalmente en relación a la biopsia en el 9,8% de los casos se detectaron lesiones con alto grado de displasia (28 biopsias) y un 1% de cáncer (3 biopsias).

La figura 11 muestra el porcentaje de resultados positivos en cada uno de los virus del papiloma humano (VPH) tipificados. Los 5 VPH más frecuentes en orden descendente fueron: VPH 16 (24,5%), VPH 44 (21,7%), VPH 68 (19,2%), VPH 52 (18,5%) y VPH 62 (16,1%). Los VPH que menor frecuencia presentaron fueron el VPH 69 (3,5%), VPH 84 (2,1%) y VPH 64 (0,3%). Del total de genotipos tipificados en el 85,3% de los casos alguno de ellos fue positivo. La mediana del número de genotipos positivos por paciente fue de 3 (RIC: 1-5). En relación a los genotipos de alto riesgo VPH (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 70) en el 74,5% de los casos se detectó la presencia de alguno de estos genotipos. La mediana del número de genotipos positivos de alto riesgo por paciente fue de 1 (RIC: 0-2). Dentro del grupo de genotipos de alto riesgo los tres más frecuentes fueron: VPH 16 (24,5%), VPH 68 (19,2%) y VPH 52 (18,5%).

Tabla 6. Resultados en cada una de las pruebas de screening.
(N=286)

Variable	n(%)
Anoscopia	
Normal	67 (23,4)
Bajo riesgo	118 (41,3)
Riesgo intermedio	59 (20,6)
Riesgo Alto	40 (14,0)
Lesión sospechosa de cáncer	2 (0,7)
Citología	
Normal	235 (82,2)
Bajo grado	15 (5,2)
Alto grado	5 (1,7)
ASCUS	31 (10,8)
Biopsia	
Normal	117 (40,9)
Bajo grado	138 (48,3)
Alto grado	28 (9,8)
Cáncer	3 (1,0)

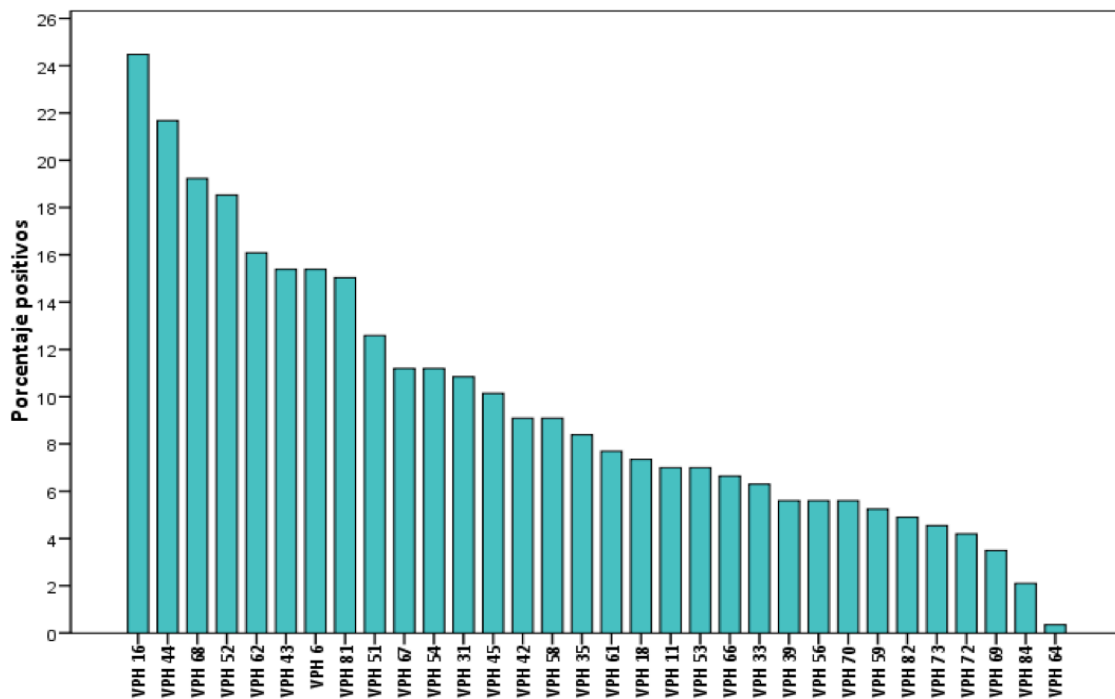


Figura 11. Distribución de frecuencias de los distintos genotipos del VPH tipificados. (N 286)

2. RELACIÓN ENTRE EL GENOTIPO DEL VPH CON LA BIOPSIA Y CON EL ESTADO INMUNITARIO

La tabla 7 y la figura 12 muestran la relación entre cada uno de los genotipos del VPH tipificados y su relación con el resultado de la biopsia categorizada en dos grupos: Normal/Bajo grado; Alto grado/Cáncer). De manera individual no se obtuvo una relación estadísticamente significativa con ninguno de los genotipos del VPH evaluados.

Al relacionar la presencia de algún VPH positivo con el resultado de la biopsia observamos que en las pruebas donde el resultado de la biopsia fue de alto grado/cáncer en el 100% de los casos se detectó algún VPH positivo, mientras que en el grupo de normal/bajo grado este porcentaje fue del 83,5% ($p=0,012$). Un resultado similar se obtuvo al asociar la presencia de algún genotipo del VPH de alto riesgo positivo con el resultado de la biopsia ($p=0,032$). Las pruebas en donde el resultado de la biopsia fue la presencia de cáncer o de displasia de alto grado en el 90,3% se detectó algún VPH positivo de alto riesgo, mientras que en el grupo de normal/bajo grado este porcentaje fue del 72,5% (OR: 3,53; IC 95%: 1,04-11,99).

Tabla 7. Relación de cada uno de los genotipos del virus del papiloma humano (VPH) con el resultado de la biopsia.

		Normal/Bajo (n=255)	Alto/Cáncer (n=31)	p	OR (IC 95%)
VPH 6	Negativo	85,1	80,6	0,596	1,37 (0,53-3,56)
	Positivo	14,9	19,4		
VPH 11	Negativo	93,3	90,3	0,464	1,5 (0,41-5,44)
	Positivo	6,7	9,7		
VPH 16	Negativo	76,5	67,7	0,286	1,55 (0,69-3,47)
	Positivo	23,5	32,3		
VPH 18	Negativo	92,5	93,5	1	0,86 (0,19-3,87)
	Positivo	7,5	6,5		
VPH 31	Negativo	89,8	83,9	0,354	1,69 (0,60-4,80)
	Positivo	10,2	16,1		
VPH 33	Negativo	93,3	96,8	0,704	0,47 (0,06-3,63)
	Positivo	6,7	3,2		
VPH 35	Negativo	91,4	93,5	1	0,73 (0,16-3,27)
	Positivo	8,6	6,5		
VPH 39	Negativo	95,3	87,1	0,081	3,0 (0,90-9,95)
	Positivo	4,7	12,9		
VPH 42	Negativo	90,6	93,5	1	0,66 (0,15-2,95)
	Positivo	9,4	6,5		
VPH 43	Negativo	85,5	77,4	0,288	1,72 (0,69-4,27)
	Positivo	14,5	22,6		
VPH 44	Negativo	79,2	71	0,293	1,56 (0,68-3,58)
	Positivo	20,8	29		
VPH 45	Negativo	90,6	83,9	0,22	1,85 (0,65-5,26)
	Positivo	9,4	16,1		
VPH 51	Negativo	87,1	90,3	0,779	0,72 (0,21-2,50)
	Positivo	12,9	9,7		
VPH 52	Negativo	81,6	80,6	1	1,06 (0,41-2,73)
	Positivo	18,4	19,4		
VPH 53	Negativo	93,3	90,3	0,535	1,50 (0,41-5,44)
	Positivo	6,7	9,7		
VPH 54	Negativo	88,2	93,5	0,55	0,52 (0,12-2,28)
	Positivo	11,8	6,5		
VPH 56	Negativo	94,9	90,3	0,396	1,99 (0,54-7,43)
	Positivo	5,1	9,7		

Tabla 7. Relación de cada uno de los genotipos del virus del papiloma humano (VPH) con el resultado de la biopsia.

		Normal/Bajo (n=255)	Alto/Cáncer (n=31)	p	OR (IC 95%)
VPH 58	Negativo	91	90,3		
	Positivo	9	9,7	1	1,08 (0,30-3,83)
VPH 59	Negativo	95,3	90,3		
	Positivo	4,7	9,7	0,214	2,17 (0,58-8,16)
VPH 61	Negativo	92,9	87,1		
	Positivo	7,1	12,9	0,276	1,95 (0,61-6,19)
VPH 62	Negativo	83,1	90,3		
	Positivo	16,9	9,7	0,438	0,53 (0,15-1,82)
VPH 64	Negativo	99,6	100		
	Positivo	0,4	0	1.000	-
VPH 66	Negativo	93,3	93,5		
	Positivo	6,7	6,5	1.000	0,97 (0,21-4,39)
VPH 67	Negativo	89,4	83,9		
	Positivo	10,6	16,1	0,365	1,62 (0,58-4,58)
VPH 68	Negativo	80,4	83,9		
	Positivo	19,6	16,1	0,811	0,79 (0,29-2,16)
VPH 69	Negativo	96,9	93,5		
	Positivo	3,1	6,5	0,296	2,13 (0,43-10,51)
VPH 70	Negativo	93,7	100		
	Positivo	6,3	0	0,232	-
VPH 72	Negativo	95,7	96,8		
	Positivo	4,3	3,2	1	0,74 (0,09-5,93)
VPH 73	Negativo	94,9	100		
	Positivo	5,1	0	0,373	-
VPH 81	Negativo	85,1	83,9		
	Positivo	14,9	16,1	0,794	1,10 (0,40-3,04)
VPH 82	Negativo	95,7	90,3		
	Positivo	4,3	9,7	0,184	2,38 (0,62-9,03)
VPH 84	Negativo	98,4	93,5		
	Positivo	1,6	6,5	0,129	4,33 (0,76-24,67)

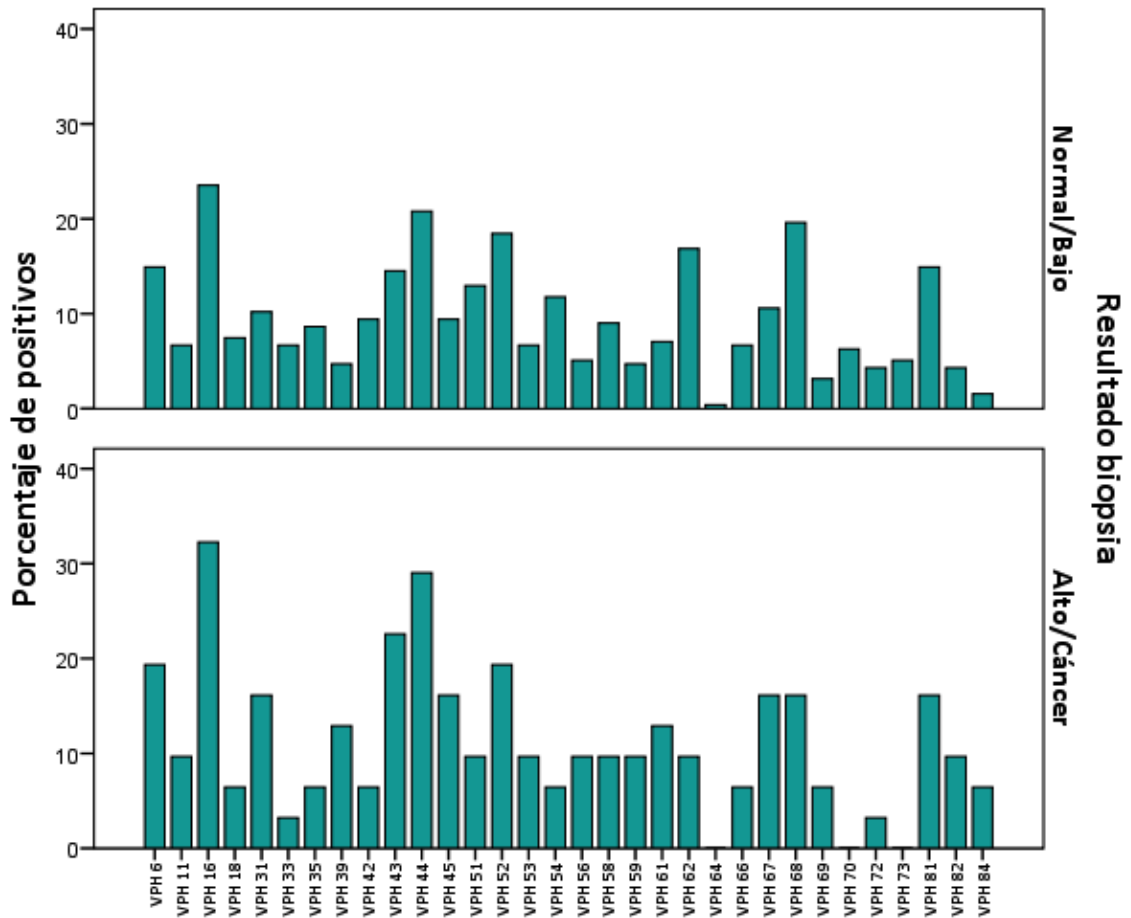


Figura 11. Relación de cada uno de los genotipos del virus del papiloma humano (VPH) con el resultado de la biopsia.

Los pacientes que presentaron un resultado en la biopsia de alto grado / cáncer presentaron una mediana superior en el número de genotipos de VPH positivos de alto riesgo (mediana: 2; RIC: 1-3) frente al grupo de resultado de la biopsia normal / bajo grado (mediana: 1; RIC: 0-2), esta diferencia está cercana al nivel de significación estadística ($p=0,081$). En la figura 12 (diagrama de cajas) se muestra la distribución del número de genotipos positivos de alto riesgo del VPH en relación con el resultado de la biopsia en sus 4 categorías originales.

Obtenemos una diferencia entre los 4 grupos estadísticamente significativa en la distribución del número de genotipos positivos de VPH de alto riesgo ($p=0,02$). También podemos observar como existen una tendencia significativa ($p=0,002$) en el aumento del número de genotipos positivos de alto riesgo a medida que aumenta el grado de malignidad de los resultados encontrados en la biopsia.

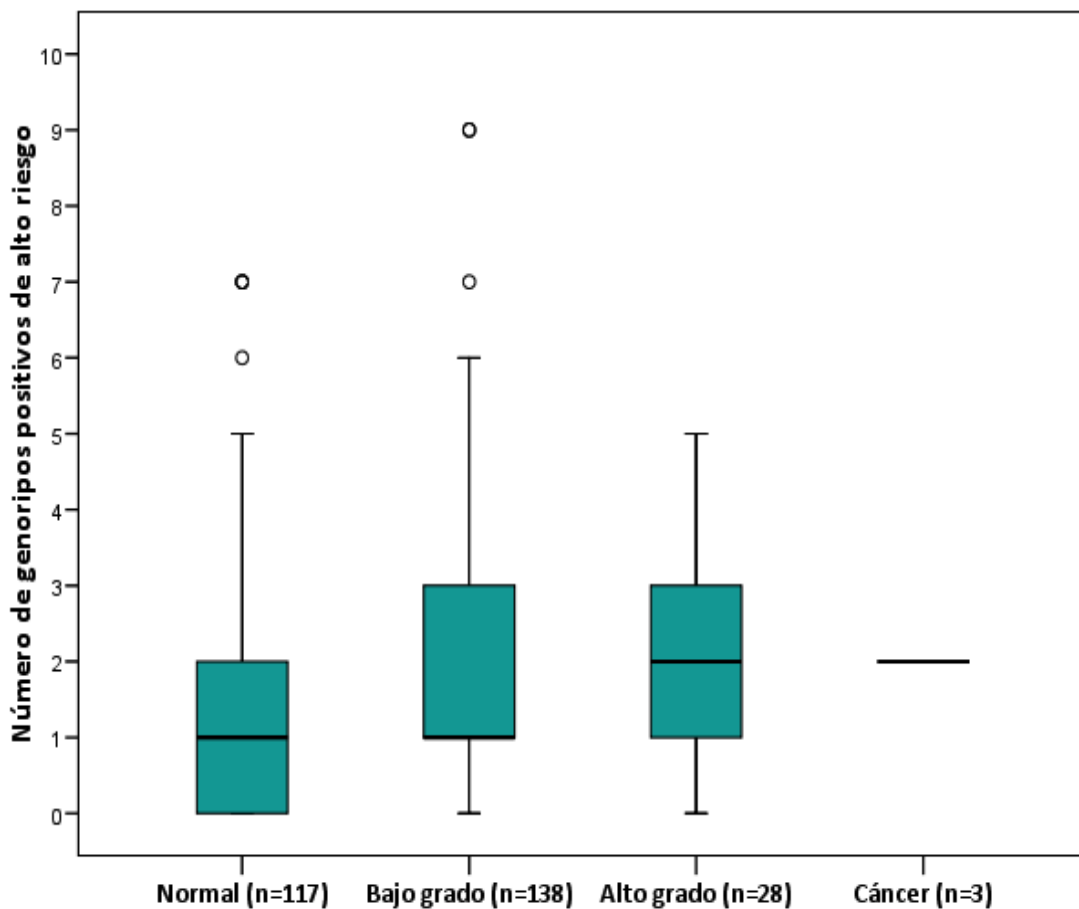


Figura 12. Diagrama de cajas. Relación del número de genotipos positivos de alto riesgo con el resultado de la biopsia.

Todos los cánceres y la mayor parte de las displasia de alto grado se presentaron en pacientes con un recuento de linfocitos CD4 < 200. En la tabla 8 se muestra el resultado de la biopsia en función del recuento de CD4 nadir de los pacientes categorizado en 3 subgrupos: <200, 200-400, >400.

Tabla 8. Relación del estado inmunitario con el resultado de la biopsia (p<0,07)

	BIOPSIA				
CD4	Normal	Bajo grado	Alto grado	Cáncer	Total
<200 (%)	35,7	47,6	13,1	3,6	84
200-400(%)	46,6	45,9	7,5	0,0	133
>400 (%)	36,2	53,6	10,1	0,0	69

3. VALIDEZ Y CONCORDANCIA DE LA ANOSCOPIA, LA CITOLOGÍA Y EL GENOTIPADO RESPECTO AL RESULTADO DE LA BIOPSIA

3.1 COMPARACIÓN DE LA ANOSCOPIA CON LA CITOLOGÍA

En la tabla 9 se muestra la relación encontrada entre los resultados obtenidos en la anoscopia y la citología. De las 40 anoscopias que se clasificaron como de alto riesgo de displasia 30 tenían una citología normal (75%). Las 2 lesiones sugestivas de cáncer por anoscopia de alta resolución tuvieron citología normal.

Tabla 9. Resultados obtenidos en las pruebas de screening anoscopia y citología

		CITOLOGÍA				
		Normal	ASCUS	Bajo grado	Alto grado	Total
ANOSCOPIA	Normal	54	5	7	1	67
	Bajo riesgo	97	14	4	3	118
	Riesgo intermedio	52	5	2	0	59
	Riesgo alto	30	7	2	1	40
	Lesión sospechosa de cáncer	2	0	0	0	2
Total		235	31	15	5	286

Para el estudio de la concordancia de los resultados entre estas dos pruebas se agruparon los resultados en las siguientes categorías: para la anoscopia (Normal/Riesgo bajo/Riesgo intermedio; Alto riesgo/ Lesión sospechosa de cáncer), y para la citología (Normal/Bajo grado/ASCUS; Alto grado). El porcentaje de acuerdo global fue del 84,27%, pero el grado de concordancia medido mediante el índice kappa fue muy bajo. El número de casos con resultados de alto riesgo o cáncer obtenido con las dos pruebas es muy diferente. De los 5 casos de alto grado detectados por la citología sólo en 1 de ellos coincidió el diagnóstico con el resultado de la anoscopia. Por otro lado, de los 42 casos de alto grado/cáncer detectados por la anoscopia sólo en 1 de ellos coincide con el resultado de la citología.

Tabla 10. Concordancia entre el resultado de la anoscopia y de la citología

		CITOLOGÍA				
		Normal/Bajo/ ASCUS	Alto Grado	Total	Kappa (IC 95%)	p
ANOSCOPIA	Normal/Bajo/Inte rmedio	240	4	244	0,012 (-0,06- 0,09)	0,735
	Alto/Sospecha	41	1	42		
	Total	281	5	286		

3.2 COMPARACIÓN DE LA ANOSCOPIA CON LA BIOPSIA

En la tabla 11 se muestra la relación encontrada entre los resultados obtenidos en la anoscopia y el “gold standard” que en nuestro estudio es el resultado de la biopsia. De las 67 anoscopias clasificadas como normales 41 tenían algún grado de displasia en la biopsia (61%) .

Tabla 11. Resultados obtenidos en la AAR y biopsia.

		BIOPSIA				
		Normal	Bajo grado	Alto grado	Cáncer	Total
ANOSCOPIA	Normal	26	38	3	0	67
	Bajo riesgo	56	49	12	1	118
	Riesgo intermedio	26	28	4	1	59
	Riesgo alto	8	23	8	1	40
	Lesión sospechosa de cáncer	1	0	1	0	2
Total	117	138	28	3	286	

Para el estudio de la concordancia de los resultados entre estas dos pruebas se agruparon los resultados en las siguientes categorías: para la anoscopia (Normal/Bajo/Intermedio; Alto/Sospecha), y para la biopsia (Normal/Bajo; Alto/Cáncer). El porcentaje de acuerdo global fue del 81,47%, pero el grado de concordancia medido mediante el índice kappa fue muy bajo (Tabla 12).

Tabla 12. Concordancia entre el resultado de la anoscopia y la biopsia

		BIOPSIA				
		Normal/Bajo	Alto/Cáncer	Total	Kappa (IC 95%)	p
ANOSCOPIA	Normal/Bajo/Intermedio	223	21	244	0,17 (0,02-0,32)	0,003
	Alto/Sospecha	32	10	42		
	Total	255	31	286		

Los índices de validez diagnóstica de la anoscopia comparado con la biopsia (prueba de referencia) se muestran en la tabla 13. La anoscopia presentó una sensibilidad baja (32,26%) lo que conlleva una alta proporción de falsos negativos. Por otro lado la especificidad es buena (87,45%). La razón de verosimilitud (RV+) pone de manifiesto que una anoscopia positiva (alto/sospecha) es 2,6 veces más frecuente en casos con resultado en la biopsia positivo (alto/cáncer) que en las que presentan resultado negativo en la biopsia (normal/bajo) indicando un rendimiento pequeño por parte de la anoscopia.

En la tabla 14 se presentan los valores predictivos, tanto positivos como negativos, en función de distintos valores de prevalencia. En función de la prevalencia obtenida en nuestro estudio (10,8) el VPP es del 23,81% (IC 95%:9,74-37,88) y el VPN es del 91,39% (IC 95%:87,67-95,12) (Tabla 14).

Tabla 13. Rendimiento diagnóstico de la anoscopia frente a la biopsia (prueba de referencia)

Prueba	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	RV + (IC 95%)	RV - (IC 95%)
Anoscopia	32,26 (14,19-50,33)	87,45 (83,19-91,71)	2,57 (1,40-4,70)	0,77 (0,60-0,99)

RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa

Tabla 14. Valores predictivos de la anoscopia para distintas prevalencias

Prevalencia (%)	VPP	VPN	Prevalencia (%)	VPP	VPN
8	18,27	93,69	40	63,15	65,95
10	22,22	92,08	60	79,41	46,26
10,84	23,81	91,39	80	91,14	24,4
20	39,12	83,78	90	95,86	12,54

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo

3.2 COMPARACIÓN DE LA CITOLOGÍA CON LA BIOPSIA

En la tabla 15 se muestra la relación encontrada entre los resultados obtenidos en la citología y la biopsia. De las 235 citologías clasificadas como normales, 20 tienen una displasia de alto grado en la biopsia y, más de la mitad, 131 casos (56%), algún grado de displasia en la biopsia. De los 3 cánceres de la serie, 1 fue clasificado por la citología como displasia de alto grado, otro como ASCUS y otro como normal.

Tabla 15. Resultados obtenidos en las pruebas de screening citología y prueba de referencia biopsia.

		BIOPSIA				Total
		Normal	Bajo grado	Alto grado	Cáncer	
CITOLOGÍA	Normal	104	110	20	1	235
	ASCUS	9	15	6	1	31
	Bajo grado	4	9	2	0	15
	Alto grado	0	4	0	1	5
Total		117	138	28	3	286

Para el estudio de la concordancia de los resultados entre estas dos pruebas se agruparon los resultados en las siguientes categorías: para la citología (Normal/Bajo/ASCUS; Alto Grado), y para la biopsia (Normal/Bajo; Alto/Cáncer). El porcentaje de acuerdo global fue del 88,11%, pero el grado de concordancia medido mediante el índice kappa también fue muy bajo (Tabla 16).

Tabla 16. Concordancia entre el resultado de la citología y la biopsia.

		BIOPSIA				
		Normal/Bajo	Alto/Cáncer	Total	Kappa (IC 95%)	p
CITOLOGÍA	Normal/Bajo/ ASCUS	251	30	281	0,03 (-0,07-0,13)	0,506
	Alto Grado	4	1	5		
	Total	255	31	286		

Los índices de validez diagnóstica de la citología comparado con la biopsia (prueba de referencia) se muestran en la tabla 17. La citología presentó una sensibilidad muy baja (3,23%) lo que conlleva una alta proporción de falsos negativos. Por otro lado la especificidad es buena (94,43%). La razón de verosimilitud (RV+) pone de manifiesto que una citología positiva (alto grado) es 2 veces más frecuente en casos con resultado en la biopsia positivo (alto/cáncer) que en las que presentan resultado negativo en la biopsia (normal/bajo) indicando un rendimiento pequeño por parte de la citología. En la tabla 18 se presentan los valores predictivos, tanto positivos como negativos, en función de distintos valores de prevalencia. En función de la prevalencia obtenida en nuestro estudio (10,8) el VPP es del 20,0% (IC 95%: 0,0-65,06) y el VPN es del 89,32% (IC 95%: 85,54-93,11) (Tabla 18). Lo que significa que existe solo un 20% de probabilidad de que siendo la citología positiva para lesiones de alto grado ésta se corresponda realmente con displasia de alto grado o cáncer en la biopsia, sin embargo, el VPN es alto lo que indica que siendo la citología normal, bajo grado o ASCUS hay un 85% de probabilidad de que se corresponda con un resultado normal o de displasia de bajo grado en la biopsia.

Tabla 17. Rendimiento diagnóstico de la citología frente a la biopsia (prueba de referencia)

Prueba	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	RV + (IC 95%)	RV - (IC 95%)
Citología	3,23 (0,0-11,1)	94,43 (96,71-100,0)	2,06 (0,24-17,82)	0,98 (0,92-1,05)

RV +: razón de verosimilitud positiva; RV -: razón de verosimilitud negativa

Tabla 18. Valores predictivos de la citología para distintas prevalencias

Prevalencia (%)	VPP	VPN	Prevalencia (%)	VPP	VPN
8	15,18	92,12	40	57,83	60,41
10	18,61	90,15	60	75,53	40,41
10,84	20,01	89,32	80	89,16	20,27
20	33,96	80,27	90	94,88	10,15

VPP: Valor Predictivo Positivo: VPN: Valor Predictivo Negativo

3.2 COMPARACIÓN DEL GENOTIPADO DEL VPH CON LA BIOPSIA

Para este análisis se ha tenido en cuenta en primer lugar la presencia de algún genotipo positivo de alto riesgo de VPH relacionado con la biopsia como prueba de referencia. La tabla 19 muestra la relación entre estas dos variables, así como la concordancia evaluada mediante el estadístico de kappa. El porcentaje de acuerdo global fue del 34,27% con un índice kappa bajo. En la tabla 20 se muestran los índices de validez diagnóstica de la presencia de VPH de alto riesgo. La sensibilidad fue alta (90,32%), mientras que la especificidad fue baja (27,45%) debido a la presencia de un alto porcentaje de falsos positivos. El VPP fue de 13,15% (IC 95%:8,37-17,92) y el VPN fue de 95,89% (90,65-100,0).

Tabla 19. Concordancia entre el resultado de la presencia de algún genotipo positivo de alto riesgo de VPH y la biopsia

		BIOPSIA				
		Normal/Bajo	Alto/ Cáncer	Total	Kappa (IC 95%)	p
VPH alto riesgo	NO	70	3	73	0,05 (0,01-0,09)	0,032
	SI	185	28	213		
	Total	255	31	286		

Tabla 20. Rendimiento diagnóstico de la presencia de algún VPH de alto riesgo frente a la biopsia (prueba de referencia)

Prueba	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	RV + (IC 95%)	RV - (IC 95%)
VPH alto riesgo	90,32 (78,30-100,0)	27,45 (21,78-33,12)	1,24 (1,08-1,43)	0,35 (0,12-1,05)

RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa

Con el objetivo de identificar el punto de corte de la variable “número de genotipos positivos de alto riesgo de VPH” que mayor rendimiento diagnóstico tenía con respecto al resultado positivo en la biopsia (alto grado/cáncer) se realizó una curva de rendimiento diagnóstico (figura 13).

El área bajo la curva obtenida fue de 0,59 (IC 95%: 0,50-0,68; $p=0,089$). Con el objetivo de identificar el mejor punto de corte se obtuvieron los índices de validez diagnóstica de cada punto de corte. Se selecciono aquel punto de corte que maximiza el valor del índice de Youden (Tabla 21). En este caso el valor ≥ 2 fue el que presentó un índice de Youden mayor con una sensibilidad del 58% y una especificidad del 57%.

Tabla 21. Índices de validez diagnóstica para los diferentes puntos de corte del número de genotipos positivos del alto riesgo para VPH.

	Sensibilidad	Especificidad	RV +	RV -	IY
(≥ 1)	0,90	0,27	1,24	0,35	0,18
(≥ 2)	0,58	0,57	1,36	0,73	0,15
(≥ 3)	0,29	0,77	1,28	0,92	0,06
(≥ 4)	0,10	0,87	0,75	1,04	-0,03
(≥ 5)	0,03	0,94	0,55	1,03	-0,03

RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa, IY: Índice de Youden

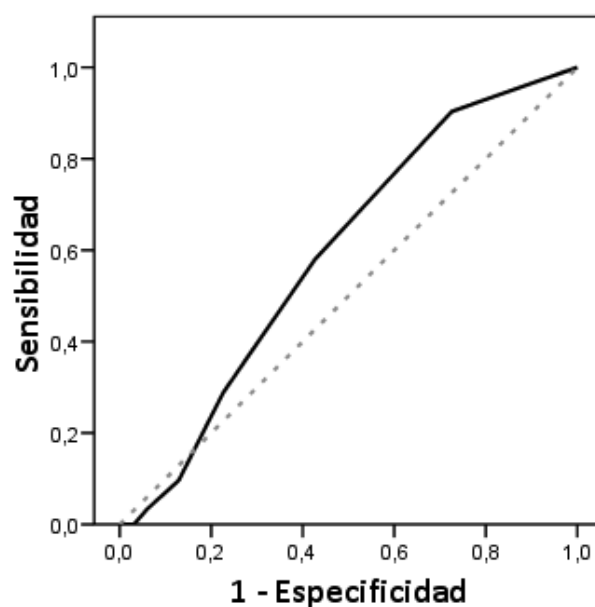


Figura 13. Curva ROC del número de genotipos positivos del alto riesgo de VPH frente al resultado positivo de la biopsia

Para el estudio de la concordancia de los resultados entre estas dos pruebas se agruparon los resultados en las siguientes categorías: para VPH alto riesgo (<2; ≥2), y para la biopsia (Normal/Bajo Grado; Alto Grado /Cáncer). El porcentaje de acuerdo global fue del 57,34%, pero el grado de concordancia medido mediante el índice kappa fue muy bajo (tabla 22).

Tabla 22. Concordancia entre el resultado de la presencia de algún genotipo positivo de alto riesgo de VPH y la biopsia

		BIOPSIA				
		Normal/Bajo	Alto/Cáncer	Total	Kappa (IC 95%)	p
VPH alto riesgo	NO	70	3	73	0,05 (0,01-0,09)	0,032
	SI	185	28	213		
	Total	255	31	286		

Los índices de validez diagnóstica del número de VPH de alto riesgo (≥ 2) comparado con la biopsia (prueba de referencia) se muestran en la tabla 23. La presencia de VPH de alto riesgo (≥ 2) presentó una sensibilidad del 58% y una especificidad del 57,25%. Este punto de corte presenta un porcentaje de falsos positivos y falsos negativos similar. En la tabla 23 se presentan los valores predictivos, tanto positivos como negativos, en función de distintos valores de prevalencia. En función de la prevalencia obtenida en nuestro estudio (10,8) el VPP es del 14,17% (IC 95%:7,71-20,63) y el VPN es del 91,82% (IC 95%:87,25-96,40) (Tabla 24). El VPP para algún positivo de alto riesgo es del 13,15%, mientras que el VPN es del 93,89%.

Tabla 23. Rendimiento diagnóstico de la presencia de ≥ 2 VPH de alto riesgo frente a la biopsia (prueba de referencia)

Prueba	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	RV + (IC 95%)	RV - (IC 95%)
VPH alto riesgo ≥ 2	58,06 (39,08- 77,05)	57,25 (50,99-63,52)	1,36 (0,98-1,89)	0,73 (0,48-1,12)

RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa

Tabla 24. Valores predictivos de la presencia de ≥ 2 VPH de alto riesgo para distintas prevalencias

Prevalencia (%)	VPP	VPN	Prevalencia (%)	VPP	VPN
8	10,56	94,01	40	47,52	67,19
10	13,11	92,47	60	67,07	47,64
10,84	14,17	91,82	80	84,45	25,44
20	25,35	84,52	90	92,44	13,17

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo

En la siguiente tabla se resumen los resultados de cada una de las pruebas de cribado aplicada de forma individual respecto a la biopsia. (Tabla 25). La mayor sensibilidad es para algún genotipo del VPH-AR y la menor para la citología, mientras que el mejor valor de especificidad es para la citología y el mejor para algún genotipo VPH-AR.

Prueba	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)	RV + (IC 95%)	RV – (IC 95%)
AAR	32,26 (14,19-50,33)	87,45 (83,19-91,71)	23,81% (9,74-37,88)	91,39% (87,67-95,12)	2,57 (1,40-4,70)	0,77 (0,60-0,99)
Citología	3,23 (0,0-11,1)	94,43 (96,71-100,0)	20,0 (0,0-65,06)	89,32 (85,54-93,11)	2,06 (0,24-17,82)	0,98 (0,92-1,05)
VPH de alto riesgo	90,32 (78,30-100,0)	27,45 (21,78-33,12)	13,15 (8,37 – 17,92)	95,89 (90,65-100,0)	1,24 (1,08-1,43)	0,35 (0,12-1,05)
VPH alto riesgo ≥2	58,06 (39,08-77,05)	57,25 (50,99-63,52)	14,17 (7,71-20,63)	91,82 (87,25-96,40)	1,36 (0,98-1,89)	0,73 (0,48-1,12)

Tabla 25: Valores de Sensibilidad, Especificidad, VPP (Valor Predictivo Positivo), VPN (Valor Predictivo Negativo), RV+ (Razón de Verosimilitud positiva) y RV- (Razón de Verosimilitud negativa) para cada una de las pruebas de cribado.

4. COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LAS 3 PRUEBAS

Para evaluar el rendimiento diagnóstico de estas tres pruebas (anoscopia, citología, VPH de alto riesgo ≥ 2 , VPH de alto riesgo) se obtuvieron y se compararon las áreas bajo la curva para la relación con el resultado positivo de la biopsia (alto grado/ cáncer). En todas las pruebas el ABC fue bajo, pero se detectaron diferencias estadísticamente significativas al comparar las 4 pruebas ($p=0,029$). Estas diferencias se obtuvieron al comparar la citología (prueba de screening con el rendimiento más bajo) con la presencia de algún VPH de alto riesgo ($p=0,017$). Al comparar el resto de pruebas de screening no se obtuvieron diferencias significativas entre ellas ($p \geq 0,05$ en todos los casos).

Tabla 26. Rendimiento diagnóstico de las diferentes pruebas de screening para el resultado positivo de la biopsia (alto/cáncer)

	ABC	IC 95%	
Citología (alto/cáncer)	0,508	0,476	0,541
Anoscopia (alto/sospecha)	0,598	0,512	0,685
Algún VPH de alto riesgo	0,589	0,529	0,648
≥ 2 VPH de alto riesgo	0,577	0,483	0,669

ABC: Área Bajo la Curva

5. EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO AL COMBINAR RESULTADO DE LAS PRUEBAS

Se realizó un análisis de aplicación de pruebas diagnósticas en paralelo con el objetivo de evaluar el rendimiento diagnóstico en la aplicación de dos o tres pruebas en paralelo para el diagnóstico positivo en la biopsia (alto/cáncer). Para ellos se evaluaron los pares de pruebas anoscopia/citología, anoscopia/algún VPH-AR, citología/ algún VPH-AR y finalmente la aplicación de los tres pruebas en paralelo.

5.1. ANOSCOPIA/CITOLOGÍA

La tabla 27 muestra los resultados de estas dos pruebas en relación con la variable resultado de la biopsia. En las pruebas en paralelo se considerarán positivas si alguna de las dos pruebas resulta positiva y como resultado negativo se refiere a las dos pruebas cuando disponen de un resultado negativo ambas.

Tabla 27. Frecuencias absolutas de presencia de resultado positivo en la biopsia en función de la información de la anoscopia y de la citología

Anoscopia (alto/sospecha)	Citología (alto grado)	Biospia (normal/bajo)	Biospia (alto/cáncer)
-	-	220	20
+	-	31	10
-	+	3	1
+	+	1	0

La sensibilidad al aplicar las dos pruebas en paralelo fue baja (35,48%) debido a un alto porcentaje de falsos negativos. La especificidad fue del 86,27% (tabla 28).

Tabla 28. Rendimiento diagnóstico de la anoscopia y la citología en paralelo

BIOPSIA			
Anoscopia/citología	Normal/Bajo	Alto/Cáncer	Total
Alguna positiva	35	11	46
Las dos negativas	220	20	240
Total	255	31	286
Sensibilidad (IC95%)	35,48 (17,03-53,94)	VPP (IC95%)	23,91 (10,50-37,33)
Especificidad (IC95%)	86,27 (81,85-90,69)	VPN (IC95%)	91,67 (87,96-95,37)
RV+ (IC95%)	2,59 (1,47-4,55)	RV- (IC95%)	0,75 (0,57-0,98)

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo; RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa

5.2 ANOSCOPIA/HPV ALTO RIESGO

La tabla 29 muestra los resultados de estas dos pruebas en relación con la variable resultado de la biopsia. En las pruebas en paralelo se considerará positivo si alguna de las dos pruebas resulta positiva, y como resultado negativo se refiere a las dos pruebas cuando disponen de un resultado negativo ambas.

Tabla 29. Frecuencias absolutas de presencia de resultado positivo en la biopsia en función de la información de la anoscopia y del VPH de alto riesgo

Anoscopia (alto/sospecha)	HPV alto riesgo (si/no)	Biospia (normal/bajo)	Biospia (alto/cáncer)
-	-	63	1
+	-	7	2
-	+	160	20
+	+	25	8

La sensibilidad al aplicar las dos pruebas en paralelo fue muy buena (96,77%), sin embargo la especificidad fue muy baja (24,71%) (Tabla 30).

Tabla 30. Rendimiento diagnóstico de la anoscopia y el genotipado de alto riesgo de VPH en paralelo

BIOPSIA			
Anoscopia/VPH	Normal/Bajo	Alto/Cáncer	Total
Alguna positiva	192	30	222
Las dos negativas	63	1	64
Total	255	31	286
Sensibilidad (IC95%)	96,77 (88,94-100,0)	VPP (IC95%)	13,51 (8,79-18,24)
Especificidad (IC95%)	24,71 (19,22-30,20)	VPN (IC95%)	98,44 (94,62-100,0)
RV+ (IC95%)	1,29 (1,17-1,41)	RV- (IC95%)	0,13 (0,02-0,91)

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo; RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa

5.3. CITOLOGÍA/HPV ALTO RIESGO

La tabla 31 muestra los resultados de estas dos pruebas en relación con la variable resultado de biopsia. En las pruebas en paralelo se considerarán positivo si alguna de las dos pruebas resultada positiva y como resultado negativo se refiere a las dos pruebas cuando disponen de un resultado negativo en ambas.

Tabla 31. Frecuencias absolutas de presencia de resultado positivo en la biopsia en función de la información de la citología y del VPH de alto riesgo.

Citología (alto grado)	HPV alto riesgo (si/no)	Biospia (normal/bajo)	Biospia (alto/cáncer)
-	-	70	3
+	-	0	0
-	+	181	27
+	+	4	1

La sensibilidad al aplicar las dos pruebas en paralelo fue muy buena (90,32%), sin embargo la especificidad fue muy baja (27,45%) (Tabla 31).

Tabla 32. Rendimiento diagnóstico de la anoscopia y el genotipado de alto riesgo de VPH en paralelo

BIOPSIA			
Citología/VPH	Normal/Bajo	Alto/Cáncer	Total
Alguna positiva	185	28	213
Las dos negativas	70	3	73
Total	255	31	286
Sensibilidad (IC95%)	90,32 (78,30-100,0)	VPP (IC95%)	13,15 (8,37-17,92)
Especificidad (IC95%)	27,45 (21,78-3,12)	VPN (IC95%)	95,89 (90,65-100,0)
RV+ (IC95%)	1,24 (1,08-1,43)	RV- (IC95%)	0,35 (0,12-1,05)

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo; RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa

5.4 ANOSCOPIA/CITOLOGÍA/HPV ALTO RIESGO

En esta última combinación se aplican las 3 pruebas en paralelo. La tabla 33 muestra los resultados de estas 3 pruebas en relacionadas con la variable de resultado de la biopsia.

Tabla 33. Frecuencias absolutas de presencia de resultado positivo en la biopsia en función de la información de la citología, la AAR y del VPH de alto riesgo.

Citología (alto grado)	HPV alto riesgo (si/no)	Anoscopia (alto/sospecha)	Biopsia (normal/bajo)	Biopsia (alto/cáncer)
-	-	-	63	1
-	-	+	7	2
-	+	-	157	19
+	-	-	0	0
+	+	-	3	1
+	-	+	0	0
-	+	+	24	8
+	+	+	1	0

La sensibilidad al aplicar las tres pruebas en paralelo fue muy buena (96,77%), sin embargo la especificidad fue muy baja (24,71%) (Tabla 33).

Tabla 34. Rendimiento diagnóstico de la citología, el genotipado de alto riesgo de VPH y la AAR en paralelo

BIOPSIA			
Citología/ VPH-AR/ AAR	Normal/Bajo	Alto/Cáncer	Total
Alguna positiva	192	30	222
Las tres negativas	63	1	64
Total	255	31	286
Sensibilidad (IC95%)	96,77 (88,94-100,0)	VPP (IC95%)	13,51 (8,79-18,24)
Especificidad (IC95%)	24,71 (19,22-30,20)	VPN (IC95%)	98,44 (94,62-100,0)
RV+ (IC95%)	1,29 (1,17-1,41)	RV- (IC95%)	0,13 (0,02-0,91)

VPP: Valor Predictivo Positivo; VPN: Valor Predictivo Negativo; RV +: Razón de Verosimilitud Positiva; RV -: Razón de Verosimilitud Negativa

10. DISCUSIÓN

El cáncer anal, entidad causada por el virus del papiloma humano de alto riesgo carcinogénico, es un cáncer poco frecuente en la población general como ya sabemos, si bien, se ha convertido en uno de los cánceres no defintorios de SIDA más emergente en los países occidentales en la última década (72). El cribado de lesiones preneoplásicas cervicales mediante citología y tinción de Papanicolaou es una de las intervenciones preventivas de cáncer con más éxito en la historia de la Medicina, reduciendo en un 75% el cáncer de cuello en los países desarrollados en los últimos 50 años. En este marco nacen los diferentes ensayos y programas de cribado destinados a detectar las lesiones precursoras del cáncer anal en analogía con el cáncer de cérvix, aunque a medida que evoluciona el conocimiento se sabe que son grandes las diferencias que los separan y que desafortunadamente ya existen numerosos estudios que ponen de manifiesto que la citología parece no predecir correctamente la displasia de alto grado demostrada por biopsia (24), (41), (100).

Nuestro estudio es uno de los pocos realizados hasta el momento donde se realizan tres pruebas de screening en paralelo (AAR, Citología, Genotipado de VPH) para validar el rendimiento diagnóstico de las mismas respecto al “gold standard” que en nuestro caso es el resultado de la biopsia, poniendo de manifiesto pobres resultados y cuestionando el valor del screening sobre población de riesgo, como ya lo cuestionan otros estudios. Hasta el momento la mayoría de los protocolos clínicos dirigen la biopsia hacia zonas sospechosas macroscópicamente tras la AAR o bien en una segunda visita tras el resultado positivo en la citología. Al inicio de nuestro estudio y previo a la inclusión de los pacientes que respectan a esta tesis doctoral, evidenciamos una gran discordancia entre los resultados de la AAR, citología y biopsia, por lo que se acordó en comité científico con todos los servicios implicados en este protocolo clínico la validación de estas pruebas respecto a la biopsia, ya que a la luz de los resultados obtenidos hasta aquel momento las pruebas realizadas de cribado parecían tener una baja sensibilidad y una gran discordancia entre los resultados obtenidos.

Existen numerosas cuestiones pendientes en este campo como la falta de un ensayo aleatorizado que evalúe la citología anal, evaluar la efectividad del tratamiento de las displasias de alto grado, conocer realmente la historia natural de la progresión de displasia de alto grado a cáncer,... aspectos que hacen que no existan recomendaciones definitivas para la detección precoz de lesiones preneoplásicas anales.

Los pacientes incluidos en este estudio son varones homosexuales VIH+, de acuerdo con la población de referencia de screening aceptada en la literatura en la que la incidencia de la enfermedad es mayor (7), (70). No se incluyen en este protocolo clínico mujeres con antecedentes de lesiones preneoplásicas cervicales de alto grado relacionadas con el VPH, ni pacientes inmunodeprimidos por otras causas diferentes al VIH, como pacientes trasplantados, a pesar de ser otro grupo poblacional donde la incidencia de carcinoma escamoso de canal anal puede verse aumentada, para la homogeneización de la muestra, ya que únicamente había dos mujeres con antecedentes de CIN III y no está claro que los factores de riesgo implicados sean los mismos.

La frecuencia de lesiones displásicas de alto grado y cáncer en nuestra población es alta, 10,83 % (lesiones con displasia de alto grado [28] + cáncer [3]), no pudiéndose extrapolar estas cifras para el cálculo de la incidencia real, puesto que nuestra muestra esta únicamente restringida a varones homosexuales VIH, como se ha descrito anteriormente.

Es difícil discernir el verdadero efecto del VIH sobre la incidencia del cáncer anal manteniendo al margen al VPH y a las relaciones homosexuales anorreceptivas. Es posible que la infección por VIH interactúe con el VPH para predisponer al cáncer anal. En una cohorte de 346 hombres homosexuales infectados por VIH y 262 VIH negativos, la infección con múltiples genotipos del VPH fue más común en los pacientes infectados por VIH (73 Vs 23%) y se asoció con inmunosupresión significativa (recuento de CD4 por debajo de 200 / microL) (78). Este hallazgo podría reflejar una mayor replicación del VPH en

pacientes con SIDA, lo que permitiría que más tipos de VPH alcancen una concentración detectable.

La inmunosupresión crónica en la infección por VIH también se asocia con un mayor riesgo de cáncer anal y de progresión de AIN de bajo grado a AIN de alto grado o cáncer invasivo (79), (114). Existe un estudio suizo de casos y controles anidados en una cohorte VIH, en el que los bajos recuentos de CD4 se asociaron significativamente con el cáncer anal, tanto en el nadir como en el momento del diagnóstico de cáncer. La influencia del recuento de CD4 pareció ser más fuerte de seis a siete años antes del diagnóstico de cáncer anal (odds ratio <200 versus ≥ 500 células / microL 14.0, IC 95% 3.85-50.9) (79). En nuestro estudio también se muestra una asociación con tendencia estadística ($p=0,07$) entre un menor recuento de cifras de CD4 y un cambio displásico mayor o presencia de cáncer en la biopsia, observándose que todos los cánceres y la mayor parte de las displasias de alto grado se presentaron en pacientes con un recuento de linfocitos CD4 nadir < 200 .

Respecto al genotipado del VPH, algún VPH estaba presente 85,3% casos. De entre todos los genotipos del VPH aislados el más frecuente fue el genotipo VPH 16 (24,5%), al igual que se describe en el cérvix, siendo uno de los principales genotipos de alto riesgo implicados en el proceso de carcinogénesis y el que se asocia a un peor pronóstico (115). La mediana del número de genotipos por paciente fue de 3 (RIC 1-5), y de genotipos de alto riesgo fue de 2 (RIC 0-2), detectándose en el 74.5% de la muestra un genotipo de alto riesgo, siendo el más frecuente de nuevo el genotipo VPH 16, correspondiéndose con los resultados publicados en España en un estudio multicéntrico en el año 2013 (116).

No se sabe cuál es exactamente el papel que tiene la infección múltiple por varios genotipos de VPH en el canal anal, si bien en el cérvix hay varios estudios que relacionan la infección múltiple por varios genotipos del VPH con una mayor severidad de la lesión encontrada en el resultado histopatológico.

Cuando analizamos en nuestra serie la relación del VPH con el resultado de la biopsia categorizándola en dos subgrupos (Bajo grado/Normal), frente a (Alto grado y Cáncer), se pone de manifiesto que en todas las biopsias con una lesión displásica de alto grado o cáncer está implicado algún genotipo del VPH, lo que afianza la idea de que el VPH es causa necesaria aunque no suficiente para el desarrollo del cáncer anal. La categorización en estos dos subgrupos del resultado de la biopsia en este análisis y en los futuros es debido a la necesidad de tratamiento en un grupo según lo publicado en la literatura, frente a la observación en lesiones con displasia de bajo grado, aunque no existen trabajos que demuestren cuál es el mejor tratamiento para las lesiones displásicas de alto grado ni la eficacia del mismo. Para poder basarnos en la evidencia científica a la hora de tomar una decisión respecto al tratamiento o no y cuál es el mejor tratamiento debemos de esperar a los resultados de un gran ensayo controlado y randomizado que se ha puesto en marcha: ANCHOR (Anal Cancer/HSIL Outcomes Research) y que ha sido diseñado para valorar la eficacia de tratamiento en lesiones con displasia de alto grado frente a una estrecha monitorización de las mismas sin tratamiento en más de 5000 pacientes VIH+. Todos los pacientes de nuestro estudio con displasia de alto grado fueron tratados mediante exéresis, ablación quirúrgica y no hubo ninguna recidiva en las revisiones incluidas en este periodo, si bien, el tiempo de seguimiento de este estudio es muy corto para valorar recidiva tras el tratamiento.

El objetivo fundamental de esta tesis era ver si alguna de las pruebas de screening que venían siendo utilizadas en centros de referencia para el despistaje del cáncer de canal permite de manera aislada o combinadas entre ellas detectar lesiones preneoplásicas sobre las que se desarrollará a futuro el cáncer de canal anal, pudiendo así tratarlas minimizando su progresión hacia formas infiltrantes y evitando tratamientos agresivos.

El nivel de concordancia en nuestro estudio existente entre la AAR y la citología es muy bajo, siendo todas las AAR realizadas por el mismo cirujano, y solo de los 5 casos que detectó la citología como de alto grado o cáncer uno fue interpretado de la misma forma en la AAR.

Al comparar la AAR con resultado de la biopsia el grado de concordancia también fue muy bajo. No existen publicaciones con las que podamos cotejar este resultado ya que no existe ningún estudio con biopsia sistemática por lo que la mayoría de las biopsias son tomadas sobre zonas en las que previamente la citología ha sido positiva, ya que se asume que pueden existir cambios acetoblanco visibles por AAR correspondientes a regeneración tisular tras traumatismos, aunque del mismo modo estas zonas de transformación pueden favorecer la infección por el VPH (117) y de no biopsiarlas nunca estaríamos seguros frente a que lesión nos encontramos en caso de que la citología sea un muy mal predictor de lesiones de alto grado y cáncer como lo es en nuestro estudio. De igual forma sería necesaria la formación de equipos a futuro, en caso de implementarse los programas de cribado, con una amplia casuística a la hora de interpretar los hallazgos en la AAR, para ello ya existen algunos centros de entrenamiento.

Respecto a los 3 cánceres confirmados por biopsia se observa que cada uno de ellos obtuvo un resultado diferente por citología, correspondiendo uno de ellos a una citología normal, otro a ASCUS y otro a una displasia de alto grado. El grado de concordancia entre ambas dos pruebas medido por el índice de Kappa fue muy bajo, a modo de interpretación es casi igual de probable que las pruebas coincidan como tirar una moneda al aire. En vista de estos resultados nos planteamos varias causas por la que se muestra esta discordancia y estos resultados están siendo evaluados en la actualidad por un patólogo externo. En cualquier caso, esta información nos hace plantearnos que la citología anal como técnica de despistaje basada exclusivamente en la toma de una muestra a ciegas no es lo suficientemente sensible para detectar aquellos casos de neoplasia intraepitelial de alto grado demostrados por biopsia, precisa de una curva de aprendizaje para optimizar sus resultados, su reproducibilidad es variable y depende de muchos factores externos como también mencionan otras publicaciones (19), (118). Algunos autores plantean que la citología es un mal predictor fundamentalmente cuando el resultado de la misma es de bajo grado o ASCUS infraestimando la gravedad histológica real, por lo que plantean biopsiar a cualquier paciente con factores de riesgo y

citología anormal (100). En esta misma línea Goldstone y colaboradores en un estudio publicado en el 2009 en una cohorte de 200 pacientes demuestran una mala correlación entre la citología y la histología, existiendo en el 30% de los pacientes citologías que infraestimaban el resultado histológico de alto grado en la biopsia (112). En nuestro protocolo se ha evidenciado que la interpretación de la citología comparada con el estándar tiene una sensibilidad muy baja, la prueba de cribado con una sensibilidad menor, lo que conlleva una gran tasa de falsos negativos no sirviendo como prueba de cribado en el cáncer de canal anal. Hasta 20 citologías normales mostraron una displasia de alto grado en la biopsia y 1 caso tuvo como resultado un cáncer, lo que invita a abandonar esta práctica, al menos, hasta que existan nuevos estudios que la validen de una forma sistemática con la biopsia, como hemos comentado anteriormente.

La detección y el genotipado del VPH nos ha permitido conocer la distribución del mismo en nuestra población, siendo el genotipo 16 el más frecuente coincidiendo con lo publicado, lo que podría justificar el uso de la vacuna nonavalente del VPH para prevenir el teórico aumento de la incidencia de esta enfermedad asociada a los genotipos de alto riesgo (119). En nuestro estudio se constató la presencia de un genotipo del VPH de alto riesgo en el 74,5%.

Al analizar la sensibilidad del genotipado para algún genotipo de alto riesgo esta fue del 90,32%, siendo la especificidad fue muy baja 27,4% advirtiendo de la presencia de un alto porcentaje de falsos positivos. El porcentaje de acuerdo global también fue muy bajo alcanzándose el mejor índice de correlación con la presencia de 2 o más genotipos de alto riesgo coincidiendo con otras publicaciones (19). A pesar de ser la mejor prueba de clasificación en nuestro estudio para predecir el desarrollo de una lesión de alto grado o cáncer de manera individual la concordancia con el estándar es baja, por lo que nunca podría ser utilizada como método único de screening ya que tomaríamos biopsia a muchos pacientes de manera innecesaria por ser la tasa de falsos positivos muy elevada, aunque sería una herramienta muy útil a tener en cuenta en asociación con otras pruebas de cribado.

Al comparar el rendimiento diagnóstico de las 3 pruebas en paralelo, AAR, citología y algún genotipo de alto riesgo del VPH, comparándolo con la biopsia, no se obtuvo ninguna mejora en el rendimiento global respecto al individual, aunque sí se obtuvieron diferencias, siendo la citología la prueba con el rendimiento más bajo y la de mayor rendimiento el genotipado. La mejor combinación resultó de la AAR con el genotipado presentando una sensibilidad cercana al 97%, pero con una especificidad muy baja, por lo que la combinación de ambas no se podría aconsejar tampoco como un estándar de cribado ya que someteríamos a muchos pacientes a la realización de AAR con un estrés emocional añadido para el paciente.

Las pruebas de cribado utilizadas en la actualidad como parte de los protocolos clínicos implementados en la mayoría de los centros no han sido validadas por ningún organismo oficial, ni comparadas con un “gold standard” que es el resultado histopatológico de forma sistemática. Su uso se basa en la analogía con el cáncer de cérvix y en lo que este cribado ha aportado respecto a la disminución de las tasas de esta enfermedad. En base a nuestros resultados y tal como están implementadas estas pruebas en la actualidad, está claro, que el cribado del cáncer de cuello de útero no es un espejo donde mirarnos para implementar estos protocolos en el cáncer de canal. Faltan datos precisos acerca del riesgo real de progresión de las displasias de alto grado a cáncer, no existen datos acerca de la disminución de la incidencia del carcinoma anal invasivo tras la implantación de estos programas de cribado y no se ha comprobado cual es el beneficio del tratamiento de las mismas frente a una conducta expectante.

En un artículo publicado en el año 2012 por Newsom-Davis y colaboradores en el Reino Unido, 7 de 74 pacientes que fueron diagnosticados de cáncer anal habían seguido programas de cribado, no habiendo diferencias entre el estadio tumoral al diagnóstico ni en la supervivencia de los mismos (120).

A la vista de nuestros resultados y asumiendo las limitaciones de nuestro estudio como propias de un estudio transversal con falta de seguimiento a largo plazo de los pacientes, mejora de la curva de aprendizaje del personal implicado, tanto por parte de los profesionales que realizan la AAR y la toma de muestras, como de la interpretación de las mismas por parte de los patólogos, la rentabilidad del mismo y las luces y sombras que existen acerca de la repercusión futura que tendrán estos programas, los resultados son muy desalentadores y no tenemos datos para recomendar mantener su implementación.

Otra cuestión y no menos importante a tener en cuenta, es el coste sanitario derivado de estas prácticas y la carga asistencial que ello conlleva para la mayoría de los profesionales sanitarios implicados. En cualquier caso la rentabilidad de la implementación de cualquier programa de cribado antes de concluir su éxito va de la mano de implementarse en centros de referencia donde el personal esté cualificado, entrenado e involucrado en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

Existen datos contradictorios en cuanto al coste-efectividad del cribado en función de los países que publiquen sus datos, en Estado Unidos sugieren que el cribado es casi siempre rentable, mientras que en el Reino Unido sugieren que es poco probable que el cribado sea rentable. La incertidumbre se debe principalmente a la escasez de datos epidemiológicos, al desconocimiento de la historia natural de la enfermedad a largo plazo, falta de disponibilidad de datos de calidad de vida, una información de uso de recursos apropiada y la disponibilidad de información sobre la adherencia al cribado (121).

Nuestro protocolo clínico nos lleva a la conclusión de que no se debería recomendar de manera sistemática el cribado, al menos, tal y como se está llevando a cabo en la actualidad, debido a que existen cuestiones pendientes de suma importancia a resolver acerca de su rentabilidad y repercusión futura. Debemos dejar puertas abiertas a la investigación acerca de un problema de salud notable, creciente en las últimas décadas y en este sentido, la biología molecular desempeña un papel fundamental.

Los hombres que tienen sexo con hombres corren un alto riesgo de tener cáncer anal, la lesión intraepitelial escamosa de alto grado anal es su precursor, por lo que las líneas de investigación dirigidas a explorar el uso de diferentes biomarcadores asociados con la infección generada por el virus del papiloma humano (VPH) y la transformación celular mediada por el mismo, son las nuevas líneas a explorar.

En este sentido, en países con una alta prevalencia de VIH entre HSH y recursos limitados para la realización de AAR, se podría considerar el uso de biomarcadores para identificar a las personas con alto riesgo de desarrollar displasia de alto grado. El ARNm de E6 / E7, el ADN del genotipo del VPH 16 y / o 18 y la expresión de la proteína P16 son biomarcadores a tener en cuenta en estudios futuros (122).

11.CONCLUSIONES

1. La citología y la AAR presentan una baja sensibilidad y alta especificidad. El genotipado (presencia de algún genotipo de alto riesgo para VPH) presenta una alta sensibilidad y baja especificidad.
2. El rendimiento diagnóstico, evaluado mediante el área bajo la curva, es bajo para las 3 pruebas de screening y presenta diferencias significativas entre ellas. La citología es la prueba que presenta un rendimiento diagnóstico significativamente más bajo comparado con el genotipado de VPH que es el que presenta mayor rendimiento diagnóstico.
3. La combinación de las pruebas de screening evaluadas en paralelo no muestra una ganancia diagnóstica significativa en relación a la aplicación de las pruebas de manera individual.
4. La combinación de genotipado de alto riesgo con la AAR es la combinación que presenta una mayor sensibilidad y mayor VPN.
5. A la luz de nuestros resultados, los protocolos clínicos de cribado utilizados en la actualidad deberían ser abandonados, ya que no existen estudios que analicen las pruebas de cribado comparadas sistemáticamente con un standard.
6. El estudio de diversos biomarcadores tales como el ARN mensajero de determinados genotipos del VPH y la tinción citológica de proteínas como la P16ink4a y el Ki67 abren nuevas puertas a la investigación para la detección de lesiones preneoplásicas en el futuro.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Mahadevan V. Anatomy of the rectum and anal canal. *Surgery*. 2017;DOI:10.1016/j.mpsur.2016.12.008.
2. J C. Cancer de Ano. Cirugía AEC, Ed Médica Panamericana Madrid. 2010;58:594-600.
3. Shia J. An update on tumors of the anal canal. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1601-11.
4. 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.
5. Belkacemi Y, Berger C, Poortmans P, Piel G, Zouhair A, Meric JB, et al. Management of primary anal canal adenocarcinoma: a large retrospective study from the Rare Cancer Network. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003;56(5):1274-83.
6. 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.
7. 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.
8. Hessol NA, Pipkin S, Schwarcz S, Cress RD, Bacchetti P, Scheer S. The impact of highly active antiretroviral therapy on non-AIDS-defining cancers among adults with AIDS. *Am J Epidemiol*. 2007;165(10):1143-53.
9. 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.
10. Seaberg EC, Wiley D, Martinez-Maza O, Chmiel JS, Kingsley L, Tang Y, et al. Cancer incidence in the multicenter AIDS Cohort Study before and during the HAART era: 1984 to 2007. *Cancer*. 2010;116(23):5507-16.
11. van Leeuwen MT, Vajdic CM, Middleton MG, McDonald AM, Law M, Kaldor JM, et al. Continuing declines in some but not all HIV-associated

- cancers in Australia after widespread use of antiretroviral therapy. *AIDS*. 2009;23(16):2183-90.
12. 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.
 13. Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(3):177-93.
 14. Palefsky JM. Anal human papillomavirus infection and anal cancer in HIV-positive individuals: an emerging problem. *AIDS*. 1994;8(3):283-95.
 15. Klotz RG, Jr., Pamukcoglu T, Souilliard DH. Transitional cloacogenic carcinoma of the anal canal. Clinicopathologic study of three hundred seventy-three cases. *Cancer*. 1967;20(10):1727-45.
 16. Bower M, Collins S, Cottrill C, Cwynarski K, Montoto S, Nelson M, et al. British HIV Association guidelines for HIV-associated malignancies 2008. *HIV Med*. 2008;9(6):336-88.
 17. Shalev N, Olender SA, Chiasson MA. Targeted anal cancer screening in HIV-infected patients: prevalence of screening indicators. *AIDS*. 2009;23(12):1613-5.
 18. Padilla-Espana L, Repiso-Jimenez JB, Frieyro-EliceGUI M, Rivas-Ruiz F, Robles L, de Troya M. [Screening of anal intraepithelial neoplasia in risk groups: descriptive study of sexual habits and other sexual transmitted infections]. *Med Clin (Barc)*. 2014;142(4):145-9.
 19. Padilla-Espana L, Repiso-Jimenez JB, Fernandez-Sanchez F, Pereda T, Rivas-Ruiz F, Fernandez-Morano T, et al. [Effectiveness of human papillomavirus genotyping for detection of high-grade anal intraepithelial neoplasia compared to anal cytology]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016;34(7):400-5.
 20. Leonard D, Beddy D, Dozois EJ. Neoplasms of anal canal and perianal skin. *Clin Colon Rectal Surg*. 2011;24(1):54-63.
 21. Chang GJ, Gonzalez RJ, Skibber JM, Eng C, Das P, Rodriguez-Bigas MA. A twenty-year experience with adenocarcinoma of the anal canal. *Dis Colon Rectum*. 2009;52(8):1375-80.

22. Frisch M, Melbye M, Moller H. Trends in incidence of anal cancer in Denmark. *BMJ*. 1993;306(6875):419-22.
23. 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.
24. Chiao EY, Giordano TP, Palefsky JM, Tyring S, El Serag H. Screening HIV-infected individuals for anal cancer precursor lesions: a systematic review. *Clin Infect Dis*. 2006;43(2):223-33.
25. 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.
26. Holmes F, Borek D, Owen-Kummer M, Hassanein R, Fishback J, Behbehani A, et al. Anal cancer in women. *Gastroenterology*. 1988;95(1):107-11.
27. 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.
28. Lin AY, Gridley G, Tucker M. Benign anal lesions and anal cancer. *N Engl J Med*. 1995;332(3):190-1.
29. Roberts JR, Siekas LL, Kaz AM. Anal intraepithelial neoplasia: A review of diagnosis and management. *World J Gastrointest Oncol*. 2017;9(2):50-61.
30. Abbas A, Yang G, Fakhri M. Management of anal cancer in 2010. Part 1: Overview, screening, and diagnosis. *Oncology (Williston Park)*. 2010;24(4):364-9.
31. Fenger C, Nielsen VT. Intraepithelial neoplasia in the anal canal. The appearance and relation to genital neoplasia. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A*. 1986;94(5):343-9.
32. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002;287(16):2114-9.
33. Carter PS, Sheffield JP, Shepherd N, Melcher DH, Jenkins D, Ewings P, et al. Interobserver variation in the reporting of the histopathological grading of anal intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol*. 1994;47(11):1032-4.
34. Darragh TM, Colgan TJ, Thomas Cox J, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization project for

HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Int J Gynecol Pathol.* 2013;32(1):76-115.

35. Palefsky JM, Holly EA. Molecular virology and epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1995;4(4):415-28.
36. 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.
37. Tong WW, Jin F, McHugh LC, Maher T, Sinclair B, Grulich AE, et al. Progression to and spontaneous regression of high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-infected and uninfected men. *AIDS.* 2013;27(14):2233-43.
38. Arends MJ, Buckley CH, Wells M. Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. *J Clin Pathol.* 1998;51(2):96-103.
39. Kreuter A, Potthoff A, Brockmeyer NH, Gambichler T, Stucker M, Altmeyer P, et al. Imiquimod leads to a decrease of human papillomavirus DNA and to a sustained clearance of anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected men. *J Invest Dermatol.* 2008;128(8):2078-83.
40. Richel O, de Vries HJ, van Noesel CJ, Dijkgraaf MG, Prins JM. Comparison of imiquimod, topical fluorouracil, and electrocautery for the treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive men who have sex with men: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(4):346-53.
41. Palefsky J. Human papillomavirus and anal neoplasia. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2008;5(2):78-85.
42. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine.* 2012;30 Suppl 5:F55-70.
43. McMillan NA, Payne E, Frazer IH, Evander M. Expression of the alpha6 integrin confers papillomavirus binding upon receptor-negative B-cells. *Virology.* 1999;261(2):271-9.

44. Narisawa-Saito M, Kiyono T. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci.* 2007;98(10):1505-11.
45. Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res.* 2004;64(11):3878-84.
46. de Freitas AC, Coimbra EC, Leitao Mda C. Molecular targets of HPV oncoproteins: potential biomarkers for cervical carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1845(2):91-103.
47. Kreuter A, Potthoff A, Brockmeyer NH, Gambichler T, Swoboda J, Stucker M, et al. Anal carcinoma in human immunodeficiency virus-positive men: results of a prospective study from Germany. *Br J Dermatol.* 2010;162(6):1269-77.
48. Scholefield JH, Castle MT, Watson NF. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg.* 2005;92(9):1133-6.
49. Leeds IL, Fang SH. Anal cancer and intraepithelial neoplasia screening: A review. *World J Gastrointest Surg.* 2016;8(1):41-51.
50. Simard EP, Watson M, Saraiya M, Clarke CA, Palefsky JM, Jemal A. Trends in the occurrence of high-grade anal intraepithelial neoplasia in San Francisco: 2000-2009. *Cancer.* 2013;119(19):3539-45.
51. Kline RJ, Spencer RJ, Harrison EG, Jr. Carcinoma Associated with Fistula-in-Ano. *Arch Surg.* 1964;89:989-94.
52. Buckwalter JA, Jurayj MN. Relationship of chronic anorectal disease to carcinoma. *AMA Arch Surg.* 1957;75(3):352-60; discussion 60-1.
53. Slater G, Greenstein A, Aufses AH, Jr. Anal carcinoma in patients with Crohn's disease. *Ann Surg.* 1984;199(3):348-50.
54. Frisch M, Glimelius B, van den Brule AJ, Wohlfahrt J, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. Benign anal lesions, inflammatory bowel disease and risk for high-risk human papillomavirus-positive and -negative anal carcinoma. *Br J Cancer.* 1998;78(11):1534-8.
55. Frisch M, Johansen C. Anal carcinoma in inflammatory bowel disease. *Br J Cancer.* 2000;83(1):89-90.

56. Hicks CW, Wick EC, Leeds IL, Efron JE, Gearhart SL, Safar B, et al. Patient Symptomatology in Anal Dysplasia. *JAMA Surg.* 2015;150(6):563-9.
57. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet.* 2007;370(9581):59-67.
58. Darwich L, Videla S, Canadas MP, Pinol M, Garcia-Cuyas F, Vela S, et al. Distribution of human papillomavirus genotypes in anal cytological and histological specimens from HIV-infected men who have sex with men and men who have sex with women. *Dis Colon Rectum.* 2013;56(9):1043-52.
59. Bedimo RJ, McGinnis KA, Dunlap M, Rodriguez-Barradas MC, Justice AC. Incidence of non-AIDS-defining malignancies in HIV-infected versus noninfected patients in the HAART era: impact of immunosuppression. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;52(2):203-8.
60. Sillman FH, Sentovich S, Shaffer D. Ano-genital neoplasia in renal transplant patients. *Ann Transplant.* 1997;2(4):59-66.
61. Albright JB, Bonatti H, Stauffer J, Dickson RC, Nguyen J, Harnois D, et al. Colorectal and anal neoplasms following liver transplantation. *Colorectal Dis.* 2010;12(7):657-66.
62. Sillman FH, Sedlis A. Anogenital papillomavirus infection and neoplasia in immunodeficient women: an update. *Dermatol Clin.* 1991;9(2):353-69.
63. Peters RK, Mack TM. Patterns of anal carcinoma by gender and marital status in Los Angeles County. *Br J Cancer.* 1983;48(5):629-36.
64. 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.
65. Melbye M, Cote 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.
66. 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.
67. 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.

68. Northfelt DW, Swift PS, Palefsky JM. Anal neoplasia. Pathogenesis, diagnosis, and management. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996;10(5):1177-87.
69. 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.
70. Machalek DA, Poynten M, Jin F, Fairley CK, Farnsworth A, Garland SM, et al. Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2012;13(5):487-500.
71. Williams GR, Lu QL, Love SB, Talbot IC, Northover JM. Properties of HPV-positive and HPV-negative anal carcinomas. *J Pathol.* 1996;180(4):378-82.
72. Shiels MS, Pfeiffer RM, Chaturvedi AK, Kreimer AR, Engels EA. Impact of the HIV epidemic on the incidence rates of anal cancer in the United States. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(20):1591-8.
73. Silverberg MJ, Lau B, Justice AC, Engels E, Gill MJ, Goedert JJ, et al. Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. *Clin Infect Dis.* 2012;54(7):1026-34.
74. 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.
75. 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.
76. Goedert JJ, Cote TR, Virgo P, Scoppa SM, Kingma DW, Gail MH, et al. Spectrum of AIDS-associated malignant disorders. *Lancet.* 1998;351(9119):1833-9.
77. Selik RM, Rabkin CS. Cancer death rates associated with human immunodeficiency virus infection in the United States. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(17):1300-2.
78. 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.
79. Bertisch B, Franceschi S, Lise M, Vernazza P, Keiser O, Schoni-Affolter F, et al. Risk factors for anal cancer in persons infected with HIV: a nested case-control study in the Swiss HIV Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2013;178(6):877-84.
80. Sood AK. Cigarette smoking and cervical cancer: meta-analysis and critical review of recent studies. *Am J Prev Med.* 1991;7(4):208-13.
81. Bouchard-Fortier G, Hajifathalian K, McKnight MD, Zacharias DG, Gonzalez-Gonzalez LA. Co-testing for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer compared with cytology alone: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Public Health (Oxf).* 2014;36(1):46-55.
82. Kwok CS, Gibbs S, Bennett C, Holland R, Abbott R. Topical treatments for cutaneous warts. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012(9):CD001781.
83. Martin-Hirsch PP, Paraskevaidis E, Bryant A, Dickinson HO. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013(12):CD001318.
84. Wawer MJ, Tobian AA, Kigozi G, Kong X, Gravitt PE, Serwadda D, et al. Effect of circumcision of HIV-negative men on transmission of human papillomavirus to HIV-negative women: a randomised trial in Rakai, Uganda. *Lancet.* 2011;377(9761):209-18.
85. Munoz N, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al. Impact of human papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 vaccine on all HPV-associated genital diseases in young women. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102(5):325-39.
86. Conway MJ, Meyers C. Replication and assembly of human papillomaviruses. *J Dent Res.* 2009;88(4):307-17.
87. Einstein MH, Schiller JT, Viscidi RP, Strickler HD, Coursaget P, Tan T, et al. Clinician's guide to human papillomavirus immunology: knowns and unknowns. *Lancet Infect Dis.* 2009;9(6):347-56.
88. Konya J, Dillner J. Immunity to oncogenic human papillomaviruses. *Adv Cancer Res.* 2001;82:205-38.
89. Douglas JM. Virus del papiloma. 25 ed 2017 2017. 2219-23 p.

90. William Bonnez M, Douglas y Bennett Papilomavirus. 8 ed. España: Elsevier; 2016.
91. Campo MS. Animal models of papillomavirus pathogenesis. *Virus Res.* 2002;89(2):249-61.
92. Mandell DyB. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. 8º ed. Spain: Elsevier; 2016 2016.
93. Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(5):368-83.
94. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C, et al. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(20):1550-7.
95. Kim JJ, Goldie SJ. Health and economic implications of HPV vaccination in the United States. *N Engl J Med.* 2008;359(8):821-32.
96. Palefsky JM, Giuliano AR, Goldstone S, Moreira ED, Jr., Aranda C, Jessen H, et al. HPV vaccine against anal HPV infection and anal intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med.* 2011;365(17):1576-85.
97. Sirera G, Videla S, Pinol M, Coll J, Garcia-Cuyas F, Vela S, et al. Long-term effectiveness of infrared coagulation for the treatment of anal intraepithelial neoplasia grades 2 and 3 in HIV-infected men and women. *AIDS.* 2013;27(6):951-9.
98. Weis SE, Vecino I, Pogoda JM, Susa JS, Nevoit J, Radaford D, et al. Prevalence of anal intraepithelial neoplasia defined by anal cytology screening and high-resolution anoscopy in a primary care population of HIV-infected men and women. *Dis Colon Rectum.* 2011;54(4):433-41.
99. 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.
100. 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.

101. Elorza G, Saralegui Y, Enriquez-Navascues JM, Placer C, Velaz L. Anal intraepithelial neoplasia: A narrative review. *Rev Esp Enferm Dig.* 2016;108(1):31-9.
102. Lampinen TM, Miller ML, Chan K, Anema A, van Niekerk D, Schilder AJ, et al. Randomized clinical evaluation of self-screening for anal cancer precursors in men who have sex with men. *Cytojournal.* 2006;3:4.
103. Crawshaw BP, Russ AJ, Stein SL, Reynolds HL, Marderstein EL, Delaney CP, et al. High-resolution anoscopy or expectant management for anal intraepithelial neoplasia for the prevention of anal cancer: is there really a difference? *Dis Colon Rectum.* 2015;58(1):53-9.
104. Goldstone SE, Lowe B, Rothmann T, Nazarenko I. Evaluation of the hybrid capture 2 assay for detecting anal high-grade dysplasia. *Int J Cancer.* 2012;131(7):1641-8.
105. Scarpini C, White V, Muralidhar B, Patterson A, Hickey N, Singh N, et al. Improved screening for anal neoplasia by immunocytochemical detection of minichromosome maintenance proteins. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(10):2855-64.
106. Silling S, Kreuter A, Hellmich M, Swoboda J, Pfister H, Wieland U. Human papillomavirus oncogene mRNA testing for the detection of anal dysplasia in HIV-positive men who have sex with men. *J Clin Virol.* 2012;53(4):325-31.
107. Sendagorta E, Romero MP, Bernardino JI, Beato MJ, Alvarez-Gallego M, Herranz P. Human papillomavirus mRNA testing for the detection of anal high-grade squamous intraepithelial lesions in men who have sex with men infected with HIV. *J Med Virol.* 2015;87(8):1397-403.
108. Goldie SJ, Kuntz KM, Weinstein MC, Freedberg KA, Palefsky JM. Cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions and anal cancer in human immunodeficiency virus-negative homosexual and bisexual men. *Am J Med.* 2000;108(8):634-41.
109. Esser S, Kreuter A, Oette M, Gengelmaier A, Mosthaf F, Sautter-Bihl ML, et al. German-Austrian guidelines on anal dysplasia and anal cancer in HIV-positive individuals: prevention, diagnosis, and treatment. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2015;13(12):1302-19.

110. 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.
111. 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.
112. Goldstone SE, Enyinna CS, Davis TW. Detection of oncogenic human papillomavirus and other predictors of anal high-grade dysplasia in men who have sex with men with abnormal cytology. *Dis Colon Rectum.* 2009;52(1):31-9.
113. Bean SM, Chhieng DC. Anal-rectal cytology: a review. *Diagn Cytopathol.* 2010;38(7):538-46.
114. 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.
115. Serup-Hansen E, Linnemann D, Skovrider-Ruminski W, Hogdall E, Geertsen PF, Havsteen H. Human papillomavirus genotyping and p16 expression as prognostic factors for patients with American Joint Committee on Cancer stages I to III carcinoma of the anal canal. *J Clin Oncol.* 2014;32(17):1812-7.
116. Torres M, Gonzalez C, del Romero J, Viciano P, Ocampo A, Rodriguez-Fortunez P, et al. Anal human papillomavirus genotype distribution in HIV-infected men who have sex with men by geographical origin, age, and cytological status in a Spanish cohort. *J Clin Microbiol.* 2013;51(11):3512-20.
117. Hwang LY, Ma Y, Benningfield SM, Clayton L, Hanson EN, Jay J, et al. Factors that influence the rate of epithelial maturation in the cervix in healthy young women. *J Adolesc Health.* 2009;44(2):103-10.
118. Etienney I, Vuong S, Si-Mohamed A, Flejou JF, Atienza P, Bauer P, et al. Value of cytologic Papanicolaou smears and polymerase chain reaction screening for human papillomavirus DNA in detecting anal intraepithelial neoplasia: comparison with histology of a surgical sample. *Cancer.* 2012;118(24):6031-8.

119. Garcia-Espinosa B, Moro-Rodriguez E, Alvarez-Fernandez E. Human papillomavirus genotypes in human immunodeficiency virus-positive patients with anal pathology in Madrid, Spain. *Diagn Pathol.* 2013;8:204.
120. Thomas Newsom-Davis PF, Victoria Bradley, Alessia Dalla Pria, Mark Nelson, Mark Bower. The features and outcome of HIV-associated anal cancer in screened and unscreened populations. *Journal of Clinical Oncology* 2012;15.
121. Howard K. The cost-effectiveness of screening for anal cancer in men who have sex with men: a systematic review. *Sex Health.* 2012;9(6):610-9.
122. Phanuphak N, Teeratakulpisarn N, Keelawat S, Pankam T, Barisri J, Triratanachat S, et al. Use of human papillomavirus DNA, E6/E7 mRNA, and p16 immunocytochemistry to detect and predict anal high-grade squamous intraepithelial lesions in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men. *PLoS One.* 2013;8(11):e78291.

UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS DOCTORAL

**Desarrollo de un modelo de detección de lesiones
premalignas precursoras del carcinoma escamoso del
canal anal**

Autora: Rocío Franco Herrera

Directores: Dr. Jesús Lago Oliver
Dr. Rafael Linares García-Valdecasas

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud
Escuela Internacional de Doctorado

Madrid, 2018