



TESIS DOCTORAL:

**Estudio anal en mujeres con
patología del tracto genital inferior
por infección por el Virus del
Papiloma Humano.**

María de la Concepción Donaire González
2015





Universidad Miguel Hernández
Facultad de Medicina
Departamento de Salud Pública, Historia de la
Ciencia y Ginecología.

TESIS DOCTORAL:

**“Estudio anal en mujeres con patología
del tracto genital inferior por infección por
el virus del papiloma humano”**

Autora: María de la Concepción Donaire González.

Director: Juan Carlos Martínez Escoriza.

Alicante, 2015

El Dr. Juan Carlos Martínez Escoriza certifica que la tesis doctoral titulada **“Estudio anal en mujeres con patología del tracto genital inferior por el virus del papiloma humano”**, presentada por María de la Concepción Donaire González ha sido realizada bajo mi dirección y cumple todos los requisitos que dicta la normativa vigente para la presentación de tesis doctorales.

Dr. Juan Carlos Martínez Escoriza

Alicante, Mayo 2015

AGRADECIMIENTOS:

Como dice el refrán: “Es de bien nacido ser agradecido”. Y yo quisiera poder expresar mi sincero deseo de gratitud a todas las personas que han hecho posible que finalmente este trabajo haya podido llevarse a cabo.

A Juan Carlos, porque hace ahora 3 años, cuando llegué a este mi Hospital de Alicante, me escuchaste cuando te comenté mi deseo de formar parte de la Unidad del Tracto Genital Inferior. Este trabajo es mi forma de agradecerte la confianza depositada en mí.

A José Antonio, porque cuando he necesitado una opinión profesional y te he buscado, siempre te he encontrado.

A Rafa, adjunto mío cuando yo era Residente. Por lo mucho que me has enseñado y me sigues enseñando.

A Pedro Zapater, Farmacólogo clínico del Hospital y compañero de Carrera. Por tu ayuda, generosidad, asesoramiento e infinita paciencia conmigo.

A Juan Carlos Rodríguez, Jefe del Servicio de Microbiología y a la Dra. Lina Gimeno. Por lo fácil que ha sido el trabajo de campo con vosotros. Vuestra colaboración ha sido indispensable para que pudiera cumplir los plazos.

Al Dr. Aranda, Jefe del Servicio de Anatomía Patológica y en especial al Dr. Seguí, anatomopatólogo encargado del procesamiento de todas las citologías del estudio. Porque todo han sido facilidades y no habéis puesto objeción alguna, pese a la sobrecarga de trabajo originada. También

muchas gracias a María Dolores, Supervisora del mismo Servicio. Por haber colaborado de forma totalmente altruista.

A Joaquín Ferri, Cirujano especializado en Anoscopia de Alta Resolución, y a Marcos, enfermero que trabaja en su Unidad. Por la buena conexión que he tenido con vosotros, y lo mucho que me habéis ayudado.

Gracias a Manuela y Amparo, enfermera y auxiliar de la Unidad del Tracto Genital Inferior. Porque ha sido un trabajo de equipo del que vosotras habéis formado parte imprescindible. Gracias por vuestra ayuda.

Gracias a Mamen, Toñi, Gloria y Bea, administrativas del Servicio. Por vuestra colaboración a la hora de citar y llamar a las pacientes.

A mi familia, mi gran familia. Mi madre, la persona que más me ha querido y a la que tanto quiero yo y admiro. A mi padre, que tan orgulloso ha estado siempre de mí. A mis hermanos, Margarita, Agustín, Ana, Antonio y Mercedes.

A mis hijas, Sandra, Silvia y Blanca. Por la paciencia que me han demostrado y el tiempo que les he robado. A vosotras os dedico mi Tesis. A vosotras y cómo no, a Marcos. Por tu ayuda, colaboración y paciencia infinita. Querer a una persona es sentir admiración por ella. Yo te admiro profundamente, como profesional (eres mi ídolo, ya lo sabes) y más aún, como persona. MUCHAS GRACIAS.

I. INDICE

I.	INDICE.....	6
I.	ABREVIATURAS:.....	8
II.	CUADROS.....	10
III.	FIGURAS.....	10
IV.	TABLAS.....	11
I.	INTRODUCCIÓN.....	13
I.A.	EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.....	14
I.A.1.	Estructura:.....	14
I.A.2.	Clasificación:.....	16
I.A.3.	Ciclo viral infeccioso.....	22
I.A.4.	Mecanismos de carcinogénesis del VPH.....	26
I.A.5.	Papel del VPH en la carcinogénesis del tracto genito-anal.....	30
I.A.6.	Epidemiología.....	31
I.A.7.	Factores de progresión e invasión:.....	34
I.A.8.	Consecuencias de la infección VPH en el canal anorrectal:.....	47
I.B.	JUSTIFICACIÓN:.....	69
I.C.	HIPÓTESIS.....	74
I.D.	OBJETIVOS.....	75
I.D.1.	Objetivo principal:.....	75
I.D.2.	Objetivos secundarios:.....	75
II.	MATERIAL Y METODOS.....	76
II.A.	Características de la población estudiada.....	77
II.A.1.	Población y criterios de inclusión y exclusión.....	77

II.A.2	Características de la cohorte prospectiva	78
II.A.3.	Características de la cohorte retrospectiva.....	88
II.B.	Metodología.....	88
II.C.	Análisis estadístico:.....	90
II.C.1.	Tamaño muestral:.....	90
II.C.2.	Análisis de los datos:	91
III.	RESULTADOS:.....	92
III.A.	Relación entre presencia de VPH en cérvix y en el ano:	93
III.B.	VPH anal y factores epidemiológicos:	97
III.B.1.	Edad del primer coito:	97
III.B.2.	Hábito tabáquico:	98
III.B.3.	Preservativo:.....	99
III.B.4.	Coito anal:.....	99
III.B.5.	Condilomas anales:.....	100
III.B.6.	Antecedente de patología anal benigna:	100
III.C.	VPH anal y biopsia de cérvix:	101
III.D.	Sensibilidad y Especificidad del test del VPH anal:.....	103
III.E.	Citología anal y Displasia anal:.....	103
III.F.	Sensibilidad y Especificidad de la AAR:.....	106
III.G.	Resultados del análisis actual de una cohorte de pacientes con lesión cervical VPH dependiente pasada y ya curada, y la potencial evolución de lesión anal no cribada entonces.	107
IV.	DISCUSION:	110
V.	CONCLUSIONES:	121
VI.	ANEXO.....	123
VII.	BIBLIOGRAFIA.....	125

I. ABREVIATURAS:

AAR:	Anoscopia de alta resolución.
AEPCC:	Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia.
AGC:	Atipia glandular cervical.
ACO:	Anticonceptivos orales combinados.
AR:	Alto riesgo.
ASCUS:	Atipia celular de significado incierto.
ASC-H:	Atipia celular que no puede excluir lesión de alto grado.
CIN:	Neoplasia intracervical.
CIR:	Coagulación con infrarrojos.
DIU:	Dispositivo intrauterino.
HAART:	Terapia antirretroviral intensiva.
HLA:	Antígeno leucocítico humano.
HSIL:	Lesión intraepitelial de alto grado.
IARC:	Agencia internacional para la investigación del cáncer.
IC95%:	Índice de confianza al 95%.
ICTV:	Comité internacional de taxonomía de virus.
INE:	Instituto Nacional de Estadística.
LAST:	Terminología referida a la patología escamosa del tracto génito-anal inferior.
LSIL:	Lesión intraepitelial de bajo grado.
NIA:	Neoplasia intraepitelial anal.
OR:	Odds ratio.
ORF:	Marcos abiertos de lectura.
PCR:	Reacción en cadena de la Polimerasa.
pRb:	Proteína del retinoblastoma.
RR:	Riesgo relativo.
TGI:	Tracto Genital Inferior.
UCSF:	Universidad de California, San Francisco.

UEC: Unión escamo columnar.
URL: Unidades de luminiscencia.
UTGI: Unidad del Tracto Genital Inferior.
VEGF: Factor de crecimiento vascular endotelial.
VHS-2: Virus del Herpes Simple tipo 2.
VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.
VPH: Virus del papiloma humano.
ZT: Zona de transformación.



II. CUADROS

Cuadro 1. Funciones de las oncoproteínas (14).....	30
Cuadro 2. Factores de riesgo del cáncer de cuello según Wright (10).....	41
Cuadro 3. Criterios de inclusión y exclusión.....	77
Cuadro 4. Limitaciones del estudio.	120

III. FIGURAS

Figura 1. Estructura del Virus del papiloma humano. Creada con el software GRASP, Graphical Represent (1).....	14
Figura 2. Estructura genética del VPH (10).....	15
Figura 3. Clasificación taxonómica del HPV en base a proximidad genética en el gen L1. Reproduciría, de acuerdo con de Villiers la evolución del VPH (13).....	19
Figura 4. Variantes VPH (Alfa-9 virus: Linajes y sublinajes) (20)	21
Figura 5. Ciclo viral infeccioso de acuerdo con Stanley (27). Estrategia de la infección.25	
Figura 6. Mecanismo oncogénico de las proteínas del VPH (54).....	28
Figura 7. Canal anal. Tomado de Darragh (212).....	49
Figura 8. Unión escamocolumnar anal.....	50
Figura 9. Modelo de cribado de cáncer anal propuesto por Palefsky (2).	57
Figura 10. Material para AAR.	62
Figura 11. Introducción anoscopio.....	62
Figura 12. Neoplasia Intraepitelial Anal (2).....	65
Figura 13. Distribución por edad de las mujeres del estudio.....	78
Figura 14. Edad de inicio de las relaciones sexuales.	83
Figura 15. VPH cervical.	87
Figura 16. Algoritmo de cribado para el estudio.....	90
Figura 17. VPH anal.....	94

Figura 18. VPH anales cuando los VPH cervicales fueron 16/18 (izquierda) y no 16/18 (derecha).....	95
Figura 19. Distribución de los VPH cervicales en función de los VPH anales (izquierda: VPH anal “16/18” y derecha, VPH anal “no 16/18”).	97
Figura 20. Relación entre la edad de inicio del primer coito y la infección por VPH anal (p=0,29).....	98
Figura 21. Resumen de la distribución de resultados del estudio.	106

IV. TABLAS

Tabla 1. Tumores asociados al Virus del Papiloma Humano (208).	48
Tabla 2. Relación de motivos por los que las pacientes acudieron.....	79
Tabla 3. Motivos de consulta en las mujeres a las que no se practicó VPH.....	79
Tabla 4. Hábito tabáquico en la población de estudio.....	80
Tabla 5. Uso del preservativo en la población de estudio.	81
Tabla 6. Subgrupo de mujeres den edad fértil y uso de preservativo.	81
Tabla 7. Anticonceptivos orales en la población de estudio.....	82
Tabla 8. Tiempo de uso de los anticonceptivos en las 24 usuarias.....	82
Tabla 9. Número de parejas sexuales.....	83
Tabla 10. Pareja sexual estable en la cohorte de la población de estudio.	84
Tabla 11. Coito anal en la cohorte de estudio.....	84
Tabla 12. Antecedente de patología anal benigna.....	85
Tabla 13. Antecedente de herpes genital en la población de estudio.....	85
Tabla 14. Genotipos virales en cérvix.....	86
Tabla 15. Distribución de los tipos virales en cérvix tras la introducción del test de Cobas®.	87
Tabla16. Características de la cohorte retrospectiva.....	88
Tabla 17. VPH anal. Frecuencia	93
Tabla 18. VPH anal. Tipos.	93
Tabla 19. Correlación entre VPH en cérvix y en ano (p=0,0007).....	94
Tabla 20. Tabla de contingencia entre los tipos VPH cervicales y anales (p=0,0042)...	95

Tabla 21. Tabla de contingencia VPH 16 cervical y anal (p=0,0013).....	96
Tabla 22. Tipos de VPH en el cérvix en función del VPH encontrado en el ano (p=0,0007).....	96
Tabla 23. VPH anal y tabaco (P=0,328).....	98
Tabla 24. Infección por VPH anal y tabaco (p=0,649).	99
Tabla 25. VPH anal y uso del preservativo (p=0,4113).....	99
Tabla 26. VPH anal y relaciones anales (p=0,0807).....	100
Tabla 27. VPH anal y antecedente de condilomas anales (p=0,047).	100
Tabla 28. VPH anal y antecedente de patología anal benigna (p=0,179).	101
Tabla 29. VPH anal y tipo de patología anal benigna (p=0,4202).	101
Tabla 30. Prevalencia de VPH anal en biopsias con diagnóstico de CIN (p=0,406).....	102
Tabla 31. Resultado de la Biopsia de cérvix y el VPH anal encontrado (p=0,232).	102
Tabla 32. Comparación entre CIN 1 y presencia de VPH AR anal y el resto de resultados histopatológicos (p=0,044).....	103
Tabla 33. Sensibilidad y Especificidad del test del VPH anal.....	103
Tabla 34. Citologías anales alteradas en las pacientes del estudio.....	104
Tabla 35. Relación entre citología anal y tipo de VPH (p=0,42).	104
Tabla 36. Resultados tras AAR y biopsia.....	105
Tabla 37. Matriz de decisiones (o tabla 2x2) de la AAR	107
Tabla 38. Sensibilidad y Especificidad de la Anoscopia de Alta Resolución	107
Tabla 39. Comparación entre la cohorte prospectiva y la retrospectiva.	108
Tabla 40. Factores epidemiológicos relacionados con la infección por VPH anal.	114
Tabla 41. Prevalencia de citología anal alterada según distintos autores.	115
Tabla 42. Sensibilidad y Especificidad de la citología anal.	116



I. INTRODUCCIÓN

I.A. EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

I.A.1. Estructura:

Etimológicamente, el significado del nombre del virus deriva del latín “papilla”, vesícula, y del sufijo griego “-oma”, tumor. Tumor con forma de vesícula. La letra “H” indica la especie del huésped. El término VPH hace referencia al Virus del Papiloma Humano (1).

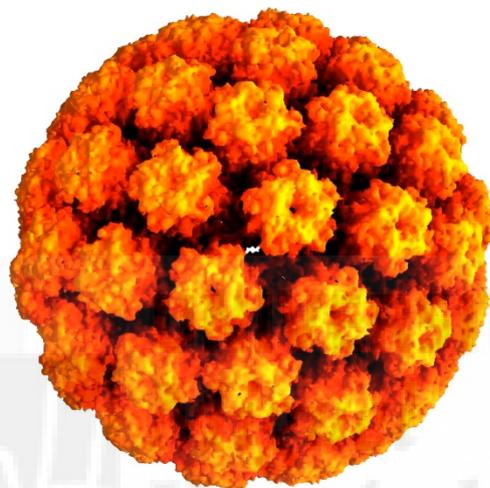


Figura 1. Estructura del Virus del papiloma humano. Creada con el software GRASP, Graphical Represent (1).

Los virus del papiloma humano (VPH) pertenecen a la familia Papillomaviridae (2, 3). Son pequeños, con un diámetro de 52 a 55 nanómetros y poseen 8.000 pares de bases de DNA de doble cadena específico de especie (4), ligadas a histonas y que están recubiertas por una cápside proteica icosaédrica con 72 capsómeros pentaméricos (5).

El genoma del VPH, de configuración episómica o circular, está dividido en tres regiones: Región reguladora superior (Upstream regulatory region - URR), región de genes de transcripción temprana (Early - E) y región tardía (Late - L).

La URR es una región no codificante y responsable de la replicación y de la transcripción del virus, manteniendo de esta manera un elevado número de copias virales. Los genes responsables de la patogenicidad del VPH, también denominados marcos abiertos de lectura (ORF, open reading frames) son las unidades específicas donde actúa la polimerasa de ARN (5, 6). Se encuentran solamente en las regiones temprana y tardía. En la región temprana existen 6 ORF, denominados E1, E2, E4, E5, E6 y E7. Se expresan en etapas precoces del ciclo vital del VPH y se encargan de codificar las proteínas necesarias para la replicación y el control de la transcripción del genoma viral. La región de genes de transcripción tardía contiene dos ORF, L1 y L2, que codifican proteínas meramente estructurales necesarias para el ensamblaje y síntesis de la cápside viral. Sin ésta, el VPH carecería de capacidad infectante (7-9) (Figura 2).

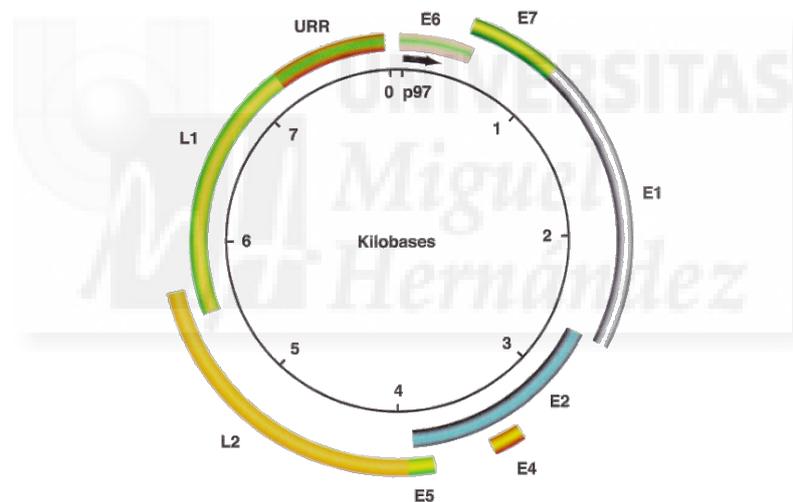


Figura 2. Estructura genética del VPH (10)

La proteína E2 es el principal regulador de la transcripción del ADN del virus. La integración de los VPH AR en la célula huésped, altera esta proteína y como consecuencia se pierde el control de la expresión del VPH. Se ha demostrado que este fenómeno es clave en la transformación oncogénica celular y se trataría de un marcador biológico de la progresión de la enfermedad (11).

Las proteínas E6 y E7 de los VPH AR se unen y bloquean a las proteínas p53 y Rb (proteína del Retinoblastoma) de las células del huésped, encargadas de conducir a la

célula infectada a un proceso de apoptosis o muerte celular. De esta manera, el virus escapa del mecanismo regulador celular y se inicia el proceso de transformación oncogénica celular.

El grado de expresión de E6 y E7 se correlaciona con el grado de displasia. Así, se ha visto que en las lesiones de bajo grado (LSIL), estas oncoproteínas se expresan a niveles bajos en las células basales del epitelio, mientras que en las lesiones de alto grado (HSIL) se expresan ampliamente a nivel de todo el epitelio (12).

Realmente es la integración del ADN del VPH en el ADN celular del huésped el factor determinante para que se inicie el proceso de oncogénesis (12).

I.A.2. Clasificación:

Los virus del papiloma humano se clasifican según su grado de similitud en la región de lectura abierta L1, en *géneros* (comparten menos de un 60% en común) como el género Alfa papiloma virus; *especie* (comparten entre un 60 y un 70% en común), como la especie 9 (que incluye al VPH 16); *tipo* (comparten entre un 71% y un 89% en común), como el VPH 16; *subtipos* (comparten entre un 90% y un 98%), como lo es en la actualidad el VPH 55, subtipo del VPH 44 por tener un 95% en común. A partir de aquí los investigadores optan por emplear la variabilidad total del genoma para diferenciar elementos. *Variantes*, también denominados *linajes* (cuando comparten entre un 98% y un 99%), como por ejemplo la variante europea (E) del VPH 16 o el linaje A1 del VPH 58; *sublinajes* (cuando comparten más de un 99%), como por ejemplo los sublinajes A1 y A2 del VPH 35. Algunos autores denominan variantes a los sublinajes, lo que puede generar cierta confusión como las variantes (sublinajes) Af1a, Af1b, Af1c, Af1d y Af1 que los son del Linaje Af1 del VPH 16.

Durante más de 30 años las clasificaciones taxonómicas de los VPH se basaron en hibridaciones cruzadas y patrones de restricción. Tradicionalmente los virus del papiloma humano se clasificaron en función de sus diferencias entre sí. El mayor grado de diferencia en el DNA establecía la diferencia entre tipos. Posteriormente, la clasificación se hizo más selectiva y se basó en diferencias en los fragmentos L1, E6 y E7. Las bases de la taxonomía actual se basan, desde el Papillomavirus Workshop en

Quebec en 1.995, en diferencias en la región abierta de lectura L1 (13). Es la que mejor se conserva dentro del genoma y es por ello que, desde hace 20 años se emplea para clasificar a los virus del papiloma humano (13). La secuenciación completa de un candidato vírico, junto con diferencias mayores de un 10% en la región de lectura abierta L1 del virus más similar, son los requisitos exigibles para crear un nuevo tipo de VPH. Diferencias entre un 2% y un 10% establecen un subtipo y cuando éstas son menores de un 2% se trata de una variante (14), aunque muchos autores las denominan linajes y consideran que en este grado de proximidad procedería más basarse en diferencias del genoma completo y no sólo en la región de lectura de L1.

Los tipos de VPH reciben denominación numérica según el orden de su descubrimiento o, para ser más exacto, de su publicación (para evitar conflictos).

El virus debe ser clonado íntegramente para ser aceptado. Así, el HPV 14 sólo fue clonado parcialmente y no se ha vuelto a aislar, por lo que no se acepta su existencia (13, 15). No obstante en la actualidad se acepta la secuenciación parcial siempre que los fragmentos puedan superponerse y acoplarse para formar un genoma completo, en estos casos el nuevo tipo recibe la denominación “HPV cand” seguido de un número. Los fragmentos suelen denominarse con una inicial ya sea del laboratorio o descubridor (14).

Ya en el año 1976 se conocían 83 tipos (16). Actualmente se han aislado más de 200, 40 de ellos con predilección por la zona anogenital. Hasta el año 2.003 no se creó una clasificación oficial, taxonómica, basada en secuencias de DNA (13). El análisis exhaustivo de 96 VPH y otros 22 VP no humanos (animales) permitió su agrupación en grandes grupos, denominados en la actualidad géneros (17). Estos comparten menos del 60% de la secuencia de nucleótidos en el L1 ORF (fragmento de lectura abierta de L1). A su vez estos géneros pueden dividirse en subgrupos denominados especies, como por ejemplo los VPH 6, 11, 44 y 45, que ya comparten entre un 60 y un 70% de la secuencia de DNA. A su vez los tipos de papilomas comparten entre un 71 y un 89% de la secuencia de nucleótidos (3). Por ejemplo, dentro del género Alfa-papilomavirus, la especie 7, del tipo de especie VPH 18 (X05015), incluye los tipos VPH 39, 45, 59, 68 y candVPH 85, que se caracterizan por producir lesiones mucosas de alto riesgo. La

especie 9, dentro del mismo grupo de los Alfa-papilomavirus, con la especie tipo VPH 16, incluye los tipos VPH 31, 33, 35, 52, 58 y 67, que también produce lesiones mucosas de alto riesgo (3) (Figura 3).

Con esta nueva clasificación, virus del papiloma humano como el VPH 55 que comparte un 95% de similitud con el VPH 44, se considera un subtipo del VPH 44. Lo mismo le sucede al 64 que se considera ahora una variante del 34 y al 46 que lo es del 20. No obstante dichos números, los 46, 55 y 64 permanecerán vacantes para evitar confusiones en un futuro.

De acuerdo con la International Agency for Research of Cancer (IARC), con el Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, se cataloga a los VPH de la región anogenital en función de su capacidad oncogénica (18):

VPH de Bajo Riesgo: Denominados de este modo por el escaso potencial de provocar cáncer. Se incluyen: 6, 11, 32, 40, 42, 44, 54, 55, 61, 62, 64, 71, 72, 74, 81, 83, 84, 87, 89 y 91. Los tipos 6 y 11 son los responsables del 90% de las verrugas genitales, y de la mayoría de la papilomatosis respiratoria recurrente (19).

VPH de Alto Riesgo oncogénico:

. Grupo 1: Son carcinogénicos para el ser humano. Son los tipos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59.

. Grupo 2A: Probablemente carcinogénico para el ser humano: VPH 68.

. Grupo 2B: Posiblemente carcinogénicos para el ser humano: 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82. También se consideran 2B los VPH basados en su analogía filogénica con virus oncogénicos de suficiente o limitada evidencia en humanos: 30,34, 69, 85 y 97. También los VPH 5 y VPH 8 en pacientes con epidermodisplasia verruciforme.

. Grupo 3: No clasificables como oncogénicos para el ser humano: 6 y 11. Tampoco lo son los del género beta y gamma.

El gen L1 es el que ofrece menos variabilidad de los genes del VPH. De Villiers sostiene que esa variabilidad representa la evolución en el tiempo (la filogenia) del VPH,

habiendo propuesto un modelo filogenético que podría explicar las diferencias clínicas de los diversos VPH. Los VPH se agrupan en géneros: los alfa-papillomavirus, de gran importancia clínica, pues agrupan a los virus asociados con lesiones mucosas, genitales y no genitales, y los beta, gamma y mu papilomavirus, que agrupan a los VPH asociados a lesiones cutáneas, benignas y malignas.

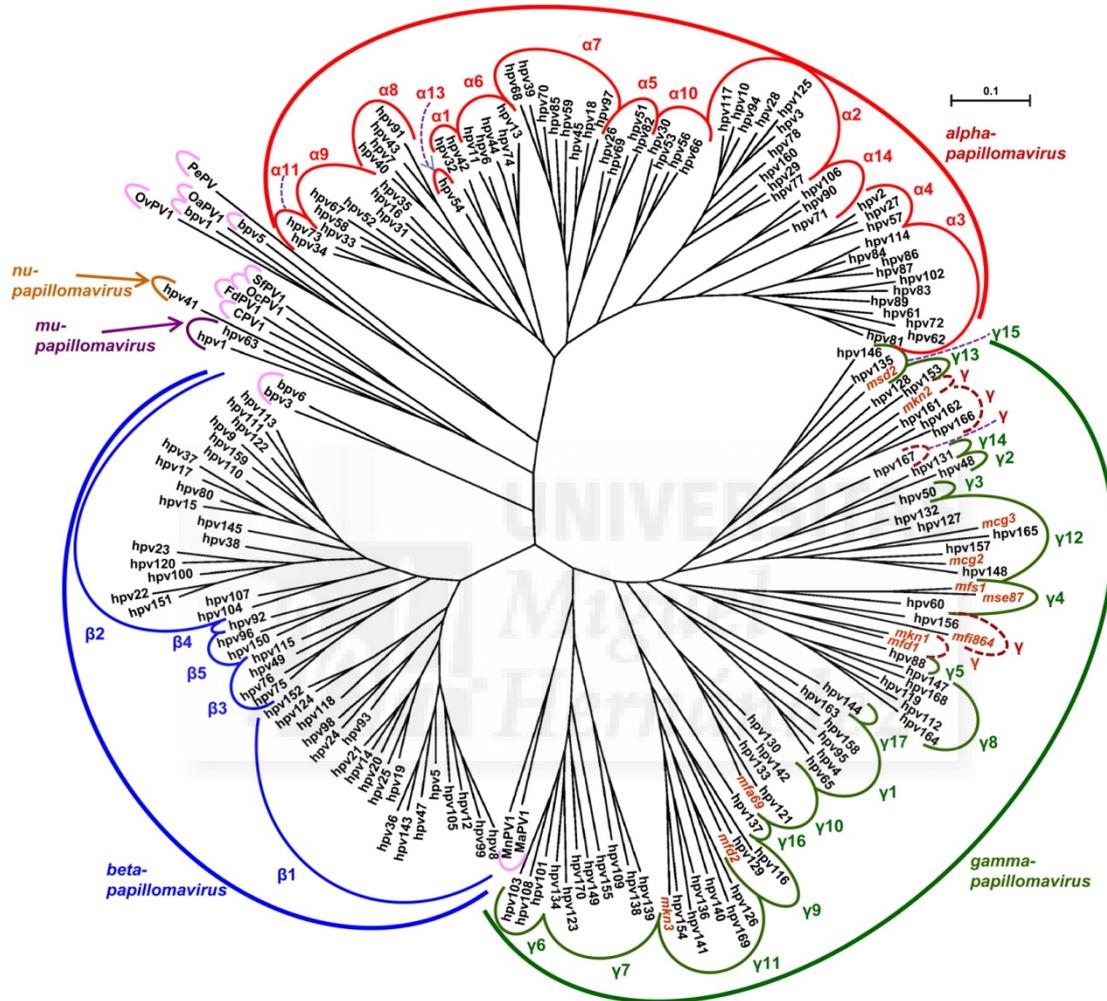


Figura 3. Clasificación taxonómica del HPV en base a proximidad genética en el gen L1. Reproduciría, de acuerdo con de Villiers la evolución del VPH (13)

No existe una clasificación universalmente aceptada de los virus del papiloma humano por debajo del nivel de especie. Ni siquiera los tipos, ni su clasificación numérica están reconocidos por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV), que a su vez se basa en las recomendaciones del grupo de estudio de los papilomas (20), por lo que no existe un sistema de clasificación estandarizado universal. La comunidad científica

emplea una nomenclatura que se ha ido estandarizando, aunque sin el aval de Sociedades científicas.

Los tipos de VPH presentan una gran variabilidad geográfica, siendo mayor la variabilidad entre diferentes áreas geográficas que dentro de las áreas geográficas en sí. Para algunos autores esta diversificación se explicaría por migraciones humanas y largas permanencias en determinadas zonas que permitirían la aparición de variaciones menores, representando la propia evolución de la especie humana (6, 21, 22). Antigüedad estimada en unos 240.000 a 24.000.000 de años del VPH (21). Existe evidencia de mayor patogenicidad de ciertas variantes respecto de otras y existe un esfuerzo en marcha para tratar de clasificar las diversas variantes para conseguir unificar criterios. Hay una tendencia creciente a emplear el término linaje para representar grupos de VPH muy similares entre sí para diferenciarlos de otros. Estas diferencias se van a manifestar en forma de mayores persistencias víricas o mayor patogenicidad. No es necesario enfatizar la importancia de identificar las variantes con mayor poder oncogénico.

Los diferentes tipos de VPH se van a agrupar en variantes. Aquéllos más parecidos entre sí, los que tienen menos de un 1% de diferencia en la secuencia completa del genoma, van a pertenecer a un determinado linaje (23). De este modo, si difiere en más de un 1%, el VPH pertenecerá a otro linaje. El modelo de cada linaje (el primero descrito) se denomina A. Si un nuevo VPH varía en menos de un 1% pertenecerá al mismo linaje y si tiene más de un 1 y menos de un 2% pertenecerá a otro linaje. Si no existiese ningún otro linaje parecido se definirá un nuevo linaje y recibirá la denominación de B. Si un grupo identifica dos nuevos linajes simultáneamente se le denominan con un número arábigo después de la letra. Chen incluye también subvariantes como aquellas que se diferencian entre un 0,5 y un 1%. (Figura 4).

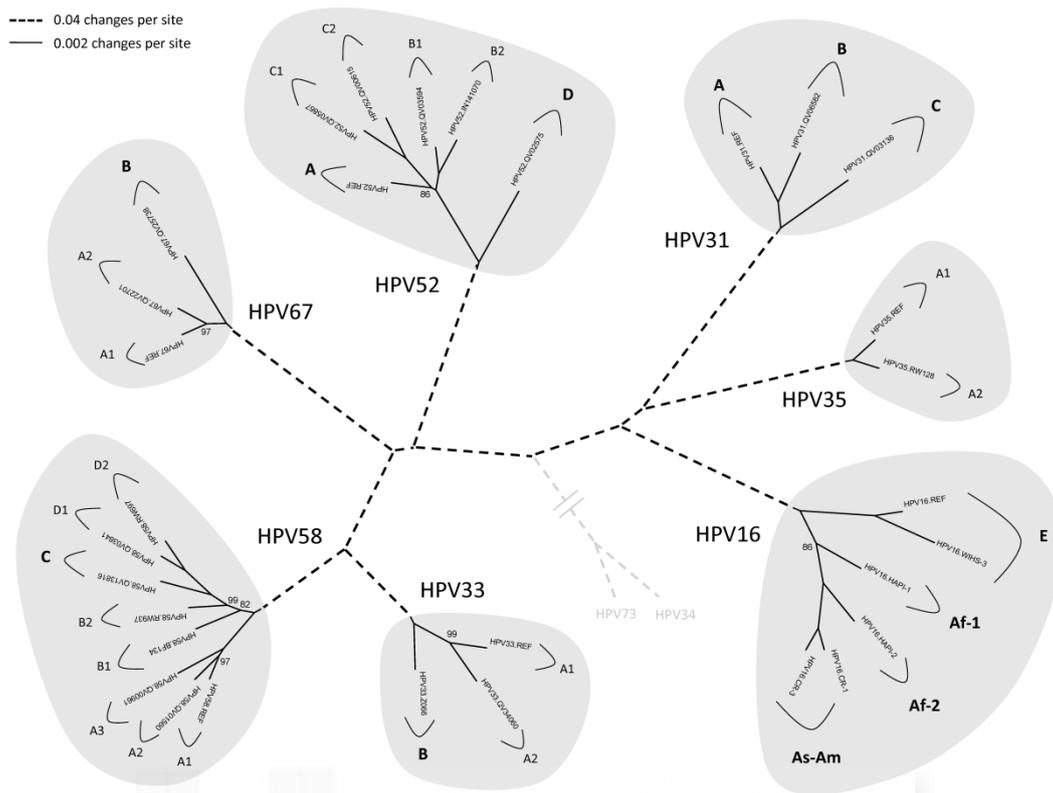


Figura 4. Variantes VPH (Alfa-9 virus: Linajes y sublinajes) (20)

Puede verse las variantes del género 9 de los alfavirus. La subvariante A2 del VPH 35 se encuentra muy próxima al VPH 16 de referencia (al que se emplea de modelo para el grupo).

El VPH 16 incluye las variantes AA (Asiático-Americana); Af1 (Africana 1); Af2 (Africana 2); E (Europea); NA1 (Norteamericana) y As (Asiática).

Las mutaciones en el oncogen E6 de los VPH 16 otorgan diferentes propiedades patogénicas a éstos. Estas mutaciones son más recientes filogenéticamente que las que afectan a L1, y reflejan mayor o menor patogenicidad de las subvariantes. En concreto, la variante europea más frecuente del VPH 16 es la 350G (denominada E350G o también VPH16 EUR350G), en la que el nucleótido 350, timidina, es sustituido por una citosina, lo que condiciona un cambio en la oncoproteína E6 en la leucina en la posición 83 por valina. La segunda variante más frecuente es la VPH16 EUR350T, en la que el nucleótido en 350 es Timidina.

I.A.3 Ciclo viral infeccioso.

El 90 % de los cánceres de cuello uterino se localizan en la unión escamo-columnar, zona más susceptible a la infección por el VPH (24, 25).

El epitelio escamoso del cérvix, ano y bucofaringe es poliestratificado y son las células de la capa basal las únicas con capacidad mitótica. Cada célula se divide en dos idénticas; una de ella termina su maduración en la parte superior del epitelio y la otra queda en el estrato inferior, como célula de reserva. El VPH tiene una forma exclusiva de infección selectiva de las células basales que no se ha observado en ningún otro tipo de virus (26).

La infección por el VPH supone un proceso altamente especializado que va a ser capaz de evadir al sistema inmune del huésped, debido a la limitación de su expansión al epitelio superficial, ahí donde no llegan ni los linfocitos ni los macrófagos. Su mecanismo de acción va a estar metódicamente estratificado con un único objetivo: conservar la maquinaria celular precisa para su replicación masiva. Para ello, en una primera fase los oncogenes tempranos actúan desde la capa basal para mantener la actividad nuclear, evadiendo la muerte celular. Puede apreciarse en el modelo de Stanley (27) expuesto en las monografías del National Cancer Institute .

En el primer paso de la infección del virus, a través de microtraumatismos del epitelio, o en epitelios que ya son delgados e inmaduros, como la zona de transformación, entra en contacto con las células basales y la proteína L1 del VPH se une a su receptor específico de la membrana basal, lo cual induce un cambio en la conformación de la estructura de la cápside viral que expone las proteínas L2 (28, 29). Una vez unido a su receptor, las enzimas locales fragmentan la proteína L2 ahora expuesta de la cubierta viral. Ello favorece la exposición de una parte de las moléculas L1 (antes oculta) y la consiguiente unión a un receptor en la membrana basal del epitelio de reciente formación. En esta etapa el virus sólo infecta las capas metabólicamente activas de la membrana basal del epitelio (29). Las cápsides del virus, a través de un receptor específico del queratinocito, penetran en las células huésped. Una vez dentro, el genoma viral se introduce en el núcleo y se establece una infección episómica, en

forma de un reducido número de plásmidos nucleares con el genoma viral (18). Es decir, las células comienzan a replicar el ADN del virus como un elemento extracromosómico autorreplicativo que no se integra en el genoma humano (ADN no integrado). En esta fase sólo se expresan los genes tempranos. Esta primera etapa, de incubación, tiene una duración de 6 semanas a 8 meses y se conoce como *fase “no productiva de la infección”* (18).

La siguiente etapa en el proceso de la infección viral es el estatus mantenido de la infección no productiva: Uno de los pilares de la oncogénesis es la persistencia del VPH durante largo tiempo (18). Podría ser que el ADN del virus se mantuviera inactivo dentro de las células (30). La denominada “fase de latencia” viral sólo indica que el virus no puede detectarse ni mediante medios moleculares ni citológicos (26). Aunque no se haya encontrado ninguna evidencia directa de la existencia de esta fase, ciertas observaciones clínicas sugieren que se pueda producir: Se ha identificado ADN del VPH en epitelios de cérvix de aspecto normal que con los años pueden desarrollar lesiones de alto grado; existe evidencia de que mujeres que en el estado intergenésico carecen de evidencia clínica o citológica de infección por el VPH, la pueden desarrollar durante el estado relativamente inmunosuprimido del embarazo para, posteriormente desaparecer (31). También es conocido que las mujeres inmunodeprimidas, ya sea por trasplante renal o por VIH, tienen una incidencia elevada de CIN y cáncer cervical. Por último, se sabe que mujeres tratadas por lesiones del papiloma con persistencia del virus pese a ausencia de hallazgos de citológicos, colposcópicos e histológicos, tienen mayor probabilidad de recurrencia que en aquéllas en las que no se detecta (32, 33).

Cuando se produce la replicación viral independientemente de la síntesis del ADN cromosómico del huésped, se inicia la *infección productiva del virus*. Para ello es necesaria la maduración del epitelio escamoso como sustrato (34). En ausencia de infección, la maduración tiene lugar mediante la migración de las células basales hacia la superficie del epitelio junto con la detención del ciclo celular. En la infección viral productiva se produce también la maduración y diferenciación celular, pero la replicación de las células no se detiene por la inactivación que produce el virus de los inhibidores del ciclo celular p21 y p27 (35).

Se desconoce cuáles son exactamente los factores que determinan la expresión viral, aunque es clave la interrelación compleja entre el huésped, el virus y factores ambientales (36).

En las células basales del epitelio, el ADN del virus presenta escaso número de copias. Sin embargo, una vez que tiene lugar la infección viral productiva, se generan entre 50 y 100 genomas virales por célula (37). En la replicación del VPH están implicadas las proteínas E1 y E2 (38). En modelos in vitro, la célula epitelial migra a un estrato superficial y se diferencia, mientras que la otra célula resultante de la división y que queda en la región basal, va aportando ADN viral renovable. Cuando la célula huésped infectada detiene su proliferación y comienza a diferenciarse en un queratinocito maduro, constituye una señal al virus para activar todos sus genes e incrementar la copia del genoma viral al orden de miles de copias (27).

Las células que están infectadas por el VPH siguen replicándose gracias a las oncoproteínas E6 y E7 (39, 40). En el caso de malignidad incipiente, el control de la expresión de E6 y E7 se pierde, quedando desregulada la expresión génica celular. En el sustrato superior del epitelio todos los genes virales, incluyendo aquéllos que codifican la proteína L1 y L2 se expresan. Los genes E4 y L1, que solamente se expresan en el epitelio de superficie maduro, son los encargados de la producción de la cápside y el ensamblaje del virión (27).

En la última etapa del ciclo del VPH, se generan nuevas partículas virales que se liberan y salen de las células escamosas diferenciadas gracias a la acción de la proteína E4 (38).

La acumulación de las oncoproteínas y de viriones completos de VPH en las capas superiores del epitelio infectado, producen los efectos citopáticos del virus, como agrandamiento nuclear leve, a veces núcleos dobles y halos citoplasmáticos perinucleares (coilocitos) (26).

El tiempo que transcurre desde la infección hasta la generación de virus infeccioso es como mínimo de tres meses. En consecuencia, el VPH tiene un ciclo infeccioso muy largo, no tiene fase sanguínea y no ocasiona la muerte celular (27).

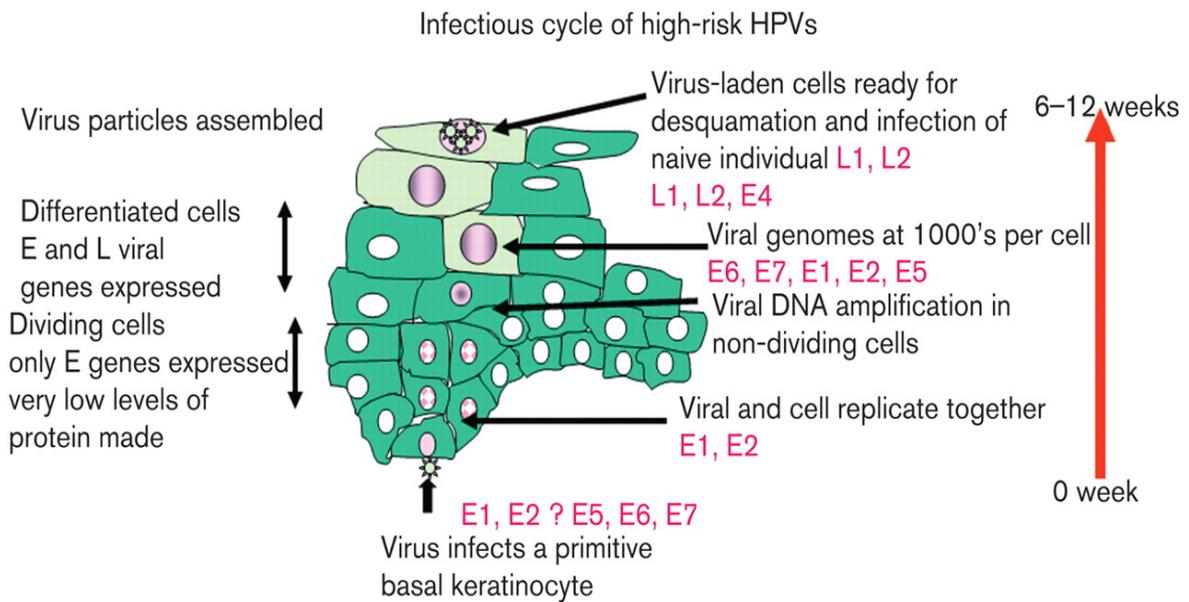


Figura 5. Ciclo viral infeccioso de acuerdo con Stanley (27). Estrategia de la infección.

En aquellos casos en los que la infección consigue ser erradicada por el sistema inmune del huésped en un período corto de tiempo, el riesgo de progresión a cáncer es prácticamente nulo (41). La infección persistente por el VPH, facilitada por la evasión viral del sistema inmune, desempeña un papel clave en la carcinogénesis del cáncer de cuello uterino (42, 43). Por suerte, la mayoría de las infecciones por el VPH son transitorias, con una media de 9 meses y en el 91 % de casos con un plazo máximo de detección de dos años (44).

En un momento determinado, y sin conocer con exactitud a qué es debido, una infección productiva puede convertirse en infección con capacidad de transformación en un proceso oncogénico. En este proceso, se inhibe la expresión de los genes tardíos y el ensamblaje del virión y los genes E6 y E7 se sobreexpresan y como consecuencia se produce una alteración de los reguladores del ciclo celular y de los mecanismos de reparación del ADN. A nivel histológico se traduce en un engrosamiento del epitelio por células inmaduras que expresan los genes E6 y E7 y otros genes de la célula huésped que inducen el ciclo celular (45).

Se desconoce si alguna de las infecciones por el VPH posee capacidad transformadora desde su inicio, con rápida progresión a carcinoma. Steenbergen et al (45), postulan

que el origen de una infección productiva podría ser distinto al de una infección con capacidad de transformación, y no ser un proceso secuencial. En el segundo caso, la célula diana es la de la unión escamo-columnar (25), mientras que se sugiere que la infección productiva se originaría en la célula basal del epitelio escamoso que tapiza la zona de transformación o el ectocérvix circundante (46).

I.A.4. Mecanismos de carcinogénesis del VPH.

Una vez que las células son infectadas por el VPH, comienza la replicación del virus gracias a factores de transcripción de la célula huésped y a la proteína E1 viral. E7 se une a la proteína retinoblastoma, dejando libre al factor de transcripción E2F, lo que permite la activación de genes que aumentan la proliferación celular. La oncoproteína E6 es capaz de inducir la ubicuitización y posterior degradación de p53, lo que conlleva la disminución de la apoptosis mediada por p53. E2 regula la transcripción de las oncoproteínas E6 y E7. La proteína E5 aumenta la acción de las quinasas celulares, lo que promueve la proliferación y disminuye la diferenciación celular. E4 ayuda al ensamblaje de las proteínas de la cápside viral L1 y L2 para la construcción de la cápside viral.

Los VPH inducen la síntesis de DNA en las células huésped para la replicación del DNA viral, por la interacción de la proteína E7, que interfiere en la función de los miembros de la familia de genes del retinoblastoma (pRb) del huésped. En condiciones fisiológicas, la pRb detiene la transición de la fase G1 a la fase S del ciclo de la célula, evitando la proliferación celular (47). La expresión mantenida de las proteínas oncogénicas E5, E6 y E7 de los VPH AR neutralizan los reguladores del ciclo celular encargados de inhibir la proliferación maligna (5, 38, 48). La E5 puede tener varias funciones de transformación, incluida una participación en la transducción de señal relacionada con el factor de crecimiento epidérmico (en inglés, EGF) y en la interrupción de la comunicación intercelular, que con frecuencia se observa en las células transformadas (37, 38). En modelos experimentales se ha confirmado la contribución de E5 al proceso de transformación neoplásica (49, 50). Puesto que la expresión de E5 se pierde con la integración del ADN del virus en el genoma de la

célula huésped con transformación neoplásica, no es necesario para el mantenimiento del fenotipo transformado.

Las proteínas E6 y E7 poseen, cada una, efectos individuales sobre la proliferación celular y la transformación neoplásica (4, 37, 38). La transición de infección viral aguda a infección persistente con capacidad de transformación neoplásica se caracteriza por un incremento de la actividad de E6 y E7 en las células basales.

La proteína E7 interacciona con la proteína producida por la familia de la proteína del retinoblastoma (pRb) de genes del huésped encargados de ordenar la destrucción celular. Esta proteína supresora tumoral es un regulador esencial de la fase de síntesis de DNA de la división celular (37). En ausencia de infección viral, las células epiteliales se retiran de la replicación celular, ya que sólo pueden replicarse las células basales. Por ello, para que el VPH induzca la proliferación epitelial, es requisito indispensable la supresión de la proteína Rb (38). Otra función de la proteína E7 sería la inactivación de los inhibidores de cinasa dependientes de la ciclina, p21 y p27, que son importantes para detener la proliferación celular (38).

En resumen, la oncoproteína E7 se confirma como uno de los factores más relevantes de la transformación celular (51) y participa en el proceso oncogénico mediante distintas acciones: eludir los controles de revisión del ciclo celular, regular la expresión de las proteínas celulares, desregular el metabolismo celular de los hidratos de carbono y regular la apoptosis (37).

El gen p53 interviene en el proceso de muerte celular y en la regulación del ciclo de la célula. Ante un daño en el ADN, la p53 detiene el ciclo celular en el paso de G1 a S para intentar reparar el daño. Si no consigue su objetivo de reparación, del material genético, la p53 dirige a la célula hacia la apoptosis como último mecanismo de protección (activa la expresión de genes proapoptosis), evitando la proliferación de células dañadas (52, 53) (Figura 6).

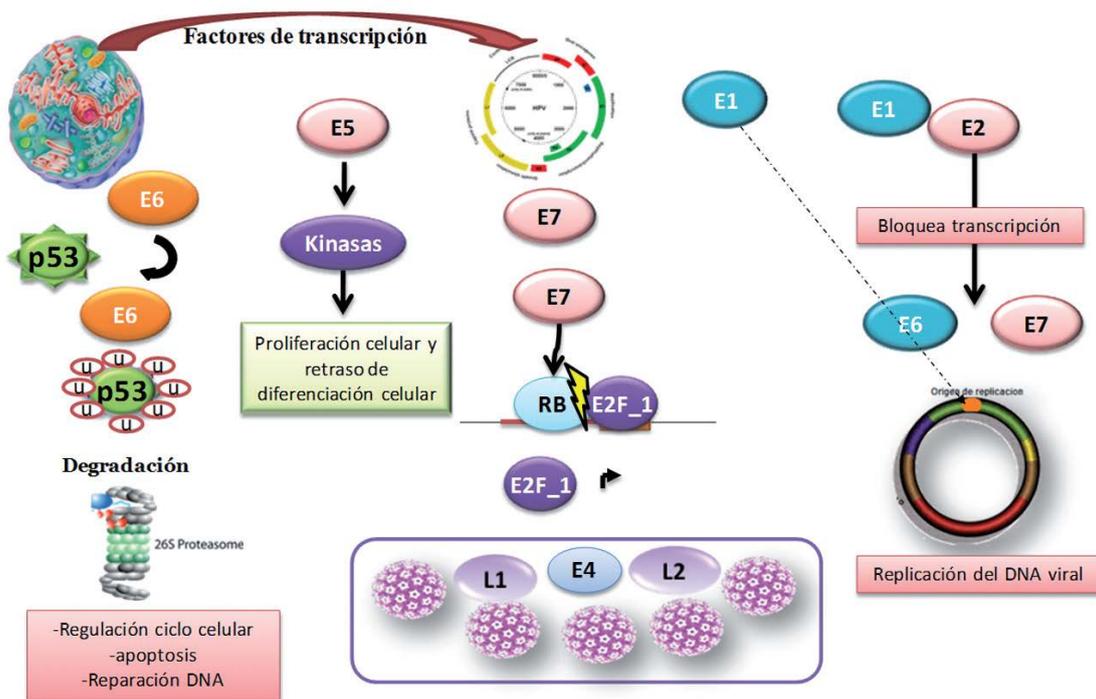


Figura 6. Mecanismo oncogénico de las proteínas del VPH (54).

La oncoproteína E6 es necesaria para que se active la oncogenia, mediante la inactivación del gen supresor tumoral p53, con el consiguiente bloqueo de la apoptosis normal, la subsiguiente replicación del ADN dañado y una supervivencia celular prolongada (52, 53, 55).

El objetivo principal del oncogen E6 es la proteína supresora tumoral p53, como hemos comentado. La unión del E6 a la p53 está mediada por una proteína celular, la proteína asociada E6 (E6AP). En presencia de E6, la E6AP (proteína asociada a E6) cataliza la ubiquitización y proteólisis de la p53. La E6AP es una ubiquitina proteín ligasa dependiente del oncogen E3 y no interactúa con el p53 en ausencia de la proteína E6. La ubiquitización es un proceso presente en la inmensa mayoría de las células eucariotas y consiste en marcar proteínas para su reciclaje. La página web de la Institución Nobel, que premió a sus descubridores con el Nobel de Química en el año 2.004, la denomina “el beso de la muerte”, ya que marca a las proteínas que van a ser degradadas por las propias proteasas celulares. El VPH es capaz de mimetizar los procesos naturales de apoptosis para selectivamente “marcar” al p53 y conducirlo a su destrucción, aprovechando para ello los propios recursos de la célula huésped.

Pero este mecanismo no es suficiente por sí mismo para la transformación neoplásica, y hacen falta otras alteraciones citogenéticas. Otra función de la E6, que es independiente de la supresión de p53, es activar la telomerasa, lo cual favorece un estado persistente activo y contribuye a la inmortalización celular al mantener la longitud del telómero y aumentar el número de divisiones celulares (56). Se ha encontrado mayor expresión de telomerasa en tejidos infectados por VPH 16 y 18 que expresan la E6. La expresión de telomerasa es significativamente mayor en los cánceres de cuello uterino (85%) y en las CIN 2 y 3 (61%), que en las CIN 1 (10%), o en histologías normales (7%) (37).

La E6 posee también capacidad para interactuar con quinasas que aumentarían la actividad mitótica o degradarían complejos proteicos que, en condiciones normales, regularían el crecimiento, la polaridad y la adhesión celular y que se localizan en zonas de contacto de célula con célula. Todo ello conllevaría a la desregulación de la organización, diferenciación y la integridad cromosómica de las células infectadas por el VPH.

Las proteínas E6 y E7 también son capaces de inducir inestabilidad del genoma en las células del huésped, E6 mediante amplificaciones genéticas y deleciones y E7 al promover la aneuploidía (57). Esta inestabilidad contribuye a la acumulación de aberraciones en el genoma de la célula huésped, que pueden ser adquiridas tanto genéticamente como por epigenética (58). Las proteínas E6 y E7 forman complejos con otras proteínas celulares, contribuyendo también de esta manera al proceso de oncogénesis. Algunas de las interacciones producen remodelación de la cromatina (59).

Tanto E6 como E7 modulan las vías de metilación del ADN, lo que repercute en la expresión de genes celulares y virales (60, 61). Otro mecanismo de oncogénesis es la modulación de los micro ARN (miARN) de la célula epitelial infectada (62-64).

En el cuadro 1 se muestra la función resumida de las oncoproteínas de los VPH (14).

Cuadro 1. Funciones de las oncoproteínas (14).

Proteína	Función
E1	Adenosin trifosfatasa (ATPasa) y DNA helicasa, reconoce y liga al origen viral de la replicación como un complejo hexamérico; necesario para la replicación del DNA viral.
E2	Es el principal regulador de la transcripción viral; se une al promotor transcripcional como un dímero; está involucrado en la replicación del DNA viral; interacciona y recluta a E1
E4	Actúa tardíamente en el ciclo viral; interactúa con el citoesqueleto de queratina y con los filamentos intermedios; Se une al dominio nuclear 10; induce parada nuclear en fase G2; Se cree que facilita el proceso de ensamblaje y liberación del virus.
E5	Induce proliferación celular no programada; interactúa con las subunidades c de 16K de la ATPasa vacuolar; puede activar a los receptores de crecimiento celular y a otras protein-quinasas; inhibe la apoptosis; inhibe el tráfico de los complejos de histocompatibilidad a la superficie celular.
E6	Induce la síntesis de DNA; induce la telomerasa; previene la diferenciación celular; interactúa con 4 clases de proteínas celulares: co-activadores transcripcionales, proteínas involucradas en la polaridad y motilidad celular, supresores tumorales e inductores de la apoptosis, principalmente p53, así como factores de reparación de DNA y reparación.
E7	Induce proliferación celular no programada; interactúa con la histona acetil 1 transferasa; interactúa con reguladores supresores del ciclo celular y supresores tumorales, principalmente p 105Rb
L1	Proteína viral estructural mayor; se ensambla en capsómeros y cápsides; interactúa con L2; interactúa con receptores celulares; codifica epítopes neutralizantes.
L2	Proteína viral estructural menor; interactúa con el DNA; interactúa con el dominio nuclear 10s; se cree que facilita el ensamblaje viral; puede interactuar con receptores celulares; codifica epítopes neutralizantes virales lineales

I.A.5. Papel del VPH en la carcinogénesis del tracto génito-anal

Se ha establecido bien la asociación entre el riesgo de CIN 3 y de cáncer de cuello uterino y el VPH (19, 65-67), así como con otras neoplasias del tracto genital inferior (vulva, vagina, ano y pene) (68, 69) y de cavidad orofaríngea, laringe y esófago (70-73).

En la década de los setenta, el científico alemán Harald zur Hausen (74) estudió la etiopatogenia del cáncer de cuello uterino mediante métodos de biología molecular e identificó varios tipos de VPH en todos los casos. La conclusión a la que llegó fue que dicho cáncer era consecuencia de la infección de transmisión sexual por VPH.

También a principios de 1.976, Meisels y Fortin (75) aislaron el virus en células de muestras de cérvix con lesiones precursoras del cáncer de cuello uterino.

En la década de los 80 se aislaron los primeros tipos de VPH en biopsias con cáncer de cuello uterino, gracias al desarrollo de técnicas moleculares. En 1.983, Durst et al (76) publicaron que el VPH 16 podría tener una fuerte asociación con el desarrollo del cáncer cervical.

De nuevo, Zur Hausen (77, 78), mediante la identificación, clonación y la secuenciación de los dos VPH de alto riesgo más importantes, el 16 y el 18 en muestras de cáncer de cuello uterino, demostró la fuerte asociación entre la infección del virus y dicho carcinoma. Este trabajo pionero que confirmó la participación del VPH en la etiopatogenia del cáncer de cuello uterino le valió al doctor zur Hausen el premio Nobel de Fisiología y Medicina de 2.008.

Publicaciones posteriores también consiguieron demostrar la relación del VPH como agente etiopatogénico en otros cánceres del tracto génito-anal, además del de cuello uterino, tal como vagina, vulva, ano, región perianal y pene, así como de la cavidad oral y del área orofaríngea (amígdalas y área rino-sinusal) (68, 69, 79, 80).

I.A.6. Epidemiología.

Se sabe que la vía de transmisión del virus es predominantemente sexual. Hay publicados estudios que así lo demuestran cuando, tras valorar grandes grupos de mujeres vírgenes y hacerles seguimiento, comprobaron que sólo aquellas que perdieron la virginidad dieron positivas para ADN del VPH en el cérvix (44, 81, 82). La infección por el VPH se adquiere en los primeros años tras el inicio de las relaciones sexuales. Winer (83), en un estudio prospectivo realizado sobre una población de estudiantes universitarias sexualmente activas, describió que el 30 % de éstas fueron

positivas para ADN del VPH a los 12 meses del inicio de las relaciones, y el 48% a los 48 meses. Ho et al (84) publicaron una incidencia de infección por VPH del 43% a los 36 meses del inicio de la actividad sexual. El grupo de Franco (85) encontró una incidencia del 18% de infección tras el primer coito. Otras publicaciones (86) también ratifican que la principal vía de entrada de la infección anogenital por VPH es la relación sexual.

La infección por el VPH es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente (87). Hasta un 70 % de los individuos llegarán a presentar algún episodio de infección por VPH a lo largo de su vida (88, 89). Tanto la incidencia como la prevalencia aumentan con la actividad sexual. La prevalencia mundial de infección por VPH, en un meta-análisis de más de un millón de mujeres, es de un 11,7% (IC95%: 11,6-11,7) (90). La prevalencia de infecciones subclínicas es mayor en edades de mayor actividad sexual. Es máxima en la segunda década de la vida (se estima entre un 20 y un 40%), disminuye en la tercera y se estabiliza a partir de los 35 años (5%) (91). En EEUU se calcula que unos 20 millones de personas en algún momento de su vida se infectarán por el VPH y podrán transmitirlo (92).

La inmensa mayoría de las infecciones por VPH son transitorias y autolimitadas y se curan en los dos primeros años tras la exposición al virus (44, 93). La duración media de la infección por el VPH-AR es de 8-10 meses (94-96). Moscicki (97), en un estudio realizado en mujeres jóvenes con citología cuyo resultado era una lesión intraepitelial de bajo grado, describió un aclaramiento del virus del 91% a los 36 meses de seguimiento.

El 16 y el 18 son los responsables de más del 75% de todos los carcinomas de cuello uterino y de la neoplasia intracervical (CIN) y vulvar (98). El VPH 16 es el más prevalente y persistente (86), con una tasa acumulada de infección del 10,4% a los 24 meses, frente al 4,1% para otros VPH (83, 99). El grupo de Rositch (96), publicó en 2013 una revisión y un metaanálisis a nivel mundial sobre las tasas de persistencia de la infección por el VPH. Obtuvieron datos de 100.000 mujeres a partir de 86 estudios. La persistencia varió notablemente en función del área geográfica estudiada y del tipo de VPH, siendo los más persistentes el 16, 31, 33 y 52. La media de detección de los VPH de alto riesgo fue de 9,3 meses (12,4 y 9,8 meses de persistencia para el 16 y el

18 respectivamente). De las mujeres con VPH AR y citología normal, la media de VPH AR fue de 10,9 meses. Los autores llegaron a la conclusión de que aproximadamente el 50% de las infecciones por VPH persistían entre 6 y 12 meses. Molano et al (100) publicaron, tras un seguimiento a 227 mujeres colombianas, desde 1.993 a 2.000, con citología normal y VPH positivo, que el 23% de las infecciones estaban presentes al año, y sólo el 7% a los 5 años. Según Castle et al (101), tras un primer pico de prevalencia de infección por VPH en mujeres jóvenes, se producía un segundo en pacientes mayores de 55 años, presumiblemente por tratarse de infecciones de larga duración, sin que la infección se haya aclarado.

El VPH es condición necesaria para el desarrollo de lesiones anogenitales (102), aunque no suficiente. Es la persistencia de la infección por el VPH AR el principal factor de riesgo de desarrollar lesión (96). Si consiguiésemos prevenir la infección, se podría evitar el desarrollo de procesos oncogénicos. En este sentido, es importante la identificación de los factores de riesgo que favorecerían la transmisión por VPH, así como la persistencia de la misma, lo que comportaría el desarrollo y progresión hacia una lesión precancerígena.

La actividad sexual es el factor de riesgo más importante para la infección por VPH: número de parejas sexuales de la mujer y de su compañero, edad temprana de inicio del primer coito y el tiempo entre compañeros sexuales. La infección es más frecuente en mujeres que han tenido múltiples parejas sexuales (103). Está demostrado que el uso constante del preservativo reduce el riesgo de transmisión, aunque no lo elimina completamente (104) y tampoco parece que esta práctica reduzca el riesgo de cáncer invasor de cuello uterino (104, 105).

Pero además, aunque en un porcentaje raro, el VPH puede ser transmitido a través del contacto digital-genital y genital-oral (83) .

EL VPH se transmite por contacto de mucosa con mucosa o de piel con piel (86, 106). Tanto el cuello uterino como el canal anal poseen un epitelio con unión escamocilíndrica y son las dos zonas más susceptibles de infección y consiguiente riesgo potencial de transformación oncogénica. El virus infecta las células germinales de la capa basal del epitelio a partir de contacto directo, o de lesiones en la mucosa

(28, 107). Se desconoce por qué los carcinomas de cérvix y de ano se originan en la unión escamo-columnar, y no se ha podido demostrar en modelos de carcinogénesis in vivo (108).

I.A.7. Factores de progresión e invasión:

No todas las mujeres con infección por VPH desarrollarán cáncer de cuello de útero. Aproximadamente la progresión se realizará en tan sólo un 10 a 20% de ellas (6, 109).

I.A.7.1 Factores de progresión.

I.A.7.1.1 Factores víricos:

A. Genotipo viral:

El riesgo de progresión a lesión de alto grado o a cáncer de cuello uterino varía en función del tipo de virus. Como ya se ha citado previamente, este riesgo es mayor para los VPH 16 y 18 (98, 99), y entre el 10 y el 25% de las mujeres infectadas por estos dos tipos presentarán una displasia de alto grado a los tres años, frente al 3% de aquellas infectadas por otros VPH AR (99, 110). En la gran encuesta a nivel mundial de Sanjosé et al (111), donde estudiaron el tipaje viral de 10.575 casos de cáncer de cuello uterino con confirmación histológica, se observó que el VPH 16 fue el más prevalente, aislándose en el 61% de los casos. A continuación, el 18 (10%) y el 45 (6%).

B. Variantes del VPH:

Schiffman et al (23), estudiando a 10.049 mujeres del grupo cohorte de Guanacaste, pudieron comprobar que las variantes del VPH 16 de linaje no europeo de su grupo, la Asiático-americana y las dos africanas (africana 1 y africana 2), presentaban un riesgo de desarrollar cáncer 6,3 veces más elevado que la variante europea (razón de probabilidad con un intervalo de confianza de un 95% de 1,6 a 24,6); en la misma publicación, en otro grupo de cánceres de cérvix fuera de la cohorte de randomización también encontraron un riesgo 5,25 veces mayor (IC95%: 1,4-19,6). También el grupo no europeo presentó un riesgo de persistencia superior a los dos años mayor que el grupo europeo, 2,6 veces mayor (razón de probabilidad con IC95% de 1,2 a 5,7). En

este mismo trabajo encontraron una importante diferencia en la oncogenicidad entre variantes del VPH 35 (muy relacionado filogenéticamente con el VPH 16) con una razón de probabilidad del A1 respecto del A2 para CIN3 de 6,2 y para persistencia a largo plazo de 3,7.

Por otra parte, se ha visto que la variante europea del VPH 16 se encuentra en los carcinomas escamosos, pero no en los adenocarcinomas de cuello uterino (112).

Se ha estudiado el riesgo oncogénico de variantes de otros VPH distintos del 16 y 18. Xi y colaboradores (113) analizando 4.591 infecciones calcularon la razón de probabilidad para las variantes de mayor riesgo de los VPH 31 (A y B comparados con C); VPH 33 (A1 respecto de las variantes B); VPH 45 (A3 o B2 respecto de las variantes B1); VPH 56 (B comparado con variantes A2) y VPH 58 (A1 o A3 comparado con las variantes C). Los autores apreciaron que en los grupos de más alto riesgo, de modo conjunto, el riesgo de CIN2/3 era de 2,0 veces mayor que en los de bajo riesgo (IC95%: 1,5-2,6).

El VPH 58 ha sido menos estudiado que el VPH 16 y VPH 18. Está presente en un mayor porcentaje de cánceres en Asia que en otras regiones del mundo, en un 3,3% de los cánceres de cérvix a nivel mundial y en un 5,6% de los cánceres asiáticos. El grupo de Chan, de Hong Kong (114) analizó la secuencia de 401 aislamientos de todo el mundo e identificaron 4 variantes filogenéticas (agrupaciones) o linajes que denominaron A, B, C y D. Siendo la variante A la más frecuente. Dentro de este grupo, la variante A1, de distribución predominantemente asiática, fue la que con mayor frecuencia se asoció a cáncer de cérvix. En el trabajo mencionado previamente de Xi y colaboradores apreciaron que la razón de probabilidad para VPH 16 era similar a la de la variante A1 del VPH 58. Eso muestra lo que muchos autores sospechan, que VPH de riesgo moderado pueden ser una colección de linajes de muy bajo riesgo combinado con linajes de elevada patogenicidad. De ahí que en un futuro no muy lejano el diagnóstico de los VPH de Alto riesgo pueda incluir no un tipo entero, sino un linaje determinado de un tipo.

En la región anal se ha analizado del riesgo de desarrollo de AIN de variantes del VPH 16. Da Costa (115) ha encontrado que la variante G131 (el artículo es del año 2.002 y no incluye denominaciones más modernas) presentaba un riesgo de NIA de alto grado

tres veces más alto que el modelo prototipo. Cuando ya había alteraciones citológicas, el riesgo se disparaba hasta 7,2 (Razón de probabilidad 95%: 0,89 a 58).

Existe amplia evidencia en la mayor patogenicidad de la variante 350T que la 350G. En un estudio de seguimiento a mujeres danesas durante 11 años, Gheit (116) apreció que un 23,7% de las infecciones por VPH 16 (la mayoría del linaje europeo con un 97,3%) persistieron más de dos años. El sublinaje EUR-350T fue el más frecuente (61,3%) y el EUR-350G le siguió (36,0%). A los dos años persistía un 28,2% de los EUR-350T y un 15,9% de los EUR-350G, (una razón de probabilidad de 2,16; IC95%: 1,04-4,25), por lo que la persistencia era casi del doble en los EUR-350T que en los EUR-350G. Pese a todo el riesgo de progresión a CIN3+ una vez que persistió la infección era el mismo. Cornet et al (117) aprecian diferencias en la distribución de los sublinajes del VPH16-EUR. En concreto aprecia que el más benigno, el HPV16 350G estaba infrarrepresentado en los cánceres de cérvix en Asia del Este, con una razón de probabilidad de 0.02 frente al 350T (IC95%: 0,00 -0,37) y también en Europa Central y Asia (razón de probabilidad 0.42; IC95%: 0,27-0,64). Peculiarmente era más frecuente en los cánceres de América Central (razón de probabilidad 4,69; IC95%: 2,07–10,66).

C. Carga viral:

Hay información discordante sobre los efectos de la carga viral en la carcinogénesis del VPH. En parte los procedimientos para su estimación no son equiparables. Con la reacción en cadena de la polimerasa se identifica el número de copias virales por célula, mientras que con el método de captura híbrida se determina mediante técnicas de luminiscencia la carga total sin poder ajustar la carga en función de la celularidad. Los primeros se expresan en relación a las células y el segundo como unidades por ml. Con frecuencia la carga viral se expresa en forma logarítmica en forma de potencias de 10 (10, 100, 1.000, 10.000). Los resultados, por ello, no son superponibles.

Löriczn (118) no encontró relación entre carga viral y CIN en un amplio estudio de cohorte con 20.810 mujeres seguidas durante 10 años .

En una serie más reducida, con 227 mujeres VPH negativas con citologías normales (de una cohorte de 1.995 seguidas durante 7 años) tampoco Molano (100) encontró que la carga viral fuese de ayuda para el aclaramiento del virus.

Por otra parte, autores como Moberg (119) sí que encuentran relación entre carga viral en 2.747 citologías, con un riesgo elevado de neoplasia intraepitelial en los grupos de más alta carga, aunque sólo para el VPH 16, con una razón de probabilidad de 36,9 para el desarrollo de carcinoma “in situ” para el grupo de más alta carga viral del VPH 16, sin apreciar ese efecto ni en los VPH 18 ni en los VPH 31, ni en los VPH 58 (3,2 para el VPH 31 y 2,6 para el 18/45).

Se ha llegado a evidenciar, incluso, un efecto sinérgico del consumo de alcohol con elevada carga viral, en un grupo reducido, con razones de probabilidad a los dos años de seguimiento de 6,40 (IC95 %: 1,72-23,8) (120).

El HPV 16 parece ser el VPH con más susceptibilidad a la patogenia con el aumento de la carga viral. Se ha estimado la razón de probabilidad aumentada de CIN 3 para VPH 16 en 1,63 (IC95%: 1,33-1,99) por cada potencia de 10 de la carga viral (121). Prácticamente el mismo riesgo de progresión a CIN 3 para el VPH 16 se ha encontrado en un reciente y amplio estudio dirigido por Thomsen (122) (33.288 mujeres seguidas durante hasta 11,5 años), de 1,34 (IC95%: 1,10-1,64) por cada potencia de 10. De este modo llegó a estimar que el riesgo de desarrollar CIN3+ a los 8 años en mujeres de carga viral igual o mayor de 100,0 pg/ml era de un 30,2% (IC95%: 21,9-38,6%). Pese a lo amplio de la población estudiada no llegó a demostrar con suficiente poder estadístico el efecto de la carga viral del VPH 18.

En España, Ordí (123) apreció una relación directa entre gravedad y carga viral. Cargas de más de 100 unidades de luminiscencia (ULR - a través de captura híbrida) se asociaron a lesión cervical en más del 90% de casos. La asociación fue prácticamente constante para valores superiores a las 1.000 unidades (ULR). Sus pacientes con cargas menores de 10 Unidades (ULR) no tuvieron patología. También advertía que una baja carga viral no excluye patología, hasta el 30% de los HSIL y el 46% de los cánceres tenían valores inferiores a 100 ULR. Se han encontrado valores inferiores a 10 ULR hasta en el 15% de los carcinomas y hasta en el 8% de los HSIL.

Si bien la literatura parece mostrar una relación entre carga viral y gravedad de las lesiones, una baja carga viral no excluye patología grave, por lo que su uso clínico podría estar más limitado al seguimiento que al diagnóstico o cribado.

D. Persistencia de la infección:

La evolución de la CIN3 a carcinoma cervical es bien conocida debido, paradójicamente, a las opiniones del Dr. Green, que pensaba lo contrario (que la neoplasia intraepitelial y el cáncer no estaban relacionados). Para verificar su hipótesis procedió a un seguimiento, sin tratar, a las pacientes con esta patología (inició el estudio en 1965 en el Hospital General de mujeres de Auckland con el visto bueno del Comité Médico del Hospital en 1966). Llegó a publicar varios artículos convencido de sus resultados. En una revisión posterior de esos casos por McCredie (124) se demostró que de 143 mujeres con CIN3 no tratadas por el Dr. Green, un 31,3% (IC95% 22,7-42,3) evolucionaron a cáncer cervical a los 30 años. La “persistencia” de la lesión resultó ser crítica, ya que las mujeres en las que persistió la lesión por más de 2 años presentaron un riesgo de enfermedad invasiva de un 50,3% (IC95% 37,3-64,9).

Del estudio de los controles llevados a cabo en el estudio PATRICIA (125) se obtuvieron valiosos resultados para interpretar la historia natural de la infección por el VPH. La duración de la infección fue un factor determinante para el desarrollo de displasia de cérvix. Para aquellas de menos o más de seis meses, las razones de probabilidad para progresión a CIN1+ fueron de 2,48 a 4,25 respectivamente, para CIN2+ de 2,32 a 4,61 respectivamente y, por último, para CIN3+ fueron de 5,29 para las de más de seis meses (los datos para los de menor duración no fueron significativos). El riesgo de progresión, en el brazo control del estudio PATRICIA, dependió también del tipo de VPH, siendo mayor para los tipos 16 y 33, con una razón de probabilidad que superaba 25 en ambos casos. La progresión del tipo 18, paradójicamente fue menor, como máximo de un 4,45 para CIN3+, destacando los autores que el estudio HERACLES/SCALE ha sugerido que las lesiones de alto grado de VPH 18 tienen mayor probabilidad de progresión a cáncer que cualquier otro VPH, siendo éste su mecanismo de patogenicidad, más que por una evolución a través de lesiones premalignas.

Sobre el aclaramiento del conjunto de VPH, el análisis de los controles del estudio PATRICIA ha podido evidenciar tasas de aclaramiento a 12, 24, 36 y 48 meses de un 53%, 79%, 87% y 89% respectivamente, con mejorías marginales a partir de los 24

meses. Hay mejores tasas de curación para solteras que para mujeres con pareja actual o reciente.

Está demostrado que la persistencia de la infección disminuye la posibilidad de su aclaramiento espontáneo y aumenta la de desarrollar una lesión CIN 2+ y de cáncer de cuello uterino (4). Esta persistencia es mayor en población adulta respecto a las jóvenes, y probablemente sea debido a que en el primer grupo la infección sea de más tiempo de evolución que en las jóvenes, donde la inmensa mayoría de casos se trataría de una adquisición reciente de la infección (126).

E. Integración:

La integración del genoma viral del VPH en el ADN de la célula huésped es clave en la progresión a la neoplasia cervical. El ADN circular se va a romper en la región de lectura abierta de E2 (127), aunque también se ha encontrado en E1 o en ambos (128). La cantidad de DNA integrado es muy variable, desde 1 a 2 copias por célula, en la línea celular de cáncer de cérvix "SiHa", hasta las 600 copias integradas en cada célula del virus VPH 16 en las líneas celulares "CaSki" (128). La rotura se produce en cualquier cromosoma, excepto en los cromosomas 21 y X (129) y conlleva pérdida de información genética tanto en el VPH como en el huésped, la integración puede aparecer en cualquier lugar de cualquier cromosoma, aunque Schmitz et al (130), han descubierto que determinadas secuencias de ADN del huésped podrían interactuar simultáneamente en E1 y en la unión entre E5 y L1, con un 23% de integraciones dentro de las regiones citogenéticas 4q13.3, 8q24.21, 13q22.1 y 17q21.2 (130). El resultado final es la sobreexpresión de E7 que aparece en concentraciones más elevadas que en la células que presentan DNA episómico, así mismo las primeras, cuando son co-cultivadas con células con ADN episómico crecen en mayor número, evidenciando ventajas evolutivas (131).

La integración va afectar al huésped, ya que la mayor parte de los genes de las zonas de integración están relacionadas con desarrollo tumoral, algunos actuarán como genes supresores (como miR-34a, MSH2, WWOX y TIMP3) u oncogenes (como ROCK2, CD28, EBAG9 y ANGPT1) (129).

Collins et al (11) han demostrado que la integración se produce precozmente, ya desde poco después del inicio de las relaciones sexuales. Esta integración era mayor para el VPH 18 que para el VPH16, tanto en porcentaje calculado de disrupción de E2 (58% vs 16%) como en el tiempo hasta la primera disyunción del E2 (5,7 meses vs 10 meses). Los VPH 18 se manifestarán escasamente en las citologías haciendo que se subestime el riesgo de lesión histológica.

No es necesaria la integración para la transformación maligna, habiendo sido descritos CIN 3 y Carcinoma "In situ" en ausencia de integración del VPH 16. No sucede lo mismo para el VPH 18, que precisa la integración celular (132).

F. Coinfección:

Es muy frecuente la coinfección simultánea por distintos tipos de VPH, sobre todo en la población joven. Chaturvedi et al (133), en una cohorte de 5.871 mujeres adolescentes sexualmente activas de Costa Rica, encontró que 2.478 eran positivas para el ADN del VPH, y de éstas, 1.070 (43,2%) estaban infectadas por múltiples tipos. Además encontró un riesgo significativamente mayor de CIN 2+ en el grupo de coinfección por varios tipos de VH en comparación con las que presentaban una infección por uno solo pero ese riesgo era la suma de los riesgos de cada uno de los VPH. El grupo de Quint (134) detectó, en el 4-8% de los cánceres de cuello uterino y en el 20-40% de las lesiones intraepiteliales cervicales, múltiples genotipos de VPH. No se conoce muy bien el efecto de la coinfección por distintos tipos virales en el proceso de la carcinogénesis, pero no parece ser un factor determinante en el curso de las infecciones por el mismo (135). Wentzensen et al (136), analizaron las citologías y los VPH de 59.664 mujeres, no encontraron mayor tasa de HSIL en el grupo con infección por varios tipos virales, por lo que concluyeron que la coinfección no tenía efecto sinérgico sobre las lesiones.

I.A.7.1.2. Factores genéticos:

El VPH es un patógeno intracelular y precisa internalizarse en la célula del huésped para ejercer su efecto carcinogénico. En este proceso, es clave la respuesta inmunitaria del huésped. En su regulación intervienen los complejos de histocompatibilidad o antígeno leucocítico humano (HLA, del inglés human leukocyte antigen), moléculas

presentadoras de antígenos y que se ha demostrado desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de procesos oncogénicos en algunas mujeres infectadas por el VPH (137). Determinados haplotipos específicos de HLA de clase II, como son DRB1* 1001, DRB1* 1101 y DQB1* 0301, son los que presentan mayor riesgo de desarrollar carcinoma escamoso invasor de cuello uterino; sin embargo, los DRB1* 0301 y DRB1* 13 se relacionan con bajo riesgo de oncogénesis (137). Otros autores (138-141) corroboran la participación de HLA en el proceso de carcinogénesis y la existencia de otros haplotipos con efecto protector. Wang et al (138) en 2001 publicaron un estudio que incluyó a 10.077 mujeres en Guanacaste, Costa Rica. Un grupo de ellas con cáncer invasor de cuello uterino, HSIL o LSIL, y el grupo control de mujeres con VPH negativo. Llegaron a la conclusión que el HLA DRB1*1301 se asoció con efecto protector de riesgo de cáncer o HSIL (OR: 0,4; IC95%: 0,2-0,7). Mujeres con HLA-B*07 y HLA-DQB1* 0302 presentaron un riesgo 8,2 mayor de presentar cáncer o HSIL (IC95%: 1,8-37,2).

I.A.7.1.3. Factores medioambientales:

Se reconocen como factores de riesgo medioambientales los citados a continuación:

Cuadro 2. Factores de riesgo del cáncer de cuello según Wright (10).

FACTORES DE RIESGO DEL CANCER DE CUELLO UTERINO INVASIVO.
Edad de la paciente
Residencia en regiones geográficas específicas, como el África Subsahariana
Bajo nivel socioeconómico
Carencia de detección sistemática por citología
Edad temprana en el primer coito
Múltiples parejas sexuales
Antecedentes de infecciones de transmisión sexual, en especial condilomas acuminados, VHS, C. <i>Trachomatis</i>
Elevada paridad
Tabaquismo
Uso de anticonceptivos orales
Inmunodepresión de cualquier causa, incluida la infección por VIH
Estado nutricional
Antecedentes genéticos

A. Edad de la paciente:

Las mujeres jóvenes presentan alta prevalencia de infección por VPH y baja tasa de persistencia, mientras que mujeres de más edad tienen mayor tasa de infección

persistente, con mayor incidencia de cáncer de cuello (102). El cáncer de cuello uterino es muy poco frecuente en pacientes menores de 25 años. La mediana de edad para la detección de CIN 3 es de 27-30 años (65, 102), mientras que el cáncer de cuello se presenta mayoritariamente en mujeres de 40 y 50 años.

B. Otras enfermedades de transmisión sexual, como Chlamydia trachomatis y el Virus del Herpes simple:

La infección por estos patógenos de transmisión sexual podría influir en la evolución natural del VPH, prolongando la probabilidad de su persistencia y de progresión a carcinoma (142). Smith et al (143) encontraron que la exposición previa al VHS-2 se asoció con un riesgo dos veces mayor de carcinoma escamoso de cuello uterino en pacientes con VPH. La infección por Chlamydia trachomatis también se asocia a un incremento del riesgo similar de carcinoma de cérvix en mujeres VPH positivas, con una razón de probabilidad de 2 (IC95%: 1,1-4) (144, 145), probablemente por una mayor persistencia de la infección por VPH (146). El grupo de Castle (147) describen que un posible mecanismo como cofactor de oncogénesis estaría relacionado con la inflamación y la reparación del cuello uterino, que provocaría la producción de radicales libres responsables de producir causar daño genético y alteraciones cromosómicas.

C. Tabaco:

Se ha asociado con la persistencia del VPH y ha demostrado ser un factor de riesgo independiente de cáncer de cuello uterino invasivo, así como de desarrollo de CIN 3 (148). De hecho, el tabaquismo constituye el principal cofactor de progresión en mujeres infectadas por VPH AR (149). Las mujeres fumadoras presentan un riesgo de 2 a 4 veces superior de desarrollar cáncer de cuello uterino que las no fumadoras (148, 150-152). También se ha puesto de manifiesto que el riesgo aumenta cuanto mayor es la intensidad del hábito y su duración (años-paquete) (148, 153) y tiene una asociación más significativa con CIN 3 que con CIN 1, lo que sugiere que los carcinógenos que contiene el tabaco promueven la transformación oncogénica en las células infectadas por el VPH (148). Trimble et al (154) publican que las fumadoras pasivas también presentan riesgo incrementado de cáncer de cuello uterino.

Son diversos los mecanismos que se han propuesto mediante los cuales el tabaco actuaría como cofactor oncogénico: la secreción de productos tales como la cotinina, nicotina, fenoles, benzopireno y otros hidrocarburos, a concentraciones altas en el moco cervical de las mujeres fumadoras pueden tener numerosos efectos (153, 155). Así, se ha observado que las concentraciones de nicotina y su principal metabolito, la cotinina, aumentan 40 y 4 veces respectivamente en el moco cervical, en comparación con el suero de las fumadoras (156). Estos productos pueden ser directamente carcinogénicos para el epitelio cervical, al dañar el ADN celular (genotoxicidad) producir una disminución de la respuesta inmunitaria local (favoreciendo la persistencia de la infección del VPH), posiblemente aumentar la replicación viral y alterar su ciclo vital (153). El tabaco aumenta la producción de radicales libres y reduce los antioxidantes, lo que incrementa el ambiente genotóxico (157, 158).

D. Uso de anticonceptivos orales:

En algunos estudios se ha observado una mayor incidencia de carcinoma escamoso de cuello uterino en mujeres infectadas por el VPH que toman anticonceptivos orales combinados (ACO) de forma prolongada (159, 160). La publicación más sólida ha sido un estudio multicéntrico de casos y controles de la IARC (160) en el que sólo se encontró una asociación moderada con el riesgo de cáncer (OR: 1,4). En el estudio encuentran que las pacientes que tomaron ACO menos de 5 años no tenían mayor riesgo de cáncer de cuello uterino si se comparaban con las que nunca los habían tomado (OR: 0,73), pero las que eran usuarias de más de 5 años y positivas para el VPH, sí presentaron mayor probabilidad de cáncer de cuello uterino (OR: 2,82 durante 5-9 años, y 4,03 durante 10 o más años). En un metaanálisis que incluyó 28 estudios y a 12.531 mujeres con carcinoma de cuello uterino, estudiaron la asociación entre el uso de ACO y el cáncer de cuello uterino. Los autores concluyen que existe una relación de dosis-respuesta lineal y que tras 10 años tomando ACO el riesgo es 2,2 veces mayor (159). Appleby et al (161), publicaron en 2.007 datos basados en 24 estudios a nivel mundial, que incluían a 16.573 mujeres con carcinoma de cuello y a otras 35.509 sin cáncer. Encontraron que los ACO aumentan el riesgo de cáncer cervical de cuello en función del tiempo de uso (5 años o más aumenta el riesgo 1,90 frente a los que no tomaban). Es más, ese riesgo disminuía después del cese de la

toma de ACO, pero era necesario 10 o más años después de dejar de tomar ACO para que el riesgo fuera similar a las no usuarias de ACO. El uso de ACO aumenta el riesgo de carcinoma escamoso, y tal vez todavía mayor de adenocarcinoma cervicouterino invasivo (162). Los ACO producen eversión del epitelio cilíndrico, activando de esta manera la metaplasia escamosa inmadura vulnerable al VPH (10).

E. Elevada paridad:

En la mayoría de estudios de casos y controles, la elevada paridad se ha relacionado con el cáncer de cuello uterino, siendo mayor el riesgo conforme aumenta el número de embarazos (10). Mujeres con tres o más embarazos presentan 2,5 veces más riesgo de cáncer de cuello que las nulíparas, y 4 veces más si la paridad se eleva a 7 (163-165). En otro estudio, se encontró que el riesgo relativo para cada embarazo a término, era de 1,10 (IC95%: 1,08-1,12) y con la edad más temprana del primer embarazo a término (RR: 1,07; IC95%: 1,06-1,09 por año de reducción de edad). La IARC (166), de 25 estudios epidemiológicos, que incluyeron a 16.563 y 33.542 mujeres con y sin carcinoma de cuello invasivo, respectivamente, encontró que el riesgo relativo aumenta conforme lo hace el número de recién nacidos vivos. El efecto de la multiparidad es independiente del de la conducta sexual y de las variables socioeconómicas (107, 142). Se desconoce el mecanismo mediante el cual la multiparidad incrementa el riesgo de carcinoma de cuello. Con la multiparidad se produce una eversión continua del epitelio cilíndrico inducida por el embarazo, con persistencia de la zona de transformación exocervical, facilitando así la exposición directa al VPH y a otros cofactores (148). Las cifras similares en el aumento del riesgo por la multiparidad y por la toma de anticonceptivos orales combinados a largo plazo, orientaría a una posible influencia hormonal como factor etiológico (10).

F. Inmunosupresión:

Existe un riesgo incrementado de cáncer genital y anal en la población inmunodeprimida infectada por el VPH comparado con mujeres inmunocompetentes de la misma edad (167) y muy probablemente ello sea debido a la mayor persistencia de la infección del papiloma en estas pacientes motivada por una respuesta inmune deficitaria (168). Las mujeres trasplantadas renal tienen hasta un riesgo 16 veces mayor de CIN y cáncer de cuello (169), 100 veces más riesgo de carcinomas de vulva y

ano en comparación con la población general (170), mayor riesgo de condiloma acuminado (171). Meeuwis et al (169) publicaron, en las trasplantadas renal, un aumento de incidencia de 2 a 6 veces de CIN, de 3 veces de cáncer de cuello uterino y de 50 veces de carcinoma vulvar. En mujeres con lupus eritematoso sistémico también está aumentada la incidencia de CIN, y este riesgo es todavía mayor en mujeres que toman fármacos inmunodepresores, en especial ciclofosfamida (172, 173).

G. Virus de inmunodeficiencia humana (VIH):

La interrelación entre el VPH y el VIH data de los años noventa, cuando en 1.993 el carcinoma de cuello uterino fue clasificado como uno de los criterios diagnósticos del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en mujeres infectadas por el VIH. Numerosos estudios han confirmado la fuerte asociación entre el VIH, la infección por VPH y el cáncer cervicouterino (153, 174). En mujeres infectadas por el VIH, la prevalencia de infección por VPH es de 2 a 4 veces superior respecto a las que no presentan la infección por VIH (175-178) y este incremento se da para todos los tipos de VPH (176). Por otra parte, en esta población de mujeres, la tasa de no aclaramiento del VPH es mucho menor, con la consiguiente persistencia y el mayor número de lesiones precancerosas y de carcinoma de cuello uterino (142, 168, 175, 179-181). Además, las mujeres con VIH presentan una progresión más rápida a carcinoma invasor de cuello uterino que las que no son VIH positivas (133, 179). También, al ser frecuente la enfermedad multifocal por el VPH, presentan alta tasa de recidiva postratamiento (182-184). En EE.UU, el riesgo relativo de cáncer de cuello uterino en mujeres con infección por VIH, en comparación con la población general es de 5,4 (IC 95%: 3,9-7,2) (185). También presentan mayor riesgo de cáncer de vulva y vagina (RR: 5,8) y anal (RR: 6,8) (185). Finalmente, el impacto que ha tenido la terapia antirretroviral HAART (del inglés Highly Active Antiretroviral Therapy) sobre la infección por VPH es controvertido. Minkoff et al (186) en 2.010 publican un estudio prospectivo donde se incluyó a 286 mujeres VIH con tratamiento antirretroviral, encontrando una reducción significativa de infección por VPH AR, así como de lesiones precancerosas. Otros autores (153) también constatan la mayor regresión de CIN con la terapia antirretroviral.

H. Nutrición y dieta:

Algunos estudios (187, 188) han publicado posible efecto protector para el carcinoma de cuello uterino de los vegetales, folatos, retinol, la vitamina E. Varios autores (152, 189-191) han publicado riesgo significativamente menor de lesiones intraepiteliales con alto nivel de folatos.

I. Religión y raza:

La raza, la religión y la nacionalidad no son factores que per sé influyan en el desarrollo del cáncer de cuello uterino (192), sino que más bien podría ser un reflejo de prácticas sociales o desigualdades entre grupos poblacionales. Las tasas más altas de carcinoma de cuello uterino en mujeres negras probablemente se deban a dificultad de acceso en programas de cribado y tratamientos inadecuados más que a las diferencias biológicas interraciales. Existe un estudio (193) en el que se compara la persistencia de la infección por VPH entre afroamericanas y europeoamericanas, y que pese a tener la misma incidencia de infección por VPH, la persistencia era mayor entre las afroamericanas (el tiempo necesario para que el 50% de las mujeres aclarasen el VPH fue para las mujeres afroamericanas de 601 días y para las europeoamericanas de 316 días) y además las primeras tenían con mayor frecuencia alteraciones citológicas (OR: 1,58). Respecto a la religión, las mujeres judías, mormonas y Amish presentan baja tasa de carcinoma de cuello uterino, debido a que su religión comportaría menor número de parejas sexuales, con menor exposición a la infección por el VPH. Gardner et al (194) publicaron un estudio sobre la prevalencia de carcinoma de cuello en mujeres mormonas practicantes de Utah y observaron baja prevalencia al compararlas con mujeres no mormonas, probablemente debido a que las primeras no fumaban y tenían pareja estable, de acuerdo a sus convicciones religiosas. En las mujeres judías, la baja prevalencia podría deberse en parte a la circuncisión masculina, que conllevaría tasas más bajas de infección por VPH en pene de los hombres judíos (195).

J. Nivel socioeconómico:

Mujeres con nivel socioeconómico bajo tienen el doble de riesgo de presentar cáncer de cuello uterino respecto a aquellas mujeres con nivel socioeconómico alto, probablemente por la desigualdad en el acceso a los programas de cribado o por

comportamientos sexuales de riesgo, más que debido a diferencias directamente relacionadas con el riesgo de desarrollo del cáncer de cuello (196-199).

K. Dispositivo intrauterino (DIU):

Parece que ejerce un efecto protector frente al desarrollo y progresión de lesiones cervicales. Se desconoce el mecanismo exacto, aunque se postula que podría deberse a una reacción inflamatoria crónica inducida por los microtraumatismos del DIU a nivel cervical, que originaría cambios en la respuesta inmune local (200). Castellsagué et al (201). Publicaron en 2011 un trabajo donde estudiaron el efecto del DIU sobre la infección por VPH y el riesgo de carcinoma de cuello uterino. Los autores concluyeron que las usuarias de DIU presentaron una tasa del 50 % inferior de riesgo de desarrollar cáncer de cuello respecto a las que no habían utilizado DIU. Es más, encontraron que este efecto protector se producía a partir del primer año de uso y no se modificaba hasta después de los diez años del uso.

I.A.7.2. Factores de invasión:

El proceso de angiogénesis es necesario para el crecimiento del tumor y su metastatización (202). Está bien establecida la progresión de CIN 1, 2 y 3, y el cáncer de cuello. Sin embargo, no están del todo esclarecidos los mecanismos que facilitan el crecimiento tumoral. Sí se sabe que algunos carcinomas de cuello uterino sobreexpresan factores proangiogénicos, como el VEGF (del inglés, Vascular Endotelial Growth Factor), que desempeñan un rol fundamental en el proceso de neoangiogénesis del carcinoma de cuello uterino (203).

I.A.8. Consecuencias de la infección VPH en el canal anorrectal:

El VPH está implicado en la etiología del carcinoma de cérvix, como es bien sabido desde los trabajos de Harald zur Hausen. Con el tiempo, se ha demostrado su implicación en otra serie de carcinomas del tracto genitoanal, orofaríngeo y pene. La implicación del VPH como agente carcinógeno varía en función de la zona anatómica. Por orden de dependencia oncogénica, el cáncer de ano ocupa el segundo lugar tras el

carcinoma de cérvix (204), siendo un 88% de ellos, según Martel et al. (205), y un 90%, VPH dependientes (98, 206, 207). A cierta distancia le siguen ya los cánceres de vagina, con un 70% y los demás con menos de un 40%. (Tabla 1).

Tabla 1. Tumores asociados al Virus del Papiloma Humano (208).

Patología	Fracción atribuible al VPH	Mundo			Unión Europea (EU-27)			España		
		Número de casos anuales	Número de casos anuales atribuibles al VPH ^a	Fracción del total de cáncer (ambos sexos) atribuible al VPH [†]	Número de casos anuales	Número de casos anuales atribuibles al VPH ^a	Fracción del total de cáncer (ambos sexos) atribuible al VPH [†]	Número de casos anuales	Número de casos anuales atribuibles al VPH ^a	Fracción del total de cáncer (ambos sexos) atribuible al VPH [†]
Cáncer de Cuello uterino	100%	530.232 ^a	530.232	4,19%	31.038 ^c	31.038	1,27%	1.948 ^a	1.948	0,99%
Cáncer de Pene	40%	26.300 ^b	10.520	0,08%	3.101 ^c	1.240	0,05%	330 ^{d‡}	132	0,07%
Cáncer de Vulva	40%	40.000 ^b	19.000	0,15%	9.517 ^c	4.521	0,18%	570 ^{d‡}	228	0,12%
Cáncer de Vagina	70%	30.400 ^b	27.360	0,22%	5.427 ^c	4.884	0,20%	105 ^{d‡}	74	0,04%
Cáncer de Ano	90%	30.400 ^b	27.360	0,22%	5.427 ^c	4.884	0,20%	360 ^{d‡}	324	0,16%
Todas las localizaciones anogenitales (ambos sexos)	–	626.932	587.112	4,64%	49.083	41.683	1,71%	3.313 ^{d‡}	2.706	1,37%
Cáncer de Orofaringe incluyendo amígdala	<5% -70%	136.622 ^{a,*}	–	–	13.667 ^c	–	–	800 ^{d‡}	–	–
Verrugas anogenitales	100%	–	–	–	–	–	–	56.446 ^a	56.446	–

Fuente de información:

^a IARC Globocan 2008; ^b Parkin et al. 2006 Vaccine; ^c Gatta et al 2011 Eur J Cancer; ^d Cálculo propio a partir de datos de IARC 2007 Cancer Incidence in Five Continents Vol. 9, eCastellsagué et al, 2008 Eur J Public Health

Métodos:

^a El número de casos anuales atribuibles al VPH es el resultado de aplicar la fracción atribuible al VPH al número de casos anuales. En el caso de agrupar las localizaciones de vulva y vagina, se aplica al 75% de los casos la fracción atribuible al VPH vulvar y al 25% la vaginal.

[†] Porcentaje sobre el total de casos de cáncer (excluyendo cáncer cutáneo no-melanoma) a partir de las estimaciones de IARC, GLOBOCAN 2008a: 12.662.554 casos nuevos anuales en 2008 en el mundo, 2.444.597 en la Unión Europea y 196.902 en España.

[‡] Aproximación basada en el cálculo agrupado de la tasa de incidencia a partir de datos procedentes de los registros españoles de Albacete (1998-2001), Asturias (1996-2000), País Vasco (1998-2001), Islas Canarias (1997-2001), Cuenca (1998-2002), Girona (1998-2002), Granada (1998-2002), Murcia (1997-2001), Navarra (1998-2002), Tarragona (1998-2001), Zaragoza (1996-2000) y aplicado a la población española de 2008.

^{*} Incluye toda la faringe, excepto nasofaringe

El VPH tiene especial tropismo por la zona de transformación, región inestable de unión entre los epitelios pavimentoso y cilíndrico. El concepto clásico (209) soportaba la idea de que es en esta unión escamo-columnar donde tiene lugar la metaplasia escamosa y la displasia. Sin embargo, recientemente se ha descrito (25) una población celular de origen embrionario específica de la unión escamo-columnar del cuello uterino, con un perfil génico único y distinto al del epitelio endocervical y ectocervical adyacente. Es en estas células donde se originarían la inmensa mayoría de las lesiones premalignas de alto grado y de los cánceres de cuello uterino, y sólo un 30% de las lesiones de bajo grado, y por tanto Herfs et al (24, 25) apuntan a este grupo celular como el precursor del carcinoma de cuello uterino. Estas células se han identificadas tanto en los carcinomas escamosos como en los adenocarcinomas.

Tanto el cuello uterino como el canal anal comparten un desarrollo embriológico común, que comienza en la 6ª semana, cuando se forma el tabique urorectal, éste dilata la cloaca y la divide, a nivel dorsal en recto y conducto anal y a nivel ventral, en el seno urogenital. Tanto el cuello uterino como el canal anal se desarrollan a partir de la membrana cloacal embrionaria, y son sitios de fusión de tejido del endodermo y ectodermo, formándose la unión escamo-cilíndrica (210).

La zona de transformación es una región anatómica e histológica que, además de en el ya conocido cuello uterino, podemos encontrarla también en el canal anal y en las amígdalas palatinas. Por lo que respecta al canal anal, se halla en la unión del epitelio columnar del recto con el epitelio escamoso del ano y es en esta unión anorrectal donde actúa el virus, a dos centímetros dentro del canal (178, 211) (Figura 7 y Figura 8).

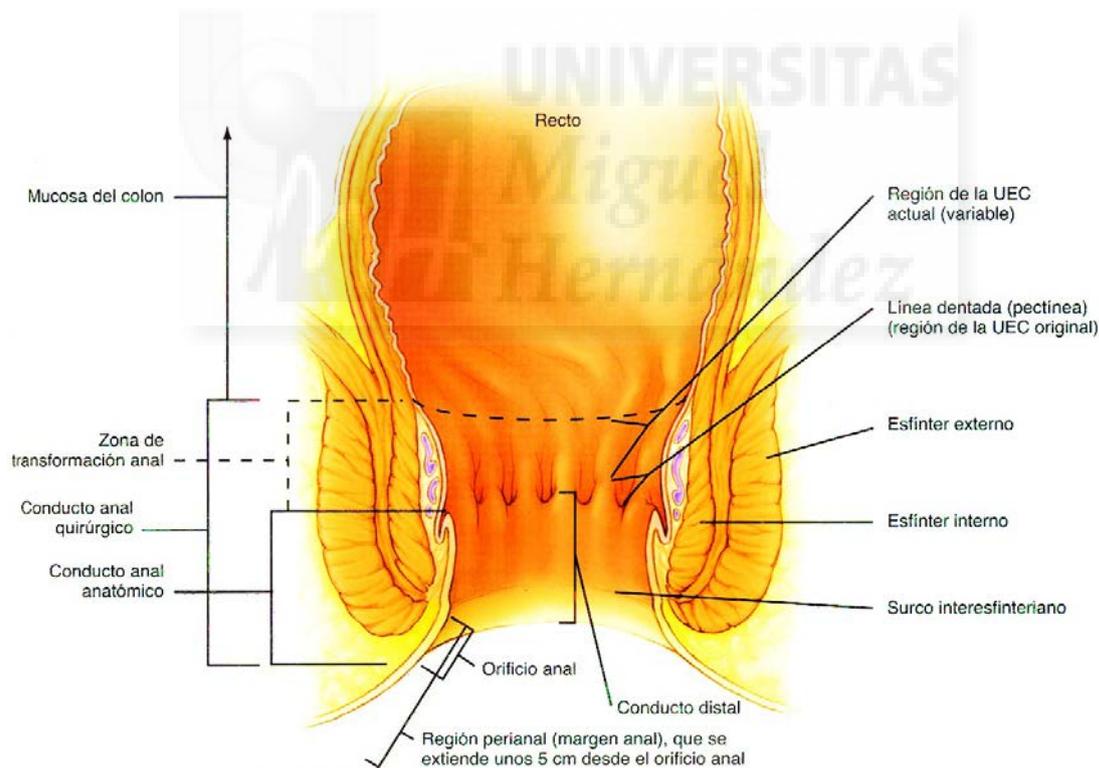


FIGURA 17-16. Anatomía del conducto anal. UEC, unión escamocilíndrica.

Figura 7. Canal anal. Tomado de Darragh (212).

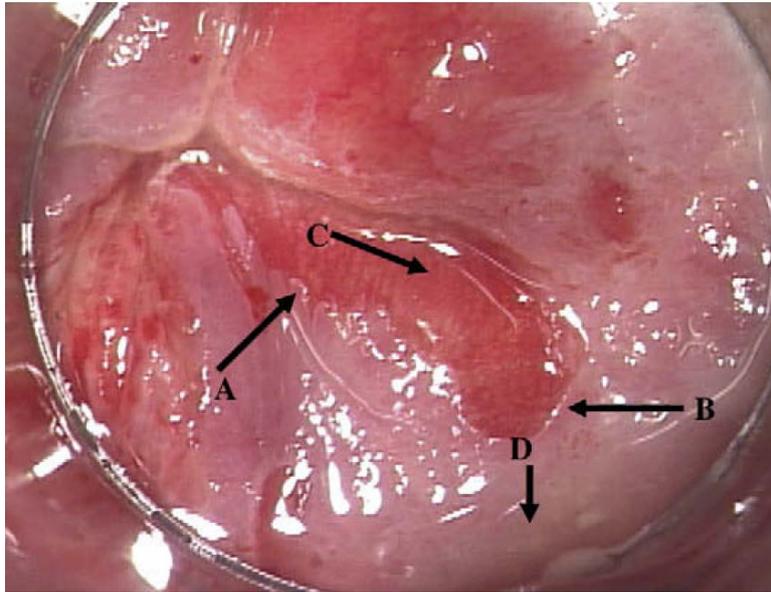


Figura 8. Unión escamocolumnar anal.
UEC normal (A y B); epitelio columnar del colon (C); epitelio escamoso anal (D). No lesiones. Tomado de Palefsky (2)

En la zona de transformación el epitelio es relativamente fino y muy activo. Además, es susceptible de otras infecciones de transmisión sexual como Chlamydia Trachomatis, y se ha observado que la reacción inflamatoria secundaria a la infección por Chlamydia podría también potenciar la infección por el virus en esta región (213).

El VPH tiene la capacidad de penetrar en los queratinocitos de las capas basales de las células de la unión escamo-columnar a partir de defectos del epitelio, generando un cambio conformacional de la cápside viral (28).

Es conocido, desde hace años, la participación del VPH en áreas de la coloproctología, siendo responsable de los condilomas anales, la neoplasia intraepitelial (NIA) (214, 215) y el carcinoma escamoso anal (216-218).

Las consecuencias clínicas de la infección anal por el VPH en mujeres incluyen el desarrollo de cáncer anal y el potencial de extensión del VPH al cérvix. Parece evidente que el ano debe ser biológicamente menos susceptible al desarrollo de cáncer que el cuello uterino, puesto que la incidencia de cáncer anal por la infección por VPH en el

ano es menor que la del cáncer de cérvix producido por la infección del VPH en cuello (2).

Tanto en hombres como en mujeres, los factores de riesgo descritos en la bibliografía para la infección anal por VPH son (2, 219, 220): VIH +, hombres que practican sexo con hombres (en inglés: MSM) aun siendo VIH negativos, recepción de sexo anal (98, 221), número de parejas sexuales a lo largo de la vida, más de 5 según Ojeda (210), historia de condilomas genitales, tabaco, tratamiento prolongado con inmunosupresores (27, 222) e irritación anal crónica que deriva en fisuras y fístulas (223).

Además, en mujeres, son factores de riesgo adicionales el antecedente de una neoplasia intraepitelial genital (206, 224-228) probablemente por el mayor riesgo de exposición del VPH en la región anal (2, 215). Según Edgren et al (227), el riesgo relativo de cáncer anal en mujeres con CIN 3 es de 5. En un estudio de cohorte prospectivo llevado a cabo en Reino Unido, hicieron un seguimiento a 1,3 millones de mujeres durante 13 años y observaron que el principal factor de riesgo para el cáncer de ano fue el haber tenido historia de CIN 3 antes del reclutamiento (RR: 4,03) (229).

La infección del ano por el VPH también puede adquirirse sin antecedente de práctica sexual anal (2). Se cree que la proximidad anatómica del introito vulvar al ano, así como la autoinoculación no sexual (digital) y a través de secreciones vaginales podría influir en aumentar la incidencia de infección por VPH en el canal anal (225, 230, 231). Otras publicaciones también apuntan en la misma línea de la extensión directa del virus desde la zona anogenital infectadas a otras áreas adyacentes (67).

Entre los factores que condicionan la persistencia del HPV anal se incluyen la ducha vaginal (232), las relaciones anales persistentes (233) y el hábito tabáquico de largo tiempo (234). El tabaco aumenta en 5 veces la posibilidad de cáncer anal (2, 98). Para Coffey et al.(229), el RR es de 1,44 respecto a las no fumadoras, y se incrementa al doble de forma estadísticamente significativa cuando se fuma más de 15 cigarrillos/día.

Según Palefsky (213) y Frisch (235), el principal factor de riesgo de infección anal por VPH sería la recepción de sexo anal. Pero el VPH puede adquirirse en ausencia de

relaciones receptivas anales. Estudios epidemiológicos y clínicos han mostrado una asociación entre neoplasia intraepitelial anal y cáncer anal y entre neoplasia intraepitelial cervical y cáncer cervical en mujeres que nunca practicaron el coito anal (2). Otros autores, en la misma línea, han demostrado la presencia de condiloma anal en varones heterosexuales que no han mantenido relaciones anorreceptivas (236).

En lo referente al coito anal, los resultados del estudio nacional de actitudes sexuales y hábitos de vida (237) indican que las mujeres escocesas practican sexo anal con mayor frecuencia que los hombres (11,16% frente a un 0,7%). En Estados Unidos, el porcentaje alcanza de un 22% a un 29% en mujeres (238, 239). Este comportamiento podría justificar en parte la diferencia observada en prevalencia del cáncer anal según sexos, mayor en mujeres.

Park et al (240), por otra parte, no encuentran asociación estadísticamente significativa entre la infección anal por VPH o la citología anal positiva, con coito anal, tabaco o número de parejas sexuales. En población femenina de alto riesgo, la prevalencia estimada de VPH anal alcanzaría desde el 32,5% que publica Lammé (241), a un 42% según Palefsky (242), y hasta el 48,3% del grupo checo representado entre otros por Sehnal (243). En el estudio de cohortes HAWAII-HPV (244) describen, en 1.378 mujeres sanas, una prevalencia de infección por VPH del 27%, que es más o menos equiparable el 29% que encuentran en el cérvix. En la misma línea, Nyitray et al (245) informaron una prevalencia de infección por VPH de un 16,6% en el canal anal de varones heterosexuales VIH negativos. Stier et al (246), en una revisión sistemática publica tasas de un 23 a un 36%.

En el mismo estudio de cohortes de Hawaii, tras un seguimiento de 1,3 años, el 70% de la población femenina estudiada acabó desarrollando una infección incidental anal por VPH (247). No obstante, en un subgrupo de 431 mujeres hawaianas de este mismo estudio seguidas a intervalos de 4 meses durante 1,2 años hallaron una incidencia de infección incidental algo menor, de un 50%, y con una duración media de la infección de 150 días (232). La infección anal del VPH se aclara en un 86% de mujeres en un periodo de un año, o sea, con mayor rapidez que en el cérvix (90% en dos años) (242).

En un estudio realizado en hombres (233), el VPH 16 nunca tuvo una persistencia superior a seis meses (salvo en varones receptores de sexo anal, con un 5,1% de casos). Esto explicaría, parcialmente, por qué es menos frecuente el cáncer de ano que el cáncer de cérvix.

Inicialmente, desde la década de los 70 se pensaba que algo más de un 70% de cánceres anales eran producidos por VPH (248). Actualmente sabemos que la mayor parte de los cánceres de ano, más del 90% son VPH dependientes (217, 244, 249), (tanto en hombres como en mujeres). Los tipos de VPH que se asocian al cáncer de ano son similares al del cáncer de cérvix, aunque el VPH 16 es más predominante aún en el carcinoma anal, con un 65,6% según Darragh (250) y hasta un 81% según Ouhoumane (249) que en el de cuello uterino, que para este último autor está presente en un 50 % de ellos.

Existe evidencia de que los cánceres de ano inducidos por VPH comparten historia natural similar a los carcinomas de cuello uterino (224), y se admite cierto paralelismo, debido a que el cérvix y el ano tienen características embriológicas y anatómicas similares. El primer paso para el desarrollo del cáncer de ano sería la infección viral persistente por VPH. El segundo, su posterior progresión a lesiones displásicas precursoras del cáncer (Neoplasia Anal Intraepitelial, NIA), que se comportan biológicamente como la neoplasia intraepitelial cervical (CIN) y que también se subdividen en NIA de bajo grado (NIA de grado 1), y de alto grado (NIA 2 y 3) (215). Finalmente se produciría la progresión a carcinoma invasor (244).

La NIA es una entidad poco conocida. Fue descrita en los años ochenta y se considera lesión premaligna del carcinoma escamoso anal (251, 252). Desde el punto de vista histológico se caracteriza por un cambio progresivo (parcial o total) del epitelio normal del canal anal por sustitución por células inmaduras que tienen características de células basales (251).

Es posible la prevención del cáncer anal si conseguimos identificar e incidir sobre estas lesiones precursoras (2).

En 2012, el Colegio Americano de patólogos y la Sociedad Americana de Patología Cervical y Colposcopia han establecido una nueva clasificación para describir las lesiones histológicas del tracto genital inferior y anal denominada LAST (Lower Anogenital Squamous Terminology) (253). Sustituye la clasificación de tres niveles de CIN o de NIA, por otra que distingue dos niveles, que se denominan igual a la terminología utilizada por el Sistema de Bethesda para la citología, LSIL (lesión escamosa epitelial de bajo grado), y HSIL (lesión escamosa epitelial de alto grado). De esta forma, se unifica la nomenclatura utilizada tanto en informes citológicos como histológicos, para mayor entendimiento entre ginecólogos y patólogos (250) y también unifica las diferentes terminologías utilizadas para el diagnóstico de las lesiones del cuello uterino, ano, vagina, vulva, región perineal y pene.

En el cuello, la LSIL incluye la CIN 1 y la presencia de cambios citopáticos asociados a infección aguda por el VPH, con riesgo mínimo de progresión. En el ano correspondería a la neoplasia intraepitelial anal (NIA) de bajo grado, que engloba a la NIA 1 y los condilomas.

La HSIL incluye las lesiones histológicas CIN 2 y 3 en cérvix, y a nivel anal incluye NIA 2 y 3. Estas serían las que tienen riesgo significativo de progresión a carcinoma.

No es bien conocida la historia natural del cáncer anal, particularmente la progresión de NIA a cáncer (215, 250, 254, 255). En la actualidad, se desconocen los factores que determinan la progresión de la enfermedad (254). Aun siendo muy frecuentes las displasias anales de bajo grado en población de riesgo (256), la mayoría de las veces se resuelven espontáneamente, pero las de alto grado son mucho más estables (257). Hay estudios publicados que han demostrado el potencial oncogénico de las NIA 2-3 (254, 258, 259).

De forma similar al CIN 1, la NIA 1 simplemente es la expresión de los cambios morfológicos celulares que son secundarios a la replicación viral y no se considera como lesión precancerosa. Pueden regresar espontáneamente o progresar a grados de displasia mayor (215). Esta progresión va a ocurrir en el 10% de NIA de grado 1 (220). Sin embargo, la NIA de alto grado (NIA 2 y 3), y en particular la NIA 3, son consideradas

como las realmente precursoras del cáncer anal, de forma similar a los que ocurre en el cérvix con las lesiones CIN2+ (213).

Una vez establecido la displasia anal, la progresión a carcinoma anal sería mayor para NIA 3, en un orden de un 8,5% a un 10% de ellos (254, 259) tras 5 años de seguimiento (63 y 60 meses respectivamente).

Se desconoce la prevalencia e incidencia exacta de la NIA (260, 261). La mayoría de ellas son diagnosticadas de forma accidental en el contexto de una cirugía anal (hemorroides o condilomas anales) (262). Supone hasta el 1% de toda la cirugía anal (263, 264). Por otro lado, se está produciendo un aumento progresivo en la incidencia y en la prevalencia de las NIA y ello es debido a distintos factores: mayor interés en la comunidad científica por el tema, aumento de la población infectada por VPH y por VIH desde la década de los noventa y mayor tasa de supervivencia en el grupo de VIH desde la introducción del tratamiento antirretroviral (220). En la NIA de alto grado se ha encontrado un aumento significativo del VPH 16 y 18 (67, 215, 235). La prevalencia de VPH de alto riesgo en NIA 3 oscila entre el 84 y el 100% (215). Según De Vuyst et al. (248) en el 91,5% de NIA 1 se detecta VPH y sube al 93,9% en la NIA 2 y 3.

Aunque, como se ha comentado previamente, la prevalencia real de la NIA sigue sin estar definida, sí se conoce la población de mayor riesgo: Los avances en el conocimiento de las lesiones intraepiteliales anales se deben en gran medida a los estudios realizados en varones VIH positivos que practican sexo con otros varones (en inglés MSM: "men who have/had sex with men"). Esta población presenta una incidencia de cáncer anal superponible a la del cáncer del cuello uterino antes de la introducción de la citología cervical (35-70 por 100.000) (213, 265). En cuanto a mujeres inmunocompetentes con patología del tracto genital inferior (vulvar, vaginal y de cérvix) atribuible a infección por VPH, no hay tantas publicaciones (209, 215, 225, 266, 267). En población femenina predominan los trabajos que relacionan la infección por VPH con la inmunodepresión del VIH.

Cuando se compara la prevalencia de NIA en estos grupos de riesgo, se observa que es significativamente mayor que en la población general (262). Se describen cifras del 15% en pacientes VIH positivos, de un 10% en pacientes con condilomas anales (en

caso de VIH hasta el 30%) y hasta el 20% de pacientes inmunodeprimidos no VIH como son los trasplantados renales (215, 222), y en mujeres con CIN 3 o carcinoma de cérvix (215).

El objetivo de la identificación de la NIA es la prevención del cáncer anal (262). Se han descrito los factores implicados en la evolución (tanto la regresión como la progresión) de estas lesiones precancerosas: infección por VIH, carga viral del VPH, coinfección por diferentes serotipos de VPH o de otros virus como el Herpes simple (268), y factores propios del huésped (genéticos y de inmunidad)(269).

Dada la similitud biológica entre el cáncer de cuello y el de ano, y ante la evidencia de que el cribado con la citología y el tratamiento de las lesiones CIN 2+ han reducido de forma significativa la incidencia y mortalidad del cáncer de cuello uterino (270), en la lucha contra el desarrollo de este tipo de enfermedades, lógicamente cabe plantear el mismo esquema que clásicamente se ha seguido con el cáncer de cuello uterino: cribado mediante un método fácil de usar y barato como es la citología, con o sin concomitancia con un test de detección de DNA viral VPH. Sin embargo, en contra de lo que pasa con el cribado del cáncer de cuello de útero, en el ano no existen guías universalmente estandarizadas para el cribado poblacional de lesiones precancerosas anales (261). Tampoco se han realizado ensayos clínicos aleatorizados que validen la eficacia de ninguna técnica de detección sistemática (212). Por este motivo, los datos epidemiológicos para NIA están en fase de estudio (210).

Sin embargo, en vista de la similitud del cáncer anal y de cérvix, así como del aumento progresivo del primero en población de riesgo, hay autores que han propuesto programas de cribado de detección precoz en esta población (271) cuyo objetivo es la identificación de la NIA de alto grado, para prevenir el carcinoma invasor de ano, reduciendo de esta manera su mortalidad (212).

Palefsky (213) fue el primero en introducir la citología anal como cribado del cáncer de ano y de describir un método para su realización. Su grupo propuso un algoritmo de actuación en función del resultado de la citología anal en las poblaciones de alto riesgo, que incorpora gran parte del cribado para el cáncer de cérvix (213, 272, 273) (Figura 9).

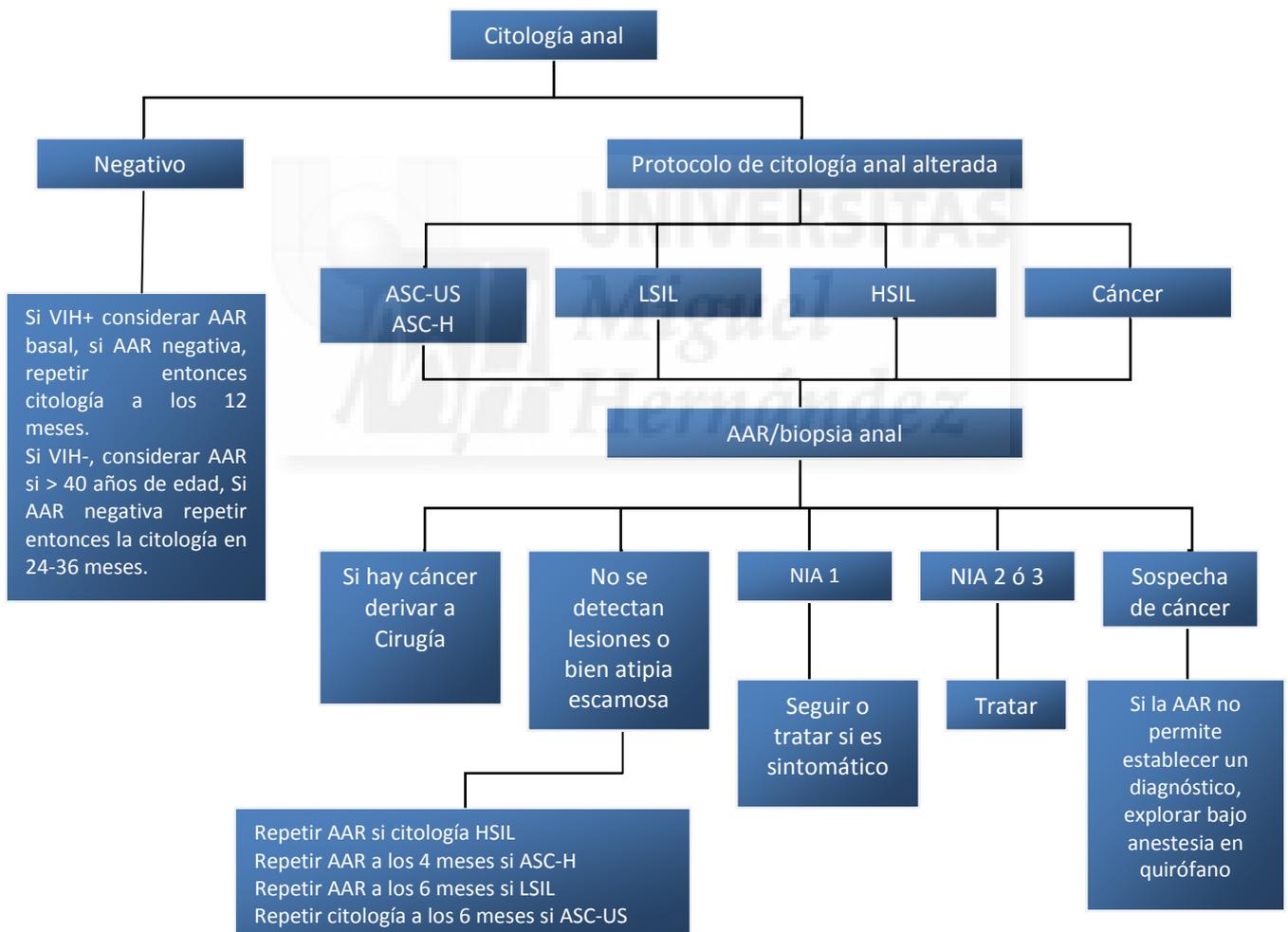


Figura 9. Modelo de cribado de cáncer anal propuesto por Palefsky (2).

Este esquema está basado en la experiencia del grupo de Palefsky (212) con la detección sistemática anal y con la AAR, pero no está validado.

Está en discusión la detección sistemática del VPH-AR en el canal anal como parte del cribado y en el seguimiento de resultados anómalos, puesto que en poblaciones de alto riesgo de NIA y cáncer anal, la prevalencia de la infección es muy elevada (250, 274).

Actualmente, la citología anal es el test primario en el cribado del cáncer de ano, pero esta prueba sólo debería llevarse a cabo en aquellos sitios donde, ante un resultado anormal, pudiera llevarse a cabo un seguimiento que incluya la realización de estudios de imagen como la anoscopia de alta resolución (AAR), así como la posibilidad de realizar biopsia guiada por anoscopia y tratamiento de la lesión una vez ésta haya sido confirmada (213).

El resultado citológico de las displasia anal está basado en la clasificación del sistema Bethesda 2.007 (211, 275-278), y la terminología sería la misma que para el cérvix (normal, ASC-US, ASC-H, AGC, L-SIL, H-SIL y cáncer).

La técnica para la toma de la citología anal ha sido ampliamente descrita y es relativamente sencilla: No es preciso ningún procedimiento anestésico ni preparación previa. No se deben emplear lubricantes, ya que podrían alterar la calidad de la muestra (262). La paciente no debe haberse introducido enemas, ni duchas ni haber sido receptiva de sexo anal las 24 horas previas a la toma citológica. La citología del ano tiene la limitación respecto a la muestra del cérvix que la muestra se obtiene a ciegas, sin visualización de la zona de transformación. Se recomienda hacer la toma con una torunda de poliéster (Dacrón) humedecida con agua corriente. No utilizar torundas de algodón porque se perdería material, al quedarse pegado a la torunda. Según Palefsky, el cepillo es incómodo e innecesario. Otros autores, sin embargo, sí que realizan la toma citológica con el citobrush (262). Es recomendable que la citología sea en medio líquido, de este modo, además del despistaje de la NIA, es posible la detección de VPH en tinciones inmunohistoquímicas (279).

La citología anal se basa en la obtención de células en la profundidad del canal, desde una profundidad de 1,5-2 cm del ano (244), para otros autores hasta 3-4 cm del canal anal (2), Cardinal et al (278) describen la introducción a 5-6 cm o directamente tan lejos en el ano como se pueda y rotando el cepillo 360 grados, 5 veces en el sentido de las agujas del reloj y otras cinco veces en sentido contrario (244), o contando despacio hasta diez como describe Palefsky (2) y aplicando presión en las paredes mientras se mueve el cepillo. La toma de la muestra en un tiempo mínimo de 10 segundos garantiza la obtención adecuada de suficientes células (212). La citología debe comenzarse a tomar desde la parte distal hacia el ano. De idéntica forma al cérvix, se puede preservar la muestra en medio líquido o en un cristal, si se trata de una citología convencional. Según los criterios del sistema Bethesda 2.001, la celularidad mínima para que una citología anal se considere adecuada son 2.000-3.000 células o 1-2 células escamosas con núcleo por campo de gran aumento en las muestras de Thin Prep (185). La presencia o no de células de la zona de transformación (células cilíndricas rectales y células escamosas metaplásicas) se considera un indicador de calidad de la muestra. En caso de que el número de células mínimo no esté presente, o bien que la mayoría de la muestra esté contaminada por material fecal o por escamas anucleadas, la citología será clasificada como no satisfactoria.

Se acepta como adecuado, un porcentaje de muestras de citología anal insuficientes para el diagnóstico del 9-17% (280). Lammé et al (241) señalan un tasa de un 15% de muestras anales insuficientes.

El hallazgo de lesión intraepitelial anal de bajo grado o ASCUS en la citología, no excluye la presencia de NIA de alto grado. Arain et al (281), en 2.005 publicaron que el 46% de sus citologías anales cuyo resultado era ASCUS, y el 56% de las LSIL, mostraron una displasia (NIA) grado 2-3 en la biopsia. Por esta razón, la remisión a anoscopia de alta resolución se debe considerar a las personas con cualquier anomalía citológica.

En el mismo sentido, algunas publicaciones antiguas, entre 1.985 y 1.995 (209, 236, 279) describen un infradiagnóstico de NIA cuando se utiliza la citología como medio único de despistaje, detectando tan sólo el 35-62% de estas lesiones en comparación con la biopsia. Los autores apuntan que la baja sensibilidad de la citología respecto a

la biopsia sería en parte debido a la mala calidad de la muestra por contaminación fecal.

Según el estudio de Santoso (261) la citología anal demostró muy baja sensibilidad para la detección de lesiones NIA (8%) y alta especificidad (94%). No es de extrañar que lamentase que no fuese una herramienta completamente efectiva. Sin embargo, en un estudio de la agencia de evaluación de tecnología de Ontario (2.007) (265) se describe una sensibilidad para varones VIH negativos, en el escenario más parecido al de la mujeres, de un 26 a un 47% y una especificidad de 81 a 92%. En la misma línea, otros autores describen sensibilidad del 81% para varones VIH y del 50% para mujeres VIH negativas (236, 282). Berry (274) y Palefsky (283) encuentran una mayor sensibilidad de la citología anal para la NIA de alto grado confirmada con biopsia, en pacientes VIH positivos del 87% frente al 55% de los VIH negativos, y la especificidad fue del 42 y del 81% respectivamente. Para Darragh (212), esta diferencia en la sensibilidad se debe posiblemente a que en esta población las lesiones son de mayor tamaño y la carga de enfermedad mayor.

Fox et al (284) han publicado datos de sensibilidad y especificidad de la citología anal comparables a la del cuello uterino.

Salit et al (285) publican una sensibilidad del 84% y especificidad del 39% para resultado de ASCUS o más, y especificidad del 91% para la lesión de alto grado.

Cardinal et al (278) publican una sensibilidad de la citología anal del 70%, y una especificidad del 93%, con un alto VPP (97%) y VPN del 48%. Además, la sensibilidad fue mayor para detección de lesiones de alto grado (84%), que para las de bajo grado (66%).

Para Berry et al (274, 286), son muy infrecuentes los falsos resultados positivos de la HSIL en la citología anal.

Vajdic et al (287), publicaron mejores resultados en cuanto a la detección de NIA cuando la citología anal se tomaba sin visión anoscópica, observando además que el procedimiento es más cómodo que con anoscopia de alta resolución (AAR).

La AAR constituye la técnica gold-standard para el diagnóstico de NIA de alto grado tras una citología alterada. Por lo tanto, de forma similar a lo que sucede con la CIN, el diagnóstico de la NIA debe ser confirmado mediante estudio histopatológico, basado en la muestra de biopsia mediante AAR (212). Darragh (212) afirma que muchos ensayos que utilizan la citología anal sin biopsia guiada por anoscopia pueden infravalorar en gran medida la verdadera prevalencia de la NIA.

La AAR presenta una sensibilidad de un 100% y una especificidad menor, del orden de un 71% según Santoso (261). Abbasakoor (215) describe un valor predictivo positivo de la anoscopia de un 49%. El término de "anoscopia de alta resolución" fue acuñado alrededor del año 1995 para describir la colposcopia del canal anal y la región perianal. La técnica fue desarrollada por la Universidad de California en San Francisco (UCSF) en el año 1.991 y poco después se creó el Centro de Neoplasias Anales de la UCSF, pionero a nivel mundial en el cribado del cáncer del ano. Para realizar una anoscopia, es preciso una formación específica y conlleva su curva de aprendizaje (262).

Antes de realizar una anoscopia, es imprescindible el tacto rectal, muy útil en la detección sistemática del cáncer de ano (212).

La técnica consiste en la introducción de un anoscopio con gel lubricante y lidocaína. A continuación, se deja una torunda rodeada por una gasa empapada con ácido acético al 3-5% durante 1-2 minutos, retirando previamente el anoscopio. Posteriormente, se reintroduce de nuevo para iniciar la exploración del conducto anal, que empezará visualizando primero la parte distal del recto con un colposcopio a bajo aumento. A continuación se va retirando el anoscopio, hasta visualizar la unión escamo-columnar (UEC) anal y/o la zona de transformación. La UEC es la unión entre el epitelio cilíndrico o glandular rectal (de color rojo oscuro) y el escamoso anal (de color rosa pálido). La UEC se localiza cerca de la línea pectínea. La zona de transformación, que es la de la metaplasia escamosa, se sitúa en sentido distal a la UEC. La mayoría de las NIA se localizan en la zona de transformación (ZT). La AAR sólo se considera adecuada cuando se consigue visualizar toda la UEC y la ZT (212). La aplicación de solución de Yoduro, Lugol, es útil. La mayoría de las NIA de alto grado son yodonegativas, mientras que las

de bajo grado pueden ser negativas, teñirse débilmente con Lugol o ser positivas para Lugol.



Figura 10. Material para AAR.



Figura 11. Introducción anoscopio.

Para considerar que la exploración es completa, se requiere la visualización de la UEC, de la ZT, del conducto anal distal, del orificio anal y de la zona perianal (esta última es la región que se extiende a 5 cm del orificio anal) (212).

Al igual que la CIN 2+, la displasia anal de alto grado (NIA de alto grado) no es palpable ni visible, a no ser que se aplique ácido acético al 0,2% y se inspeccione la mucosa con la utilización de un anorrectoscopio equipado con luz intensa y lente magnificadora de imágenes. Cualquier anomalía (epitelio acetoblanco, lesiones elevadas o decoloraciones), será subsidiaria de biopsia dirigida (288). El empleo de ácido acético al 0,5%, en el ano no es necesario porque las células son más altas en queratinización que las del cérvix (262).

De forma similar que en el cérvix, es la biopsia la herramienta que diagnostica la NIA (215, 263). Se basa en detectar la displasia, así como el grado de extensión de la lesión en la profundidad del epitelio (NIA 1, 2, 3).

Es necesaria una gran experiencia del anatomopatólogo en la evaluación del epitelio del canal anal, para disminuir la tasa de falsos positivos y la gran variación interobservador que existe a la hora de determinar el grado histológico de displasia anal (289).

La utilidad del cribado anal se basa en la posibilidad de realizar tratamientos eficaces de la NIA de alto grado y en demostrar que una terapia eficaz de estas lesiones conllevará aparejada una reducción en la incidencia del carcinoma de ano (213).

En cuanto al tratamiento de las NIA, se han propuesto diferentes modalidades, tanto quirúrgicas (exéresis, ablación), como médicas (citotóxicos tópicos o inmunomoduladores como el Imiquimod) (215). No se conoce bien la eficacia de las distintas alternativas terapéuticas para las NIA (210).

Al contrario de lo que sucede en el cuello uterino, los tratamientos escisionales en el canal anal, por la disposición anatómica del mismo, pueden comportar una morbilidad nada desdeñable (dolor anal, estenosis del canal, incontinencia fecal, etc.) (254). A mayor grado de afectación de la NIA, mayor tasa de complicaciones postquirúrgicas. Si

la lesión afecta a más del 30% de la circunferencia anal, la tasa de estenosis anal postquirúrgica aumenta de forma significativa (262). Según Scholefield (254), la afectación difusa de la NIA en el canal anal se acompañará, ante un tratamiento escisional, indefectiblemente de complicaciones.

Por este motivo, es controvertida la actitud ante el diagnóstico de NIA y muchos autores optan por el seguimiento y conducta expectante, a no ser que exista alto índice de sospecha de que la lesión anal sea en realidad un carcinoma (290). Otros autores defienden la ablación o el tratamiento escisional (291).

Para Parés (262) y Scholefield (254), la opción más razonable, para una lesión como la NIA (que es de origen vírico, precancerosa y aún no del todo conocida su historia natural), y dado el alto índice de complicaciones derivadas de la actitud activa, y sobre todo si la enfermedad es difusa, sería un seguimiento estricto que permita detectar una posible progresión de la enfermedad.

Para Darragh et al (212), la NIA de alto grado debe ser tratada, puesto que se considera lesión precursora del cáncer de ano. Pineda et al (292), publican una tasa de progresión a cáncer de un 1,2% en aquellos pacientes con NIA de alto grado que fueron tratados mediante un procedimiento quirúrgico, en contraposición con la tasa de progresión del 7,5% de aquéllos en las que se decidió actitud conservadora, con AAR cada 6 meses.

No obstante, hasta la fecha no se han realizado ensayos aleatorizados prospectivos que comparen la actitud expectante versus el tratamiento quirúrgico y que demuestren la prevención de la progresión a cáncer cuando la actitud sea la segunda opción (212).

Se han descrito tasas de recurrencias a los dos años que varían entre 0 y 80% (254, 288, 290, 291).

Según el grado de displasia anal, Parés et al (262) proponen unas líneas de actuación:

NIA grado 1: Es una lesión con bajo potencial de malignidad. Aunque se desconoce el porcentaje de regresión de la lesión de bajo grado en el ano, a nivel del cuello uterino,

se sabe que más del 80% de los CIN 1 tienden a regresar espontáneamente. Parece una opción aceptable la anoscopia, con biopsia confirmativa, con rastreo de todo el canal anal y la descripción geográfica de la lesión, y nuevo control a los 6-12 meses con anoscopia y de nuevo biopsia para confirmar si existe una progresión del grado de displasia. Si en el estudio histológico persiste una NIA grado 1, se propone control anual con citología y AAR (254).

Para Palefsky (213), el objetivo del tratamiento de las NIA de bajo grado (NIA 1 y condilomas) no es la reducción del cáncer de ano, puesto que no se consideran como precursoras de éste, sino la reducción de los síntomas, el beneficio psicológico de la paciente y el impedir que la lesión se haga de mayor tamaño, pudiendo más tarde dificultar el uso de agentes tópicos. El mismo autor (255) señala, que aunque la NIA de bajo grado no es en sí misma una lesión con potencial carcinogénico, su tratamiento puede reducir el riesgo de progresión a lesión de alto grado.

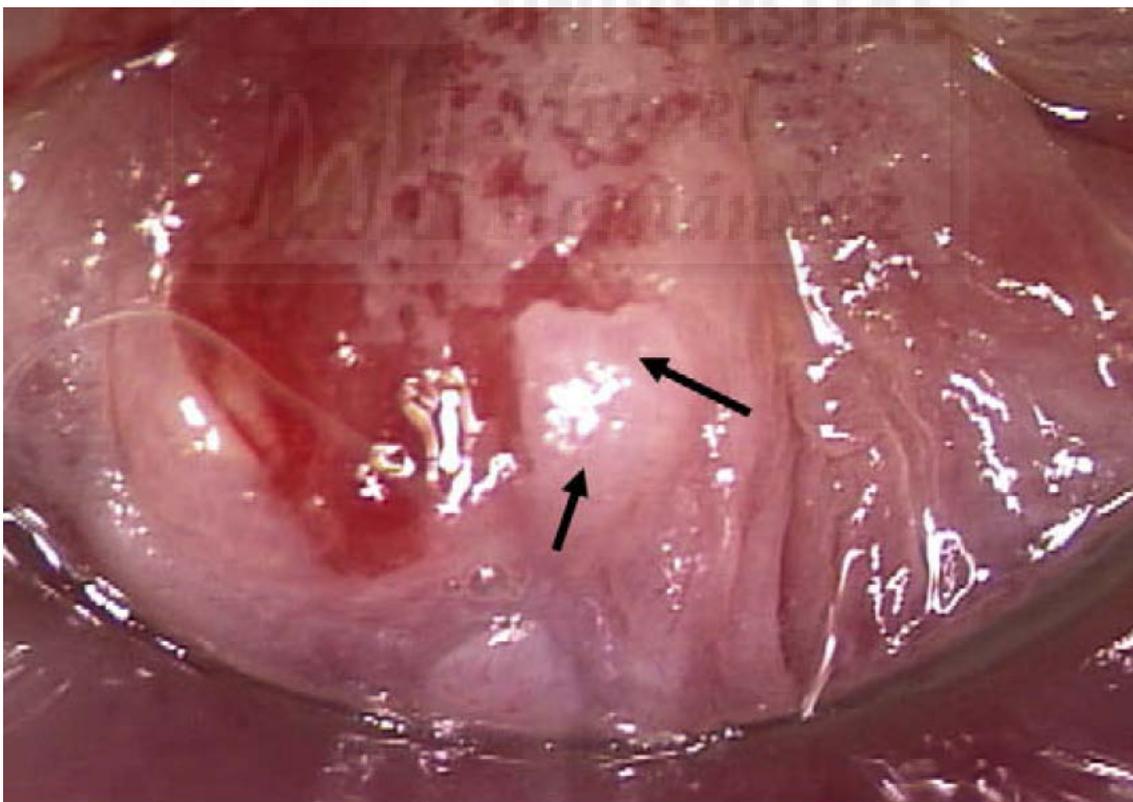


Figura 12. Neoplasia Intraepitelial Anal (2).

Palefsky et al (2), proponen como línea de actuación ante una displasia anal de bajo grado, desde seguimiento cada 6 meses a tratamiento médico de los condilomas.

Los condilomas anales (que son catalogados dentro del grupo de la NIA de bajo grado), pueden ser tratados con la autoaplicación por parte de la paciente de Imiquimod o Podofilotoxina (293). Otras alternativas terapéuticas, como nitrógeno líquido, electrocauterio, ácido tricloroacético al 85%, coagulación con infrarrojos, láser y electrocauterio pueden ser aplicadas por el médico especialista. El tratamiento con imiquimod y podofilotoxina no se recomienda en los condilomas intraanales (213).

NIA de alto grado: En cuanto a tratamientos tópicos, la crioterapia no es útil, pues dificulta la visualización (212). La aplicación de ácido tricloroacético al 85% (una vez cada 3-4 semanas y hasta un máximo de cuatro ciclos) puede resultar eficaz en NIA de alto grado intraanal (294), especialmente si la lesión afecta a menos del 25% de la circunferencia anal. Singh et al (294) publican tasas de curación completa de la NIA de alto grado con esta modalidad terapéutica del 32%, pero con una elevada tasa de recidivas, del 72%.

No hay mucho publicado en cuanto a la eficacia del Imiquimod en el tratamiento de la NIA de alto grado intraanal, y son trabajos de casos clínicos aislados (295). Fox et al (296), en un ensayo aleatorizado doble ciego, llegan a la conclusión de que el tratamiento con imiquimod es más eficaz que el placebo en la curación de NIA de alto grado.

Las sinecatequinas al 15%, tratamiento eficaz de los condilomas acuminados externos, no ha sido valorado para el tratamiento de las NIA (212).

La escisión quirúrgica es el tratamiento de elección cuando es preciso un estudio histopatológico para descartar que se trate de un carcinoma. Se podría plantear resección quirúrgica si la lesión es focal. Si es extensa, actitud expectante por las complicaciones asociadas a la cirugía (254, 262). Parés (262) reconoce que esta actitud no está consensuada. Ojeda (210) también plantea observación y seguimiento para la NIA extensa de alto grado, basándose en que ningún procedimiento terapéutico

erradicaría la lesión completamente. En este supuesto, sería obligada la vigilancia estrecha, por el riesgo de progresión a carcinoma de ano (297).

Existen diversas técnicas para la ablación física de la NIA de alto grado: coagulación con infrarrojos, el bisturí eléctrico, la ablación con láser y la coagulación con haz de argón. No existen datos publicados que comparen la eficacia de las diferentes alternativas terapéuticas, por lo que la elección de alguna de ellas se basa en la disponibilidad del equipo, en la formación y experiencia del profesional (212). También hay escasos estudios publicados acerca del tratamiento de la NIA de alto grado y sobre la utilización de la AAR para orientar el tratamiento. El grupo de la Universidad de California, San Francisco (UCSF) (288, 292), han descrito sus resultados quirúrgicos. Uno de ellos data del 2.002, y realizan una revisión de sus resultados que data desde 2.001 a 2.010, en la cual realizaron 550 intervenciones mediante ablación quirúrgica guiada mediante AAR. No encontraron recidivas de la lesión anal de alto grado tras el tratamiento en pacientes VIH negativos; sin embargo, el 79 % de los que eran positivos para el VIH presentaron recidiva en los primeros 12 meses de la ablación quirúrgica. Los autores justifican estos resultados a que en el grupo VIH las lesiones eran demasiado extensas como para realizar su exéresis en una sola sesión, y estos casos fueron contados como recidivas. El síntoma más frecuente fue el dolor y no tuvieron ningún caso de estenosis, incontinencia, infección o hemorragia significativa tras la intervención (292).

El estudio fue publicado en 2.002, cuando el grupo de la UCSF no realizaba aún la técnica de coagulación con infrarrojos ambulatorio (CIR).

Nathan et al (298) publicaron sus resultados sobre la ablación ambulatoria con láser guiada con AAR en pacientes con NIA de bajo y alto grado. El 63% de ellos estaban libres de enfermedad al año y que los dos factores que más influenciaban en este aspecto fue el estatus VIH y el volumen y la extensión de la lesión. Los autores concluyen que el tratamiento con láser es eficaz.

Coagulación con infrarrojos: Para realizar el procedimiento, es necesaria la aplicación de lidocaína al 5% en crema en la zona anorrectal durante 10-15 minutos. No afecta a la visualización de las lesiones. Mediante AAR se identifica la lesión o lesiones que

vayan a ser tratadas y se infiltra la zona con anestésico local (lidocaína al 1% con adrenalina tamponada con bicarbonato sódico; se añade 1 ml de bicarbonato a 5 ml de lidocaína), mediante una aguja espinal de 25 G unida a una jeringa de 10 ml (213). La infiltración anestésica ha de comenzar por la parte proximal a la altura de la unión escamo-columnar y avanzando en sentido distal hacia la línea pectínea. Tras la aplicación anestésica, se retira el anoscopio para facilitar el cese del sangrado que se produce. A continuación, se reintroduce y se aplica de nuevo el ácido acético para volver a identificar las lesiones. La técnica consiste en la aplicación de forma directa de la guía luminosa de la máquina de CIR sobre el tejido displásico predeterminada para que dispare a 1,5 segundo pulso de irradiación de infrarrojo. De esta forma se produce una destrucción tisular de 1,5 mm de profundidad suficiente para la mayoría de las lesiones (210). Complicaciones secundarias al tratamiento serían el sangrado y la infección (299), si bien la primera indicación de la coagulación infrarroja fueron las hemorroides y tiene buen poder de coagulación. Las pacientes reciben posteriormente instrucciones para evitar estreñimiento (administración de laxantes surfactantes y la ingesta hídrica abundante, así como dieta rica en fibra). Al acabar el tratamiento, se administra de nuevo Lidocaína tópica al 5% en el canal anorrectal, se recomienda reposo relativo y se prescriben baños de asiento con agua templada y antiinflamatorios no esteroideos los primeros días para el control del dolor (212).

Esta técnica se emplea en la UCSF desde Octubre de 2.002 de forma ambulatoria para el tratamiento de las NIA de alto grado. Hasta la fecha, han realizado más de 2.500 intervenciones con este procedimiento, y los autores concluyen que es la opción terapéutica más eficaz, con buena tolerancia y con morbilidad de leve a moderada (212). Goldstone et al (300, 301) publican también sus resultados sobre la CIR aplicada a varones VIH positivos, y concluyen que es un método seguro, con baja morbilidad y que posibilita el retratamiento de las recidivas. Cranston et al. (302), en un estudio prospectivo publica tasas de eficacia en varones VIH del 64 % con CIR. En otro estudio prospectivo multicéntrico realizado por el AIDS Malignancy Consortium (303) observaron respuesta completa al año del tratamiento en un 64% de los VIH, con una tasa de erradicación de la lesión de alto grado por sesión del 66%. En todos estos estudios citados la CIR se realiza guiada por AAR.

I.B. JUSTIFICACIÓN:

El cáncer anal es relativamente raro en la población general (2), pero su incidencia y su mortalidad han presentado un progresivo aumento a nivel mundial desde 1.975 (241, 304), afectando a un 1-2 por cada 100.000 habitantes (265).

En mujeres, la prevalencia es de 2,06/100.000 (305). Según los datos del IARC-Globocan de 2.008, se cifraban en 530.232 los casos nuevos de cáncer de cérvix al año frente a los 30.400 nuevos casos anuales de cáncer de ano (306). Según Martel et al (205), se estima que hay 27.000 nuevos casos de cáncer de ano a nivel mundial.

La edad media de aparición en la mujer es a los 68 años, a diferencia de los hombres que suelen diagnosticarse hacia los 50 años (307). Es raro por debajo de los 40 años (229). Su incidencia en USA en el periodo 1.975 a 2.009 se ha más que duplicado (218), aumentando un 1,7% anual en mujeres americanas en ese período (232), lo que contrasta con la reducción experimentada en el cáncer de cuello uterino. De acuerdo con los datos de la Sociedad Americana del Cáncer (308), en 2.008 se estimaron 5.070 nuevos casos, incluyendo 3.050 mujeres y 2.020 hombres, y 690 muertes por cáncer de ano. Los datos epidemiológicos manejados por esta Sociedad en 2.012 hacen referencia a unas cifras aún más elevadas, con 6.230 nuevos casos de cáncer anal, de los cuales 3.980 eran mujeres, y sólo 2.250 varones (309). Es decir, más frecuente en la mujer (64%) que en el hombre (36%) (305).

En 2.014 se estimaron 7.210 casos nuevos de cáncer anal en USA, de los cuales, 4.550, el 63 %, correspondían a mujeres (310). Se desconoce en la actualidad a qué es debida esta diferencia entre sexos, aunque se argumentan cuestiones como posibles factores de riesgo, el antecedente de displasia y cáncer cervical, la historia de práctica de sexo anal y la existencia de múltiples compañeros sexuales (98, 235, 277).

En Reino Unido, en el año 2.012, de los 1.043 casos de cáncer anal registrados, 665 (64%) fueron mujeres y el 88% de éstas la edad media fue de 50 años (229).

Sehnal et al (243) aportan un hallazgo de interés: en la República Checa, en 2.010, de los 85 nuevos casos de cáncer anal en mujeres, menos del 3% eran VIH positivas, por lo que, lógicamente, no cabe reducir esta neoplasia a un problema de la población VIH.

Estos hallazgos por sí mismos apoyan la idea de la necesidad de identificar a la población femenina de mayor riesgo de cáncer anal. Y, buscando fórmulas de preselección, cabría pensar que un buen criterio para identificar a esta población, no necesariamente VIH, es el de padecer una lesión del tracto genital inferior (TGI) por VPH, dada la multicentricidad de esta infección ya explicada más arriba.

Hay escasas publicaciones sobre la prevalencia de las displasias anales en la población general de mujeres sanas. No obstante, hay estudios como un multicéntrico en Estados Unidos, el estudio WIHS (311), relativo a mujeres VIH, que contó con un subgrupo de 185 mujeres no VIH, de las cuales un 5% tuvieron NIA 1 y un 1% NIA de alto grado, 2 ó 3. En otro estudio, Holly (277) realizó un seguimiento a 68 mujeres VIH negativas con o sin displasia del tracto genital inferior, y describió una prevalencia del 8% en esta población.

En mujeres inmunocompetentes con displasia cervical, hasta la fecha son muy pocas las publicaciones disponibles: la de Park (240), Santoso (261), Jacyntho (312), Lammé (241), y Scholefield (313), que publican tasas de prevalencia del 9%, 12,2%, 17,4%, 17,6% y 19% respectivamente.

Las pacientes con CIN y carcinoma de cérvix tienen mayor posibilidad de desarrollar NIA y cáncer de ano, siendo el VPH el principal factor etiológico de las lesiones genitales (225, 228, 243, 314). Se ha llegado a publicar que aquéllas con displasia cervical de alto grado tienen una incidencia de cuatro a cinco veces mayor en comparación con la población general (229, 273).

El riesgo de una neoplasia anal tras un cáncer de cérvix ha sido descrito en dos amplios estudios basados en registros de cáncer, uno en Reino Unido con 145.621 personas/año seguidas desde 1.960 a 1.999 (Evans (315)) y otro sueco, Hemminki (226), que siguió a 135.386 mujeres desde 1.958 a 1.996. Encontraron una razón de probabilidad de un cáncer de ano de un 6,3 (IC95%: 3,76-10,0) y 4,8 (IC95%: 3,7-6)

respectivamente. El registro de cánceres británicos encontró que cuando el cáncer cervical no era invasivo, sino In Situ, el riesgo de neoplasia anal seguía siendo equiparable: 5,9 (IC95%: 3,7-8,8) (315). Coffey et al. publicaron en Marzo de 2015, que el antecedente de CIN 3 es el principal factor de riesgo para padecer un cáncer de ano (RR: 4,03) (229). Edgren (227) obtuvo valores similares con una razón de probabilidad de carcinoma de ano tras un primario de cérvix de un 4,68 (IC95%: 3,87-5,62).

Saleem et al (228), en un estudio multicéntrico de una población de 189.206 mujeres con displasia y neoplasia relacionada con VPH (vulvar, cervical y vaginal), hicieron un seguimiento desde 1.973 a 2.007. Encontraron que 255 de ellas desarrollaron un cáncer de ano (13,6%), siendo un riesgo 13 veces mayor de lo esperado. Ese riesgo subió a 22,2 y a 17,4 cuando la lesión inicial era neoplasia vulvar intraepitelial o carcinoma de vulva respectivamente. En mujeres con CIN 2+, la incidencia de cáncer de ano fue de 16,4%, y de 6,2% para las que habían tenido cáncer de cérvix. El intervalo de tiempo entre el primario ginecológico y el diagnóstico de cáncer de ano fue mayor en las mujeres con neoplasia intracervical in situ (15,7 años) que en el caso de un carcinoma invasor de cérvix (11,4 años de media) o de una neoplasia vulvar intraepitelial (8,9 años) o los 7,1 años en caso de carcinoma primario de vulva. En los casos de neoplasia intraepitelial vaginal, el intervalo fue de 11 años, siendo sólo de 4,5 años cuando se trataba de un cáncer primario de vagina.

No obstante, Scholefield et al (225) no encontraron NIA en mujeres infectadas por VPH anal pero sin antecedente simultáneo de CIN. Tatti et al (234) en esta línea, publicaron que el riesgo de desarrollar una NIA en mujeres con CIN 2+ era el doble (IC95%: 1,1 - 3,6) que cuando sólo tenían CIN 1.

Esta relación entre la infección por VPH del tracto genital inferior, sus lesiones y la repercusión en el tracto anal se comprueba incluso porque puede establecerse un período o intervalo bastante ajustado. Diversos estudios han mostrado que en la población femenina de alto riesgo, la lesión anal aparece una década o algo después tras la aparición de la displasia o cáncer de cérvix (206, 227). Saleem et al (228) establecen un período de entre 4 y 16 años para que aparezca la lesión anal.

A pesar de todo lo descrito, la breve duración de los estudios publicados en comparación con la historia natural de la infección, las dispares sensibilidades de la citología anal (generalmente bajas) y las altas prevalencias de VPH anales, parecen poner en cuestión el cribado de las displasias anales y sin embargo, el Instituto de SIDA del Departamento de Salud de Nueva York (316, 317), recomendó en marzo de 2.007 la realización de citología anal de modo anual en grupos de riesgo.

Sin definir qué son grupos de riesgo, intuyéndolos, parece deducirse la necesidad y conveniencia de saber la prevalencia de citologías anales positivas en nuestro medio para así disponer de argumentos, o no, como para considerar la reproductibilidad del esquema diagnóstico que propone dicho Instituto dentro de una estrategia preventiva de relevancia.

En nuestro medio la lucha contra el cáncer del TGI se establece desde un punto de vista integral, con prevención primaria (eliminar y proteger frente a los factores de riesgo además de potenciar la inmunidad con la vacunación frente al VPH), con prevención secundaria (cribado con citología, test de VPH y colposcopia con su eventual biopsia) y prevención terciaria (tratamientos escisionales de las lesiones precursoras detectadas).

En 1.997 se creó la Unidad del Tracto Genital Inferior (UTGI) del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital General Universitario de Alicante. Entonces se empezó con 293 colposcopias al año, siendo ya en 2.014 nada menos que 755. Este año 2.014 se detectaron más de 100 lesiones histopatológicas de lesión cervical VPH dependiente, de las cuales más de 60 fueron de alto grado (HSIL). En la Unidad de Ginecología Oncológica la tasa de cánceres anual oscila entre 14-16 por año.

No se dispone de datos concluyentes sobre la incidencia de displasias y de cáncer anal en mujeres en nuestro entorno. No se conoce tampoco la incidencia de displasia y cáncer anal en la población femenina que es estudiada y tratada en nuestra UTGI por lesiones cervicales, vaginales y vulvares. Tampoco se dispone de un protocolo estandarizado de manejo de este grupo de pacientes. Y, obviamente, no se dispone de información de la sensibilidad y especificidad de la citología anal en el escrutinio de estas lesiones en nuestro medio.

Siguiendo la bibliografía actualizada, dada la ausencia de estudios en nuestro Departamento, parece justificado que investiguemos la situación relacionada con la infección VPH anal de las pacientes que acuden a la UTGI y se establezcan estudios que permitan aclarar estas incógnitas científicas que, respondidas, podrían permitir y justificar, o no, la creación de nuevas estrategias de prevención, en la zona anal, en este colectivo de mujeres.

- El cáncer de ano presenta una incidencia y prevalencia crecientes, especialmente en mujeres.
- La fracción atribuible a la infección por VPH ronda el 90%.
- La historia natural, aunque no bien definida, se asemeja a la de todas las lesiones VPH dependientes del TGI. Los datos disponibles sobre lesiones anales, después de haber padecido lesiones del TGI VPH dependientes, definen a este grupo de mujeres como de “alto riesgo”.
- Por la experiencia a nivel del carcinoma cervical, la asociación o co-test entre citología y test VPH podrían ser una herramienta de cribado de lesiones anales en este grupo de mujeres.
- Pero hasta la actualidad no hay consenso en la necesidad de establecer estrategias de prevención organizadas como en el cérvix uterino. Una alta tasa de detección de lesiones precursoras utilizando co-test en mujeres de riesgo podrían justificarlo.

I.C. HIPÓTESIS

A tenor de la bibliografía cabe deducir que entre un 9 y un 17,6% de las pacientes que tratamos en nuestra Unidad (UTGI) padecen de algún grado de afectación anal por VPH. En la actualidad, estas pacientes no reciben atención sanitaria y son dadas de alta con el teórico riesgo de infección persistente y de futuras lesiones histológicas premalignas.

Nuestra hipótesis es que un porcentaje no despreciable de mujeres con lesiones VPH dependientes presentará infección por VPH anal así como lesiones precancerosas del canal anal.



I.D. OBJETIVOS

I.D.1. Objetivo principal:

- Conocer la prevalencia de displasia anal en nuestro medio en mujeres heterosexuales inmunocompetentes que acudan remitidas a la Unidad del Tracto Genital Inferior, de patología cervical y colposcopia, por lesiones atribuibles a infección por VPH.

I.D.2. Objetivos secundarios:

- Conocer la prevalencia de infección por VPH anal en las pacientes con lesión del tracto inferior por infección por VPH.
- Identificar los factores de riesgo asociados a la infección del VPH anal. Si fuese posible, su relación con la persistencia de dicha infección (incidencia acumulada) y el desarrollo de displasia anal en nuestra población.
- Decidir sobre la conveniencia o no de diseñar un protocolo de cribado para el diagnóstico de neoplasias intraepiteliales anales en esta población, basado en los resultados obtenidos y en la sensibilidad de las pruebas disponibles.
- Establecer un algoritmo de actuación multidisciplinario ante hallazgos citológicos anormales y/o VPH persistente en canal anal basado en los resultados del estudio.



II. MATERIAL Y METODOS

II.A. Características de la población estudiada.

II.A.1. Población y criterios de inclusión y exclusión.

Las participantes fueron reclutadas entre Julio de 2.013 y Marzo de 2.015, en la Unidad del Tracto Genital Inferior del Servicio de Ginecología del Hospital General Universitario de Alicante. El estudio, de cohortes prospectivo, incluyó a 166 mujeres inmunocompetentes, cuya característica común era haber sido remitidas a la Unidad por primera vez, por presentar patología ginecológica relacionada con infección por VPH, ya fuera por persistencia de la infección vírica, o por citología ASCUS (atipia celular de significado incierto), o ASC-H (atipia que no puede excluir lesión alto grado), o LSIL (lesión intraepitelial de bajo grado), o HSIL (lesión intraepitelial de alto grado), o por confirmación histológica de neoplasia intraepitelial cervical (CIN) de grado 1, 2 ó 3.

Las pacientes incluidas en la cohorte prospectiva se encuentran actualmente en las fases iniciales de su seguimiento, si tenemos en cuenta lo que se sabe respecto a la cronología de la prolongada historia natural del cáncer de ano. Como no vamos a poder disponer de estos datos hasta pasados unos años, se ha realizado una aproximación al problema estudiando a una cohorte de 41 mujeres que fueron visitadas en la UTGI por lesión cervical por VPH AR entre 2.009 y 2.010.

Fueron excluidas las mujeres gestantes, las VIH positivas, las inmunodeprimidas no VIH, y aquéllas previamente tratadas por CIN (Cuadro 3).

Cuadro 3. Criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none">○ Mujeres inmunocompetentes.○ VPH positivas en TGI y/o citología ASCUS +.○ Biopsia CIN.
Criterio de exclusión	<ul style="list-style-type: none">○ Mujeres gestantes.○ Pacientes VIH.○ Inmunodeprimidas no VIH.○ Mujeres con tratamiento previo por CIN.

Todas las participantes firmaron un consentimiento informado donde se les explicaba que iban a ser incluidas en un estudio cuya finalidad era el diagnóstico precoz del carcinoma anal. También de la existencia de un circuito con el Servicio de Cirugía donde serían remitidos aquellos casos cuyo resultado de citología anal estuviera alterado, para la realización de una anoscopia de alta resolución (AAR).

Además, debieron cumplimentar un cuestionario sobre sus antecedentes médicos y hábitos sexuales: consumo de tabaco, drogas vía parenteral, antecedente de historia de condilomas, fisura o hemorroide anales, edad de inicio de las relaciones sexuales, uso o no de preservativo, toma de anticonceptivos, número de parejas sexuales, así como prácticas sexuales anorreceptivas (ver documento en el Anexo).

II.A.2 Características de la cohorte prospectiva

A. Edad:

La edad media de las 166 pacientes fue de 38 años con una desviación típica de 10 (mediana = 37 años y un rango de 22 a 71 años) (Figura 13).

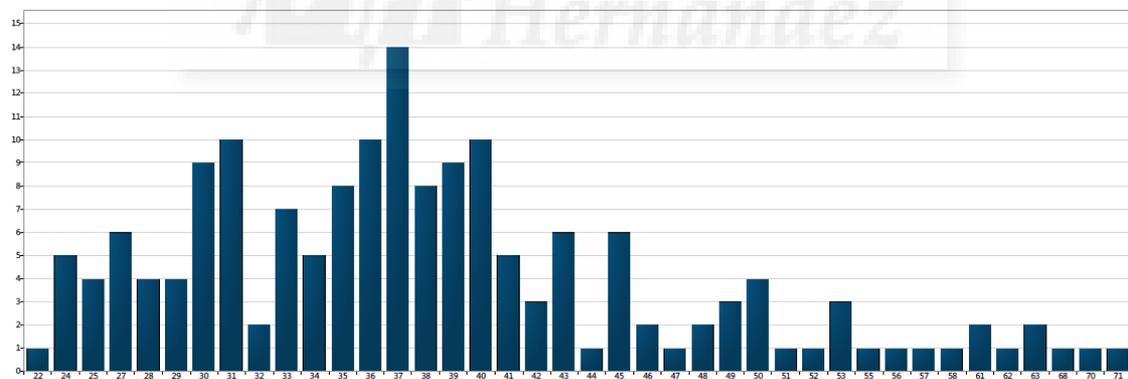


Figura 13. Distribución por edad de las mujeres del estudio.

B. Motivo de consulta:

Los motivos por los que las pacientes del estudio fueron remitidas a la UTGI fueron: citología LSIL (n= 62; 37,35%), biopsia de cérvix CIN 2+ (n= 20; 12,05%), infección persistente por VPH AR (n=30; 18,07%), citología HSIL (n= 19; 11,45%) y citología ASCUS (n=16; 9,64%). Estos cinco motivos constituyeron el 88% de las visitas (Tabla 2).

Tabla 2. Relación de motivos por los que las pacientes acudieron.

Motivo de consulta	Pacientes	Porcentaje
AGC	3	1,81
ASC-H	6	3,61
ASCUS	16	9,64
Biopsia CIN1	6	3,61
Biopsia CIN2+	20	12,05
Condilomas vulvares	1	0,60
HPVAR persistente	30	18,07
Inflamatorio persistente	3	1,81
SIL alto grado	19	11,45
SIL bajo grado	62	37,35
Total	166	100,00

De estas 166 mujeres, a 150 (90,36%) se les realizó una determinación de VPH cervical. A 16 mujeres no se les realizó la determinación por protocolo de la AEPCC. Estas 16 mujeres tenían en su mayoría. Lesiones intraepiteliales de alto y bajo grado (10 de las 16) (Tabla 3).

Tabla 3. Motivos de consulta en las mujeres a las que no se practicó VPH.

Motivo de consulta	Pacientes	Porcentaje
ASC-H	2	12,50
ASCUS	2	12,50
Biopsia CIN1	1	6,25
Biopsia CIN2+	1	6,25
SIL alto grado	4	25,00
SIL bajo grado	6	37,50
Total	16	100,00

C. Hábito tabáquico:

96 pacientes no eran fumadoras (57,83%; IC95%: 49,93-65,44) y 70 fumaban (42,17%; IC95%: 34,56-50,07). Estos datos se diferencian significativamente de los de la población general española, donde, según la encuesta del Instituto Nacional de Estadística (INE) del año 2.012, el 28,3% de las mujeres de edades comprendidas entre los 25 y 44 años (grupos de edad coincidentes con la mayoría de mujeres incluidas en el estudio) son fumadoras. Por lo tanto, la tasa de fumadoras se sitúa en el doble de normal en la población general, destacando como factor de riesgo más que presente en esta cohorte (Tabla 4).

Tabla 4. Hábito tabáquico en la población de estudio.

Rango tabaco	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
No fumadoras	96	57,83 (49,93-65,44)
1 a 5 cig/día	15	9,04 (5,15-14,47)
6 a 10 cig/día	26	15,66 (10,49-22,10)
11 a 20 cig/día	28	16,87 (11,51-23,45)
Más de 20 cig/día	1	0,60 (0,02-3,31)
Total	166	100,00

D. Preservativo:

57 mujeres del estudio (34,34%) contestaron que utilizaban siempre el preservativo en sus relaciones, mientras que 80 (48,19 %) nunca lo utilizaban, y 29 (17,47 %) afirmaron utilizarlo ocasionalmente (Tabla 5).

Tabla 5. Uso del preservativo en la población de estudio.

Preservativo	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
No	80	48,19 (40,38-56,07)
Sí	57	34,34 (27,15-42,09)
A veces	29	17,47 (12,02-24,12)
Total	166	100,00

Si se selecciona a las mujeres en edad fértil (137 mujeres), considerando como tal a las menores de 45 años, se observa que 63 de ellas (45,99%), nunca utilizaban preservativo en sus relaciones sexuales (Tabla 6).

Tabla 6. Subgrupo de mujeres en edad fértil y uso de preservativo.

Preservativo	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
No	63	45,99 (37,44-54,70)
Sí	49	35,77 (27,77-44,40)
A veces	25	18,25 (12,17-25,75)
Total	137	100,00

E. Anticonceptivos orales:

142 pacientes (85,54%) no tomaban anticonceptivos (ACO) y 24 (14,46%) eran usuarias de ellos (Tabla 7).

Tabla 7. Anticonceptivos orales en la población de estudio.

Anticonceptivos orales	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
No usuarias	142	85,54 (79,26-90,51)
Usuarias	24	14,46 (9,49-20,74)
Total	166	100,00

Respecto a la duración de la anticoncepción, de las 24 usuarias, 13 mujeres (54,17 %) usaron los ACO durante más de 1 año y 7 (29,17 %) menos de 1 año (Tabla 8).

Tabla 8. Tiempo de uso de los anticonceptivos en las 24 usuarias.

Tiempo Anticonceptivos orales	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
1 año	7	29,17 (12,62-51,09)
> 1 - 5 años	7	29,17 (12,62-51,09)
> 5 años	6	25,00 (9,77-46,71)
Desconocido	4	16,67 (4,74-37,38)
Total	24	100,00

F. Edad de inicio del primer coito:

Lógicamente, en la población de estudio no había mujeres vírgenes. La edad media en que la población de estudio había iniciado relaciones sexuales fue de 18 años, con una desviación estándar de 3 años. La mediana de inicio de relaciones sexuales fue los 17 años, con un rango entre 13 y 26 años (Figura 14).

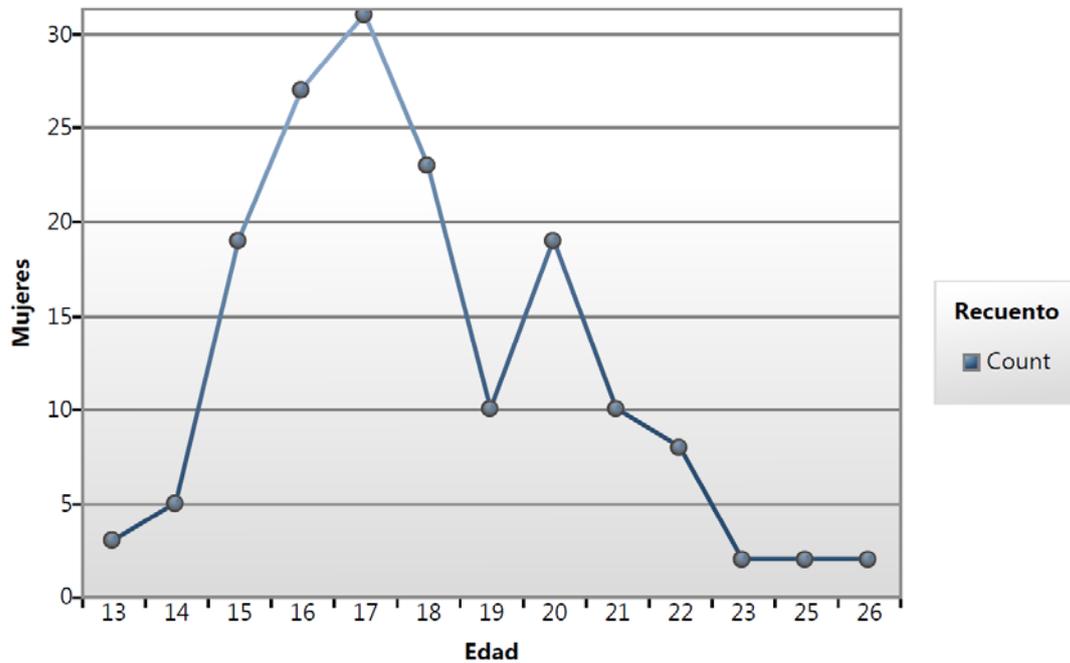


Figura 14. Edad de inicio de las relaciones sexuales.

G. Número de parejas sexuales:

Prácticamente la mitad de la cohorte de estudio tuvo 3 o menos parejas a lo largo de su vida (un 44,58 %). Menos de un 8% tuvieron más de 10 parejas sexuales (Tabla 9).

Tabla 9. Número de parejas sexuales.

Parejas sexuales	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
1	8	4,82 (2,10-9,27)
2	29	17,47 (12,02-24,12)
3	37	22,29 (16,21-29,39)
4	30	18,07 (12,54-24,08)
5	21	12,65 (8,00 -18,69)
> 5 a 10	29	17,47 (12,02– 24,12)
>10 a 20	12	7,23 (3,79-12,29)
Total	166	100,00

H. Pareja sexual estable:

96 (57,83%) de las mujeres mantenían una relación estable de más de un año (Tabla 10).

Tabla 10. Pareja sexual estable en la cohorte de la población de estudio.

PS estable	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
No	70	42,17 (34,56-50,07)
Sí	96	57,83 (49,93-65,44)
Total	166	100,00

I. Coito anal receptivo:

De las 166 mujeres de la cohorte, 51 (30,72 %) mantenían relaciones anales, y de ellas, 22 (13,25 % del total y el 43% de las que mantenían relaciones anales) afirmaban tenerlas 5 o más veces al año (Tabla 11).

Tabla 11. Coito anal en la cohorte de estudio.

Frecuencia coito anal anual	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)	Porcentaje acumulado
1 a 4	29	17,47 (12,02-24,12)	17,47
5 o más	22	13,25 (8,50-19,38)	30,72
Sin relaciones sexuales anales	115	69,28 (61,66-76,19)	100,00
Total	166	100,00	100,00

J. Antecedente de patología anal benigna:

61 mujeres (36,75 % del total) presentaron algún tipo de patología anal (Tabla 12).

Tabla 12. Antecedente de patología anal benigna.

Antecedente patología anal	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
Fisura anal	7	4,22 (1,71-8,50)
Fisura anal y hemorroides	2	1,20 (0,15-4,28)
Hemorroides	52	31,33 (24,36-38,97)
Sin patología anal	105	63,25 (54,43-70,59)
Total	166	100,00

K. Antecedente de herpes genital:

Sólo 9 pacientes (5,45%) tuvieron como antecedente historia de herpes genital en algún momento de su vida (Tabla 13).

Tabla 13. Antecedente de herpes genital en la población de estudio.

Antecedente herpes genital	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
No	157	94,58 (89,96-97,49)
Sí	9	5,42 (2,51-10,04)
Total	166	100,00

L. Prueba del VPH cervical

De las 166 mujeres del estudio, 150 (91,36%) tenían realizada la prueba del VPH en el cérvix. A 16 mujeres (8,64%), aunque se presuponía eran VPH positivas, no se les practicó la toma de VPH por protocolo de la AEPC. De este segundo grupo, 6 fueron remitidas por citología LSIL (una de ellas, de 24 años de edad), 4 por HSIL, 2 ASCUS, 2 ASC-H, 1 caso con biopsia de CIN 1 y otro de CIN 2.

Inicialmente, como se ha comentado, se utilizó para la determinación del genoma vírico el test disponible en esos momentos en el hospital, el test de Captura Híbrida HC2 de Digene, que, como se sabe, sólo cataloga en “Positivo para VPH de alto riesgo

(VPH AR)” o “Negativo para VPH de alto riesgo”. A mitad del estudio el laboratorio cambió a otra técnica que permite la tipificación del genotipo del virus (PCR de Roche, Cobas®).

Los VPH predominantes en cérvix fueron los VPH 16/18 con un 37,95 % del total de las mujeres. Pero debe tenerse en cuenta que hay 36 mujeres con tipaje desconocido, que suponen un 21,69 % del total, y que, probablemente, incluyan también VPH 16/18, por lo que el porcentaje total sería mayor. También hay que tener en cuenta que, de las 16 en las que no se realizó (un 9,64%), algunas de ellas podrían tener esos tipos virales. Por tanto, hay un 31,33 % de duda del tipo viral (Tabla 14 y Figura 15).

Tabla 14. Genotipos virales en cérvix.

VPH cérvix	N	Porcentaje (IC95%)
AR alto riesgo (No especificado)	36	21,69 (15,68-28,74)
AR no 16/18	51	30,72 (23,81-38,34)
VPH 16 y/o VPH 18	63	37,95 (30,54-45,80)
No realizado	16	9,64 (5,61-15,18)
Total	166	100,00

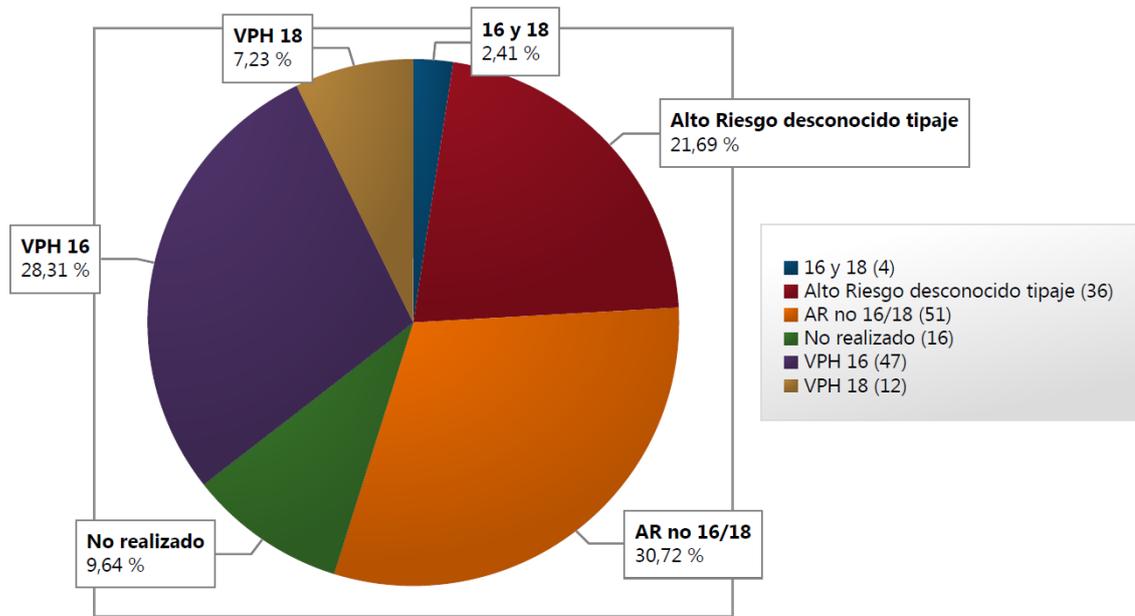


Figura 15. VPH cervical.

A partir de la introducción de la técnica mediante PCR, el genotipo más prevalente fue el VPH 16, con 47 casos (28,31 %), 4 de ellos con coinfección con el VPH 18, seguidos a muy escasa distancia por los VPH AR “no 16/18” que supusieron el 30,72 % de las pacientes (Tabla 15).

Tabla 15. Distribución de los tipos virales en cérvix tras la introducción del test de Cobas®.

VPH cérvix	N	N	Porcentaje (CI95%)	Porcentaje (CI95%)
VPH AR desconocido tipaje	36		21,69 (15,68-28,74)	
AR no 16/18	51		30,72 (23,81-38,34)	
VPH 16	47	63	28,31 (21,60-35,82)	37,95 (30,54-45,80)
16 y 18	4		2,41 (0,66-6,05)	
VPH 18	12		7,23 (3,79-12,29)	
No realizado	16		9,64 (5,61-15,18)	
Total	166		100	

II.A.3. Características de la cohorte retrospectiva

Se describen las características abreviadas de las 41 mujeres reclutadas entre el 2009 y el 2010 para la evaluación del potencial oncogénico en ano del VPH (Tabla16).

Tabla16. Características de la cohorte retrospectiva.

	Cohorte Retrospectiva (n=41) (%)
Edad	37 +/- 7
Motivo consulta:	
HSIL + LSIL	28 (68,28)
ASCUS	6 (14,63)
Otras	7 (17,07)
Biopsias cervicales	25
CIN 1	12 (48,00)
CIN 2	6 (24,00)
CIN 3+	2 (8,00)
Tabaco (no fumadoras)	25 (60,98)
Preservativo (no usan)	23 (56,10)
Parejas sexuales	6 +/- 6
Pareja estable	28 (68,29)
Sexo anal (lo practican)	8 (19,51)
Patología anal	15 (36,59)
Historia de Herpes	1 (2,44)

II.B. Metodología

A todas las pacientes, en la primera visita, se les realizó exploración colposcópica, y cribado de displasia anal (NIA), que incluyó tipificación del VPH y citología en medio líquido en el ano, tomado con citobrush, de forma similar al cérvix. En cuello uterino no siempre se realizó la tipificación del VPH, ya que, ante una citología con resultado ASCUS o superior, la paciente era remitida directamente para la realización de una colposcopia, sin realizar triaje con prueba de VPH.

Las muestras de citología y VPH anal fueron realizadas por tres ginecólogos acreditados por la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC), tras la realización de la exploración colposcópica del tracto genital inferior.

A continuación se describe la toma de muestra de la citología anal:

Con la paciente en posición de litotomía dorsal y sin preparación previa, se introducía un cepillo (citobrush), a dos centímetros mínimo de profundidad dentro del canal anal. Se utilizaba la metodología de Hernández, 5 veces en el sentido de las agujas del reloj y otras cinco veces en sentido contrario (244), o la de Palefsky (2), contando despacio hasta diez y en ambos casos rotando el cepillo en espiral 360 grados, mientras se ejercía presión lateral en toda la circunferencia del canal anal. La muestra citológica se comenzaba a tomar desde la parte más distal hacia la más proximal al ano. De idéntica forma al cérvix, la muestra se preservaba en medio líquido, usando la preparación ThinPrep (Hologic, Inc, Malborough, MA). Los resultados de la citología anal fueron clasificados según el sistema de Bethesda 2001 como: normal, ASCUS (atipia de células escamosas de origen indeterminado), LSIL (lesión intraepitelial de bajo grado), ASC-H (atipia celular sin poder descartar lesión de alto grado), HSIL (lesión intraepitelial de alto grado) o carcinoma de cérvix (318).

Para la prueba del VPH se utilizó, en una primera fase el test de captura de híbridos (HC2 Laboratorio Digene), que detecta 13 VPH de AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68) y 5 de BR (6, 11, 42, 43 y 44). Para prevenir falsos negativos motivados por deleciones genéticas, el test emplea sondas de genoma completo RNA complementarias al DNA de VPH, anticuerpos específicos, amplificación de señal y detección de quimioluminiscencia.

Posteriormente se empleó el “Cobas® HPV test” (Laboratorio Roche), basado en la reacción en cadena de polimerasa (PCR) con coamplificación de VPH y secuencias de beta-globinas de DNA, que sirve como control interno DNA y permite detectar si los especímenes tienen adecuada celularidad o si existen factores inhibidores del proceso de amplificación (319). Aporta información sobre los tipos 16/18 por un lado, y por otro detecta conjuntamente otro grupo de 12 VPH de AR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68).

Como consecuencia de lo anterior, de las 150 detecciones de VPH cervical, 35 casos de VPH AR no se pudo concretar el tipo viral por realizarse por captura híbrida. Sí se pudo en los 115 restantes.

Las pacientes con citología anal positiva (ASCUS o más), eran remitidas a la Unidad específica del Servicio de Cirugía colorectal, para la realización de una AAR por un único cirujano especializado en patología del canal anal (Figura 16).

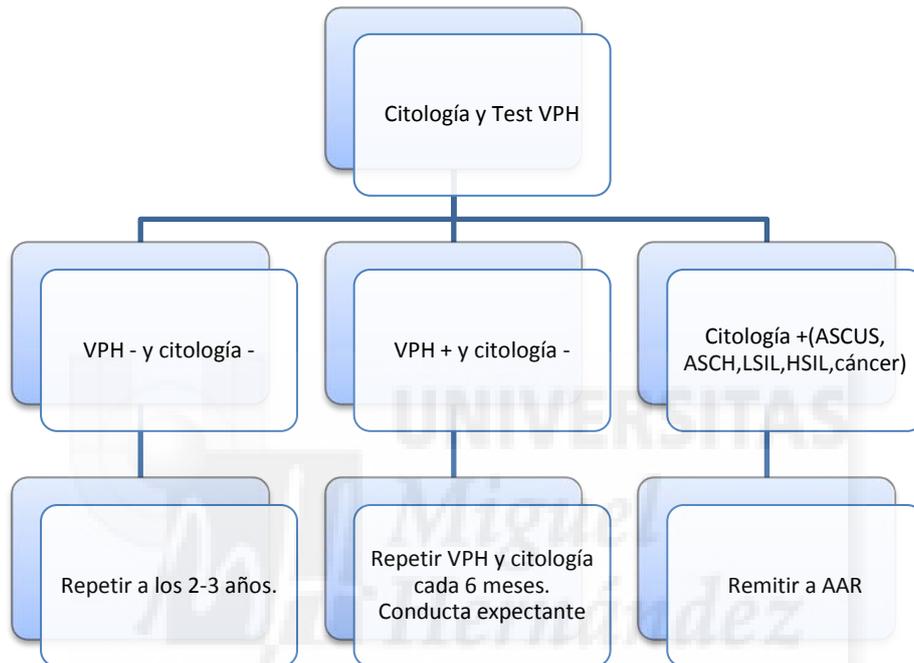


Figura 16. Algoritmo de cribado para el estudio.

II.C. Análisis estadístico:

II.C.1. Tamaño muestral:

Fue estimado para conseguir el objetivo principal, el conocimiento de la prevalencia de displasia anal en mujeres con lesión del tracto genital inferior por infección del VPH. De acuerdo con la literatura, la prevalencia oscilaría entre el 9 y el 19%, por lo que se optó por asumir que en la población a estudiar sería de un 10% con un intervalo de confianza del 95% y una probabilidad de obtener resultados favorables de un 80%. Para conseguir una precisión del 5,0% en la estimación de una proporción mediante un

intervalo de confianza asintótico normal al 95% bilateral, asumiendo que la proporción es del 10,0%, será necesario incluir un mínimo de 150 participantes en el estudio (programa Ene 2.0).

II.C.2. Análisis de los datos:

Las variables cuantitativas se describieron como media +/- desviación estándar y las variables cualitativas como frecuencias o porcentajes e intervalos de confianza exactos de una proporción (binomial) al 95% (IC95%). Las diferencias entre grupos en variables cuantitativas se estudiaron mediante el test de la t de student o el test de la U de Mann-Whitney según que las variables se ajusten o no a una distribución normal.

Las diferencias entre grupos en variables cualitativas se estudiaron mediante el test de la chi cuadrado o el test de Fisher.

Se realizó un análisis de regresión logística en el que la variable dependiente fue la detección de VPH en canal anal y como variables independientes o explicativas se estudiaron las características demográficas y clínicas de las pacientes. Se realizó primero un análisis univariante con cada una de las variables independientes para finalmente realizar un análisis multivariante donde se incluyeron sólo las variables con una p menor de 0,05 en el análisis univariante.

En todos los análisis se consideró significativo un valor de p menor de 0,05. Se realizaron los análisis estadísticos con el programa SPSS 20.0.



III. RESULTADOS:

III.A. Relación entre presencia de VPH en cérvix y en el ano:

A todas las 166 mujeres de la cohorte prospectiva se les realizó, obviamente, una toma para determinar la presencia, o no, del VPH en el ano. El 64,46% de estas mujeres (107 casos) presentaban VPH AR en el canal anal (Tabla 17).

Tabla 17. VPH anal. Frecuencia

VPH anal	Frecuencia	Porcentaje (IC95%)
No VPH AR	59	35,54 (28,28 - 43,33)
VPH AR	107	64,46 (56,67 – 71,72)
Total	166	100,00

En el ano el mayor porcentaje de VPH AR detectado era No 16/18 (50,47%), a diferencia del observado en cérvix (Tabla 18 y Figura 17). En la tabla se ha excluido los 58 casos negativos para VPH y el VPH 6 de bajo riesgo.

Tabla 18. VPH anal. Tipos.

VPH anal	N		Porcentaje (IC95%)	Porcentaje
VPH 16	37	} 45	34,58 (25,65-44,39)	} 42,06 (32,58-51,99)
VPH 18	4		3,74 (1,03-9,30)	
VPH 16 y VPH 18	4		3,74 (1,03-9,30)	
VPH AR No Especificado	8		7,48 (3,28-14,20)	
VPH no 16/18	54		50,47 (40,63-60,28)	
Total	107		100	

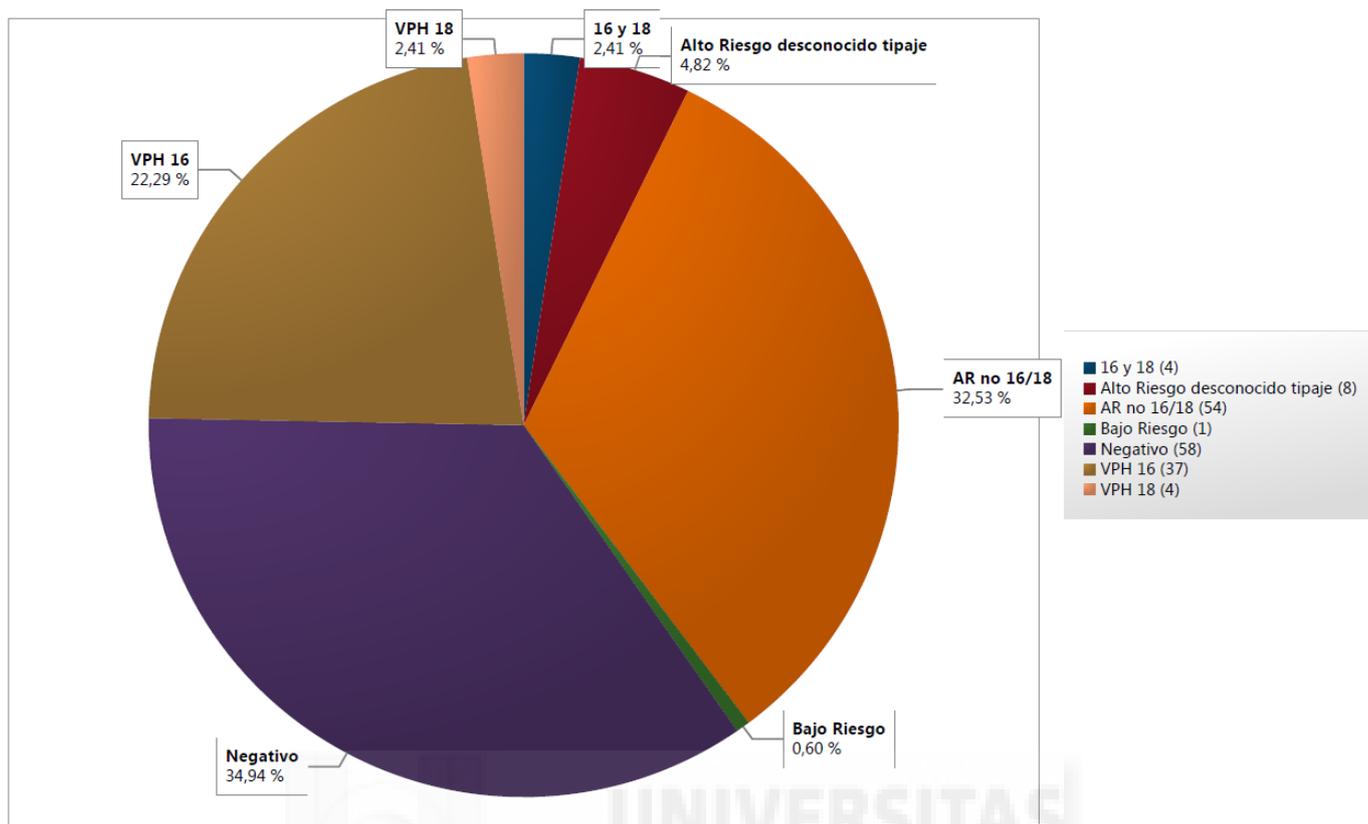


Figura 17. VPH anal.

En 107 mujeres existía presencia de VPH simultáneo en cérvix y en ano. En la Tabla 19 se puede apreciar la relación existente entre los tipos encontrados en uno y otro lugar: El VPH AR no 16/18 se detectó simultáneamente en cérvix y ano en el 68,57 % de los casos. Esta tasa de detección simultánea fue del 63,16% para el VPH 16 y/o VPH 18.

Tabla 19. Correlación entre VPH en cérvix y en ano (p=0,0007).

VPH cervical	VPH anal (%)			
	N	VPH no 16/18	VPH 16/18	VPH AR No Especificado
AR no 16/18	35	24 (68,57)	10 (28,57)	1 (2,86)
VPH 16 y/o VPH 18	38	13 (34,21)	24 (63,16)	1 (2,63)
VPH AR No especificado	26	11 (42,31)	9 (34,62)	6 (23,08)
No realizados	8	6 (75,00)	2 (25)	0 (0,00)
TOTAL	107	54 (50,47)	45 (42,06)	8 (7,48)

Excluidos la presencia de VPH no especificado (sólo “AR”) y los no realizados en cérvix, por razones ya explicadas, se ha realizado una tabla en la que se puede apreciar que existe coincidencia en el tipo de infección del 70,59 % cuando el informe era de VPH AR no 16/18 y del 64,86 % cuando el informe fue de VPH 16 y/o 18. (Tabla 20 y Figura 18).

Tabla 20. Tabla de contingencia entre los tipos VPH cervicales y anales (p=0,0042).

VPH AR	VPH anal (%)		
	N	VPH 16/18	VPH No 16/18
AR no 16/18	34	10 (29,41)	24 (70,59)
VPH 16 y/o VPH 18	37	24 (64,86)	13 (35,14)
TOTAL	71	34 (47,89)	37 (52,11)

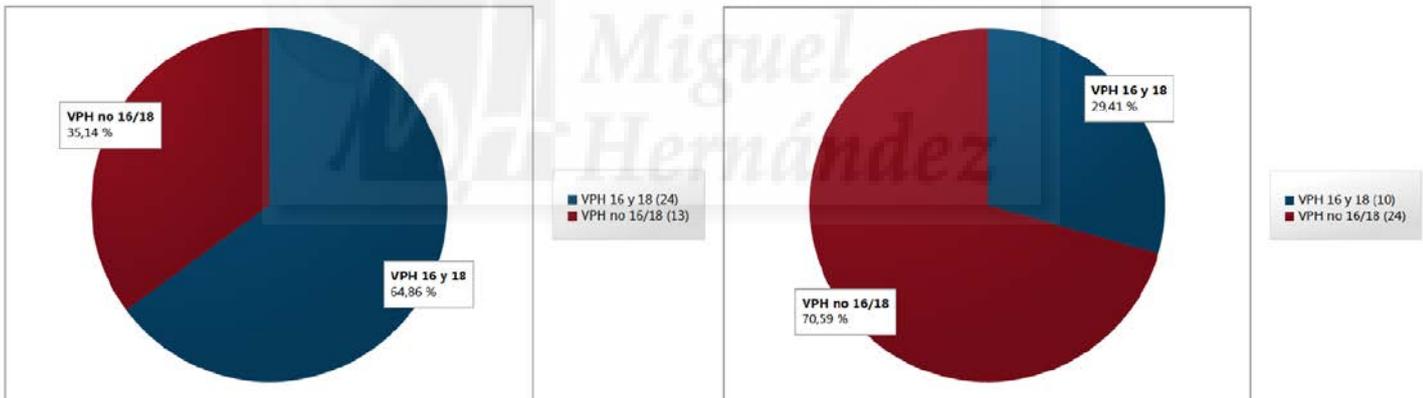


Figura 18. VPH anales cuando los VPH cervicales fueron 16/18 (izquierda) y no 16/18 (derecha).

Cuando se considera la presencia del VPH 16 a nivel cervical, aumenta en más de 4 veces la probabilidad de identificar este serotipo en el ano si se compara con las pacientes con otros serotipos cervicales. OR=4,65 (IC95%: 1,84-11,75) (p=0,0013) (Tabla 21).

Tabla 21. Tabla de contingencia VPH 16 cervical y anal (p=0,0013).

VPH 16 cervix	N	VPH 16 anal (%)	
		VPH 16	VPH no 16
VPH 16	29	19 (65,52)	10 (34,48)
VPH no 16	70	20 (28,57)	50 (71,43)
TOTAL	99	39 (39,80)	59 (60,20)

Si se establece el proceso inverso, es decir, la distribución de los VPH cervicales encontrados en función de los anales, se comprueba que la presencia de “VPH 16/18” en el ano coincide con el mismo el mismo tipo en el cuello en un 53,33% de los casos. En otro 22,22% de “VPH 16/18” anal, lo que aparece en el cervix es otro VPH de alto riesgo “no 16/18”. Por otra parte, cuando el VPH anal era “no 16/18” en el cervix también se encuentra el mismo tipo en el 44,44% de los casos (Tabla 22 y Figura 19).

Tabla 22. Tipos de VPH en el cervix en función del VPH encontrado en el ano (p=0,0007)

VPH anal	N	VPH cervical (%)			
		VPH no 16/18	VPH 16/18	VPH AR No Especificado	No Realizado
AR no 16/18	54	24 (44,44)	13 (24,07)	11 (20,37)	6 (11,11)
VPH 16 y/o VPH 18	45	10 (22,22)	24 (53,33)	9 (20,00)	2 (4,44)
VPH AR No especificado	8	1 (12,50)	1(12,50)	6 (75,0)	0 (0,00)
TOTAL	107	35 (32,71)	38 (35,51)	26 (24,30)	8 (7,48)

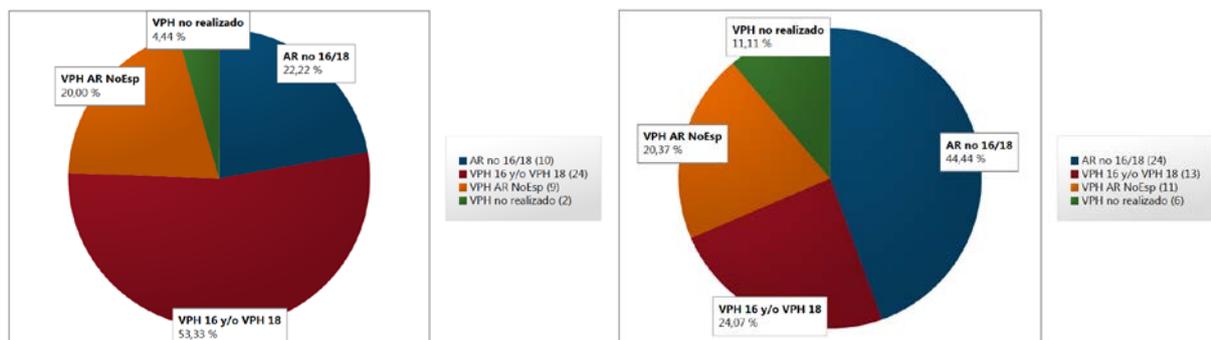


Figura 19. Distribución de los VPH cervicales en función de los VPH anales (izquierda: VPH anal “16/18” y derecha, VPH anal “no 16/18”).

III.B. VPH anal y factores epidemiológicos:

En este apartado se analiza la posible relación entre distintos factores definidos en la bibliografía como relevantes en la infección anal por VPH y la detección real encontrada en el estudio realizado.

III.B.1. Edad del primer coito:

El análisis de regresión logística univariante mostró la inexistencia de una asociación significativa entre la edad de inicio de las relaciones de las mujeres y la detección de VPH AR anal ($p=0,29$), como se muestra por una odds ratio (OR) o razón de probabilidad de 0,98 (IC95%: 0,94 – 1,02) (Figura 20).

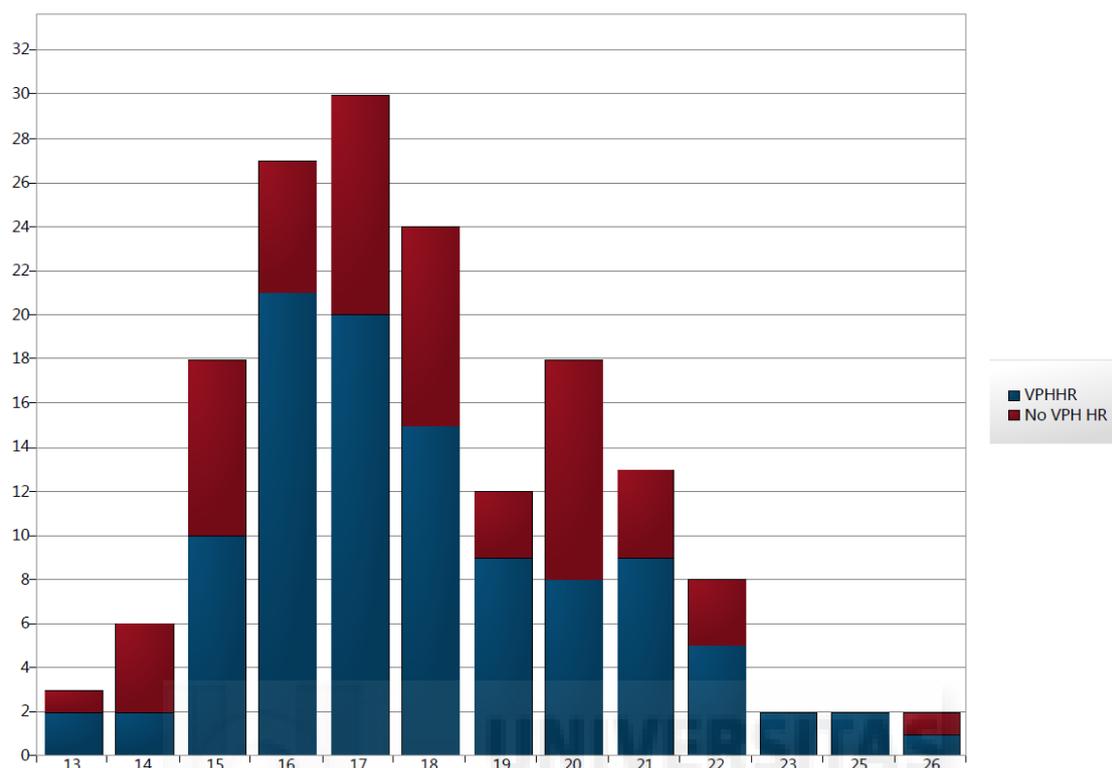


Figura 20. Relación entre la edad de inicio del primer coito y la infección por VPH anal ($p=0,29$).

III.B.2. Hábito tabáquico:

No se produjo un incremento estadísticamente significativo del riesgo de VPH AR anal entre las mujeres fumadoras comparadas con las no fumadoras ($p=0,328$). La razón de probabilidad fue de 1,39 (IC 95%: 0,736 a 2,65) (Tabla 23).

Tabla 23. VPH anal y tabaco ($P=0,328$).

FUMADORA	VPH Anal (%)		
	N	No VPH	VPH AR
Fumadora	70	28 (40,00)	42 (60,00)
No fumadora	96	31 (32,29)	65 (67,71)
TOTAL	166	59 (35,54)	107 (64,46)

Si relacionamos la cantidad de cigarrillos/día con la incidencia de VPH anal, tampoco se observan diferencias significativas ($p=0,649$) (Tabla 24).

Tabla 24. Infección por VPH anal y tabaco (p=0,649).

Rango de tabaco	N	VPH anal	
		VPH AR (%)	No VPH AR (%)
No fumadora	96	65 (67,71)	31 (32,29)
1-5	15	10 (66,67)	5 (33,33)
>5 - 10	26	14(53,85)	12 (46,15)
>10 - 20	28	17 (60,71)	11 (39,29)
>20	1	1 (100)	0 (0,00)
TOTAL	166	107 (64,46)	59 (35,54)

III.B.3. Preservativo:

No aparece un incremento significativo del riesgo de tener VPH AR anal entre las mujeres que no usaban preservativo frente a las que sí lo usaban (p=0,4113) (Tabla 25).

Tabla 25. VPH anal y uso del preservativo (p=0,4113).

Preservativo	N	VPH Anal (%)	
		No VPH	VPH AR
No lo usan	80	25 (31,25)	55 (68,75)
Ocasionalmente	29	13 (44,83)	16 (55,17)
Lo usan	57	21 (36,84)	36 (63,16)
TOTAL	166	59 (35,54)	107 (64,46)

III.B.4. Coito anal:

Las mujeres practicantes de coito anal presentaron en el estudio mayor prevalencia en la presentación del VPH AR anal que las que no lo practicaban (74,51% vs 60,00%), aunque la amplitud del intervalo de confianza, dado el limitado número de mujeres que confiesan realizar esta práctica, impide extrapolar conclusiones significativas más allá de la muestra estudiada (OR: 1,94; IC95%: 0,93 – 4,05; p=0,0807) (Tabla 26).

Tabla 26. VPH anal y relaciones anales (p=0,0807).

Coito Anal	VPH Anal (%)		
	N	No VPH	VPH AR
No	115	46 (40,00)	69 (60,00)
Sí	51	13 (25,49)	38 (74,51)
TOTAL	166	59 (35,54)	107 (64,46)

III.B.5. Condilomas anales:

Las mujeres con condilomas presentaban un asociación con la tasa de detección de VPH AR anal estadísticamente significativa, con una razón de probabilidad de 4,94 (IC95%: 1,00– 12,58) (p= 0,047) (Tabla 27).

Tabla 27. VPH anal y antecedente de condilomas anales (p=0,047).

Hª de condiloma anal	VPH anal (%)		
	N	No VPH	Sí VPH
Sin condilomas	146	56 (38,36)	90 (61,64)
Condilomas	20	3(15,00)	17(85,00)
Total	166	59 (35,54)	107 (64,46)

III.B.6. Antecedente de patología anal benigna:

No se produjo un incremento estadísticamente significativo del riesgo de VPH AR anal entre las mujeres con patología anal frente a las mujeres sin esta patología (OR: 0,61; IC95%: 0,31 – 1,17; p=0,179) (Tabla 28).

Tabla 28. VPH anal y antecedente de patología anal benigna (p=0,179).

Hª de patología anal benigna	VPH anal (%)		
	N	No VPH	VPH AR
Sin Patología Anal.	105	33 (31,43)	72 (68,57)
Con Patología Anal	61	26 (42,62)	35 (57,38)
TOTAL	166	59 (35,54)	107 (64,46)

E incluso desglosando la patología anal en distintas entidades, tampoco se encuentra relación estadísticamente significativa ($p = 0,4202$) (Tabla 29).

Tabla 29. VPH anal y tipo de patología anal benigna (p=0,4202).

Patología anal	VPH anal (%)		
	N	No VPH	VPH AR
Fisura anal	7	2 (28,57)	5 (71,43)
Fisura anal y hemorroides	2	1 (50,00)	1 (50,00)
Hemorroides	52	23 (44,23)	29 (55,77)
Sin patología anal	105	33 (31,43)	72 (68,57)
TOTAL	166	59 (35,54)	106 (63,86)

III.C VPH anal y biopsia de cérvix:

En relación con los resultados de la biopsia cervical, de las 117 realizadas, se encontró una prevalencia de VPH AR en canal anal del 67,33% en las biopsias con resultado CIN. En las que en la biopsia el resultado histológico fue de normalidad, apareció VPH de AR en el 56,25% (Tabla 30).

Tabla 30. Prevalencia de VPH anal en biopsias con diagnóstico de CIN (p=0,406).

BIOPSIAS CERVIX	VPH anal (%)		
	N	No VPH	VPH AR
CIN	101	33 (32,67)	68 (67,33)
Normal	16	7 (43,75)	9 (56,25)
TOTAL	117	40 (34,19)	77 (65,81)

Según fuera el grado histológico de la CIN, la mayor presencia de infección anal por VPH se encontró, curiosamente, en mujeres con CIN 1, si bien sin significación estadística cuando se comparó con los porcentajes obtenidos en resultados histológicos como CIN 2-3 o en hallazgo histológico de “normalidad” (p=0,232) (Tabla 31).

Tabla 31. Resultado de la Biopsia de cérvix y el VPH anal encontrado (p=0,232).

BIOPSIAS CERVIX	VPH anal (%)		
	N	No VPH	VPH AR
CIN1	41	9 (21,95)	32 (78,05)
CIN2	23	9 (39,13)	14 (60,87)
CIN3+	37	15 (40,54)	22 (59,46)
Normal	16	7 (43,75)	9 (56,25)
TOTAL	117	40 (34,19)	77 (65,81)

En la Tabla 32 se compara los CIN 1 con el resto de resultados, y entonces sí se ha encontrado una relación estadísticamente significativa (p=0,044).

Tabla 32. Comparación entre CIN 1 y presencia de VPH AR anal y el resto de resultados histopatológicos (p=0,044).

BIOPSIAS CERVIX	VPH anal (%)		
	N	No VPH	VPH AR
CIN1	41	9 (21,95)	32 (78,05)
Biopsias No CIN 1	76	31 (40,79)	45 (59,21)
TOTAL	117	40 (34,19)	77 (65,81)

III.D Sensibilidad y Especificidad del test del VPH anal:

Se encuentra una sensibilidad del test del VPH para citología anal alterada del 83,3%, y una Especificidad del 36,5%, con un Valor Predictivo Positivo (VPP) del 4,7% (Tabla 33).

Tabla 33. Sensibilidad y Especificidad del test del VPH anal.

	VPH AR para Citología anal (+) (%)
Sensibilidad	83,3
Especificidad	36,5
VPP	4,7
VPN	9

III.E Citología anal y Displasia anal:

Del total de 166 mujeres estudiadas de forma prospectiva sólo 6 pacientes presentaron citologías anales alteradas (un 3,61% del total) (Tabla 34).

Tabla 34. Citologías anales alteradas en las pacientes del estudio.

Citología anal	Frecuencia	Porcentaje (IC 95%)
Anormal	6	3,61 (1,34-7,70)
Normal	160	96,39 (92,30-98,66)
TOTAL	166	100

De los 6 casos con citología anal alterada, en un caso no se identificó VPH AR sino un Bajo Riesgo (BR) (VPH 6). En nuestro estudio, sólo se reclutaron mujeres con VPH de AR. Las pacientes que resultaron con un VPH de bajo riesgo anal, no se incluyeron en el estudio, salvo un caso que presentó simultáneamente citología anal positiva (LSIL). En los cinco restantes sí se identificó VPH de alto riesgo ($p=0,42$). Razón de probabilidad de 0,3517 (IC 95%: 0,0401-3,0840) (Tabla 35).

Tabla 35. Relación entre citología anal y tipo de VPH ($p=0,42$).

VPH AR anal	Citología anal (%)		
	N	Alterada	Normal
No VPH AR	59	1 (1,69)	58 (98,31)
VPH AR	107	5 (4,67)	102 (95,33)
TOTAL	166	6 (3,61)	160 (96,39)

La edad de las 6 pacientes cuyas citologías anales eran anormales, estaba comprendida entre los 24 y 49 años. Ninguna de ellas fumaba ni presentaba historia de herpes genital. Sólo una tenía antecedente de patología anal benigna (fisura), y dos referían antecedentes de condilomas perianales. La edad de inicio del primer coito estaba comprendida entre los 17 y 22 años. Un caso utilizaba preservativo en sus relaciones sexuales, mientras que tres nunca y otras dos ocasionalmente. Cuatro de ellas no eran usuarias de ACO, y dos sí (una durante 1 año y la otra no se recogió el tiempo de la toma en la historia clínica). Sólo una no tenía pareja sexual estable, y las otras la tenían entre 1 y 17 años. Respecto a relaciones anorreceptivas, tres afirmaban no tener, y las otras tres tenían con una frecuencia entre 1 y 2 veces al año.

En cuanto al motivo de consulta, cuatro de ellas fue por presentar una citología cervical LSIL, y otras dos tenían una biopsia extraclínica de CIN 3. El VPH AR cervical era AR no 16/18 en dos de ellas y en 4 el tipaje era desconocido. En el ano, una paciente tenía VPH no 16/18, otras cuatro tenían el 16, y en otra el VPH era negativo para AR, presentando el VPH 6, de bajo riesgo.

En 4 pacientes la biopsia ha sido normal y en 2 se ha encontrado una NIA de bajo (Tabla 36 y Figura 21).

Tabla 36. Resultados tras AAR y biopsia.

Biopsia anal	N	Porcentaje (IC95%)
No realizada	160	96,39 (92,30-98,66)
NIA 1	2	1,20 (0,15-4,28)
Normal	4	2,41 (0,66-6,05)
TOTAL	166	100

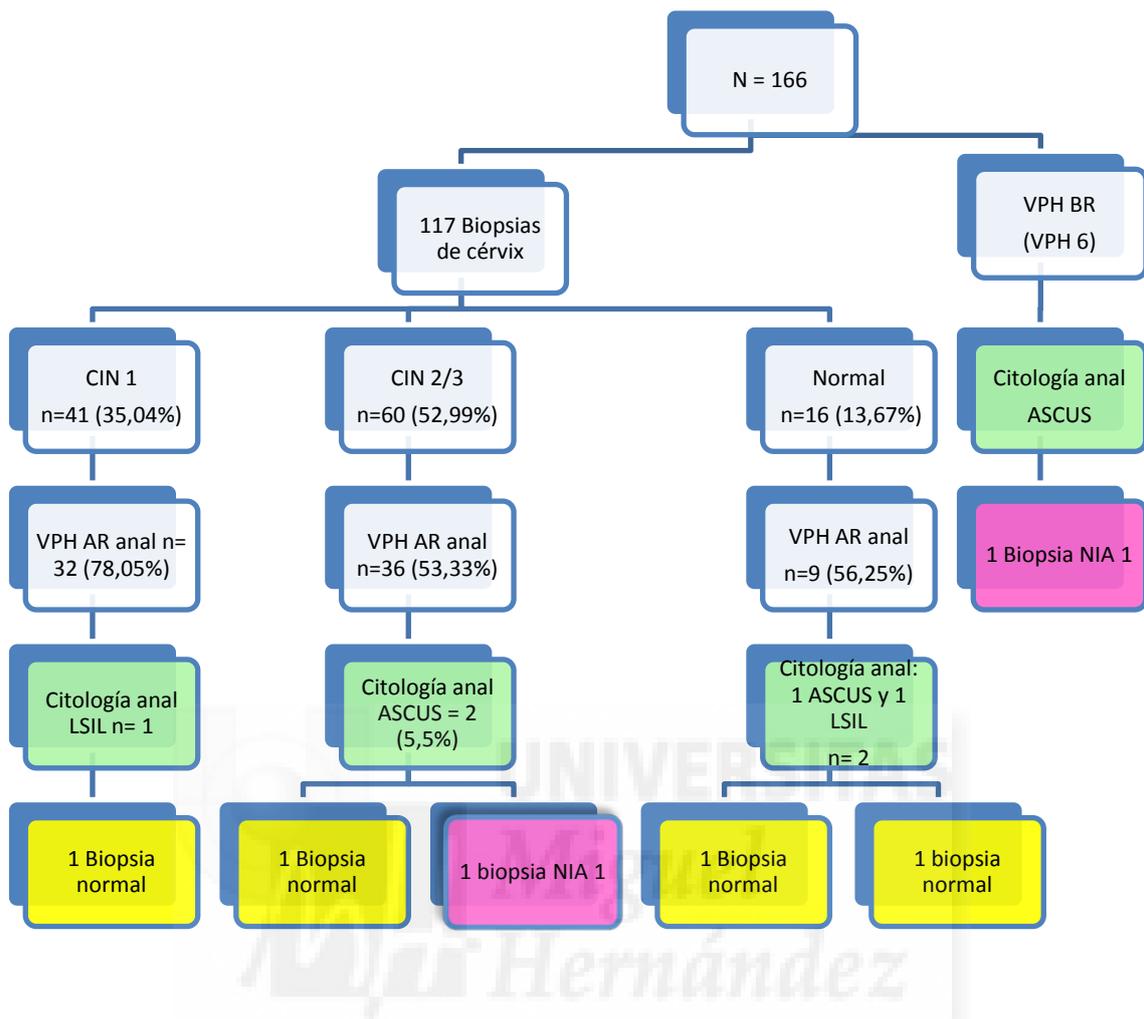


Figura 21. Resumen de la distribución de resultados del estudio.

III.F. Sensibilidad y Especificidad de la AAR:

Se encontró una sensibilidad del 100%. No se pudo calcular la especificidad debido a que no hubo falsos negativos; no obstante, se obtuvo un Valor Predictivo Positivo de un 33,3% (Tabla 37 y Tabla 38).

Tabla 37. Matriz de decisiones (o tabla 2x2) de la AAR

	Biopsia anal		Total
	NIA	Normal (sanos)	
Anoscopia (+)	2	4	6
Anoscopia (-)	0	0	0
TOTAL	2	4	6

Tabla 38. Sensibilidad y Especificidad de la Anoscopia de Alta Resolución

Anoscopia de Alta Resolución para NIA	
Sensibilidad	100
Especificidad	No aplicable*
VPP	33,3
VPN	100

(*) Lógicamente. Con más citologías positivas seguramente hubiéramos obtenido mayor número de anoscopias negativas, elevando la Especificidad.

III.G. Resultados del análisis actual de una cohorte de pacientes con lesión cervical VPH dependiente pasada y ya curada, y la potencial evolución de lesión anal no cribada entonces.

Actualmente las pacientes incluidas en la cohorte prospectiva se encuentran en las fases iniciales de su seguimiento. Cabe preguntarse qué ocurrirá con el paso del tiempo a nivel anal, incluso en el caso de que el actual resultado sea negativo. Hasta que no se disponga de los datos del seguimiento, se ha realizado una

aproximación al problema y para ello se ha estudiado a una cohorte de 41 mujeres que fueron tratadas en la UTGI por lesión cervical por VPH AR entre 2.009 y 2.010 (Tabla16). En la Tabla 39 se ha hecho un análisis de homogeneidad entre la cohorte prospectiva y la retrospectiva seleccionada.

Tabla 39. Comparación entre la cohorte prospectiva y la retrospectiva.

	Cohorte Prospectiva (n=165) (%)	Cohorte Retrospectiva (n=41) (%)	P
Edad	38 +/- 10	37 +/- 7	p = 0,39
Motivo consulta:			
HSIL + LSIL	81 (48,80)	28 (68,28)	p = 0,014
ASCUS	16 (9,64)	6 (14,63)	
Otras	69 (41,57)	7 (17,07)	
Biopsias cervicales	117	25	
CIN 1	41 (31,04)	12 (48,00)	p = 0,443
CIN 2	23 (19,66)	6 (24,00)	
CIN 3+	16 (31,62)	2 (8,00)	
Tabaco (no fumadoras)	96 (57,83)	25 (60,98)	p = 0,859
Preservativo (no usan)	80 (48,19)	23 (56,10)	p = 0,388
Parejas sexuales	5 +/- 4	6 +/- 6	p = 0,17
Pareja estable	96 (57,83)	28 (68,29)	p = 0,286
Sexo anal (lo practican)	51 (30,72)	8 (19,51)	p = 0,179
Patología anal	61 (36,75)	15 (36,59)	p = 1,000
Historia de Herpes	9 (5,42)	1 (2,44)	p = 0,690

- **Edad:** La edad media de las 41 pacientes fue de 37 años +/- 7 (mediana de 37 y rango de 25 a 52) (p=0,531 vs edad de la cohorte prospectiva).
- **Motivo de consulta:** Los motivos por los que las pacientes fueron remitidas a la UTGI fueron citologías con resultados HSIL y LSIL en 28 casos (68,30%). Aunque aparentemente hay una diferencia levemente significativa con la cohorte prospectiva, cuando se analizan los diagnósticos de las biopsias finales, la significación desaparece (p = 0,461).
- **Hábito tabáquico:** 25 mujeres no fumaban (60,98%) vs 57,60% en la cohorte prospectiva (p=0,683).

- **Preservativo:** 23 mujeres no utilizan preservativo en sus relaciones, lo que supone el 56,10% (distribución no diferente a la cohorte prospectiva [$p=0,641$]).
- Ni el número de parejas sexuales (6), ni el porcentaje de parejas estables (28 [38,29%]), ni la práctica de sexo anal (8 [18,51%]), ni la historia de patología anal (26 [63,51]) ni de herpes (1 [2,44]) mostraron una distribución diferente respecto a la de la cohorte prospectiva.

Pues bien, como se ha dicho, a todas estas pacientes, con curación confirmada de la lesión cervical VPH dependiente al alta y cuyas características clínicas y demográficas no diferían significativamente de la cohorte prospectiva, se les practicó una citología anal en el periodo enero a marzo 2015 (entre 5 y 6 años después). Ninguna de ellas presentó una citología anal alterada.





IV. DISCUSION:

Es bien conocido el papel oncogénico del VPH en el desarrollo del cáncer de cuello uterino y en las lesiones precursoras del mismo. Mucha de la información respecto a las lesiones anales por VPH tiene que ser extrapolada del conocimiento de la historia natural del cáncer de cuello uterino. Esta extrapolación parece razonable dadas las similitudes histopatológicas que comparten ambos carcinomas, incluido el factor causal común en ellos, el VPH (260).

Pese a que la incidencia del cáncer anal es mucho menor que la del cáncer de cuello uterino, la del ano está aumentando a nivel mundial, probablemente debido a que no se han estandarizado guías de cribado y tratamiento para la enfermedad anal, sobre todo en mujeres VIH negativas (278).

Actualmente, se desconoce la prevalencia de la neoplasia anal intraepitelial en la población general (260, 261).

El interés del estudio que se ha realizado estriba en las pocas, y contradictorias, publicaciones existentes relativas a esta prevalencia en el grupo de pacientes con lesiones intraepiteliales, principalmente, cervicales.

Cada vez hay más evidencia científica acerca de que las mujeres con lesiones del tracto genital inferior por VPH constituyen una población de riesgo para tener cáncer anal (114, 223, 227, 228, 230, 261, 312, 313). El hecho de que, como dice Edgren (227) estas mujeres tienen 5 veces más riesgo de padecer cáncer de ano, debería ser una evidencia lo suficientemente robusta para desarrollar una guía aceptada de cribado de lesión anal en esta población.

En relación con la prevalencia de infección por VPH AR en el canal anal, se detectó la presencia viral en el 64,46% de las pacientes (Tabla 17) y además, el tipo más frecuente encontrado en el ano fue el AR “no 16/18” (50,47%) (Tabla 18), grupo más benigno que el VPH 16. Valari (320) publicó una prevalencia de infección anal por VPH AR en mujeres con lesión del tracto genital inferior del 30%; Lammé (241) del 32,5%; Palefsky (242): 42%; Sehnal (243): 48,3%; Stier et al (246), en su revisión sistemática, de un 23 a un 36%.

Otros autores como Shvetsov (232) publicaron tasas de infección anal por VPH en mujeres sanas similares a la del cuello uterino (29% cuello vs 27% ano). Este dato (nuestra mayor prevalencia de infección por VPH en canal anal que lo publicado por otros autores), resulta llamativo y es difícil de explicar, porque supera con creces lo hasta ahora publicado, y además contrasta con la baja prevalencia de citologías anales alteradas que se han obtenido. La frecuente presencia del virus en el canal anal en las mujeres del estudio se podría atribuir en parte a determinadas conductas sexuales, tales como la práctica de sexo anorreceptivo: se observó mayor prevalencia de VPH anal en las que sí lo practicaban respecto a las que no, con una OR de 1,94 (74,51% vs 60,00%), si bien es cierto que esta diferencia no resultó estadísticamente significativa (IC95%: 0,93 – 4,05; p=0,08) (Tabla 26).

Respecto a la concordancia del tipo de genotipado viral en cérvix y ano, se detectó que cuando en cérvix existía un “AR no 16/18” en el 68,57% de los casos también aparecía en el ano. Por otra parte, cuando se trataba del VPH 16 y/o 18, en el 63,16% también aparecía en el ano (Tabla 19). Este hallazgo podría apoyar la hipótesis que defienden algunos autores a favor de que el tracto genital inferior actuaría de reservorio para que el virus se transmita desde esta localización al ano a través de secreciones vaginales o de la autoinoculación no sexual (digital) (27, 83). Goodman (321) describió una concordancia de genotipo de VPH anal tras infección por VPH cervical en mujeres sanas del 20% y también sugirió que tanto el cuello como el ano pueden actuar de reservorio de VPH.

En cuanto a los factores epidemiológicos asociados al mayor riesgo de infección anal por VPH (Tabla 40), no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el tabaco, igual que describió Valari (320) o Park (240). Sin embargo, las mujeres de nuestro estudio fumaban más que las de la población general (42,17% vs 28,3% respectivamente). Tampoco se encontró esta asociación estadísticamente significativa con las prácticas sexuales anorreceptivas, de nuevo coincidiendo con los mismos autores, Valari (320) y Park (240). Según Goodman (247), para la adquisición de la infección anal no es necesario relaciones anales. Sin embargo, otros autores sí describieron al tabaco y al coito anal como factor de riesgo para la infección anal por VPH (2, 27, 98, 185, 219, 221, 223, 277). Ni el número de parejas sexuales ni el uso del

preservativo, ni el antecedente de patología anal benigna (hemorroides o fisura), ni el de herpes genital se asoció en el estudio de forma estadísticamente significativa con la infección anal por VPH (Tabla 40). Sí que se encontró mayor detección de VPH anal en mujeres con antecedente de condilomas, con significación estadística (Tabla 27 y Tabla 40). Este dato coincide con lo publicado con Daling et al. (322) y posiblemente se deba a la mayor exposición al VPH. Park et al. (240), y Sehnal et al. (243) tampoco encontraron asociación entre la presencia de infección anal y el número de parejas sexuales. Sin embargo, otros autores publicaron lo contrario (2, 27, 98, 103, 185, 219, 277) y en concreto, Ojeda (210) encontró mayor asociación de infección anal por VPH cuando el número de parejas era de más de cinco.

Como otros autores publicaron (2, 27, 261), se observó una elevada prevalencia de infección por VPH anal en mujeres con CIN. Era aún mayor (67,33%) (Tabla 30), de lo que describió Valari (320)(46%), o Sehnal (239)(42,4%), o Park (240) (52%). En mujeres sanas de la población general Hernández (244) publicó cifras bastantes más bajas, sólo del 13%. En el estudio, esta proporción de infección anal por VPH estaba especialmente incrementada, curiosamente, en mujeres con CIN 1 (78,05%), si bien sin significación estadística cuando se comparó, uno por uno, con los porcentajes obtenidos en resultados histológicos de CIN 2, CIN 3 o de "normalidad" ($p=0,232$) (Tabla 31). Sí que se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en CIN 1 comparándolo con el resto de resultados histológicos no CIN 1 ($p=0,04$) (Tabla 32 y Tabla 40). Muy posiblemente la explicación esté en que estos casos sean la expresión de primoinfección en ambos sitios, con fácil resolución espontánea en ambos pasado el tiempo y, de ahí, la baja prevalencia de lesión anal a pesar de la alta prevalencia de infección viral. Por el contrario, otros autores como Slama (323) publicaron que la infección concurrente era 5,3 veces más frecuente en las lesiones CIN 2 + comparadas con el grupo control.

Tabla 40. Factores epidemiológicos relacionados con la infección por VPH anal.

Factores	p	Significación estadística
Edad primer coito	0,29	N.S.
Preservativo	0,41	N.S.
Tabaco	0,33	N.S.
Coito anal	0,08	N.S.
Historia condilomas	0,04	P<0,05
Historia patología anal benigna	0,18	N.S.
CIN	0,41	N.S.
CIN 1	0,04	P<0,05

Dado que la determinación del VPH es una prueba más sensible que la citología para detectar CIN 2+, sería razonable pensar en el primero como herramienta útil en el cribado de displasia anal. Valari (320) afirmó que la elevada tasa de infección anal hacía del test del VPH una herramienta inapropiada en el cribado primario del cáncer de ano. En nuestro estudio comparando el resultado del Test VPH anal AR con el resultado de la Citología anal, se obtuvo una sensibilidad para el test del VPH del 83,3% y especificidad de 36,5% (Tabla 33). Pensamos por lo tanto que el test del VPH tampoco nos parece una herramienta útil de cribado puesto que, como ya se ha descrito previamente, más de dos tercios de nuestra cohorte fue positiva para DNA de VPH en canal anal y posteriormente, como se verá no se correlacionó con altas cifras de citología alterada.

En el estudio, la prevalencia de citología anal anómala fue baja, de un 3,61% (IC 95%:1,34-7,70) (Tabla 34). Santoso (261) describió una prevalencia de citología anal anormal en una población homóloga a la nuestra (mujeres inmunocompetentes con infección genital por VPH AR) del 5.9%. Incluso en mujeres sanas de la población general, Holly (277) describió tasas de citología anal alterada del 8% y Moscicki (230) del 3,9% (Tabla 41).

Tabla 41. Prevalencia de citología anal alterada según distintos autores.

Citología anal alterada (%)	
Santoso	5,9
Holly	8
Moscicki	3,9
Nuestra cohorte	3,61

No sabemos a ciencia cierta a qué factores se pueden atribuir estos resultados. Desconocemos cuántas de nuestras citologías anales han sido infradiagnosticadas o, lo que es lo mismo, cuál es la sensibilidad de la citología anal en nuestra población. Pudiera pensarse que se hubieran podido obtener mayor tasa de lesiones anales que las 2 NIA obtenidas (Tabla 36) de haber podido someter a toda nuestra cohorte a una AAR. Hay autores que describen un infradiagnóstico de la NIA cuando se utiliza sólo la citología anal como método único de cribado, detectando tan sólo el 35-63% de las lesiones en comparación con la biopsia guiada por anoscopia (209, 236, 279). Desde nuestro punto de vista, realizar AAR a toda paciente con CIN, parece, a todas luces, un sobretratamiento innecesario y muy probablemente ineficiente. Del mismo modo opinó Darragh (210) cuando afirmaba que muchos ensayos que utilizaban la citología anal sin biopsia guiada por AAR podían infravalorar en gran medida la prevalencia de la NIA (212).

En cuanto a las citologías anales alteradas, no encontramos asociación ni con el tabaco (ninguna fumaba), ni con el uso del preservativo, ni con las prácticas sexuales anorreceptivas. Palefsky describió que un 44,5% de mujeres HIV negativas con displasia cervical y VPH anal no tenían historia de relaciones anales (242), aunque dos tenían antecedentes de condilomas perianales; Jacyntho (312) ya encontró asociación entre presencia de verrugas perianales y mayor riesgo de lesión anal.

La sensibilidad y especificidad de la citología anal varía según los estudios publicados y su uso como herramienta en el cribado es controvertido. Para Cardinal (278) es un método fácil y barato, útil para detectar lesiones de alto grado pero con baja

sensibilidad para detectar lesiones de bajo grado. Describió una sensibilidad de citología anal del 70% y especificidad del 93%, y la sensibilidad era mayor para la detección de lesiones de alto grado (84%) que para las de bajo grado (66%).

Santoso (261) publicó tasas de sensibilidad de la citología anal muy bajas para la detección de la NIA (8%) y alta especificidad (94%). Sin embargo, el estudio de la agencia de evaluación de tecnología de Ontario (265) describió una sensibilidad para varones VIH negativos, en el escenario más similar al de las mujeres, del 26-47%, con especificidad de 81 a 92%. Nathan (282) y Sonnex (236) publicaron una sensibilidad de la citología anal del 50% para mujeres VIH negativas. Berry (286) y Palefsky (283) encontraron mayor sensibilidad de la citología anal para la NIA de alto grado en pacientes VIH negativos, del 55%, con especificidad del 81%. Fox (284) describió sensibilidad y especificidad comparable con la citología del cuello uterino. Salit (285) describió una sensibilidad del 84% para resultados ASCUS o más y especificidad del 91% para lesión de alto grado.

Bean et al (324) afirmaron que la citología es útil en el cribado lesiones anales y describieron una sensibilidad del 42-98%, y una especificidad del 16-96% (similar a la de la citología del cuello uterino) (Tabla 42).

Tabla 42. Sensibilidad y Especificidad de la citología anal.

Autores	Citología anal. Sensibilidad (%)	Citología anal. Especificidad (%)
Cardinal	70	93
Santoso	8	94
Ontario	26-47	81-92
Berry	55	81
Palefsky	55	81
Salit	84	91
Bean	42-98	16-96

Otra posible reflexión sobre la baja prevalencia de citologías anales alteradas en nuestra población a estudio, podría atribuirse al hecho de que la interpretación de la citología anal es mucho más compleja que la del cuello uterino. La contaminación por material fecal, así como la presencia de abundante flora cocobacilar podría dificultar la interpretación de la muestra. Pero esto debe ser común a las experiencias de otros autores. También podría argumentarse la falta de celularidad en la muestra anal, aunque en nuestro estudio, de un total de 228 citologías (si sumamos las 166 tomadas a las pacientes en la primera visita, más otras 62 realizadas en el seguimiento), sólo en una se informó de material insuficiente, lo que supone un 0,68% del total (IC95%; 0,02-3,76%). Se acepta como adecuado un porcentaje de muestras de citología anal insuficientes para el diagnóstico del 9-17% (280). Lammé (241) señaló el límite en un 15% de muestras anales insuficientes. Algunos autores sugieren que el mayor número de citologías con material insuficiente podría expresar que la exfoliación de las células del epitelio del ano es menor (320).

Nuestra N poblacional fue calculada en base a la prevalencia de lesión anal publicada por otros autores, presuponiendo que se iba a encontrar una prevalencia que rondaría entre un 10 y un 20%. De las 166 mujeres, sólo hemos obtenido dos lesiones anales confirmadas con biopsia guiada por anoscopia (1,20%; IC 95%: 0,15-4,28) (Tabla 36), mientras que lo que hay publicado en mujeres inmunocompetentes con lesión del tracto genital inferior, o sea, población homóloga a las mujeres de nuestro estudio, son tasas del 9% (240), 12% (261), 17,4% (312), 17,6% (241) y del 19% (254). Holly et al (277) describieron una prevalencia del 8% de NIA en mujeres VIH negativas, con o sin displasia del tracto genital inferior. El grupo de trabajo de Scholefield (313), el de Jacyntho (312) y el de Santoso (261), sometieron a todas sus pacientes a AAR, aunque no fue así en el estudio de Lammé (241) y de Park (240) que, como nosotros, sólo derivaban a anoscopia a aquellas mujeres cuyo resultado citológico había sido anormal. En nuestro trabajo, obtuvimos una sensibilidad del 100% y un VPP de un 33,3% (Tabla 38). Santoso (261) describió una sensibilidad de la AAR del 100% y una especificidad del 71% y concluyó que la AAR es un test de cribado mejor para la NIA que la citología, dada la mayor sensibilidad de la primera.

Creemos que la baja prevalencia de lesión anal en nuestra cohorte, aun teniendo alta tasa de infección viral, podría explicarse fundamentalmente por la menor agresividad de la variante europea del VPH 16 respecto a la afroamericana o la asiática (hasta 5 veces menos progresión a CIN) (23), así como por lo efímera que resulta la presencia del virus VPH en el ano. Valari encontró menor expresión de E6 y E7 en el epitelio anal comparado con lo que observó en el cuello uterino y este dato podría justificar la menor prevalencia de lesión de alto grado anal, sospechando que la zona de transformación anal no es tan susceptible a la carcinogénesis como la del cuello uterino (320), lo que también se pone evidencia por la menor prevalencia del cáncer anal respecto al cuello uterino. En nuestro caso y pese a una mayor proporción de mujeres con VPH de alto riesgo en el ano, la mayoría son “no 16/18” (50,47% de todos los VPH) y no “VPH 16” (Tabla 18), como refiere la literatura (86, 96, 250, 325).

Podría, por otra parte existir una sinergia entre ambos factores (resistencia anal y menor agresividad de los VPH) y adicionalmente, factores externos como son los hábitos dietéticos, que podrían ejercer efecto protector. En ese sentido, hay publicaciones que mencionan los efectos beneficiosos de la dieta rica en folatos y verduras en el cáncer de cuello, y que podríamos extrapolarlo al ano (187, 189-191).

Otra posible causa protectora de displasia anal podría atribuirse a las características propias del ecosistema de la mucosa anal, que actuaría de barrera frente a los efectos carcinogénicos del VPH.

Las dos lesiones anales histológicamente demostradas estaban precedidas por un resultado citológico anal de ASCUS (Figura 21). Moscicki et al (88) apuntaban que citologías anales ASCUS generalmente se asociaban a lesiones intraepiteliales confirmadas con biopsia.

Lo que resulta evidente, dada la elevada incidencia de VPH y la muy baja de displasia anal, es que la transformación displásica se encuentra muy notoriamente disminuida en nuestra cohorte de mujeres, ya sea por factores que disminuyan la patogenia del virus, que no ya la infectividad, o por factores protectores locales que sean capaz de frenar esa actividad oncogénica. Obviamente, pasado el tiempo, cabe pensar que

alguna paciente actualmente negativa para NIA pueda, en caso excepcional de persistir el VPH en ano, desarrollar NIA.

En la actualidad no existen guías de cribado del cáncer anal en población femenina VIH negativa (261). Sí que existen en las VIH positivas, que deberían someterse a una citología anal anual. Algunos autores han propugnado esta misma línea de actuación para mujeres inmunocompetentes con displasia cervical (273). En nuestro estudio es cierto que las citologías anales positivas son pocas. Y de las negativas, pendientes de seguimiento, no sabemos su futuro. Sin embargo, en el análisis retrospectivo realizado para intentar hacer un cálculo de lo que les puede suceder dentro de 4-5 años, siendo una población similar (Tabla 39), las citologías anales se muestran negativas.

Ciertamente, en contra de lo esperado, en mujeres con patología cervical VPH dependiente hemos detectado alta tasa de presencia de VPH AR (64,46% de las mujeres con lesión en cérvix) (Tabla 17), una baja tasa de citologías anales alteradas (3,61%) (Tabla 34) y apenas 2 lesiones histológicas demostradas (Tabla 36).

Posiblemente sean necesarios más estudios que confirmen esta casuística y después puedan derivarse otros que puedan establecer, con ello, la relación coste-efectividad del cribado de displasia anal en mujeres con neoplasia ginecológica relacionada con la infección del VPH.

Una limitación de nuestro estudio es, debido a una prevalencia menor de alteraciones citológicas anales de lo esperado, un tamaño muestral reducido, y por lo tanto, la imposibilidad de encontrar asociaciones estadísticamente significativas en muchos de nuestros resultados. Otra ha sido el no conocer la sensibilidad de la citología anal, ya que para ello tendríamos que haber realizado a todas nuestras pacientes anoscopia. Finalmente, sería interesante un seguimiento a más largo plazo de aquellas pacientes con persistencia viral en el ano (Cuadro 4).

Cuadro 4. Limitaciones del estudio.

Limitaciones de nuestro estudio
<ul style="list-style-type: none">○ Uso de distintas técnicas de detección de VPH.○ Tamaño muestral pequeño para la prevalencia citológica obtenida.○ Desconocimiento de la sensibilidad de citología anal.○ No realización de AAR a toda la cohorte.○ Falta de seguimiento a largo plazo.

Precisamente en respuesta a esta última incógnita, hemos realizado un estudio parcial retrospectivo de una cohorte de pacientes que hace 5 años padecieron lesión histológica cervical (Tabla 39). Se podría hipotetizar que, pasados unos años, estas mujeres podrían haber desarrollado lesión anal. Pues bien, siendo una cohorte homogénea respecto a la del estudio prospectivo, en ninguna de ella se encontró citología alterada.

Con este estudio prospectivo que hemos realizado, creemos haber demostrado que, en nuestro entorno, cuando en una paciente hay una lesión VPH dependiente en cérvix, se da una alta prevalencia de test VPH positivo AR en el ano, así como un escaso número de citologías anales positivas y una reducidísima presencia de lesión histológica anal. La concordancia viral cérvix-ano es considerable y los únicos factores de riesgo significativos para padecer infección por VPH AR anal, en estos casos, es la presencia de condilomas anales y el CIN 1. Esto parece demostrar que mayoritariamente se trata de infecciones concomitantes. La evaluación de una cohorte de pacientes similar a la estudiada, actualmente dadas de alta, pero con el diagnóstico histológico de lesión cervical hace 5 años, demuestra que no hay riesgo acumulado, posiblemente por un aclaramiento viral anal muy alto, demostrando lo efímero de dicha infección en la mayoría de las ocasiones. Por todo ello creemos que queda demostrado que no hay necesidad de establecer planes de Cribado anales en mujeres inmunocompetentes. Posiblemente sean necesarios más estudios, con seguimientos a largo plazo, que puedan corroborar nuestras afirmaciones



V. CONCLUSIONES:

1. La prevalencia de displasia anal en mujeres de nuestro estudio, inmunocompetentes con lesión del tracto genital inferior por infección por VPH es muy baja, contrariamente a lo publicado en la literatura, donde se refiere a esta población como de riesgo para lesiones anales y cáncer de ano.
2. El 64,46% de mujeres con infección cervical por VPH, presentó el virus en el canal anal, proporción especialmente elevada en comparación con lo publicado.
3. A pesar de la alta tasa de infección anal por VPH la tasa de citologías alteradas en esta población es muy reducida (3,61%)
4. Factores de riesgo como el antecedente de CIN1 o de condilomas anales se correlacionaron con mayor tasa de infección anal por VPH.
5. Factores como recepción de sexo anal, tabaco, número de parejas sexuales, uso de preservativo o patología anal benigna, no se correlacionaron con mayor tasa de infección anal por VPH.
6. No creemos justificado realizar cribado de lesiones anales con citología en nuestro Departamento de Salud a las mujeres con lesión cervical VPH dependiente, por su baja prevalencia.
7. Se necesitan más estudios prospectivos que evalúen si mujeres con lesión del tracto genital inferior por VPH, deberían someterse a cribado rutinario para la prevención de cáncer anal.
8. Si en el futuro otros estudios confirmaran nuestros resultados, no sería necesario diseñar programas estandarizados y universales del cribado de displasia y carcinoma anal.



VI. ANEXO

ENCUESTA

FACTORES DE RIESGO

- ¿Está infectada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)? SI NO
- ¿Está recibiendo tratamiento inmunosupresor? SI NO
- ¿Padece alguna enfermedad crónica? SI NO
- ¿Padece enfermedad de Crohn? SI NO
- ¿Es Ud. Adicta a drogas por vía parenteral? SI NO
- ¿Padece Ud. Hepatitis B o C? SI NO
- ¿Padece Ud. Patología anal benigna? (hemorroides, fisura anal) SI NO
- En caso afirmativo, de que tipo: _____
- ¿Padece o ha padecido Ud. condilomas perianales? SI NO
- ¿Padece o ha padecido Ud. Herpes genital? SI NO

HÁBITOS DE VIDA

- ¿Es Ud. Fumadora? SI NO ¿Cuántos cigarrillos/día? _____
- ¿Utiliza habitualmente preservativo? SI NO A VECES
- ¿A que edad inició Ud. Relaciones sexuales? _____
- ¿Cuántas parejas sexuales ha tenido a lo largo de su vida? _____
- ¿Tiene Ud. Pareja estable? SI NO
- En caso afirmativo, ¿Cuántos años lleva con ella? _____
- ¿Practica Ud. Sexo anal? SI NO
- En caso afirmativo, ¿Con que frecuencia anual? _____



VII. BIBLIOGRAFIA

1. Modis Y, Trus B, Harrison S. Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO J* 2002; 21; 4754-62. In; 2002.
2. Palefsky JM, Rubin M. The epidemiology of anal human papillomavirus and related neoplasia. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2009;36(1):187-200.
3. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004;324(1):17-27.
4. Schiffman M, Wentzensen N. From human papillomavirus to cervical cancer. *Obstet Gynecol* 2010;116(1):177-85.
5. Howley P, Lowy D. Papillomaviruses and their replication. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
6. Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology* 2005;337(1):76-84.
7. Roden RB, Kirnbauer R, Jenson AB, Lowy DR, Schiller JT. Interaction of papillomaviruses with the cell surface. *J Virol* 1994;68(11):7260-6.
8. Qi YM, Peng SW, Hengst K, Evander M, Park DS, Zhou J, et al. Epithelial cells display separate receptors for papillomavirus VLPs and for soluble L1 capsid protein. *Virology* 1996;216(1):35-45.
9. Evander M, Frazer IH, Payne E, Qi YM, Hengst K, McMillan NA. Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. *J Virol* 1997;71(3):2449-56.
10. Wright T, Cox J. Cáncer de cuello uterino: epidemiología y etiología. 3a ed. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona (España): Wolters Kluwer/Lippinott Williams & Wilkins; 2013.
11. Collins SI, Constandinou-Williams C, Wen K, Young LS, Roberts S, Murray PG, et al. Disruption of the E2 gene is a common and early event in the natural history of cervical human papillomavirus infection: a longitudinal cohort study. *Cancer Res* 2009;69(9):3828-32.
12. Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer* 2005;15(5):727-46.
13. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology* 2013;445(1-2):2-10.
14. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 2007;90:1-670.
15. Kremsdorf D, Favre M, Jablonska S, Obalek S, Rueda LA, Lutzner MA, et al. Molecular cloning and characterization of the genomes of nine newly recognized human papillomavirus types associated with epidermodysplasia verruciformis. *J Virol* 1984;52(3):1013-8.
16. Brown DR, McCowry TL, Woods K, Fife KH. Nucleotide sequence and characterization of human papillomavirus type 83, a novel genital papillomavirus. *Virology* 1999;260(1):165-72.

17. Chan SY, Delius H, Halpern AL, Bernard HU. Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types: uniting typing, phylogeny, and taxonomy. *J Virol* 1995;69(5):3074-83.
18. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses. in: Biological agents. Volume 100 B. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2012;100(Pt B):255-313.
19. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348(6):518-27.
20. Chen Z, Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Anastos K, Segondy M, et al. Evolution and taxonomic classification of human papillomavirus 16 (HPV16)-related variant genomes: HPV31, HPV33, HPV35, HPV52, HPV58 and HPV67. *PLoS One* 2011;6(5):e20183.
21. Chan SY, Ho L, Ong CK, Chow V, Drescher B, Durst M, et al. Molecular variants of human papillomavirus type 16 from four continents suggest ancient pandemic spread of the virus and its coevolution with humankind. *J Virol* 1992;66(4):2057-66.
22. Ho L, Chan SY, Burk RD, Das BC, Fujinaga K, Icenogle JP, et al. The genetic drift of human papillomavirus type 16 is a means of reconstructing prehistoric viral spread and the movement of ancient human populations. *J Virol* 1993;67(11):6413-23.
23. Schiffman M, Rodriguez AC, Chen Z, Wacholder S, Herrero R, Hildesheim A, et al. A population-based prospective study of carcinogenic human papillomavirus variant lineages, viral persistence, and cervical neoplasia. *Cancer Res* 2010;70(8):3159-69.
24. Herfs M, Parra-Herran C, Howitt BE, Laury AR, Nucci MR, Feldman S, et al. Cervical squamocolumnar junction-specific markers define distinct, clinically relevant subsets of low-grade squamous intraepithelial lesions. *Am J Surg Pathol* 2013;37(9):1311-8.
25. Herfs M, Yamamoto Y, Laury A, Wang X, Nucci MR, McLaughlin-Drubin ME, et al. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109(26):10516-21.
26. Cox J, Mayeux E. Biología e importancia de la infección por el virus del papiloma humano. 3a ed. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona (España): Wolters Kluwer/Lippinott Williams & Wilkins; 2013.
27. Stanley MA, Winder DM, Sterling JC, Goon PK. HPV infection, anal intra-epithelial neoplasia (AIN) and anal cancer: current issues. *BMC Cancer* 2012;12:398.
28. Kines RC, Thompson CD, Lowy DR, Schiller JT, Day PM. The initial steps leading to papillomavirus infection occur on the basement membrane prior to cell surface binding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(48):20458-63.
29. Schiller JT, Day PM, Kines RC. Current understanding of the mechanism of HPV infection. *Gynecol Oncol*;118(1 Suppl):S12-7.

30. Stanley M. Chapter 17: Genital human papillomavirus infections--current and prospective therapies. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003(31):117-24.
31. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Bezemer PD, Voorhorst FJ, et al. High-risk human papillomavirus clearance in pregnant women: trends for lower clearance during pregnancy with a catch-up postpartum. *Br J Cancer* 2002;87(1):75-80.
32. Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM, et al. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992;327(18):1272-8.
33. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, et al. Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet* 2001;358(9295):1782-3.
34. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005;32 Suppl 1:S7-15.
35. Funk JO, Waga S, Harry JB, Espling E, Stillman B, Galloway DA. Inhibition of CDK activity and PCNA-dependent DNA replication by p21 is blocked by interaction with the HPV-16 E7 oncoprotein. *Genes Dev* 1997;11(16):2090-100.
36. Park TW, Fujiwara H, Wright TC. Molecular biology of cervical cancer and its precursors. *Cancer* 1995;76(10 Suppl):1902-13.
37. Munger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 2002;89(2):213-28.
38. Chow LT, Broker TR, Steinberg BM. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *Apmis* 2010;118(6-7):422-49.
39. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)* 2006;110(5):525-41.
40. Crum CP, Nagai N, Levine RU, Silverstein S. In situ hybridization analysis of HPV 16 DNA sequences in early cervical neoplasia. *Am J Pathol* 1986;123(1):174-82.
41. Pim D, Banks L. Interaction of viral oncoproteins with cellular target molecules: infection with high-risk vs low-risk human papillomaviruses. *Apmis* 2010;118(6-7):471-93.
42. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(9):690-8.
43. Stern PL, van der Burg SH, Hampson IN, Broker TR, Fiander A, Lacey CJ, et al. Therapy of human papillomavirus-related disease. *Vaccine* 2012;30 Suppl 5:F71-82.
44. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, Xi LF, Chernes S, O'Reilly S, et al. Early natural history of incident, type-specific human papillomavirus infections in

newly sexually active young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20(4):699-707.

45. Steenbergen RD, Snijders PJ, Heideman DA, Meijer CJ. Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced cervical precancerous lesions. *Nat Rev Cancer* 2014;14(6):395-405.

46. McNairn AJ, Guasch G. Epithelial transition zones: merging microenvironments, niches, and cellular transformation. *Eur J Dermatol* 2011;21 Suppl 2:21-8.

47. Elbel M, Carl S, Spaderna S, Iftner T. A comparative analysis of the interactions of the E6 proteins from cutaneous and genital papillomaviruses with p53 and E6AP in correlation to their transforming potential. *Virology* 1997;239(1):132-49.

48. Armstrong DJ, Roman A. The relative ability of human papillomavirus type 6 and human papillomavirus type 16 E7 proteins to transactivate E2F-responsive elements is promoter- and cell-dependent. *Virology* 1997;239(1):238-46.

49. Talbert-Slagle K, DiMaio D. The bovine papillomavirus E5 protein and the PDGF beta receptor: it takes two to tango. *Virology* 2009;384(2):345-51.

50. Maufort JP, Williams SM, Pitot HC, Lambert PF. Human papillomavirus 16 E5 oncogene contributes to two stages of skin carcinogenesis. *Cancer Res* 2007;67(13):6106-12.

51. Giarre M, Caldeira S, Malanchi I, Ciccolini F, Leao MJ, Tommasino M. Induction of pRb degradation by the human papillomavirus type 16 E7 protein is essential to efficiently overcome p16INK4a-imposed G1 cell cycle Arrest. *J Virol* 2001;75(10):4705-12.

52. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 2010;10(8):550-60.

53. Klingelutz AJ, Roman A. Cellular transformation by human papillomaviruses: lessons learned by comparing high- and low-risk viruses. *Virology* 2012;424(2):77-98.

54. Silva R, León D, Brebi P, Ily C, Roa J, Sánchez R. Diagnóstico de la infección por virus del papiloma humano en el hombre. *Rev Chilena Infectol* 2013;30(2):186-92.

55. Hengstermann A, Linares LK, Ciechanover A, Whitaker NJ, Scheffner M. Complete switch from Mdm2 to human papillomavirus E6-mediated degradation of p53 in cervical cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(3):1218-23.

56. Vande Pol SB, Klingelutz AJ. Papillomavirus E6 oncoproteins. *Virology* 2013;445(1-2):115-37.

57. Duensing S, Munger K. Centrosome abnormalities, genomic instability and carcinogenic progression. *Biochim Biophys Acta* 2001;1471(2):M81-8.

58. Korzeniewski N, Spardy N, Duensing A, Duensing S. Genomic instability and cancer: lessons learned from human papillomaviruses. *Cancer Lett* 2011;305(2):113-22.

59. McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Biochemical and functional interactions of human papillomavirus proteins with polycomb group proteins. *Viruses* 2013;5(5):1231-49.
60. Au Yeung CL, Tsang WP, Tsang TY, Co NN, Yau PL, Kwok TT. HPV-16 E6 upregulation of DNMT1 through repression of tumor suppressor p53. *Oncol Rep* 2010;24(6):1599-604.
61. Burgers WA, Blanchon L, Pradhan S, de Launoit Y, Kouzarides T, Fuks F. Viral oncoproteins target the DNA methyltransferases. *Oncogene* 2007;26(11):1650-5.
62. Zheng ZM, Wang X. Regulation of cellular miRNA expression by human papillomaviruses. *Biochim Biophys Acta* 2011;1809(11-12):668-77.
63. Qian K, Pietila T, Ronty M, Michon F, Frilander MJ, Ritari J, et al. Identification and validation of human papillomavirus encoded microRNAs. *PLoS One* 2013;8(7):e70202.
64. Melar-New M, Laimins LA. Human papillomaviruses modulate expression of microRNA 203 upon epithelial differentiation to control levels of p63 proteins. *J Virol* 2010;84(10):5212-21.
65. Bosch FX, de Sanjose S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003(31):3-13.
66. Muñoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2000;19(1-2):1-5.
67. Shah KV. Human papillomaviruses and anogenital cancers. *N Engl J Med* 1997;337(19):1386-8.
68. Lu DW, El-Mofty SK, Wang HL. Expression of p16, Rb, and p53 proteins in squamous cell carcinomas of the anorectal region harboring human papillomavirus DNA. *Mod Pathol* 2003;16(7):692-9.
69. Rubin MA, Kleter B, Zhou M, Ayala G, Cubilla AL, Quint WG, et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: evidence for multiple independent pathways of penile carcinogenesis. *Am J Pathol* 2001;159(4):1211-8.
70. Klussmann JP, Weissenborn SJ, Wieland U, Dries V, Eckel HE, Pfister HJ, et al. Human papillomavirus-positive tonsillar carcinomas: a different tumor entity? *Med Microbiol Immunol* 2003;192(3):129-32.
71. El-Mofty SK, Lu DW. Prevalence of human papillomavirus type 16 DNA in squamous cell carcinoma of the palatine tonsil, and not the oral cavity, in young patients: a distinct clinicopathologic and molecular disease entity. *Am J Surg Pathol* 2003;27(11):1463-70.
72. Souto Damin AP, Guedes Frazzon AP, de Carvalho Damin D, Beck Biehl H, Abruzzi de Oliveira L, Auler R, et al. Detection of human papillomavirus DNA in squamous cell carcinoma of the esophagus by auto-nested PCR. *Dis Esophagus* 2006;19(2):64-8.
73. Larque AB, Hakim S, Ordi J, Nadal A, Diaz A, del Pino M, et al. High-risk human papillomavirus is transcriptionally active in a subset of sinonasal squamous cell carcinomas. *Mod Pathol*;27(3):343-51.

74. zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol* 1977;78:1-30.
75. Meisels A, Fortin R, Roy M. Condylomatous lesions of the cervix. II. Cytologic, colposcopic and histopathologic study. *Acta Cytol* 1977;21(3):379-90.
76. Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983;80(12):3812-5.
77. zur Hausen H. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer. *Virology* 1991;184(1):9-13.
78. zur Hausen H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996;1288(2):F55-78.
79. Syrjanen KJ. HPV infections and oesophageal cancer. *J Clin Pathol* 2002;55(10):721-8.
80. El-Mofty SK, Lu DW. Prevalence of high-risk human papillomavirus DNA in nonkeratinizing (cylindrical cell) carcinoma of the sinonasal tract: a distinct clinicopathologic and molecular disease entity. *Am J Surg Pathol* 2005;29(10):1367-72.
81. Rylander E, Ruusuvaara L, Almstromer MW, Evander M, Wadell G. The absence of vaginal human papillomavirus 16 DNA in women who have not experienced sexual intercourse. *Obstet Gynecol* 1994;83(5 Pt 1):735-7.
82. Schiffman M, Kjaer SK. Chapter 2: Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003(31):14-9.
83. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003;157(3):218-26.
84. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338(7):423-8.
85. Franco EL, Villa LL, Ruiz A, Costa MC. Transmission of cervical human papillomavirus infection by sexual activity: differences between low and high oncogenic risk types. *J Infect Dis* 1995;172(3):756-63.
86. Burchell AN, Winer RL, de Sanjose S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S3/52-61.
87. Puig-Tintore L, Cortés J, Castellsague X, Torné A, Ordi J, de Sanjosé S, et al. Prevención del cáncer de cuello uterino ante la vacunación frente al virus del papiloma humano. *Prog Obstet Ginecol* 2006;49 Supl. 2:5-62.
88. Moscicki AB, Shiboski S, Broering J, Powell K, Clayton L, Jay N, et al. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr* 1998;132(2):277-84.

89. Genital HPV Infection - Fact Sheet [Internet]. In. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2014.
90. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjose S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis* 2010;202(12):1789-99.
91. De Sanjosé S. La investigación sobre la infección por virus del papiloma humano (VPH) y el cáncer del cuello uterino en España.: EMISA SEE. Capítulo 8; 2006.
92. Mahdavi A, Monk BJ. Vaccines against human papillomavirus and cervical cancer: promises and challenges. *Oncologist* 2005;10(7):528-38.
93. Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine* 2006;24 Suppl 1:S16-22.
94. Hopfl R, Heim K, Christensen N, Zumbach K, Wieland U, Volgger B, et al. Spontaneous regression of CIN and delayed-type hypersensitivity to HPV-16 oncoprotein E7. *Lancet* 2000;356(9246):1985-6.
95. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008;26 Suppl 10:K1-16.
96. Rositch AF, Koshiol J, Hudgens MG, Razzaghi H, Backes DM, Pimenta JM, et al. Patterns of persistent genital human papillomavirus infection among women worldwide: a literature review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2013;133(6):1271-85.
97. Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. *Lancet* 2004;364(9446):1678-83.
98. 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.
99. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst* 2005;97(14):1072-9.
100. Molano M, Van den Brule A, Plummer M, Weiderpass E, Posso H, Arslan A, et al. Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. *Am J Epidemiol* 2003;158(5):486-94.
101. Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, et al. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis* 2005;191(11):1808-16.

102. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S3/42-51.
103. Brinton LA, Herrero R, Reeves WC, de Britton RC, Gaitan E, Tenorio F. Risk factors for cervical cancer by histology. *Gynecol Oncol* 1993;51(3):301-6.
104. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Holmes KK, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 2006;354(25):2645-54.
105. Fukuchi E, Sawaya GF, Chirenje M, Magure T, Tuveson J, Ma Y, et al. Cervical human papillomavirus incidence and persistence in a cohort of HIV-negative women in Zimbabwe. *Sex Transm Dis* 2009;36(5):305-11.
106. Roberts JN, Buck CB, Thompson CD, Kines R, Bernardo M, Choyke PL, et al. Genital transmission of HPV in a mouse model is potentiated by nonoxynol-9 and inhibited by carrageenan. *Nat Med* 2007;13(7):857-61.
107. Muñoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S3/1-10.
108. Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Annu* 1973;8:301-28.
109. Castle PE, Jeronimo J, Schiffman M, Herrero R, Rodriguez AC, Bratti MC, et al. Age-related changes of the cervix influence human papillomavirus type distribution. *Cancer Res* 2006;66(2):1218-24.
110. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM, et al. Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis* 2005;191(5):731-8.
111. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010;11(11):1048-56.
112. Burk RD, Terai M, Gravitt PE, Brinton LA, Kurman RJ, Barnes WA, et al. Distribution of human papillomavirus types 16 and 18 variants in squamous cell carcinomas and adenocarcinomas of the cervix. *Cancer Res* 2003;63(21):7215-20.
113. Xi LF, Schiffman M, Koutsky LA, Hughes JP, Winer RL, Mao C, et al. Lineages of oncogenic human papillomavirus types other than type 16 and 18 and risk for cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2014;106(10).
114. Chan PK, Luk AC, Park JS, Smith-McCune KK, Palefsky JM, Konno R, et al. Identification of human papillomavirus type 58 lineages and the distribution worldwide. *J Infect Dis* 2011;203(11):1565-73.
115. Da Costa MM, Hogeboom CJ, Holly EA, Palefsky JM. Increased risk of high-grade anal neoplasia associated with a human papillomavirus type 16 E6 sequence variant. *J Infect Dis* 2002;185(9):1229-37.
116. Gheit T, Cornet I, Clifford GM, Iftner T, Munk C, Tommasino M, et al. Risks for persistence and progression by human papillomavirus type 16

- variant lineages among a population-based sample of Danish women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20(7):1315-21.
117. Cornet I, Gheit T, Iannacone MR, Vignat J, Sylla BS, Del Mistro A, et al. HPV16 genetic variation and the development of cervical cancer worldwide. *Br J Cancer* 2013;108(1):240-4.
118. Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, Scott DR, Glass AG, Wacholder S, et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet* 2002;360(9328):228-9.
119. Moberg M, Gustavsson I, Gyllensten U. Type-specific associations of human papillomavirus load with risk of developing cervical carcinoma in situ. *Int J Cancer* 2004;112(5):854-9.
120. Oh HY, Seo SS, Kim MK, Lee DO, Chung YK, Lim MC, et al. Synergistic effect of viral load and alcohol consumption on the risk of persistent high-risk human papillomavirus infection. *PLoS One* 2014;9(8):e104374.
121. Xi LF, Hughes JP, Castle PE, Edelstein ZR, Wang C, Galloway DA, et al. Viral load in the natural history of human papillomavirus type 16 infection: a nested case-control study. *J Infect Dis* 2011;203(10):1425-33.
122. Thomsen LT, Frederiksen K, Munk C, Junge J, Iftner T, Kjaer SK. Long-term risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse according to high-risk human papillomavirus genotype and semi-quantitative viral load among 33,288 women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2014.
123. Ordi J, Puig-Tintore LM, Torne A, Sanz S, Esteve R, Romagosa C, et al. [Contribution of high risk human papillomavirus testing to the management of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix]. *Med Clin (Barc)* 2003;121(12):441-5.
124. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008;9(5):425-34.
125. Jaisamrarn U, Castellsague X, Garland SM, Naud P, Palmroth J, Del Rosario-Raymundo MR, et al. Natural history of progression of HPV infection to cervical lesion or clearance: analysis of the control arm of the large, randomised PATRICIA study. *PLoS One* 2013;8(11):e79260.
126. González Martínez G, Núñez Troconis J. Historia natural de la infección por el virus del papiloma humano: una actualización. *Invest Clin* 2014;1:82-91.
127. Fehrmann F, Laimins LA. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. *Oncogene* 2003;22(33):5201-7.
128. Baker CC, Phelps WC, Lindgren V, Braun MJ, Gonda MA, Howley PM. Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cell lines. *J Virol* 1987;61(4):962-71.
129. Lu X, Lin Q, Lin M, Duan P, Ye L, Chen J, et al. Multiple-integrations of HPV16 genome and altered transcription of viral oncogenes and cellular

genes are associated with the development of cervical cancer. *PLoS One* 2014;9(7):e97588.

130. Schmitz M, Driesch C, Jansen L, Runnebaum IB, Durst M. Non-random integration of the HPV genome in cervical cancer. *PLoS One* 2012;7(6):e39632.

131. Jeon S, Allen-Hoffmann BL, Lambert PF. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J Virol* 1995;69(5):2989-97.

132. Hudelist G, Manavi M, Pischinger KI, Watkins-Riedel T, Singer CF, Kubista E, et al. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. *Gynecol Oncol* 2004;92(3):873-80.

133. Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, Rodriguez AC, Quint W, Schiffman M, et al. Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease. *J Infect Dis* 2011;203(7):910-20.

134. Quint W, Jenkins D, Molijn A, Struijk L, van de Sandt M, Doorbar J, et al. One virus, one lesion--individual components of CIN lesions contain a specific HPV type. *J Pathol* 2012;227(1):62-71.

135. Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis* 2007;195(11):1582-9.

136. Wentzensen N, Nason M, Schiffman M, Dodd L, Hunt WC, Wheeler CM. No evidence for synergy between human papillomavirus genotypes for the risk of high-grade squamous intraepithelial lesions in a large population-based study. *J Infect Dis* 2014;209(6):855-64.

137. Madeleine MM, Brumback B, Cushing-Haugen KL, Schwartz SM, Daling JR, Smith AG, et al. Human leukocyte antigen class II and cervical cancer risk: a population-based study. *J Infect Dis* 2002;186(11):1565-74.

138. Wang SS, Wheeler CM, Hildesheim A, Schiffman M, Herrero R, Bratti MC, et al. Human leukocyte antigen class I and II alleles and risk of cervical neoplasia: results from a population-based study in Costa Rica. *J Infect Dis* 2001;184(10):1310-4.

139. Hildesheim A, Apple RJ, Chen CJ, Wang SS, Cheng YJ, Klitz W, et al. Association of HLA class I and II alleles and extended haplotypes with nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(23):1780-9.

140. Hildesheim A, Wang SS. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Res* 2002;89(2):229-40.

141. Wang SS, Hildesheim A, Gao X, Schiffman M, Herrero R, Bratti MC, et al. Comprehensive analysis of human leukocyte antigen class I alleles and cervical neoplasia in 3 epidemiologic studies. *J Infect Dis* 2002;186(5):598-605.

142. Bosch FX, de Sanjose S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers* 2007;23(4):213-27.
143. Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Munoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(21):1604-13.
144. Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikaheimo I, et al. Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *Jama* 2001;285(1):47-51.
145. Smith JS, Munoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, et al. Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 2002;185(3):324-31.
146. Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE, Sternberg M, Sawyer MK, Swan D, et al. Association of Chlamydia trachomatis with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. *Am J Epidemiol* 2005;162(7):668-75.
147. Castle PE, Giuliano AR. Chapter 4: Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients--assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003(31):29-34.
148. Castellsague X, Munoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003(31):20-8.
149. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, et al. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer* 2000;82(7):1332-8.
150. Torne A, Ordi J, Puig-Tintore LM, Jou P, Sanchez E, Muntane J, et al. [The detection of papillomavirus by in situ hybridization. Clinico-pathological and virological correlation in patients with squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix]. *Med Clin (Barc)* 1997;109(18):691-5.
151. Brinton LA, Schairer C, Stanford JL, Hoover RN. Cigarette smoking and breast cancer. *Am J Epidemiol* 1986;123(4):614-22.
152. Hirose K, Hamajima N, Takezaki T, Kuroishi T, Kuzuya K, Sasaki S, et al. Smoking and dietary risk factors for cervical cancer at different age group in Japan. *J Epidemiol* 1998;8(1):6-14.
153. Gadducci A, Barsotti C, Cosio S, Domenici L, Riccardo Genazzani A. Smoking habit, immune suppression, oral contraceptive use, and hormone replacement therapy use and cervical carcinogenesis: a review of the literature. *Gynecol Endocrinol* 2011;27(8):597-604.
154. Trimble CL, Genkinger JM, Burke AE, Hoffman SC, Helzlsouer KJ, Diener-West M, et al. Active and passive cigarette smoking and the risk of cervical neoplasia. *Obstet Gynecol* 2005;105(1):174-81.

155. Prokopczyk B, Cox JE, Hoffmann D, Waggoner SE. Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst* 1997;89(12):868-73.
156. Hellberg D, Nilsson S, Haley NJ, Hoffman D, Wynder E. Smoking and cervical intraepithelial neoplasia: nicotine and cotinine in serum and cervical mucus in smokers and nonsmokers. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158(4):910-3.
157. Barton SE, Maddox PH, Jenkins D, Edwards R, Cuzick J, Singer A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet* 1988;2(8612):652-4.
158. Burger MP, Hollema H, Gouw AS, Pieters WJ, Quint WG. Cigarette smoking and human papillomavirus in patients with reported cervical cytological abnormality. *Bmj* 1993;306(6880):749-52.
159. Smith JS, Green J, Berrington de Gonzalez A, Appleby P, Peto J, Plummer M, et al. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. *Lancet* 2003;361(9364):1159-67.
160. Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, Walboomers JM, et al. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002;359(9312):1085-92.
161. Appleby P, Beral V, Berrington de Gonzalez A, Colin D, Franceschi S, Goodhill A, et al. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet* 2007;370(9599):1609-21.
162. Chilvers C, Mant D, Pike MC. Cervical adenocarcinoma and oral contraceptives. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987;295(6611):1446-7.
163. Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Herrero R, de Britton RC, Gaitan E, et al. Parity as a risk factor for cervical cancer. *Am J Epidemiol* 1989;130(3):486-96.
164. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002;359(9312):1093-101.
165. Thomas DB, Qin Q, Kuypers J, Kiviat N, Ashley RL, Koetsawang A, et al. Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. II. Risk factors for in situ and invasive squamous cell cervical carcinomas. *Am J Epidemiol* 2001;153(8):732-9.
166. Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma and 33,542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006;119(5):1108-24.
167. Frazer IH. Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: a well evolved relationship. *Virology* 2009;384(2):410-4.
168. Nappi L, Carriero C, Bettocchi S, Herrero J, Vimercati A, Putignano G. Cervical squamous intraepithelial lesions of low-grade in HIV-infected

women: recurrence, persistence, and progression, in treated and untreated women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005;121(2):226-32.

169. Meeuwis KA, van Rossum MM, van de Kerkhof PC, Hoitsma AJ, Massuger LF, de Hullu JA. Skin cancer and (pre)malignancies of the female genital tract in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2010;23(2):191-9.

170. Penn I. Cancers of the anogenital region in renal transplant recipients. Analysis of 65 cases. *Cancer* 1986;58(3):611-6.

171. Harwood CA, Suretheran T, McGregor JM, Spink PJ, Leigh IM, Breuer J, et al. Human papillomavirus infection and non-melanoma skin cancer in immunosuppressed and immunocompetent individuals. *J Med Virol* 2000;61(3):289-97.

172. Klumb EM, Pinto AC, Jesus GR, Araujo M, Jr., Jacone L, Gayer CR, et al. Are women with lupus at higher risk of HPV infection? *Lupus* 2010;19(13):1485-91.

173. Klumb EM, Araujo ML, Jr., Jesus GR, Santos DB, Oliveira AV, Albuquerque EM, et al. Is higher prevalence of cervical intraepithelial neoplasia in women with lupus due to immunosuppression? *J Clin Rheumatol* 2010;16(4):153-7.

174. De Vuyst H, Lillo F, Broutet N, Smith JS. HIV, human papillomavirus, and cervical neoplasia and cancer in the era of highly active antiretroviral therapy. *Eur J Cancer Prev* 2008;17(6):545-54.

175. Kojic EM, Cu-Uvin S. Update: human papillomavirus infection remains highly prevalent and persistent among HIV-infected individuals. *Curr Opin Oncol* 2007;19(5):464-9.

176. Clifford GM, Goncalves MA, Franceschi S. Human papillomavirus types among women infected with HIV: a meta-analysis. *Aids* 2006;20(18):2337-44.

177. Sun XW, Kuhn L, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Wright TC, Jr. Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1997;337(19):1343-9.

178. Palefsky JM. Human papillomavirus infection and anogenital neoplasia in human immunodeficiency virus-positive men and women. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1998(23):15-20.

179. Strickler HD, Burk RD, Fazzari M, Anastos K, Minkoff H, Massad LS, et al. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst* 2005;97(8):577-86.

180. de Sanjose S, Palefsky J. Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Res* 2002;89(2):201-11.

181. Denny LA, Franceschi S, de Sanjose S, Heard I, Moscicki AB, Palefsky J. Human papillomavirus, human immunodeficiency virus and immunosuppression. *Vaccine* 2012;30 Suppl 5:F168-74.

182. Einstein MH, Phaeton R. Issues in cervical cancer incidence and treatment in HIV. *Curr Opin Oncol* 2010;22(5):449-55.

183. Gilles C, Manigart Y, Konopnicki D, Barlow P, Rozenberg S. Management and outcome of cervical intraepithelial neoplasia lesions: a study of matched cases according to HIV status. *Gynecol Oncol* 2005;96(1):112-8.
184. Massad LS, Fazzari MJ, Anastos K, Klein RS, Minkoff H, Jamieson DJ, et al. Outcomes after treatment of cervical intraepithelial neoplasia among women with HIV. *J Low Genit Tract Dis* 2007;11(2):90-7.
185. 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.
186. Minkoff H, Zhong Y, Burk RD, Palefsky JM, Xue X, Watts DH, et al. Influence of adherent and effective antiretroviral therapy use on human papillomavirus infection and squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-positive women. *J Infect Dis* 2010;201(5):681-90.
187. Garcia-Closas R, Castellsague X, Bosch X, Gonzalez CA. The role of diet and nutrition in cervical carcinogenesis: a review of recent evidence. *Int J Cancer* 2005;117(4):629-37.
188. Steben M, Duarte-Franco E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecol Oncol* 2007;107(2 Suppl 1):S2-5.
189. Butterworth CE, Jr. Effect of folate on cervical cancer. Synergism among risk factors. *Ann N Y Acad Sci* 1992;669:293-9.
190. Weinstein SJ, Ziegler RG, Frongillo EA, Jr., Colman N, Sauberlich HE, Brinton LA, et al. Low serum and red blood cell folate are moderately, but nonsignificantly associated with increased risk of invasive cervical cancer in U.S. women. *J Nutr* 2001;131(7):2040-8.
191. Piyathilake CJ, Macaluso M, Alvarez RD, Bell WC, Heimbürger DC, Partridge EE. Lower risk of cervical intraepithelial neoplasia in women with high plasma folate and sufficient vitamin B12 in the post-folic acid fortification era. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009;2(7):658-64.
192. Parham GP, Hicks ML. Race as a factor in the outcome of patients with cervical cancer: lift the veil to find the wounded spirit. *Gynecol Oncol* 1998;71(2):149-50.
193. Banister CE, Messersmith AR, Cai B, Spiryda LB, Glover SH, Pirisi L, et al. Disparity in the persistence of high-risk human papillomavirus genotypes between African American and European American women of college age. *J Infect Dis* 2015;211(1):100-8.
194. Gardner JW, Sanborn JS, Slattery ML. Behavioral factors explaining the low risk for cervical carcinoma in Utah Mormon women. *Epidemiology* 1995;6(2):187-9.
195. Castellsague X, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, de Sanjose S, et al. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med* 2002;346(15):1105-12.

196. Brinton LA, Fraumeni JF, Jr. Epidemiology of uterine cervical cancer. *J Chronic Dis* 1986;39(12):1051-65.
197. Hildesheim A, Herrero R, Castle PE, Wacholder S, Bratti MC, Sherman ME, et al. HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. *Br J Cancer* 2001;84(9):1219-26.
198. Khan MJ, Partridge EE, Wang SS, Schiffman M. Socioeconomic status and the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 among oncogenic human papillomavirus DNA-positive women with equivocal or mildly abnormal cytology. *Cancer* 2005;104(1):61-70.
199. Stone KM, Karem KL, Sternberg MR, McQuillan GM, Poon AD, Unger ER, et al. Seroprevalence of human papillomavirus type 16 infection in the United States. *J Infect Dis* 2002;186(10):1396-402.
200. Curtis KM, Marchbanks PA, Peterson HB. Neoplasia with use of intrauterine devices. *Contraception* 2007;75(6 Suppl):S60-9.
201. Castellsague X, Diaz M, Vaccarella S, de Sanjose S, Munoz N, Herrero R, et al. Intrauterine device use, cervical infection with human papillomavirus, and risk of cervical cancer: a pooled analysis of 26 epidemiological studies. *Lancet Oncol* 2011;12(11):1023-31.
202. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* 2002;29(6 Suppl 16):15-8.
203. Mandic A, Usaj Knezevic S, Kapicl Ivkovic T. Tissue expression of VEGF in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *J Buon* 2014;19(4):958-64.
204. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006;118(12):3030-44.
205. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol* 2012;13(6):607-15.
206. Jimenez W, Paszat L, Kupets R, Wilton A, Tinmouth J. Presumed previous human papillomavirus (HPV) related gynecological cancer in women diagnosed with anal cancer in the province of Ontario. *Gynecol Oncol* 2009;114(3):395-8.
207. Frisch M, Fenger C, van den Brule AJ, Sorensen P, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. *Cancer Res* 1999;59(3):753-7.
208. Cortés J. Vacunación frente al virus del papiloma humano. Documento de consenso 2011 de las sociedades científicas españolas. *SEMERGEN-Medicina de Familia* 2012;38(5):312-326.
209. Frazer IH, Medley G, Crapper RM, Brown TC, Mackay IR. Association between anorectal dysplasia, human papillomavirus, and human immunodeficiency virus infection in homosexual men. *Lancet* 1986;2(8508):657-60.

210. Ojeda Ortiz J, Ojeda Pólito J. Neoplasia anal intraepitelial. Archivos Médicos de Actualización en Tracto Genital Inferior 2013;9:1-12.
211. Smith JH. Bethesda 2001. Cytopathology 2002;13(1):4-10.
212. Darragh TM, Berry J, Jay N, Palefsky J. Conducto anal y región perianal: enfermedad relacionada con el VPH. 3ª ed. Barcelona: Wolters Kluwer Health España, S.A., Lippincott Williams and Wilkins; 2013.
213. Palefsky J. Human papillomavirus and anal neoplasia. Curr HIV/AIDS Rep 2008;5(2):78-85.
214. Palefsky JM, Holly EA, Gonzales J, Berline J, Ahn DK, Greenspan JS. Detection of human papillomavirus DNA in anal intraepithelial neoplasia and anal cancer. Cancer Res 1991;51(3):1014-9.
215. Abbasakoor F, Boullos PB. Anal intraepithelial neoplasia. Br J Surg 2005;92(3):277-90.
216. Ryan DP, Compton CC, Mayer RJ. Carcinoma of the anal canal. N Engl J Med 2000;342(11):792-800.
217. Hoots BE, Palefsky JM, Pimenta JM, Smith JS. Human papillomavirus type distribution in anal cancer and anal intraepithelial lesions. Int J Cancer 2009;124(10):2375-83.
218. Jemal A, Simard EP, Dorell C, Noone AM, Markowitz LE, Kohler B, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus(HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. J Natl Cancer Inst 2013;105(3):175-201.
219. Tseng HF, Morgenstern H, Mack TM, Peters RK. Risk factors for anal cancer: results of a population-based case-control study. Cancer Causes Control 2003;14(9):837-46.
220. Palefsky JM. Anal squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus-positive men and women. Semin Oncol 2000;27(4):471-9.
221. Castro FA, Quint W, Gonzalez P, Katki HA, Herrero R, van Doorn LJ, et al. Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection among young healthy women in Costa Rica. J Infect Dis 2012;206(7):1103-10.
222. Patel H, Silver A, Northover J. Anal patients in renal transplant patients. Int J Colorectal Dis. 2005;16:1-5.
223. Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, et al. Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. Vaccine 2012;30 Suppl 5:F24-33.
224. Melbye M, Sprogel P. Aetiological parallel between anal cancer and cervical cancer. Lancet 1991;338(8768):657-9.
225. Scholefield JH, Sonnex C, Talbot IC, Palmer JG, Whatrup C, Mindel A, et al. Anal and cervical intraepithelial neoplasia: possible parallel. Lancet 1989;2(8666):765-9.
226. Hemminki K, Dong C, Vaittinen P. Second primary cancer after in situ and invasive cervical cancer. Epidemiology 2000;11(4):457-61.

227. Edgren G, Sparen P. Risk of anogenital cancer after diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia: a prospective population-based study. *Lancet Oncol* 2007;8(4):311-6.
228. Saleem AM, Paulus JK, Shapter AP, Baxter NN, Roberts PL, Ricciardi R. Risk of anal cancer in a cohort with human papillomavirus-related gynecologic neoplasm. *Obstet Gynecol* 2011;117(3):643-9.
229. Coffey K, Beral V, Green J, Reeves G, Barnes I. Lifestyle and reproductive risk factors associated with anal cancer in women aged over 50 years. *Br J Cancer* 2015;112(9):1568-74.
230. Moscicki AB, Hills NK, Shiboski S, Darragh TM, Jay N, Powell K, et al. Risk factors for abnormal anal cytology in young heterosexual women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8(2):173-8.
231. Palefsky J. Biology of HPV in HIV infection. *Adv Dent Res* 2006;19(1):99-105.
232. Shvetsov YB, Hernandez BY, McDuffie K, Wilkens LR, Zhu X, Ning L, et al. Duration and clearance of anal human papillomavirus (HPV) infection among women: the Hawaii HPV cohort study. *Clin Infect Dis* 2009;48(5):536-46.
233. Nyitray AG, Carvalho da Silva RJ, Baggio ML, Smith D, Abrahamsen M, Papenfuss M, et al. Six-month incidence, persistence, and factors associated with persistence of anal human papillomavirus in men: the HPV in men study. *J Infect Dis* 2011;204(11):1711-22.
234. Tatti S, Suzuki V, Fleider L, Maldonado V, Caruso R, Tinnirello Mde L. Anal intraepithelial lesions in women with human papillomavirus-related disease. *J Low Genit Tract Dis* 2013;16(4):454-9.
235. 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.
236. Sonnex C, Scholefield JH, Kocjan G, Kelly G, Whatrup C, Mindel A, et al. Anal human papillomavirus infection: a comparative study of cytology, colposcopy and DNA hybridisation as methods of detection. *Genitourin Med* 1991;67(1):21-5.
237. Johnson AM, Mercer CH, Erens B, Copas AJ, McManus S, Wellings K, et al. Sexual behaviour in Britain: partnerships, practices, and HIV risk behaviours. *Lancet* 2001;358(9296):1835-42.
238. Baldwin JJ, Baldwin JD. Heterosexual anal intercourse: an understudied, high-risk sexual behavior. *Arch Sex Behav* 2000;29(4):357-73.
239. Misegades L, Page-Shafer K, Halperin D, McFarland W. Anal intercourse among young low-income women in California: an overlooked risk factor for HIV? *Aids* 2001;15(4):534-5.
240. Park IU, Ogilvie JW, Jr., Anderson KE, Li ZZ, Darrah L, Madoff R, et al. Anal human papillomavirus infection and abnormal anal cytology in women with genital neoplasia. *Gynecol Oncol* 2009;114(3):399-403.
241. Lamme J, Pattaratornkosohn T, Mercado-Abadie J, Alkhas A, Robinson A, Lanneau G. Concurrent anal human papillomavirus and abnormal anal

cytology in women with known cervical dysplasia. *Obstet Gynecol* 2014;124(2 Pt 1):242-8.

242. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Da Costa M, Greenblatt RM. Prevalence and risk factors for anal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. *J Infect Dis* 2001;183(3):383-91.

243. Sehnal B, Dusek L, Cibula D, Zima T, Halaska M, Driak D, et al. The relationship between the cervical and anal HPV infection in women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Virol* 2014;59(1):18-23.

244. Hernandez BY, McDuffie K, Zhu X, Wilkens LR, Killeen J, Kessel B, et al. Anal human papillomavirus infection in women and its relationship with cervical infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(11 Pt 1):2550-6.

245. Nyitray A, Nielson CM, Harris RB, Flores R, Abrahamsen M, Dunne EF, et al. Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection in heterosexual men. *J Infect Dis* 2008;197(12):1676-84.

246. Stier EA, Sebring MC, Mendez AE, Ba FS, Trimble DD, Chiao EY. Prevalence of anal human papillomavirus infection and anal HPV-related disorders in women: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol* 2015.

247. Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K, Wilkens LR, Zhu X, Ning L, et al. Acquisition of anal human papillomavirus (HPV) infection in women: the Hawaii HPV Cohort study. *J Infect Dis* 2008;197(7):957-66.

248. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. *Int J Cancer* 2009;124(7):1626-36.

249. Ouhoumane N, Steben M, Coutlee F, Vuong T, Forest P, Rodier C, et al. Squamous anal cancer: patient characteristics and HPV type distribution. *Cancer Epidemiol* 2013;37(6):807-12.

250. Darragh TM, Winkler B. Anal cancer and cervical cancer screening: key differences. *Cancer Cytopathol* 2011;119(1):5-19.

251. Fenger C, Nielsen VT. Dysplastic changes in the anal canal epithelium in minor surgical specimens. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 1981;89(6):463-5.

252. McCance DJ, Clarkson PK, Dyson JL, Walker PG, Singer A. Human papillomavirus types 6 and 16 in multifocal intraepithelial neoplasias of the female lower genital tract. *Br J Obstet Gynaecol* 1985;92(11):1093-100.

253. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, 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. *J Low Genit Tract Dis* 2012;16(3):205-42.

254. Scholefield JH, Castle MT, Watson NF. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg* 2005;92(9):1133-6.

255. 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.
256. Ortholan C, Francois E, Gerard JP. [Preneoplastic anal lesions and anal canal carcinoma]. *Bull Cancer* 2003;90(5):405-11.
257. Fox PA. Human papillomavirus and anal intraepithelial neoplasia. *Curr Opin Infect Dis* 2006;19(1):62-6.
258. Rickert RR, Brodtkin RH, Hutter RV. Bowen's disease. *CA Cancer J Clin* 1977;27(3):160-6.
259. Watson AJ, Smith BB, Whitehead MR, Sykes PH, Frizelle FA. Malignant progression of anal intra-epithelial neoplasia. *ANZ J Surg* 2006;76(8):715-7.
260. Welton ML, Sharkey FE, Kahlenberg MS. The etiology and epidemiology of anal cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2004;13(2):263-75.
261. Santoso JT, Long M, Crigger M, Wan JY, Haefner HK. Anal intraepithelial neoplasia in women with genital intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2010;116(3):578-82.
262. Parés D, Mullerat J, Pera M. Neoplasia intraepitelial anal. *Med Clin (Barc)* 2006;127(19):749-55.
263. Cleary RK, Schaldenbrand JD, Fowler JJ, Schuler JM, Lampman RM. Perianal Bowen's disease and anal intraepithelial neoplasia: review of the literature. *Dis Colon Rectum* 1999;42(7):945-51.
264. Foust RL, Dean PJ, Stoler MH, Moinuddin SM. Intraepithelial neoplasia of the anal canal in hemorrhoidal tissue: a study of 19 cases. *Hum Pathol* 1991;22(6):528-34.
265. Anal dysplasia screening: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser* 2007;7(4):1-43.
266. Gonzalez C, Torres M, Benito A, Del Romero J, Rodriguez C, Fontillon M, et al. Anal squamous intraepithelial lesions are frequent among young HIV-infected men who have sex with men followed up at the Spanish AIDS Research Network Cohort (CoRIS-HPV). *Int J Cancer* 2013;133(5):1164-72.
267. 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* 2012;27(6):951-9.
268. Unger ER, Vernon S, Lee D, Miller D, Sharma, SClancy K. Human papillomavirus type in anal epithelial lesions is influenced by human immunodeficiency virus. *Arch Pathol Lab Med.* 1997;121:820-4.
269. Mullerat J, Deroide F, Winslet M, Perrett C. Proliferation and p53 expression in anal cancer precursor lesions. *Anticancer Res* 2003;23:2995-9.
270. Lacey CJ. Therapy for genital human papillomavirus-related disease. *J Clin Virol* 2005;32 Suppl 1:S82-90.

271. Park IU, Palefsky JM. Evaluation and Management of Anal Intraepithelial Neoplasia in HIV-Negative and HIV-Positive Men Who Have Sex with Men. *Curr Infect Dis Rep* 2010;12(2):126-33.
272. 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.
273. Chin-Hong PV, Palefsky JM. Natural history and clinical management of anal human papillomavirus disease in men and women infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2002;35(9):1127-34.
274. Berry JM, Palefsky JM, Jay N, Cheng SC, Darragh TM, Chin-Hong PV. Performance characteristics of anal cytology and human papillomavirus testing in patients with high-resolution anoscopy-guided biopsy of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Dis Colon Rectum* 2009;52(2):239-47.
275. Darragh TM. Anal cytology. In: Wilbur D, Henry M, editors. *College of American Pathologists Practical Guide to Gynecologic Cytopathology: Morphology, Management and Molecular Methods*. Northfield, IL: CAP Press; 2008. p. 177-81.
276. Darragh TM, Birdsong G, Luff R, Davey D. Anal-rectal cytology. In: Solomon D, Nayar R, editors. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria and Explanatory Notes*. 2nd ed. New York, NY: Springer; 2004. p. 169-75.
277. Holly EA, Ralston ML, Darragh TM, Greenblatt RM, Jay N, Palefsky JM. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(11):843-9.
278. Cardinal LH, Carballo P, Lorenzo MC, Garcia A, Suzuki V, Tatti S, et al. A six-year experience with anal cytology in women with HPV in the lower genital tract: utility, limitations, and clinical correlation. *Diagn Cytopathol* 2013;42(5):396-400.
279. Haye KR, Maiti H, Stanbridge CM. Cytological screening to detect subclinical anal human papillomavirus (HPV) infection in homosexual men attending genitourinary medicine clinic. *Genitourin Med* 1988;64(6):378-82.
280. D'Hauwers KW, Tjalma WA. Letter to the Editor referring to the manuscript entitled: "Human papillomavirus DNA and mRNA positivity of the anal canal in women with lower genital tract HPV lesions: predictors and clinical implications." reported by Valari O, et al., (*Gynecol Oncol* 2011; 122(3): 505-8). *Gynecol Oncol* 2012;126(3):499; author reply 500.
281. Arain S, Walts AE, Thomas P, Bose S. The Anal Pap Smear: Cytomorphology of squamous intraepithelial lesions. *Cytojournal* 2005;2(1):4.
282. Nathan M, Singh N, Garrett N, Hickey N, Prevost T, Sheaff M. Performance of anal cytology in a clinical setting when measured against histology and high-resolution anoscopy findings. *Aids* 2010;24(3):373-9.
283. 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.

284. Fox PA, Seet JE, Stebbing J, Francis N, Barton SE, Strauss S, et al. The value of anal cytology and human papillomavirus typing in the detection of anal intraepithelial neoplasia: a review of cases from an anoscopy clinic. *Sex Transm Infect* 2005;81(2):142-6.
285. 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.
286. Berry JM, Palefsky JM. Invited commentary to Screening anal dysplasia in HIV-infected patients: is there an agreement between anal Pap smear and high resolution anoscopy-guided biopsy?. *Dis Colon Rectum* 2009;52(11):1860-3.
287. Vajdic CM, Anderson JS, Hillman RJ, Medley G, Grulich AE. Blind sampling is superior to anoscope guided sampling for screening for anal intraepithelial neoplasia. *Sex Transm Infect* 2005;81(5):415-8.
288. Chang GJ, Berry JM, Jay N, Palefsky JM, Welton ML. Surgical treatment of high-grade anal squamous intraepithelial lesions: a prospective study. *Dis Colon Rectum* 2002;45(4):453-8.
289. Lytwyn A, Salit IE, Raboud J, Chapman W, Darragh T, Winkler B, et al. Interobserver agreement in the interpretation of anal intraepithelial neoplasia. *Cancer* 2005;103(7):1447-56.
290. Devaraj B, Cosman BC. Expectant management of anal squamous dysplasia in patients with HIV. *Dis Colon Rectum* 2006;49(1):36-40.
291. Marchesa P, Fazio VW, Oliart S, Goldblum JR, Lavery IC. Perianal Bowen's disease: a clinicopathologic study of 47 patients. *Dis Colon Rectum* 1997;40(11):1286-93.
292. Pineda CE, Berry JM, Jay N, Palefsky JM, Welton ML. High-resolution anoscopy targeted surgical destruction of anal high-grade squamous intraepithelial lesions: a ten-year experience. *Dis Colon Rectum* 2008;51(6):829-35; discussion 835-7.
293. Benson CA, Kaplan JE, Masur H, Pau A, Holmes KK. Treating opportunistic infections among HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association/Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2004;53(RR-15):1-112.
294. Singh JC, Kuohung V, Palefsky JM. Efficacy of trichloroacetic acid in the treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV-positive and HIV-negative men who have sex with men. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;52(4):474-9.
295. Mahto M, Nathan M, O'Mahony C. More than a decade on: review of the use of imiquimod in lower anogenital intraepithelial neoplasia. *Int J STD AIDS* 2009;21(1):8-16.
296. Fox PA, Nathan M, Francis N, Singh N, Weir J, Dixon G, et al. A double-blind, randomized controlled trial of the use of imiquimod cream for the treatment of anal canal high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-

positive MSM on HAART, with long-term follow-up data including the use of open-label imiquimod. *Aids* 2010;24(15):2331-5.

297. 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.

298. Nathan M, Hickey N, Mayuranathan L, Vowler SL, Singh N. Treatment of anal human papillomavirus-associated disease: a long term outcome study. *Int J STD AIDS* 2008;19(7):445-9.

299. Halasz CL. Treatment of common warts using the infrared coagulator. *J Dermatol Surg Oncol* 1994;20(4):252-6.

300. Goldstone SE, Kawalek AZ, Huyett JW. Infrared coagulator: a useful tool for treating anal squamous intraepithelial lesions. *Dis Colon Rectum* 2005;48(5):1042-54.

301. Goldstone SE, Hundert JS, Huyett JW. Infrared coagulator ablation of high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-negative males who have sex with males. *Dis Colon Rectum* 2007;50(5):565-75.

302. Cranston RD, Hirschowitz SL, Cortina G, Moe AA. A retrospective clinical study of the treatment of high-grade anal dysplasia by infrared coagulation in a population of HIV-positive men who have sex with men. *Int J STD AIDS* 2008;19(2):118-20.

303. Stier EA, Goldstone SE, Berry JM, Panther LA, Jay N, Krown SE, et al. Infrared coagulator treatment of high-grade anal dysplasia in HIV-infected individuals: an AIDS malignancy consortium pilot study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;47(1):56-61.

304. Maggard MA, Beanes SR, Ko CY. Anal canal cancer: a population-based reappraisal. *Dis Colon Rectum* 2003;46(11):1517-23; discussion 1523-4; author reply 1524.

305. 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.

306. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S3/11-25.

307. Watson M, Saraiya M, Ahmed F, Cardinez CJ, Reichman ME, Weir HK, et al. Using population-based cancer registry data to assess the burden of human papillomavirus-associated cancers in the United States: overview of methods. *Cancer* 2008;113(10 Suppl):2841-54.

308. American Cancer Society. Global cancer facts and figures. 2 ed. Atlanta: American Cancer Society; 2008.

309. American Cancer Society. Cancer facts and figures. Atlanta: American Cancer Society; 2012.

310. Overview in a single PDF. In: SEER. Cancer Statistics Reviews (CSR) 1975-2011. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2014. p. Disponible en http://seer.cancer.gov/csr/1975_2011/, última actualización diciembre 17, 2014.

311. 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.
312. Jacyntho CM, Giraldo PC, Horta AA, Grandelle R, Goncalves AK, Fonseca T, et al. Association between genital intraepithelial lesions and anal squamous intraepithelial lesions in HIV-negative women. *Am J Obstet Gynecol* 2011;205(2):115 e1-5.
313. Scholefield JH, Hickson WG, Smith JH, Rogers K, Sharp F. Anal intraepithelial neoplasia: part of a multifocal disease process. *Lancet* 1992;340(8830):1271-3.
314. Ogunbiyi OA, Scholefield JH, Robertson G, Smith JH, Sharp F, Rogers K. Anal human papillomavirus infection and squamous neoplasia in patients with invasive vulvar cancer. *Obstet Gynecol* 1994;83(2):212-6.
315. Evans HS, Newnham A, Hodgson SV, Moller H. Second primary cancers after cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer in Southeast England. *Gynecol Oncol* 2003;90(1):131-6.
316. Goldie SJ, Kuntz KM, Weinstein MC, Freedberg KA, Welton ML, Palefsky JM. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions in homosexual and bisexual HIV-positive men. *Jama* 1999;281(19):1822-9.
317. 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.
318. Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *Jama* 2002;287(16):2120-9.
319. Gohy L, Gorska I, Rouleau D, Ghattas G, Pokomandy A, Vezina S, et al. Genotyping of human papillomavirus DNA in anal biopsies and anal swabs collected from HIV-seropositive men with anal dysplasia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;49(1):32-9.
320. Valari O, Koliopoulos G, Karakitsos P, Valasoulis G, Founta C, Godevenos D, et al. Human papillomavirus DNA and mRNA positivity of the anal canal in women with lower genital tract HPV lesions: predictors and clinical implications. *Gynecol Oncol* 2011;122(3):505-8.
321. Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K, Wilkens LR, Zhu X, Thompson PJ, et al. Sequential acquisition of human papillomavirus (HPV) infection of the anus and cervix: the Hawaii HPV Cohort Study. *J Infect Dis* 2010;201(9):1331-9.
322. 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.
323. Slama J, Sehnal B, Dusek L, Zima T, Cibula D. Impact of risk factors on prevalence of anal HPV infection in women with simultaneous cervical lesion. *Neoplasma* 2015;62(2):308-14.

324. Bean SM, Chhieng DC, Roberson J, Raper JL, Broker TR, Hoesley CJ, et al. Anal-rectal cytology: correlation with human papillomavirus status and biopsy diagnoses in a population of HIV-positive patients. *J Low Genit Tract Dis* 2010;14(2):90-6.
325. 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.

