

## CIRUGÍA ESPAÑOLA

[www.elsevier.es/cirugia](http://www.elsevier.es/cirugia)


## Original

# Neoplasia intraepitelial anal: resultados de la aplicación de un protocolo diagnóstico en pacientes de riesgo mediante el uso de citología anal<sup>☆</sup>

Estela Membrilla-Fernández<sup>a</sup>, David Parés<sup>a,\*</sup>, Francisco Alameda<sup>b</sup>, Marta Pascual<sup>a</sup>, Ricard Courtier<sup>a</sup>, María José Gil<sup>a</sup>, Gabriel Vallecillo<sup>c</sup>, Pere Fusté<sup>d</sup>, Miguel Pera<sup>a</sup> y Luis Grande<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Cirugía General y Digestiva, Unidad de Cirugía Colorrectal, Hospital Universitario del Mar, Barcelona, España

<sup>b</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario del Mar, Barcelona, España

<sup>c</sup>Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario del Mar, Barcelona, España

<sup>d</sup>Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario del Mar, Barcelona, España

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

## Historia del artículo:

Recibido el 16 de octubre de 2008

Aceptado el 5 de diciembre de 2008

On-line el 20 de marzo de 2009

## Palabras clave:

Neoplasia intraepitelial anal

Diagnóstico

Citología

Factores de riesgo

## RESUMEN

**Introducción:** La neoplasia intraepitelial anal es una lesión precursora del carcinoma escamoso anal. Se considera población en riesgo de padecer esta lesión a los pacientes con condilomas anogenitales, historia previa de displasia de cérvix, infección por VIH y en general los pacientes con infección por el VPH. El objetivo de este estudio es analizar los resultados de la aplicación de un protocolo diagnóstico de neoplasia intraepitelial anal en población de riesgo mediante el empleo de citología anal.

**Material y método:** El protocolo diagnóstico de neoplasia intraepitelial anal consistió en realizar una anamnesis estructurada, exploración física y citología anal, la cual se interpretó mediante los criterios de Bethesda. En este estudio observacional de corte transversal se analizan los resultados de diagnóstico de neoplasia intraepitelial anal y su asociación con factores de riesgo.

**Resultados:** Se incluyó a 64 pacientes en los que se diagnosticaron 25 alteraciones citológicas: 9 alteraciones citológicas de significado incierto o ASCUS, 15 casos de neoplasia intraepitelial anal de bajo grado y 1 de alto grado. Al relacionar la presencia de alteraciones en la citología anal con los factores de riesgo conocidos, no hubo asociación estadísticamente significativa con la presencia de condilomas ( $p = 0,22$ ), infección por VPH de alto riesgo ( $p = 0,84$ ), infección por VIH ( $p = 0,98$ ) o tabaquismo ( $p = 0,14$ ).

**Conclusiones:** La aplicación de un protocolo de detección de neoplasia intraepitelial anal en población de riesgo ha permitido detectar un 25% de pacientes con lesiones precursoras de carcinoma anal.

© 2008 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

<sup>☆</sup>Presentado en el 6.º Congrés Català de Cirurgia. Octubre de 2007.

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [Dpares@imas.imim.es](mailto:Dpares@imas.imim.es) (D. Parés).

0009-739X/\$ - see front matter © 2008 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

doi:10.1016/j.ciresp.2008.12.008

## Anal intraepithelial neoplasia: application of a diagnostic protocol in risk patients using anal cytology

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Anal intraepithelial neoplasia

Diagnosis

Cytology

Risk factors

**Introduction:** Anal intraepithelial neoplasia is a precursor condition of squamous anal carcinoma. The groups at risk of this lesion are patients with anogenital condylomata, cervical dysplasia, human immunodeficiency virus infection and, in general, patients with HPV infection. The aim of this study was to analyse the results of a diagnostics protocol of Anal Intraepithelial Neoplasia in high risk population using anal cytology.

**Patients and method:** The protocol is based on a visit in the outpatient department, clinical interview, physical examination and anal cytology evaluated by Bethesda criteria. The cross-sectional observational study was designed to study the anal smear results and their relationship with risk factors.

**Results:** A total of 64 patients were included from January 2005 to December 2006. In the overall series, 25 patients have been diagnosed with abnormal anal cytology: 9 atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS), 15 low-grade and 1 high-grade squamous intraepithelial lesions. There were no significant associations between abnormal cytology results and the presence of anal condyloma ( $p = 0.22$ ). Neither were there statistical associations found with high risk-HPV infection ( $p = 0.84$ ), HIV infection ( $p = 0.98$ ) or tobacco use ( $p = 0.14$ ).

**Conclusions:** Our diagnostic protocol of anal intraepithelial neoplasia revealed 25% of patients with pre-invasive lesions of squamous anal cancer.

© 2008 AEC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

La neoplasia intraepitelial anal (NIA) es una lesión precursora del carcinoma escamoso anal, como lo es la displasia de cérvix o CIN respecto al carcinoma escamoso cervical<sup>1</sup>. Esta lesión ha recibido otras denominaciones como carcinoma anal in situ o enfermedad de Bowen cuando afectaba únicamente a la piel perianal. Recientemente se ha propuesto la denominación de NIA, la cual puede dividirse en grado I, grado II y grado III dependiendo de la extensión en profundidad de estas lesiones en el epitelio afectado o en NIA de bajo y alto grado en las muestras de citología anal según la clasificación de Bethesda<sup>2</sup>. Al igual que ocurre en la displasia de cérvix, el responsable principal de estas lesiones es el virus del papiloma humano (VPH), sobre todo en los tipos de alto riesgo<sup>3</sup>.

El interés por esta lesión es relativamente reciente ante la detección de un aumento en la incidencia de carcinoma escamoso de ano en los últimos años<sup>4</sup>. Se ha estudiado qué individuos tienen respecto a la población general un riesgo superior de contraer este tipo de enfermedad y, por lo tanto, qué población en riesgo sería la más beneficiada si se aplicara una campaña de diagnóstico y manejo temprano de estas lesiones<sup>3</sup>. En estudios epidemiológicos se ha observado que la población con mayor prevalencia de NIA corresponde a pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pacientes con antecedentes de condilomas anales o genitales, pacientes con historia de neoplasia intraepitelial cervical (CIN) y en general, los grupos con mayor prevalencia de infección por el VPH, incluidos los sujetos con relaciones sexuales anorreceptivas<sup>5-7</sup>. Recientemente, se ha sugerido también la relación con determinados hábitos sociales como el tabaquismo<sup>8</sup>.

El objetivo principal de este trabajo es analizar los resultados en la detección de casos de NIA mediante citología anal tras la implementación de un protocolo estandarizado de diagnóstico de esta enfermedad en una población en riesgo. Secundariamente se estudia la relación entre la detección de alteraciones en la citología anal y cada uno de los distintos factores de riesgo en el grupo de pacientes a los que se le aplicó el protocolo.

## Pacientes y método

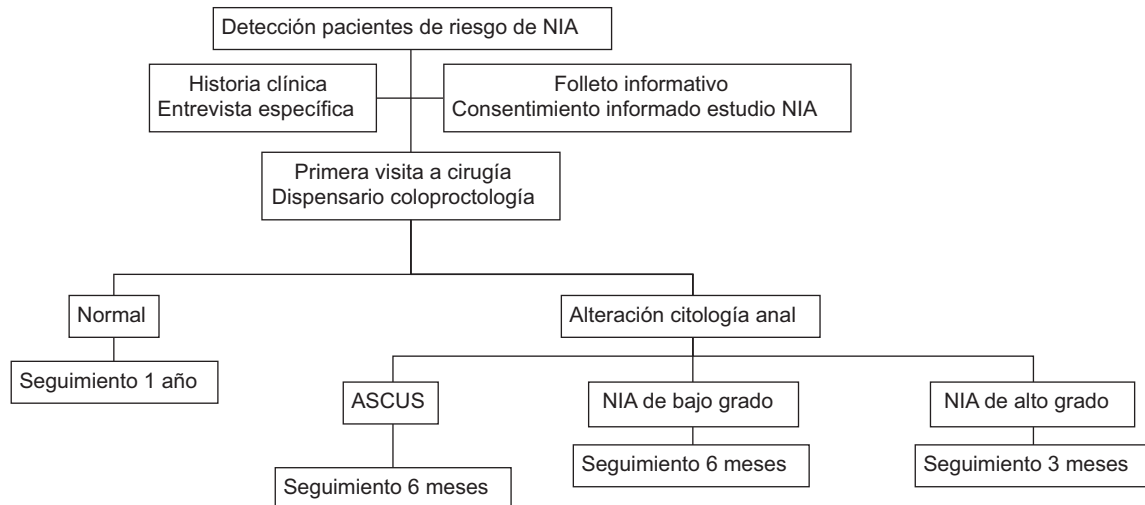
Estudio observacional de corte transversal de una serie consecutiva de casos a los que se aplicó un protocolo estandarizado de diagnóstico de NIA (fig. 1). Este protocolo fue presentado y aprobado por el comité ético de investigación clínica de nuestro hospital (código 2289).

## Criterios de inclusión

Se incluyó a todos los pacientes considerados población en riesgo por presentar alguno de los siguientes antecedentes: condilomas anales o genitales, displasia cervical o CIN, o infección por el VIH.

Los pacientes procedían de las consultas externas de los servicios de cirugía general, medicina interna o ginecología y obstetricia de nuestro hospital.

Con todos los pacientes se realizó una anamnesis estructurada, exploración física, anorrectoscopia y citología anal. Este protocolo se consensuó con los especialistas de los servicios clínicos implicados según la literatura existente.



**Figura 1 – Protocolo diagnóstico de neoplasia intraepitelial anal en población seleccionada.**

### Citología anal

La citología anal se realizó del material obtenido mediante cepillado en la consulta externa. El cepillo utilizado es el mismo que se utiliza para realizar la citología cervical. Para ello, se introduce el cepillo en el canal anal, rascando desde la piel perianal hasta 4 cm por encima del margen anal. El material para citología se obtiene tras sumergir el cepillo en un medio líquido (ThinPrep Pap Test. PreservCyt®, Marlborough, Estados Unidos). La interpretación de los resultados fue realizado por un único anatomopatólogo especializado en el diagnóstico de estas lesiones utilizando los criterios de Bethesda<sup>2,10</sup>.

En todas las muestras de citología se analizó también la presencia de infección por VPH de alto riesgo mediante la técnica de captura de híbridos de segunda generación (Digene Hybrid Capture®, Gaithersburg, Estados Unidos)<sup>11</sup>. Esta técnica permite detectar la presencia de cualquiera de los 13 tipos virales de alto riesgo en una misma reacción (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68)<sup>12</sup>.

### Factores de riesgo

Al igual que en otras series publicadas, se estudiaron si las siguientes variables consideradas factores de riesgo de NIA; estuvieron relacionadas cada una por sí sola con la detección de alteraciones en la citología anal en la muestra de pacientes: presencia de condilomas anales, detección de infección por VPH de alto riesgo, infección por VIH y finalmente el hábito tabáquico activo, considerado como el consumo mínimo de 20 cigarrillos a la semana<sup>13</sup>.

### Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se presentan con números absolutos, la media, y rango entre paréntesis. Las variables categóricas se presentan con números absolutos o porcentajes. Las variables cualitativas se compararon con el test de Chi-Cuadrado (o test exacto de Fisher cuando fue preciso).

**Tabla 1 – Resultados obtenidos en la citología anal en los 64 pacientes incluidos en el protocolo de detección de neoplasia intraepitelial anal en población seleccionada según la clasificación de Bethesda<sup>2</sup>**

	n (%)
Normal	39 (60,9)
ASCUS	9 (14)
Neoplasia intraepitelial de bajo grado	15 (23,4)
Neoplasia intraepitelial de alto grado	1 (1,5)
ASCUS: alteración citológica de significado incierto.	

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 10.0 (SPSS, Chicago, USA). Se consideró cómo significativa una p inferior a 0,05.

## Resultados

### Pacientes incluidos

Desde enero de 2005 a diciembre de 2006, en este protocolo de diagnóstico de NIA se incluyó a 64 pacientes (el 76,5% varones): 44 por presentar condilomas anales, 14 casos por infección por VIH, y 6 pacientes con historia de CIN. La media de edad fue 33 (intervalo, 22–82) años, y en el total de la serie, 35 (48%) individuos eran fumadores activos.

### Resultados de la citología anal

Tal cómo se observa en la [tabla 1](#), se detectaron alteraciones en la citología anal en 25 (39%) casos: de ellos, 9 presentaron alteraciones citológicas de significado incierto o ASCUS y 16 (25%) tenían lesiones compatibles con NIA. Se detectó infección por el VPH de alto riesgo en 31 (48,4%).

**Tabla 2 – Resultados del estudio de la relación entre la presencia de factores de riesgo y los hallazgos de neoplasia intraepitelial anal en citología anal en los pacientes de la serie**

	Pacientes con anomalías en la citología anal (n = 25), n (%)	Pacientes con estudio normal (n = 39), n (%)	p*
Condilomas anales	17 (68)	27 (69,2)	0,22
VPH de alto riesgo	13 (52)	18 (46,1)	0,84
Infección por VIH	5 (20)	9 (23)	0,98
Fumador activo	17 (68)	18 (46,1)	0,14

\* Prueba de la  $\chi^2$ .

### Estudio de factores de riesgo

Como se puede observar en la [tabla 2](#), no hubo asociación estadísticamente significativa entre la presencia de alteraciones en el resultado de la citología anal y la presencia de condilomas anales, infección por el VPH de alto riesgo, ser portador del VIH o ser fumador activo.

### Discusión

La incidencia del carcinoma escamoso anal ha aumentado en los últimos 30 años, sobre todo en pacientes con infección por VIH, hasta cifras comparables a la prevalencia que tenía el carcinoma de cérvix cuando todavía no habían sido introducidos los métodos de cribado poblacional<sup>8</sup>. Más preocupante aún es el hecho de que el carcinoma anal se diagnostica habitualmente de manera tardía con gran extensión local o a distancia<sup>4</sup>. Por ello ha sido objeto de interés en los últimos años la implementación de campañas de diagnóstico precoz de carcinoma escamoso de ano o de sus lesiones precursoras en población con factores de riesgo<sup>9</sup>. En este estudio se ha detectado un 25% de casos de NIA tras aplicar un protocolo estandarizado de detección en población seleccionada mediante el uso de citología anal. Este porcentaje en pacientes en riesgo es similar a la única experiencia europea publicada hasta el momento y permite plantear la necesidad y normalización de métodos de cribado en grupos de población específicos<sup>13</sup>.

La NIA de alto grado es una entidad que se considera premaligna de manera similar a las lesiones precursoras del carcinoma de cérvix, cuya incidencia y prevalencia parece que ha aumentado en los últimos años<sup>7,14</sup>. Desde el punto de vista histopatológico, la NIA se define por la presencia de un cambio progresivo del epitelio normal del canal anal por células inmaduras que tienen características de células basales<sup>15</sup>. Mediante citología anal puede definirse de forma similar a las lesiones del cérvix uterino y, por lo tanto, puede utilizarse la clasificación de Bethesda, que diferenciaría entre lesiones de bajo y alto grado<sup>2,3</sup>. Aunque los resultados diagnósticos mediante biopsias anales múltiples parecen ser más exactos por la cantidad de material obtenido y porque permite conocer con exactitud la localización de las lesiones, la necesidad de someter al paciente a una prueba más

cruenta bajo anestesia otorgan un atractivo a la citología obtenida por escobillón<sup>13</sup>. Se trata de un método poco invasivo que puede realizarse en la consulta externa durante la primera visita del paciente sin preparación previa ni anestesia y debemos entender que el objetivo es sobre todo el diagnóstico precoz de lesiones premalignas para realizar un seguimiento adecuado del paciente<sup>16</sup>. Este razonamiento comporta que no sea tan necesaria la determinación anatómica exacta de la lesión en el canal anal como su diagnóstico. Mediante esta técnica puede determinarse también la presencia de infección por los tipos de alto riesgo de VPH. La presencia de esta infección se utiliza en las pacientes con CIN para evaluar la presencia de un mayor riesgo de carcinoma invasor, factor determinante en las pautas de seguimiento. Este dato quizá también podrá ser útil en el seguimiento tras el diagnóstico de NIA<sup>10,13</sup>.

Los primeros estudios publicados determinaron que la citología anal detectaba alrededor de un 35% de lesiones de NIA en comparación con las biopsias<sup>4</sup>. Esta baja sensibilidad se debía fundamentalmente a la dificultad de obtener una buena muestra en la consulta por la contaminación fecal. Hoy las técnicas citológicas han mejorado de forma significativa y la sensibilidad para detectar NIA alcanza el 80% en los pacientes con infección por VIH y supera al 50% en los pacientes no infectados<sup>7,17</sup>.

Aunque no fue el objetivo de este estudio, durante el seguimiento de estos pacientes no se detectó ningún caso de carcinoma invasor anal en los casos diagnosticados de NIA o en el resto de la serie de pacientes sometidos a este protocolo. A pesar de ello, merece la pena comentar que nuestra estrategia, una vez diagnosticado un caso de NIA y de acuerdo con otros grupos, consistió en realizar un calendario de seguimiento con una nueva visita en consultas externas con anorrectoscopia y nueva citología anal. Esta visita se realizó a los 6 meses en los casos de NIA de bajo grado, o tras 3 meses en el caso de pacientes con NIA de alto grado o con antecedentes de inmunodepresión o infección por VIH ([fig. 1](#))<sup>7</sup>. En los casos en los que durante el seguimiento el paciente presentara algún síntoma sospechoso de carcinoma invasor anal —como por ejemplo cambios en la exploración física o rectorragias— o se detectara progresión del grado de displasia en las citologías anales por cepillado, se debería indicar intervención quirúrgica para la realización de exploración quirúrgica con biopsias anales seriadas o de lesiones

sospechosas de carcinoma invasor anal. En nuestra experiencia no fue necesario en ninguno de los casos de la serie de pacientes incluidos.

La relación entre carcinoma escamoso anal, NIA y el VPH se conoce desde hace años<sup>18</sup>. De los más de 200 tipos de VPH, los tipos oncogénicos o de alto riesgo causan lesiones displásicas de alto grado y carcinoma de células escamosas de cuello uterino y de ano<sup>8</sup>. El uso de sondas de alto riesgo para la detección del ADN de estos tipos del VPH ha influido en el elevado grado de detección del virus en las muestras obtenidas en los últimos años. La captura de híbridos parece tener cierto beneficio respecto al uso de la técnica por PCR, en cuanto a que disminuye las interferencias debidas al alto grado de contaminación y que es una técnica de mayor sencillez técnica para su uso en el laboratorio<sup>12</sup>. Nuestro porcentaje de identificación del VPH de alto riesgo en las muestras fue del 52% en los pacientes con alteraciones en la citología, frente al 46,1% en el grupo de pacientes sin lesiones; estas cifras son algo inferiores a las publicadas<sup>13</sup>.

La incidencia publicada de lesiones de NIA es mayor en el grupo de pacientes con condilomas, infectados por el VIH, sobre todo en sujetos con relaciones sexuales anorreceptivas<sup>14,19</sup>. A pesar de ello y probablemente debido a que la muestra todavía es insuficiente en nuestros resultados no se pudo demostrar la relación entre las alteraciones en la citología anal y la presencia de condilomas o la infección por el VIH. Algunos metaanálisis relacionaron la infección por el VIH y el carcinoma de cérvix, y lo mismo parece suceder con la NIA y el carcinoma escamoso anal<sup>20</sup>. Por otro lado, se conoce también que la NIA está íntimamente relacionada con la presencia de distintos grados de inmunodepresión<sup>14,21</sup>. Estas observaciones han permitido postular la hipótesis de que la inmunodeficiencia favorecería la replicación del VPH y ésta actuaría como factor promotor de la carcinogénesis sinérgicamente con otros factores, la mayoría todavía desconocidos<sup>7</sup>. Por todo ello se considera que el VIH podría favorecer la replicación de los tipos asociados a un mayor riesgo de progresión de la displasia o aumentar sinérgicamente su acción lesiva<sup>20</sup>. En esta línea pensamos que sería interesante estudiar la relación entre los grados de NIA y el grado de infección en individuos con infección por VIH (carga viral y nivel de linfocitos CD4).

La relación entre el tabaquismo y NIA detectada por citología anal sólo ha sido comunicada por un grupo en la literatura. Etienney et al<sup>13</sup>, tras la aplicación de un protocolo de citología anal también en una población seleccionada, detectaron, al igual que en nuestro estudio, un aumento de las lesiones de NIA en pacientes fumadores activos. La relación del tabaco con el carcinoma escamoso de ano había sido comunicada en la literatura sin conocer el efecto del tabaco por sí mismo o su asociación con otros factores de riesgo asociados como hábitos sexuales de riesgo o la propia infección por el VPH<sup>8</sup>. A pesar de ello se ha señalado que ciertas sustancias químicas contenidas en el tabaco podrían determinar cambios tóxicos en el ADN del epitelio del canal anal y, por lo tanto, podrían explicar en parte estos hallazgos<sup>22</sup>.

Un aspecto que vale la pena resaltar es que, para evaluar las alteraciones del epitelio transicional anal, se requiere una gran experiencia, ya que puede haber un número importante

de falsos positivos. De hecho, se considera necesario que los patólogos implicados en programas de diagnóstico y tratamiento de estas lesiones tengan una especial dedicación a la interpretación de estas lesiones, sobre todo atendiendo a la gran variación entre observadores en la determinación de los distintos grados de displasia<sup>23</sup>. En nuestro grupo un único patólogo especializado en lesiones escamosas del cérvix y de ano ha interpretado todas las muestras.

En conclusión, la aplicación de un protocolo de diagnóstico de NIA en población de riesgo ha permitido un diagnóstico elevado de estas lesiones. A pesar de ello, se trata de un estudio preliminar, por lo que es necesario un mayor número de estudios prospectivos y, de ser posible, multicéntricos para determinar el beneficio clínico de la detección de dichas lesiones.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Scholefield JH, Castle MT, Watson NF. Malignant transformation of high-grade anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg.* 2005;92:1133-6.
- Smith JH. Bethesda 2001. *Cytopathology.* 2002;13:4-10.
- Zbar AP, Fenger C, Efron J, Beer-Gabel M, Wexner SD. The pathology and molecular biology of anal intraepithelial neoplasia: comparisons with cervical and vulvar intraepithelial carcinoma. *Int J Colorectal Dis.* 2002;17:203-15.
- Abbasakoor F, Boulos PB. Anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg.* 2005;92:277-90.
- Marchesa P, Fazio VW, Oliart S, Goldblum JR, Lavery IC. Perianal Bowen's disease: a clinicopathologic study of 47 patients. *Dis Colon Rectum.* 1997;40:1286-93.
- Devaraj B, Cosman BC. Expectant management of anal squamous dysplasia in patients with HIV. *Dis Colon Rectum.* 2006;49:36-40.
- Parés D, Mullerat J, Pera M. Anal intraepithelial neoplasia. *Med Clin (Barc).* 2006;127:749-55.
- 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;101:270-80.
- Anderson JS, Vajdic C, Grulich AE. Is screening for anal cancer warranted in homosexual men? *Sex Health.* 2004;1:137-40.
- 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;81:142-6.
- Carvalho MO, Almeida RW, Leite FM, Fellows IB, Teixeira MH, Oliveira LH, et al. Detection of human papillomavirus DNA by the hybrid capture assay. *Braz J Infect Dis.* 2003;7:121-5.
- Sirera G, Videla S, Castella E, Cavalle L, Grane N, Llatjos M, et al. Contribution of human papillomavirus second-generation hybrid capture test for the diagnosis of cervical pathology in HIV-infected outpatients. *Med Clin (Barc).* 2005;125:127-31.
- Etienney I, Vuong S, Daniel F, Mory B, Taouk M, Sultan S, et al. Prevalence of anal cytologic abnormalities in a French referral population: a prospective study with special emphasis on HIV, HPV, and smoking. *Dis Colon Rectum.* 2008;51:67-72.
- Pera M, Sugranes G, Ordi J, Trias M. Association between human papillomavirus infection, premalignant lesions of anal cancer, and the human immunodeficiency virus: prospective study on subjects with condylomata acuminata. *Med Clin (Barc).* 1999;113:13-4.

15. Scholefield JH, Sonnex C, Talbot IC, Palmer JG, Whatrup C, Mindel A, et al. Anal and cervical intraepithelial neoplasia: possible parallel. *Lancet*. 1989;2:765-9.
16. Friedlander MA, Stier E, Lin O. Anorectal cytology as a screening tool for anal squamous lesions: cytologic, anoscopic, and histologic correlation. *Cancer*. 2004;102:19-26.
17. 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;81:415-8.
18. Palefsky J. Editorial comment: screening and treatment of AIN to prevent anal cancer—where do we stand? *AIDS Read*. 2005;15:87.
19. Palefsky JM, Holly EA, Efirdc JT, Da Costa M, Jay N, Berry JM, et al. Anal intraepithelial neoplasia in the highly active antiretroviral therapy era among HIV-positive men who have sex with men. *AIDS*. 2005;19:1407-14.
20. Mandelblatt JS, Kanetsky P, Eggert L, Gold K. Is HIV infection a cofactor for cervical squamous cell neoplasia? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999;8:97-106.
21. Mullerat J, Deroide F, Winslet MC, Perrett CW. Proliferation and p53 expression in anal cancer precursor lesions. *Anti-cancer Res*. 2003;23:2995-9.
22. Phillips DH, Hewer A, Scholefield JH, Skinner P. Smoking-related DNA adducts in anal epithelium. *Mutat Res*. 2004;560:167-72.
23. 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;103:1447-56.