

TESIS DOCTORAL

**“VALIDEZ DE LA PCR DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN EL
DIAGNÓSTICO DE LESIONES DE LA MUCOSA ANAL PREMALIGNAS
(HSIL) y/o cáncer de ANO EN PACIENTES HOMBRES QUE TIENEN
SEXO CON HOMBRES VIH POSITIVOS”**

Doctoranda: María del Mar Rivero Rodríguez

Universidad de Granada

Directora de tesis: Dra. Carmen Hidalgo Tenorio

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: María del Mar Rivero Rodríguez
ISBN: 978-84-9163-285-6
URI: <http://hdl.handle.net/10481/47198>

Agradecimientos:

A mi familia, amigos y compañeros de trabajo, que tanto me han alentado y aguardaron para leer esta Tesis. A Carmen Hidalgo por su esfuerzo inagotable y competencia profesional, que de una forma tan positiva ha influido decisivamente en la finalización del proyecto. A los compañeros motivados por el estudio, que se han implicado en el mismo de forma desinteresada y responsable: Mercedes López de Hierro, Javier Esquivias, Rodrigo López, Ángel Concha, Pablo Palma, Inmaculada Segura, Concepción Gil, Juan Pasquau, Miguel Ángel López-Ruz, Charo Javier, Antonio Tapia, Mercedes Álvarez, Casilda Jáspez. Al Hospital Virgen de las Nieves por apoyar económicamente mediante la adquisición del material necesario y facilitar la inclusión en la programación de las unidades participantes (Unidad de Infecciosas, Unidad de Endoscopias y Anatomía Patológica) de nuestros pacientes para poder desarrollar el proyecto de investigación.

Abreviaturas:

AAR: Anuscopia de alta resolución

AIN: Neoplasia intraepitelial anal

ASIL: Lesión intraepitelial escamosa anal.

CCA: Cáncer de canal anal

CD4: Linfocitos CD4

CIN: Neoplasia intraepitelial cervical.

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

DT: Diagnóstico tardío

Enf A: Enfermedad Avanzada

EC: Ensayo clínico.

HSH: Hombres que tienen sexo con hombres.

HTX: Heterosexual.

HSIL: Lesiones intraepiteliales de alto grado (“High squamous intraepithelial lesions”)

I.T.S: Infección de transmisión sexual.

LSIL: Lesiones intraepiteliales de bajo grado (“Low squamous intraepithelial lesions”)

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

TAR: Tratamiento antirretroviral.

UDVP: Usuario de drogas por vía parenteral.

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.

VPH: virus del papiloma humano.

VHP-AR: virus del papiloma humano de alto riesgo.

VHP-BR: virus del papiloma humano de bajo riesgo.

ÍNDICE:

1. PANDEMIA DEL VIH:	6-15
1.1 EVOLUCIÓN DE LA PANDEMIA	7-8
1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA PANDEMIA	8-15
1.2.1. EPIDEMIOLOGÍA MUNDIAL	8-10
1.2.2. EPIDEMIOLOGÍA EN ESPAÑA	10-14
1.2.3. EPIDEMIOLOGÍA EN ANDALUCÍA	14-15
2. NEOPLASIAS EN EL PACIENTE VIH:	16-36
2.1. NEOPLASIAS DEFINITORIAS DE SIDA	16-18
2.2. NEOPLASIAS NO DEFINITORIAS DE SIDA	19-20
2.2.1. CARCINOMA ANAL	20-21
2.2.1.1. INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO ANTIRETROVIRAL EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER ANAL	21-23
2.2.1.2. DESPISTAJE DE HSIL Y CANCER ANO.....	23-29
2.2.1.3. TRATAMIENTO HSIL	29-33
2.2.2.3. PROFILAXIS HSIL/C. ANAL	33-36
3. VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH):	37-46
3.1. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN VPH	38
3.2. FACTORES DE RIESGO PARA LA ADQUISICIÓN DE VPH	38-39
3.3. PATOGÉNESIS DEL VPH	39-43
3.4. MÉTODOS DE DETECCIÓN DEL VPH	43-46

3.5 NEOPLASIAS ASOCIADAS A VPH	46
3.6 VPH Y HOMBRES QUE TIENE SEXO CON HOMBRES (HSH) VIH POSITIVOS	47-49
4. HIPÓTESIS	50-51
5. OBJETIVOS	52-53
6. PACIENTES Y MÉTODOS	54-60
7. RESULTADOS	61-71
8. DISCUSIÓN	72-79
9. CONCLUSIONES	80-82
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83-99
11. ANEXO ARTÍCULOS	100 -131

CAPÍTULO 1: LA PANDEMIA DEL VIH

1.1. EVOLUCIÓN DE LA PANDEMIA

Desde el diagnóstico del primer caso de SIDA en Estados Unidos en 1981, en un varón homosexual (HSH), la epidemia de VIH ha ido creciendo a lo largo de las tres décadas posteriores, convirtiéndose en una de las más importantes epidemias de nuestro tiempo (1).

Datos obtenidos en los últimos años por la ONU (Organización de las Naciones Unidas), muestran una tendencia decreciente en los casos de mortalidad asociada al VIH a nivel mundial, pasando de 1,5 millones de defunciones en 2010 a 1,1 millones en 2015 (2).

El porcentaje de los nuevos diagnósticos de VIH también ha experimentado una caída en torno al 38% desde 2001 a 2015 (3), cambio que se atribuye principalmente a un mayor acceso al tratamiento antirretroviral (TAR). Así a finales de 2015, 17 millones de pacientes VIH positivos en todo el mundo tuvieron acceso al TAR, siendo 10,3 millones procedentes del Sur y Este de África; de esta forma se ha reducido a nivel mundial el porcentaje de pacientes no tratados pasando del 90% en 2006 al 46% en 2015 (2, 4).

Por otra parte, el hecho de haber permitido un mayor acceso de las mujeres seropositivas embarazadas al TAR ha evitado que 900.000 niños adquieran la infección desde 2009 a 2013(3). De esta forma, en 2015 el número de nuevos casos diagnosticados en niños fue de 150.000, lo que supone un descenso de casi el 50% con respecto al año 2010(2). Así en regiones especialmente afectadas por la pandemia, como son el Este y Sur de África el porcentaje de transmisión vertical del VIH se ha reducido desde 2010 a 2015 de un 18% a un 6%. Otras regiones ampliamente afectadas como el Norte de África no han experimentado un descenso tan llamativo, y un tercio de las mujeres infectadas transmiten el virus a sus descendientes (5).

Gran parte del incremento en el acceso al TAR en los países en desarrollo se debe al

uso de combinaciones a dosis fijas de antirretrovirales, lo cual ha permitido que se abarate su producción y se facilite la adhesión y administración (6).

1.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA PANDEMIA:

1.2.1. EPIDEMIOLOGÍA MUNDIAL:

36,7 millones es la cifra estimada de personas infectadas por el VIH/SIDA en el mundo a finales de 2015 (7), y más de 35 millones las que han fallecido desde los inicios de la epidemia (8).

En África subsahariana se presenta la situación más dramática. El 71% del total de infectados a nivel global viven en esta región del planeta (24,7 millones de infectados por el VIH) (9). Sólo en el Este y Sur de África se registran la mitad de los casos de infección a nivel mundial. Las estrategias para controlar la pandemia en esta área del planeta comienza a dar sus frutos, entre los años 2010 y 2015 el número estimado de nuevas infecciones en adultos descendió un 4% (910.000 casos), y en niños (0- 14 años) un 66% (9). Este descenso tan importante de los nuevos diagnósticos en niños ha sido posible gracias a la ampliación de la cobertura mediante los programas de prevención de la transmisión Vertical, que se ha incrementado de 61% en 2010 a 90% en 2015 (10). La transmisión del VIH en África se produce fundamentalmente vía heterosexual, siendo 55-93% parejas serodiscordantes, y 59% mujeres, según cifras estimadas a finales de 2015 (10).

El 20% de las nuevas infecciones en adultos en 2014 se observó entre las poblaciones de riesgo: hombres que tienen sexo con hombres (HSH), trabajadores del sexo, adictos a droga por vía parenteral y parejas sexuales pertenecientes a los miembros de los grupos de riesgo (11). En el Oeste y Centro de África (25 países con una población de unos 245 millones de personas), la situación es parecida a la descrita en el Este y Sur,

2% de la población está infectada por el VIH (6,5 millones de casos en 2015), de los cuales 500.000 son niños y un 54% de los adultos infectados, mujeres (12).

Asia es la segunda región del planeta, tras África sub-sahariana, donde se registran más casos de VIH. Se estima que existan unos 5 millones de infectados, según datos obtenidos a finales de 2015, 36% de los casos mujeres, y de estas, 300.000 entre 15-24 años, lo que constituye un 37% de todos los nuevos diagnósticos (13). Las vías de transmisión varían entre los distintos países, así como entre las distintas regiones de un mismo país a lo largo del tiempo. En países como Malasia y Tailandia, por ejemplo, el porcentaje de nuevos infectados entre usuarios de droga vía parenteral cayó entre los años 1995 y 2015; sin embargo, en este mismo período el porcentaje de nuevos casos atribuibles a HSH ha experimentado un notable incremento. La prevalencia de VIH en 9 de los 19 países que han aportado datos, es mayor del 5% con cifras muy superiores en núcleos urbanos como Bangkok (Tailandia) con una prevalencia del 28%, o Yangon (Myanmar) del 26% (13).

En Europa, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), durante el año 2014, la incidencia de nuevos casos notificados de VIH en este período estaba alrededor de 16,4 por 100.000 habitantes (información procedente de 50 países). En el ámbito de la Unión Europea (UE), se notificaron 29.958 nuevos diagnósticos de VIH equivalente a 6,4 casos/100.000 habitantes (14). De los casi 30.000 nuevos diagnósticos el 77% se dieron en hombres, con una ratio hombre /mujer de 3,5:1. De los nuevos casos el 14,6% se produjeron en gente joven, con edades comprendidas entre 25 y 29 años. En cuanto a la vía de transmisión, existe un claro predominio sexual: 42 % HSH, 33 % heterosexuales (HTS), 4% usuarios drogas por vía parenteral (UDVP) y 19% de origen desconocido (15). La tendencia en el mecanismo de

transmisión del VIH se ha ido modificando a lo largo de la última década, observándose un incremento progresivo de los nuevos diagnósticos entre HSH 30% en 2005, 42% 2014; disminución en la población HTS que ha pasado de constituir casi la mitad de los nuevos diagnósticos en el año 2005 (48%) a una tercera parte en 2014 (33%). Asimismo, han descendido los nuevos casos entre UDVP para este período pasando de 6,4% a 4%; en transmisión vertical de 288 a 215; con un aumento de los casos de adquisición desconocida, 13% en 2005 y 19% en 2014 (15). A continuación se expone en la tabla 1, los datos referentes a las principales vías de transmisión y la incidencia de nuevos diagnósticos de VIH en Europa, según la OMS (16).

Tabla 1. Vías de transmisión del VIH en Europa.

Áreas geográficas	WHO Europa*	Oeste	Centro	Este*	UE/EEA
Países participantes/nº países	50/54	23/23	15/15	12/16	30/31
Nº diagnósticos VIH	46.715	20.621	2.077	24.378	21.579
Cifra por 100.000 habitantes	7.9	6.4	2.6	22.3	5.9
Vía transmisión					
HSH	13.926(29,81%)	8.679(18,57%)	878(1,87%)	529(1,13%)	9.110(19,5%)
Heterosexual	26.644(46,78%)	9.212(16,17%)	1.205(2,5%)	16.247(28,53%)	9.833(17,26%)
ADVP	7.998(14,04%)	856(1,5%)	270(0,4%)	6.872(14,7%)	1.244(2,6%)
Transmisión vertical	550(1,17%)	211(0,45%)	50(0,10%)	289(0,61%)	236(0,5%)

Todos los datos fueron obtenidos a partir del ECDC/WHO a través del Sistema de Vigilancia Europeo, excepto en el caso de Rusia, obtenido a través del Centro Metodológico y Científico Federal Ruso para el Control y la Prevención de SIDA.

1.2.2. EPIDEMIOLOGIA EN ESPAÑA

En nuestro país disponemos de un sistema de vigilancia epidemiológica del VIH (SINVIH), a través del cual se notifican los nuevos diagnósticos de VIH/SIDA, tanto si se trata de infecciones recientes como adquiridas años atrás.

Este programa forma parte del plan nacional de SIDA, y depende del Ministerio de Sanidad, Igualdad y Política Social. Las distintas comunidades autónomas han ido uniéndose progresivamente desde el año 2003, siendo Andalucía la última en adscribirse en 2013, hecho que ha facilitado una cobertura actual del 100% del territorio nacional (17).

Para la caracterización de los nuevos diagnósticos de VIH del año 2014 se utilizaron los casos notificados de 17 CCAA, Ceuta y Melilla. Para observar las tendencias se han utilizado los datos de 15 CCAA, Ceuta y Melilla, que aportaron casos de forma regular desde el año 2009 a 2014 y que representan un 71,3% del total de la población española (17). En el año 2014, se notificaron 3.366 nuevos diagnósticos de VIH, lo que supone una tasa de 7,25/100.000 habitantes sin corregir por retraso en la notificación. Tras corregir por este retraso, se estima que la tasa era de 9,34 por 100.000 habitantes (18). 84,7% eran hombres y la mediana de edad 35 años. La transmisión de HSH fue la más frecuente (53,9%), seguida de la heterosexual (26,0%), y la de UDVP (3,4%). 32,1% de los nuevos diagnósticos se realizó en personas originarias de otros países, y 46,2% presentaron un diagnóstico tardío ($CD4 < 350$ células/mm³) (18).

En el periodo 2009-2014 se aprecian diferentes tendencias en la incidencia de nuevos diagnósticos de VIH según modo de transmisión, descenso en UDVP y heterosexuales, (a costa de las mujeres y estabilización en hombres), y estabilización en HSH. Como resultado, las tasas globales permanecen bastante estables (18).

Desde el año 2003, y con las sucesivas incorporaciones al sistema, se han notificado un total de 34.690 diagnósticos de infección por VIH. Las tasas anuales de nuevos casos por 100.000 habitantes, sin ajustar por retraso de notificación, oscilaron entre 12,38 en 2008 y 7,25 en 2014 (19). En la tabla 2 se recogen los nuevos casos diagnosticados

en España en los últimos años, ordenados por sexo (20).

Tabla 2. Distribución de nuevos diagnósticos de VIH en España. Período 2009-2014.

Año diagnóstico	Hombre(n/%)	Mujer (n/%)	Total (n/%)
2009	2915 (80,3%)	713(19,7%)	3628 (100%)
2011	2881 (82,5%)	612 (17,5%)	3493 (100%)
2014	2060 (84,4%)	380 (15,6%)	2440 (100%)

En el año 2014, el 32% de los nuevos diagnósticos de infección por VIH se realizó en personas originarias de otros países siendo el más frecuente Latinoamérica (15%), y de ellos el 50% mujeres (19).

En cuanto a la distribución de la infección por géneros, se ha producido una reducción en el porcentaje de mujeres primoinfectadas, pasando de un 19,7% en 2009 a 15,6% en 2014. En los hombres la tasa se ha mantenido estable sin cambios y superior a la de mujeres en todo el periodo (21).

La transmisión en HSH fue la más frecuente, ha pasado de 47,5% en 2009 a 55,2% en 2014. La transmisión del VIH por vía heterosexual y UDVP, en ambos géneros ha disminuido durante este mismo período (21).

La tabla 3 refleja la distribución de los nuevos diagnósticos de VIH por año de transmisión y mecanismo de adquisición (22).

Tabla 3. Distribución de nuevos diagnósticos de VIH por categoría de transmisión

Año diagnóstico	HSH (n/%)	ADVP(n/%)	Transfusiones *(n/%)	Madre-hijo (n/%)	HTS(n/%)	Desconocido(n/%)	Total (n/%)
2009	1724 (47,5%)	299 (8,2%)	4 (0,1%)	13 (0,4%)	1228 (35,8%)	345 (9,5%)	8628(100%)
2012	1794 (53,4%)	172 (5,2%)	2(0,1%)	6 (0,2%)	976 (29,6%)	343 (10,4%)	3299 (100%)
2014	1346 (55,2%)	88 (3,6%)	10 (0,1%)	2 (0,1%)	681 (27,9%)	319 (13,1%)	2440 (100%)

Otra de las características analizadas en los nuevos diagnósticos, fue el estado de progresión de la infección en el momento en el que ésta era diagnosticada, para ello se definen dos conceptos:

- Diagnóstico tardío (DT): el recuento de linfocitos CD4 es inferior a 350 células/mm³.
- Enfermedad Avanzada (Enf. A): el recuento de linfocitos CD4 es inferior a 200 células/mm³.

En cuanto al diagnóstico tardío (DT) y enfermedad avanzada (EnfA) en pacientes VIH españoles representan 46,2% y 27,7%, respectivamente. En función del género y modo de transmisión, el DT es máximo en el grupo de UDVP (75%), seguido por el de los varones (58,6%) y mujeres (55,3%) heterosexuales. Los HSH, con un 39,5%, son el grupo con menor DT; sin embargo, dado el peso que tienen en las cifras globales, representan el más numeroso entre los casos de VIH con DT (48% del total).

El DT aumenta también con la edad, pasando de un 30,5% en el grupo de 20 a 24 años, hasta un 66,1% en los mayores de 49 años (Fig.1) (19).

Figura 1. Nuevos diagnósticos tardíos de VIH. Diagnóstico tardío según el sexo. España, año 2014.

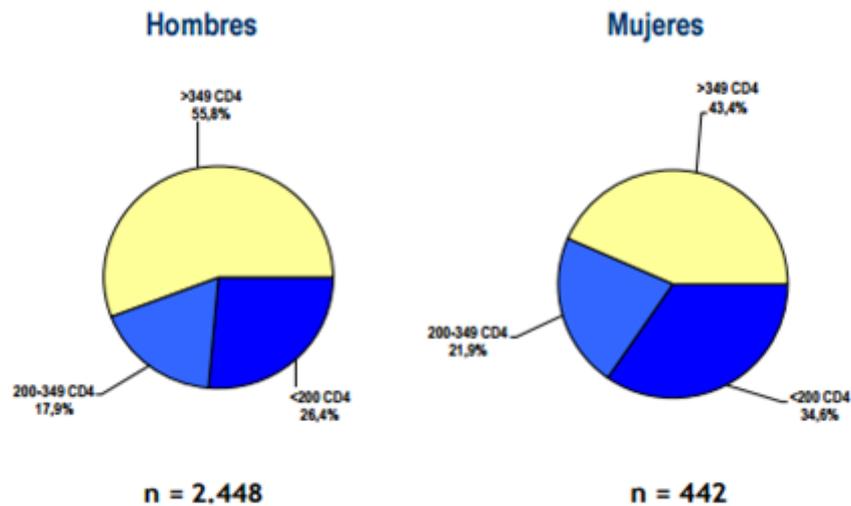


Figura tomada de:
http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf

1.2.3. EPIDEMIOLOGÍA EN ANDALUCÍA:

En la comunidad autónoma de Andalucía, el registro de nuevos casos de infección por VIH se realiza a través del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Andalucía (SVEA), el último registro publicado data del año 2006. Por otra parte, la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI), realiza una encuesta de prevalencia periódica/anual. Los datos procedentes de SAEI (demográficos, epidemiológicos, clínicos y analíticos) han permitido conocer el comportamiento de la epidemia en nuestra comunidad desde 1998 en adelante (23), y coincide con los cambios epidemiológicos producidos en los últimos años en el resto del mundo desarrollado (disminución importante de la transmisión parenteral, mejoría del nivel cultural y diagnóstico de la enfermedad en mejor estado inmunológico) (24).

En tabla 4 se exponen las diferencias en las tendencias de las principales características epidemiológicas y clínicas que presentaban los pacientes andaluces entre 1998-2001 y 2002-2008 (24).

Tabla 4. Características epidemiológicas y clínicas entre los períodos A (1998-2001) y B (2002-2008) en el momento del diagnóstico.

Variables	Período A (n=293)	Período B (n=321)	p
Sexo masculino	211 (72%)	239 (74,4%)	0,4
Edad (años)	38,2 (30,5-44)	38,1 (30-44)	0,8
Transmisión VIH			
ADVP	97 (33,1%)	60 (18,6%)	
HSB	66 (22,5%)	98 (30,5%)	
HTX	113 (38,5%)	140 (43,6%)	
Otro	17 (5,8%)	23 (7,1%)	
Sida	123 (41,9%)	107 (33,3%)	0,03
TAR	221 (75,6%)	225 (70,1%)	0,1
CD4 (cél/mL)	245 (58-385)	305 (90-446)	0,03
CD4 <350 células/mL	191 (65,1)	190 (59,1)	0,009
CD4 <200 células/mL	142 (48,4)	130 (40,4)	0,007
CD4 < 50 células/mL	60 (20,4)	51 (15,8)	0,07

Las variables cuantitativas se expresan como media (IQR) y las cualitativas como n (%)

CAPÍTULO 2. NEOPLASIAS EN PACIENTES VIH

Los pacientes infectados por el VIH tienen mayor riesgo que la población general de desarrollar neoplasias. En el periodo previo al uso del TAR la mortalidad por cáncer era inferior al 10%; tras la introducción de este, se produjo un incremento importante en las cohortes hasta del 28% (25).

2.1. NEOPLASIAS DEFINITORIAS DE SIDA

Desde el inicio de la epidemia del VIH en el mundo, varias neoplasias se han incluido en el grupo de enfermedades definitorias de SIDA, la primera fue el sarcoma de Kaposi, seguido del linfoma no-Hodgkin (LNH), y carcinoma invasivo de cérvix (26,27). En el transcurso de la epidemia, la incidencia de dichas neoplasias se ha reducido significativamente lo que se atribuye a la introducción del TAR; este hecho está bien reflejado en el estudio de diversas cohortes de pacientes VIH, como la suiza (Swiss); en la que se observó una reducción global progresiva de estas a lo largo de los 3 períodos analizados: 88% en la era pre-TAR (1985-1996), 47% pre-TAR precoz (1997-2001), y 33% TAR tardío (2002-2006) (28). En cuanto al sarcoma de Kaposi (SK), la ratio de incidencia estandarizada (RIS) se redujo de forma significativa desde la era pre-TAR a la del TAR tardío (246 vs 23, respectivamente); asimismo, el LNH pasó de 103 a 16; y el cáncer de cérvix de 8,4 a cero (28). La tabla 5 ofrece un resumen de la incidencia observada y esperada de las neoplasias definitorias y no definitorias de SIDA en los períodos pre-TAR, TAR precoz y TAR tardío de la cohorte suiza (28).

Tabla 5. Neoplasias observadas y esperadas en los distintos períodos:

Tipo de neoplasia	Pre- TAR (1985-1996)			TAR precoz (1997-2001)			TAR tardío (2001-2006)		
	O/E	SIR	95%IC	O/E	SIR	95%IC	O/E	SIR	95%IC
DEFINITORIAS de SIDA									
Sarcoma de Kaposi	272/1.1	246	218-277	35/0,7	47,8	33,3-66,6	14/0,6	22,9	12,5-38,5
LNH	191/1,9	103	88,8-119	52/1,9	26,7	19,9-35,1	32/2	16,2	11,1-22,9
C. Cérvix	4/0,5	8,4	2,2-21,8	2/0,5	3,7	0,3-13,6	0/0,5	-	-
Todas las neoplasias definitorias de SIDA	46/73,4	136	124-149	89/3,2	27,7	22,2-34,1	46/3,1	14,7	10,8-19,6
NO DEFINITORIAS SIDA									
C. Ano	2/0,1	25,7	2,4-94,5	12/0,1	112	57,8-19	6/0,1	49,9	18-109
Todas las neoplasias	529/30,1	17,6	16,1-19,1	189/40,6	4,7	4-5,4	140/46	3	2,6-3,6

LNH=Linfoma no-Hodgkin; C=carcinoma; O=observada; E=esperada; SIR=ratio de incidencia estandarizada; IC=intervalo de confianza.

Datos similares se encuentran en otras cohortes, como la americana (US AIDS) donde se analizaron un total de 325.516 adultos infectados por el VIH, y se comparó el comportamiento de las neoplasias definitorias de SIDA entre los períodos pre-TAR (1990-1995) y TAR (1996-2002). El SK presentó una caída en la incidencia de 1.839 a 335 casos por 100.000 personas-año, y el LNH asimismo descendió de 1.066 casos a 390 casos /100.000 personas-año (29).

En el caso del carcinoma de cérvix, la introducción del TAR se ha relacionado con la regresión de lesiones precursoras de cáncer asociadas a VPH, dicho efecto llega a duplicar la tasa de regresión de dichas lesiones en las pacientes en tratamiento frente a las naive (30).

2.2. NEOPLASIAS NO DEFINITORIAS DE SIDA (ENOS)

La incidencia de neoplasias no definatorias de SIDA ha experimentado un incremento en los últimos años, respecto a la población no VIH, así como respecto a la incidencia registrada previamente a la introducción del TAR (28,31). Dicho fenómeno está suponiendo un cambio en el planteamiento del manejo de estos pacientes.

Dentro de este grupo de ENOS destacan por su frecuencia el linfoma de Hodgkin (LH), el cáncer de pulmón, y de ano (32).

El efecto del TAR sobre la incidencia de neoplasias no definatorias de SIDA es aún controvertido; los registros existentes sobre este grupo de neoplasias en la época anterior a la introducción del TAR (1983-1995) no evidenciaba una incidencia significativamente superior a la población general; sin embargo, en la era TAR (de 1996 en adelante), la incidencia de las neoplasias no definatorias de SIDA ha tendido a aumentar respecto a los seronegativos (31). No obstante, en la cohorte “Swiss” al analizar la tasa de mortalidad de los pacientes VIH no encontraron, en el período comprendido entre los años 2005-2009, diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes VIH y la población general (19% vs 14.9%), tras ajustar por número de linfocitos CD4 (33). Otra cohorte relevante, es la de los “US Veterans Affairs Healthcare System”, su análisis sobre la incidencia de neoplasias no definatorias de SIDA tras la introducción del TAR, refleja datos que apoyan aún más el escaso impacto del Tratamiento en la incidencia de dichas neoplasias. Esta cohorte estaba compuesta por 33.420 pacientes VIH, recogidos entre 1997 y 2004, en la cual se halló una incidencia de neoplasias no SIDA superior al 60% con respecto a los seronegativos, cifra que se mantuvo estable en los períodos de 1996-1997 y 2002-2003. Por otra

parte, en cuanto a las diferencias entre pacientes VIH con y sin cáncer, aquellos diagnosticados de una neoplasia mostraron cifras de linfocitos CD4 más bajas, diferencia que fue especialmente llamativa en el cáncer anal (en este grupo la inmunosupresión se asoció a una mayor incidencia) (34).

A nivel nacional, existe una cohorte de pacientes VIH (cohorte co-RIS) sobre la que se han publicado datos de mortalidad durante el período (1997-2010), en ella también se muestra como la mortalidad por cualquier causa en este grupo ha descendido en los últimos años, si bien no se analiza específicamente la tasa de mortalidad correspondiente a las neoplasias no definatorias de SIDA (35).

2.2.1. CÁNCER ANAL

El cáncer anal (CCA) de estirpe epidermoide en seronegativos es una neoplasia rara, menos del 1% de la población general se ve afectada, y se diagnostica predominantemente en hombres y mujeres de edad avanzada (36). Esta neoplasia está íntimamente ligada a la infección del epitelio anal por el virus del papiloma humano (VPH) (37), y su incidencia en pacientes VIH positivos es muy superior a la población general, especialmente en mujeres y HSH. Este hecho, hace que paralelamente aumente la incidencia de la neoplasia intraepitelial anal (AIN) en dicho grupo. La prevalencia de AIN en HSH VIH positivos, oscila entre un 43-52%, con una incidencia del 49% en 4 años; mientras que en HSH seronegativos, la prevalencia es del 25%, y la incidencia del 17% en 4 años (38).

El riesgo de padecer CCA en HSH VIH positivos es 60 veces superior al de la población general, y en mujeres VIH positivas 7 veces. La incidencia de CCA en HSH VIH positivos se encuentra entre 70 y 131 casos/100.000 persona-año (39); en mujeres VIH+, 30 casos /100.000 personas/año; y en hombres VIH+ heterosexuales, 46 casos/100.000

persona/año. Dichas cifras son significativamente superiores a las encontradas en seronegativos que está en torno a 2 casos/100.000 personas/año (40).

Los mecanismos por los que el VIH interacciona con el VPH y potencia su capacidad de inducir neoplasia a nivel del epitelio escamoso del canal anal y cuello uterino no son del todo conocidos. El papel de estos cambios genéticos inducidos por los diferentes genotipos del VPH en el epitelio escamoso, parecen desempeñar una función determinante en la progresión de las lesiones premalignas a cáncer. Se postula que la proteína tat y rev del VIH-1 son capaces de incrementar la expresión de algunas oncoproteínas del VPH tales como E7, E1 y L1, que permiten la difusión del VPH y replicación de los queratinocitos. Por otra parte, la depleción de linfocitos CD4 favorece el que no se produzca una correcta producción de anticuerpos neutralizantes frente al papiloma y en consecuencia menor aclaramiento de dichos virus (41).

2.2.1.1. INFLUENCIA DEL TAR EN EL DESARROLLO DE CÁNCER ANAL

El papel del TAR en la prevalencia/aparición de las lesiones premalignas (HSIL) de la mucosa del canal anal es motivo de controversia en la actualidad. Si bien, algunos autores abogan por el escaso o nulo papel, recientes estudios señalan la eficacia del mismo reduciendo la aparición y progresión de lesiones de alto grado, como se expondrá a continuación (42).

A favor del escaso impacto del uso del TAR en la aparición de AIN, está el estudio de Palefsky y colaboradores; trabajo ya muy antiguo, donde los pacientes analizados procedían del periodo TAR precoz. En este estudio se analizó la posible asociación entre el uso del TAR y la disminución en la prevalencia de AIN, y se encontró que para el periodo de seguimiento del estudio (2 años), el uso de TAR se asociaba a la aparición de AIN de cualquier grado (43). La diferencia de resultados con trabajos que

encuentran disminución del cáncer de ano tras la introducción del TAR, se basan tanto en el mayor tiempo de seguimiento de estos, y/o que se han llevado a cabo en un período más reciente de la historia (28, 42, 44, 45, 46) (en el de Palefsky se siguieron sólo 2 años a finales de los 90)

Piketty y colaboradores, elaboraron un trabajo para medir el impacto del TAR sobre las anormalidades citológicas encontradas, mediante el empleo de la citología e histología con biopsia del canal anal, en un grupo de 94 pacientes VIH HSH antes de iniciar el TAR. La alta prevalencia de SIL (lesiones intraepiteliales escamosas) en los pacientes naive (59%), se mantuvo prácticamente sin cambios, a pesar de la restauración de la inmunidad celular (CD4) y la supresión de la replicación viral. Tras 12 meses de TAR efectivo la tasa de SIL fue prácticamente idéntica a la de partida (59% a los 12 meses y 52% a los 24 meses) (47).

En la cohorte suiza (Swiss), la incidencia de cáncer anal se incrementó en el primer período tras la introducción del TAR (1997-2001) con respecto al período previo, sin embargo, en un segundo tiempo a partir del año 2002 y con la introducción del tratamiento antirretroviral de alta eficacia, la incidencia empezó a disminuir (28).

Datos similares a los encontrados en la cohorte francesa FHDH-ANRS CO4 (44). En la misma línea, Pokomandy y cols. publicaron en 2011 un estudio longitudinal donde encuentran que el uso del TAR durante un periodo superior a 4 años se asociaba a una menor prevalencia de HSIL, especialmente al ajustar por las cifras de Nadir CD4 (45).

En esta línea se hallan los resultados del estudio publicado por un grupo holandés, en el que se compara la prevalencia de AIN y de VPH en el canal anal de 250 VIH+ HSH, y encuentran que el uso del TAR se asocia de manera significativa a una menor prevalencia tanto de HSIL como de VPH (42). Resultados similares a los que nuestro

grupo publicó en 2014, en un estudio compuesto por 140 pacientes jóvenes VIH HSH , en el que encontramos como único factor protector frente a la aparición de HSIL el tratamiento antirretroviral (OR: 0.214; IC 95%: 0.054-0.84 (46).

El grado de inmunodepresión, valorado según la cifra de linfocitos CD4, también parece relacionarse con el riesgo de desarrollar lesiones premalignas (HSIL); así, pacientes con cifras de CD4 superior a 500 cél /mL presentan menor tasa de dichas lesiones (48, 49, 50,51). Esta relación no es tan evidente si se compara con la incidencia de cáncer de canal anal (46,52); el motivo, que hasta la actualidad sigue siendo poco conocido, podría deberse, entre otras a que el desarrollo de esta neoplasia sea fruto de una acumulación de cambios genéticos, más que del estado inmunitario en sí, de manera que la respuesta inmunitaria tras la introducción del TAR fuese más trascendente a la hora de conferir una protección frente al desarrollo de HSIL, que frente a la transformación a cáncer anal (39).

2.2.1.2. DESPISTAJE DE HSIL Y CANCER DE ANO

La elevada incidencia de cáncer anal en la población VIH, especialmente en HSH y mujeres con patología cervical, está dando lugar a una creciente implantación del despistaje en la práctica clínica habitual (53).

En la actualidad no existe una metodología consensuada y universal a la hora de abordar el tema. Las recomendaciones de las sociedades son heterogéneas en cuanto al método y frecuencia en la que se ha de aplicar el “screening”, y a quién realizarlas; aún persisten muchas dudas sobre cuál es la manera más eficaz y coste-efectiva para hacer frente a este problema de los enfermos VIH. La citología anal, junto con la inspección y el tacto rectal constituyen el abordaje inicial recomendado por las

principales sociedades de científicas de VIH: CDC 2015 (54), EACS 2016 (55) y GESIDA 2014 (56).

La citología anal se clasifica en función del grado de atipias celulares en el epitelio escamoso (capa más superficial) de la mucosa anal íntimamente relacionadas con la infección por el VPH. El sistema de clasificación empleado en la actualidad es el de Bethesda versión 2012, que reagrupa las anomalías celulares en 4 categorías (57):

(1) Células escamosas atípicas “a” de significado indeterminado/incierto (Atypical squamous cells of undetermined significance: ASC-US) o “b,” en las cuales no puede excluirse una lesión intraepitelial de alto grado (ASC-H). (2) Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (low grade anal intraepithelial lesion: LSIL). (3) Lesiones intraepiteliales de alto grado (high squamous intraepithelial lesion: HSIL). (4) Carcinoma escamoso celular.

A lo largo de los últimos años, se han empleado y desarrollado distintos sistemas de clasificación citológica, se exponen los principales a continuación en la tabla 6.

Tabla 6: Diferentes sistemas de clasificación en la citología anal:

Sistema de Papanicolau	Sistema de Richart	Sistema de Bethesda
Negativa (I)	Negativa	Negativa
II	Atipia escamosa reactiva o imposible de clasificar	ASCUS-ASCH
	Infección por VPH	Lesiones intraepiteliales de bajo grado de malignidad
III	Neoplasia intraepitelial cervical Grado I (CIN I)	Lesiones intraepiteliales de alto grado de malignidad
	Neoplasia intraepitelial cervical Grado II (CIN II)	
	Neoplasia intraepitelial cervical Grado III (CIN III)	
IV	Carcinoma in situ	
V	Cáncer escamoso invasor del cuello uterino	

En la población VIH HSH encontramos una elevada prevalencia de citologías con displasia de distinto grado (ASIL: anal intraepithelial scamous lesions) hasta del 56%, siendo 40% (LSIL) y 9% (HSIL) (58). Nosotros publicamos en 2013 en 134 pacientes VIH+ HSH, una prevalencia de citologías anormales del 72,2% de las cuales 71% eran LSIL, 23% ASCUS y 0% HSIL (59). En un análisis posterior, compuesto por 148 paciente VIH HSH encontramos que el 45.2% tenían citología alterada, de las cuales el 90,8% eran LSIL, 4,6% eran HSIL y 4,6% eran LSIL (47). La diferencia en cuanto a la prevalencia de ASCUS en ambos trabajos, creemos que se debía al periodo de entrenamiento necesario que requiere un patólogo para conseguir la destreza en la interpretación de la citología.

Los estudios realizados hasta ahora para la detección de ASIL han empleado la citología mediante la técnica de Papanicolau, y últimamente, la citología en medio líquido (Thin Prep) (60). La citología en medio líquido, la muestra es transferida a un recipiente que contiene un medio de transporte con capacidad de preservar las muestras. Las células se dispersan en el fluido sobrenadante de la suspensión y se seleccionan para su procesamiento; se separan por centrifugación o filtración y son depositadas en una lámina como una capa fina/monocapa por sedimentación o por la aplicación de presión. Las láminas son teñidas y montadas listas para análisis al microscopio. La principal ventaja de la citología en medio líquido sobre el Papanicolau es que permite la detección y serotipado de VPH a partir de la misma muestra. En la técnica de Papanicolau, las tomas realizadas se depositan sobre un portaobjetos, se realizan una serie de tinciones, y posteriormente se observan al microscopio. Ambas son fácilmente reproducibles (60). La toma se puede llevar a cabo en la consulta para lo que se

requiere una torunda de algodón o de fibra sintética, que una vez impregnada en agua o suero fisiológico, se introduce en el ano, y se practican varias rotaciones de 360° en su interior alrededor de las paredes del canal. Una vez realizado este paso las células obtenidas se transfieren al medio donde serán analizadas por el patólogo (53). La toma puede ser realizada por parte del facultativo/sanitario, o el propio paciente (autotoma) (38). La sensibilidad y especificidad de la citología anal para el despistaje de HSIL y/o Cáncer de ano vienen marcadas por el nivel de concordancia que muestran respecto a la histología. Parece que dicha sensibilidad es inferior a la conocida para la citología de cérvix, esta diferencia depende en gran medida del punto de corte elegido para indicar la realización de una biopsia guiada mediante anoscopia (ej.- si se considera la indicación de una biopsia a partir de grados de displasia \geq ASCUS, la sensibilidad de la citología anal aumenta, a expensas de una disminución en la especificidad; si se consideran grados de displasia superiores \geq ASC-H o HSIL , se consigue mejorar la especificidad y disminuye la sensibilidad cuando se compara con la citología de cérvix) (61). Cuando se comparan la sensibilidad y especificidad de la citología con respecto a la biopsia dirigida mediante anoscopio de alta resolución (AAR), se encuentran niveles de concordancia variables según los estudios publicados. A la hora de diagnosticar lesiones intraepiteliales de cualquier grado, la sensibilidad es alta, oscila entre 47-93%, y la especificidad baja, 32- 50%. La sensibilidad tiende a ser mejor en pacientes VIH positivos, con CD4 inferior a 200 células/microlitros, lesiones HSIL, y mayor número de cuadrantes afectados. La baja especificidad de la técnica la convierte en insuficiente para establecer una buena correlación entre el grado de displasia encontrado con la citología y la histología, de manera que hasta el 50% de las lesiones catalogadas como ASCUS o LSIL se pueden corresponder con HSIL en los pacientes VIH+ (62,63) (Tabla 7).

Tabla 7: Sensibilidad y especificidad de la citología anal en diferentes estudios:

Estudio	Preparación	n	Sensibilidad	Especificidad
Velasco et al.			78%	72%
De Ruiters et al.	CC	154	88%	16%
Palefsky et al.	CC	110	69%	59%
Lacey et al.			78%	
Friedlander et al.	CC; CML	40	92%	50%
Panther et al.		153	93%	33%
Arain et al.	CML	71	98%	50%
Papaconstatinou		47	42%	96%
Fox et al.			83%	38%
Nadal et al.			74%	61%
Bean et al.	CML	36	92%	8%

Tabla obtenida de Bean et al. J Low Genit Tract Dis 2010. (64)

CC: citología convencional (Papanicolau); CML: citología en medio líquido; espacio en blanco no especifica preparación

Entre los factores de riesgo implicados en el desarrollo de cáncer anal entre otros se encuentran la infección por serotipos de VPH-AR, así como el VIH, déficit de linfocitos CD4, ser receptor anal, número de parejas sexuales distintas y edad inferior a 40 años (65,66). Nuestro grupo publicó datos pertenecientes a la cohorte de pacientes VIH HSH, en seguimiento en la consulta externa de la unidad de enfermedades infecciosas, compuesta en ese momento por 140 sujetos. En el análisis multivariante encontramos que los factores predictores de lesiones \geq AIN2+ fueron la infección anal por VPH-AR, en particular el 68, y tener condilomas ano-genitales (46). En base a esto y a que la citología anal tiene moderada sensibilidad y baja especificidad, algunos autores han

buscado otras herramientas para optimizar dichos resultados; entre ellas se encuentra la determinación de la PCR del VPH de alto riesgo. Los resultados en todos ellos muestran un incremento en la sensibilidad y el VPN para el diagnóstico de lesiones AIN2+ que alcanzan prácticamente el 100%, incluyendo un trabajo previo a este que tenía como objetivo secundario analizar dichos datos (47, 59,62, 67). En estos estudios se proponía la determinación de la PCR en pacientes con:

- Lesiones citológicas de significado incierto (ASCUS) para ahorrar anuscopias innecesarias en aquellos con ASCUS+ y VPH negativa (67).
- En el grupo de HSH VIH negativos, dada la menor prevalencia de infección por VPH y el alto Valor predictivo negativo de la prueba (62).
- En pacientes HSH VIH + con citología normal, puesto que en caso de que la PCR de VPH-AR fuese negativa se descartaba en el 100% de las ocasiones lesiones HSIL (47).
Para el diagnóstico histológico de las lesiones displásicas de mucosa anal se emplea el anuscopio de alta resolución (AAR), basada en la misma técnica que el colposcopio y con el mismo instrumental. El anuscopio obtiene una visión magnificada de la mucosa anal sobre la que se realizará la biopsia. La técnica combinada con la tinción de ácido acético al 3-5% y el yoduro de lugol, permite dirigir la toma de muestras (las lesiones displásicas asociadas a la infección por VPH se tornan blanquecinas con el ácido acético y amarillentas con el lugol) (68).

El screening anual usando la citología anal en los pacientes VIH HSH, y bianual en los HSH VIH negativos resulta ser coste-efectiva, con un coste similar a otras técnicas de prevención establecidas en los sistemas sanitarios. El uso directo de la anuscopia de alta resolución independientemente de los resultados de la citología y PCR VPH respectivamente, también ha demostrado ser coste-efectivo (69).

En los últimos años, se está analizando el papel que podrían jugar los biomarcadores en el manejo de las lesiones del epitelio escamoso asociadas a la infección por VPH. Los biomarcadores más estudiados son: p16, Ki-67 (Mib1), ProEx C, L1, HPV 16/18 mRNA, telomerase/TERC. La mayoría de los trabajos se basan en el empleo de p16 en las lesiones premalignas de la mucosa del cérvix, aunque también existen algunos estudios en los que se analiza su papel en lesiones en HSIL (70,71).

En líneas generales, el uso de biomarcadores estaría recomendado para distinguir si una lesión es premaligna o no, cuando se plantean dudas sobre el estadiaje de la lesión basado en la histopatología (neoplasia intraepitelial grado 2 y 3: -IN2 , -IN3). El único biomarcador recomendado actualmente es el p16 en displasia de cérvix, mide la activación de la proteína E6/E7 del VPH implicada en la proliferación celular, y ha demostrado una mejora en la sensibilidad cuando se aplica sobre lesiones con displasia (72, 73, 74, 75). Recientemente, nosotros hemos comunicado resultados preliminares del papel del P16 en el despistaje de HSIL anal en VIH-HSH, y hemos encontrado que dicho marcador comparado con la combinación de citología anal y PCR de VPH de alto riesgo, tiene menor sensibilidad diagnóstica para el diagnóstico de HSIL aunque mejor especificidad (76).

2.2.2.3. TRATAMIENTO DE HSIL

Las lesiones HSIL diagnosticadas mediante biopsia se recomienda tratarlas para evitar su progresión a cáncer invasivo (66).

2.2.2.3.1. Técnicas ablativas.

Coagulación mediante infrarrojos (IRC):

Se trata de un dispositivo que puede emplearse en la consulta, emite pulsos controlados de rayos de luz de Infrarrojos, que se aplica directamente a la piel o

mucosa del canal anal. Esto provoca una coagulación térmica a una determinada profundidad. Aprobado por la FDA (Food and Drugs Administration) para el tratamiento de condilomas, eliminación de tatuajes, hemorroides y rinitis crónica. Su empleo está contraindicado en caso de cáncer o si existe fotosensibilidad severa. Las principales ventajas de esta técnica son su fácil realización en la misma consulta, lo cual permite que prácticamente cualquier sanitario pueda utilizarla correctamente tras un aprendizaje relativamente sencillo, cirujanos, internistas, ginecólogos, enfermería son algunos de los profesionales que suelen ocuparse de su uso. Permite identificar con facilidad las lesiones susceptibles de ser tratadas. Como desventajas, destacaría la dificultad de rastrear de manera exhaustiva la mucosa anal en busca de todas las lesiones sospechosas. El principal efecto adverso es el dolor local y el sangrado, normalmente leve/moderado, que puede durar hasta 2 semanas después del tratamiento. Se han descrito casos de infección (<1%) y hemorragias graves, que pueden aparecer hasta 2 semanas después de haberla realizado. Esta técnica no ha sido evaluada en ningún ensayo clínico, lo único publicado hasta la fecha son estudios retrospectivos, como el trabajo de Goldstone, en el que se analizaron 68 pacientes VIH-positivos HSH que habían sido sometidos a una ablación mediante IRC de una lesión HSIL confirmada mediante biopsia. El promedio de lesiones tratadas mediante IRC en cualquier visita fue de 1.03. El 36% de los pacientes tuvieron que someterse a una segunda coagulación mediante IRC por persistencia o lesión metacrónica, y el 15% se sometieron a una tercera IRC. Tras el primer tratamiento, la persistencia o recurrencia de las lesiones HSIL fue del 65%, con una media de 203 días post-tratamiento. Sólo 35% de los pacientes no mostraron recurrencia por un periodo de 413 días. La diferencia entre los pacientes en los que se redescubrió recurrencia de

HSIL no resultó estadísticamente significativa en cuanto a recuento de CD4 y edad (77).

Fulguración y Electro-cauterización:

Son técnicas alternativas a la administración de infrarrojos, como son la fulguración y electrocauterización, en general aportan mayor rapidez y precisión a la hora de abordar estas lesiones, además de ser dispositivos más económicos que los infrarrojos, pero requieren una salida de humo para su uso. Se han empleado sobre lesiones extensas, que no pueden tratarse mediante terapia local en la consulta (78).

En resumen, constituyen un grupo de técnicas sencillas de aplicar, pero no permiten tratar eficazmente en un solo acto toda la mucosa del canal anal y además presentan tasas poco deseables de recurrencia.

Exéresis quirúrgica:

No existen muchos estudios publicados, donde se analice de forma prospectiva la eficacia de la cirugía en el tratamiento de HSIL. Chang y colaboradores presentaron los resultados de 37 pacientes HSH, 29 VIH positivos y 8 seronegativos, con HSIL de gran volumen (lesiones que abarcaban la circunferencia del canal anal o prácticamente circunferenciales), que habían sido diagnosticadas mediante biopsia obtenida a través de AAR. Se practicaba exéresis de las lesiones, y los pacientes eran revisados cada 3-6 meses, durante un periodo de 32.3 ± 20.6 meses. EL 50% presentaron dolor local mal controlado durante una media de tres semanas, ninguno presentó abscesos, sangrado, estenosis o incontinencia de esfínter; en cuanto a la eficacia 79% de los pacientes VIH-positivos presentaron persistencia/recurrencia de HSIL en una media de seguimiento posterior a la cirugía de 12 meses, mientras que ninguno de los individuos VIH-negativos presentaron recurrencia ($p=0.003$). De los pacientes reintervenidos, 66% presentaron recurrencias nuevamente. Ninguno de los 37 pacientes presentó

carcinoma escamoso del ano una vez finalizado el estudio (79).

En otro trabajo de nuestro grupo, analizamos la eficacia y seguridad de la cirugía aplicada en las lesiones HSIL del canal anal de 30 VIH+HSH con los siguientes resultados 26,6% recidivaron tras la intervención, ninguno progresó a carcinoma extramucoso, ni experimentó incontinencia o estrechez anal, así como proctalgia crónica tras la cirugía durante un período de seguimiento de 41 meses (80).

2.2.2.3.2. Tratamiento tópico

5- Fluoruracilo (5-FU): En un estudio prospectivo, donde se incluyeron 34 pacientes VIH con HSIL, se les administró 1 gramo de 5-FU, 2 veces por semana durante 16 semanas. El porcentaje de persistencia de HSIL al final del tratamiento fue de 59%. Aquellos a los que les desaparecieron las lesiones, el 50% no presentó recurrencia en 6 meses. Esta técnica mostró frecuentes efectos adversos como eritema, quemazón y erosiones en un 41% de los pacientes (81).

Imiquimod: en un estudio publicado en AIDS compuesto por 53 pacientes VIH+ HSH se comparaba la eficacia de Imiquimod aplicado 3 veces por semana 4 meses (n=28) frente a placebo (n=25) en el tratamiento de HSIL. El seguimiento que fue de 36 meses se hacía mediante anoscopio de alta resolución, citología y biopsia. El porcentaje de mantenimiento libre de HSIL fue del 61% para el grupo que recibió tratamiento, mientras que para el grupo que se trató con placebo, solamente 1 de los pacientes presentó regresión de HSIL (82). En un estudio comunicado recientemente por nuestro grupo sobre el uso de Imiquimod en 20 pacientes VIH con lesiones HSIL encontramos respuesta completa en el 90% (18/20), con una mediana de tiempo libre de enfermedad de 17.5 meses (P25-75: 12-27.5), y 10% lo abandonaron por intolerancia. Tras el tratamiento con Imiquimod la tasa de aclaramiento de genotipos

oncogénicos fue mayor que la de adquisición 28,6% vs 21.4%, $p=0,014$ (83).

Cidofovir: Es un agente clásicamente empleado para el tratamiento del citomegalovirus (CMV), y ha mostrado eficacia en el condiloma anogenital. Su aplicación a nivel de las lesiones de alto grado asociadas al VPH perianal ha sido recientemente estudiado con resultados similares a los de otros tratamientos tópicos (84).

2.2.2.3. PROFILAXIS de HSIL/CÁNCER ANAL:

2.2.2.3.1. Vacunas frente al VPH

En la actualidad existen tres vacunas frente al VPH comercializadas:

- Bivalente frente a los genotipos 16 y 18. Su nombre comercial es Cervarix[®] (fabricada por GlaxoSmithKline)
- Cuadrivalente (qVPH) frente a los genotipos 6, 11, 16 y 18. Su nombre comercial es Gardasil[®] (fabricada por Merck Sharp & Dohme Corporation)
- Nonavalente frente a los genotipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58. Su nombre es Gardasil 9[®] (fabricada por Merck Sharp & Dohme Corporation). No disponible aún en Europa. Todas ellas se administran por vía intramuscular y constan de 3 dosis a lo largo de un periodo de 6 meses. En un estudio reciente, se ha demostrado la efectividad potencial con una única dosis de la vacuna bivalente en niñas menores de 18 años (87).

La vacuna cuadrivalente es sobre la que se han realizado más estudios y la más empleada hasta el momento, dado que presenta una mayor cobertura que la bivalente frente a los distintos serotipos de VPH, incluye a los genotipos más implicados en la carcinogénesis y responsables del desarrollo de la mayoría de los condilomas anales (6,11) (88).

En el año 2010, la Food and Drug Association (FDA) aprobó el uso de la vacuna qVPH como profilaxis primaria para el desarrollo de cáncer anal y condilomas, en hombres jóvenes con edades comprendidas entre 11 y 26 años. Posteriormente los CDC (Centers for Disease Control) se sumaron a la recomendación e indicaron el uso de esta vacuna para prevenir las neoplasias asociadas a VPH, en niños y niñas de 11-12 años y en aquellos que no se habían vacunado previamente, con una edad igual o inferior a los 26 años (88).

En los últimos años, se han llevado, a cabo, diferentes ensayos clínicos (EC) en los que se plantea el beneficio del uso de la vacuna frente al VPH como método de prevención en el desarrollo de lesiones tipo HSIL dentro de la población de riesgo, como son los HSH VIH negativos. Uno de los EC más relevantes, se ha realizado en un grupo de 4.065 varones a los que se les administró la vacuna tetravalente y se observó que resultaba efectiva en la prevención de lesiones genitales externas (85). Un subestudio de este ensayo compuesto por 602 HSH analizó el impacto de la vacuna en el desarrollo de AIN de alto grado (AIN-2 Y -3), en el análisis por intención de tratar (551 individuos) la vacunación demostró una disminución del 54% en la incidencia de AIN alto grado asociado al VPH 6, 11, 16, y 18 frente a placebo (86). De los EC más relevantes acerca del beneficio del uso de la vacuna qVPH en el desarrollo de HSIL en individuos VIH negativos HSH, cabe destacar el trabajo de Swedish, cuyos resultados muestran un efecto protector, con una disminución del 50% de las recurrencias de HSIL durante un periodo de unos 2 años (89).

En adultos VIH+ HSH se han publicado datos sobre seguridad e inmunogenicidad de la vacuna tetravalente del VPH, la cual ha demostrado ser segura y altamente inmunogénica, en términos de seroconversión (90).

Un EC reciente realizado en seropositivos mayores de 36 años (HSH y mujeres), tuvo que interrumpirse en fase III, por la falta de eficacia de la vacuna tetravalente en la prevención, tanto de la infección por VPH, como en la aparición de lesiones premalignas en mucosa anal (91).

Nuestro grupo de investigación está llevando a cabo un EC sobre la efectividad de la vacuna tetravalente en la aparición de HSIL anal en pacientes VIH positivos HSH (n=129) que aún no ha concluido. Datos preliminares sobre tolerabilidad y seguridad de la vacuna, han demostrado que no se produjeron un mayor número de efectos adversos en el grupo de vacuna que en el del placebo; siendo los efectos adversos más frecuentes los de carácter local (prurito y dolor tras la inyección) (92).

Por otra parte, también ha sido analizado el coste/efectividad de la vacunación en la población de riesgo. En esta línea se ha publicado recientemente un trabajo, en el que se elabora un modelo de probabilidades, basándose en resultados obtenidos a partir de otros trabajos. Los datos analizados fueron tales como: histología anal en pacientes VIH HSH, número de CD4, incidencia y aclaramiento de VPH, estatus precanceroso, progresión, regresión y recurrencia de HSIL, efectividad de la vacuna y mortalidad. El modelo obtenido concluye que la administración de la vacuna qVPH disminuye el coste de la enfermedad asociada a VPH (neoplasia anal) y aumenta la calidad de vida ajustada por años (93).

Por último, en la actualidad en pacientes VIH HSH mayores de 26 años no se recomienda la vacunación del papiloma, pendiente de que concluyan otros ensayos en marcha (94, 95).

2.2.2.3.2. Métodos barrera: eficacia del preservativo.

Aunque, es conocido que el uso del preservativo, no protege de la adquisición del VPH

al 100%, y no existe ningún estudio hasta la fecha diseñado para estudiar su eficacia en la prevención de la transmisión del VPH entre HSH VIH positivos; sin embargo, tenemos datos en la literatura que apuntan al efecto parcialmente protector del uso de este en la transmisión de dicho virus en otros grupos, como mujeres jóvenes seronegativas, en las que se observó una reducción en la adquisición cuando se empleaban métodos barrera (96). Posteriormente, se realizó un estudio prospectivo, extraído de la cohorte HIM (HPV Infection in Men Study), en el que se analiza el impacto en el aclaramiento del VPH en Hombres heterosexuales seronegativos sin antecedentes de enfermedad asociada al VPH. En este estudio se pone de manifiesto, la mayor tasa de aclaramiento de la infección por VPH (un 30%) en aquellos varones que usaban preservativo de manera constante, aunque no mantuviesen relaciones sexuales monógamas ni con parejas estables (97).

En conclusión, se recomienda el método de barrera para reducir la transmisión y aumentar el aclaramiento de la infección por VPH.

CAPÍTULO 3: VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)

3.1. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR VPH

La infección por el VPH es la infección de transmisión sexual (ITS) más frecuente en el ser humano en la actualidad (98). Se estima que entre un 75-80% de los adultos sexualmente activos adquirirán una infección del tracto genital por el VPH antes de los 50 años; en el caso del género femenino, hasta un 80% de las mujeres pueden tener infección por VPH en cérvix (99). En hombres, las estimaciones sobre la prevalencia en la población general masculina son muy variables oscilan entre 3 % y 72% (100,101).

Múltiples estudios han puesto de manifiesto que el riesgo de adquisición de VPH en la población VIH (hombres y mujeres) se dispara, cuando se compara con la población seronegativa. El riesgo relativo de adquirir VPH en mujeres seropositivas puede ser de hasta el triple (RR: 2.98), y del doble (RR: 2) en hombres seropositivos, respecto a individuos no infectados por el VIH (102).

Como se desarrollará más en profundidad en el próximo capítulo, la prevalencia de VPH en ciertos grupos de riesgo, dentro de los pacientes seropositivos, es muy elevada, en varones que tienen sexo con hombres puede llegar a ser del 93%, y en mujeres heterosexuales de un 76% (118,119).

3.2. FACTORES DE RIESGO EN LA ADQUISICIÓN DEL VPH

Se han identificado una serie de factores que influyen en la transmisión del virus:

- Relacionados con la exposición. La transmisión del VPH requiere un contacto directo entre piel o mucosas, y la ruta más frecuente de contagio es a través del sexo insertivo.

Los factores implicados en la transmisión, como en otras ITS, son el número de parejas sexuales distintas del individuo y la frecuencia de las prácticas sexuales donde se produce contacto piel con piel (103).

- Dependientes del huésped. Uno de los factores huésped-dependiente principal que interviene en el riesgo de adquisición del virus, sería la inmunodepresión celular (p. ej. trasplantados, VIH) (104), uso de contraceptivos orales, tabaco y asociación con otras ITS (105). Asimismo, se ha observado que otros factores protegen de la transmisión del VPH, como es el caso de la circuncisión, del mismo modo que ocurre con el VIH y el virus herpes simple (106).

3.3. PATOGÉNESIS DEL VPH

El virus del papiloma humano (VPH) es un virus compuesto por una doble cadena de ácido desoxirribonucleico (DNA), que pertenece a la familia Papillomaviridae. Estos virus son altamente específicos e infectan exclusivamente a la especie humana. Se han descrito más de cien tipos de VPH distintos, los cuales se han clasificado tradicionalmente en función del riesgo de desarrollar Cáncer de cérvix, como VPH de alto riesgo (VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68) y bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 72, 73, y 81) (107). En la Tabla 8 se recogen los genotipos del VPH y las enfermedades con las que han sido relacionados (108).

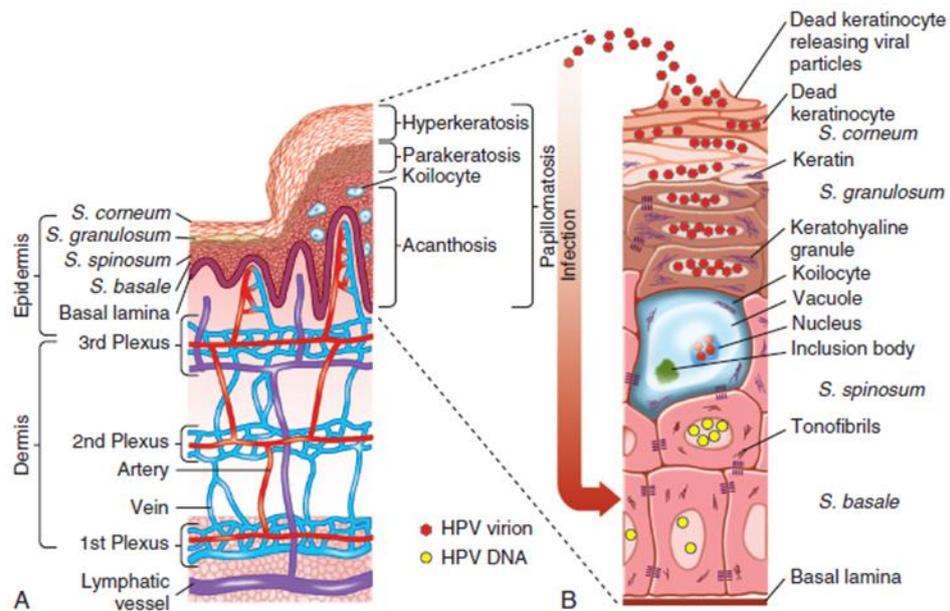
Tabla 8. Genotipos de VPH y patología asociada

LESIONES	SEROTIPOS HPV	
	ASOCIACIÓN FRECUENTE	ASOCIACIÓN MENOS FRECUENTE
VERRUGAS COMUNES	1, 2	4,26,27,29,41,57,63,65,77,117,125,128,129,130,131,132,133,148,149
EPIDERMODISPLASIA VERRUCIFORME	5,8,9,12,14,15,17	19,20,21,22,23,24,25,36,37,38,47,49,50,53
CONDILOMAS ACUMINADOS	6,11	16,18,31,33,35,40,42,43,44,45,51,52,53,54,55,56,58,59,66,68,70,153
NEOPLASIA INTRAEPITELIAL BAJO GRADO	6,11	16,18,31,33,35,42,43,44,45,51,52,54,61,70,72,74
NEOPLASIA INTRAEPITELIAL ALTO GRADO	16,18	31,33,35,39,42,44,45,51,52,56,58,66,67
CARCINOMA CERVICAL	16,18	31,33,35,39,45,51,52,56,58,66,67,68,73,82
PAPILOMATOSIS RESPIRATORIA RECURRENTE	6,11	16,18,31,33,35,39
PAPILOMAS CONJUNTIVALES	6,11,16	

El virus accede a través de las microabrasiones de la mucosa anogenital a la capa epitelial basal, compuestas por queratinocitos. Esto ocurre a nivel del epitelio de transición del canal anal (línea dentada) o del cuello uterino, ya que son zonas de metaplasia escamosa, especialmente susceptibles a la infección por VPH oncogénicos y por tanto a la transformación carcinomatosa (109). Una vez alcanzado el epitelio basal, el genoma del VPH puede permanecer aislado del genoma de los queratinocitos en forma de partículas llamadas episomas, o bien puede integrarse en el celular (mecanismo fundamental para la oncogénesis). La diferenciación celular sucede progresivamente hacia los estratos más superficiales del epitelio. Cuando el genoma del VPH forma parte del celular, se produce una replicación viral progresiva (a mayor diferenciación del estrato celular, mayor replicación viral y nuevas reinfecciones), y por otra parte, permite la expresión de proteínas virales con capacidad de bloquear los

mecanismos de regulación de proliferación tumoral de la célula infectada (Figura 2) (37). Este mecanismo de integración y replicación permite eludir la respuesta inmunológica por parte del huésped, ya que no provoca citolisis o viremia. Las partículas virales alcanzan concentraciones mayores en el estrato epitelial más diferenciado, superficial, el cual está programado para una apoptosis natural, que le protege del ataque del sistema inmunológico (110). La persistencia de los genotipos oncogénicos en la mucosa del canal anal es crucial para inducir cambios genéticos que darán lugar al cáncer (42).

Figura 2. Patogénesis del VPH:



Exophytic cutaneous wart: human papillomavirus (HPV) pathogenesis. **A**, Histologic features. **B**, Cytologic features *S. stratum*.

Figura obtenida de Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. 8E

Desde los años ochenta, se ha comenzado a entender la patogénesis molecular del VPH, cada vez más conocida gracias a las nuevas tecnologías aplicadas en el campo de la biología molecular. En términos generales se basa en la participación de distintas proteínas virales que actúan a nivel de la reparación del genoma y de la disregulación del ciclo celular de las células que infectan (111).

El DNA del VPH induce la síntesis de distintos tipos de proteínas E y L.

1)-Proteínas E (del inglés: early), se asocian con la regulación genética y la transformación celular. Se conocen varios tipos que se describen a continuación:

E1: Implicada en la replicación plasmídica viral.

E2: Modula la transcripción viral e interviene en la replicación.

E4: Forma redes de filamentos citoplasmáticos y mantiene la estructura celular.

E5: Proteína de membrana, estimula el receptor del factor de crecimiento epidérmico y contribuye a la oncogénesis.

E6 y E7: Son las proteínas que tienen más propiedades para influir en la transformación celular. Su acción se basa en la unión de varios factores celulares con proteínas supresoras de la oncogénesis.

2)- Proteínas L (large) que forman el armazón del virus, pues codifican las proteínas de la cápside (112). La habilidad de estas proteínas para inducir la transformación celular reside en su interacción con otras dos proteínas: p53 y retinoblastoma. La función de la proteína p53 en condiciones normales es regular de forma negativa el crecimiento celular, controlando el paso del ciclo celular G0/G1 a la fase S y suprimiendo neoplasias. Permite que el DNA dañado se repare por unas enzimas después de sufrir una agresión cromosómica. Cuando la proteína p53 se une a la proteína E6, la primera se degrada, y esto provoca un efecto antiapoptótico, permitiendo que se acumulen mutaciones a nivel del DNA celular, sin que éste pueda ser reparado. La proteína retinoblastoma inhibe el efecto de la regulación positiva del crecimiento y, en respuesta a un posible daño en el DNA permite el crecimiento celular o induce la apoptosis. Al unirse con el factor de transcripción E2F lo convierte en inactivo. E2F controla la síntesis del DNA y promueve la fase S del ciclo celular. La interacción de E7

con la proteína retinoblastoma da lugar a la formación de un complejo, que induce la activación de E2F permitiendo el ciclo celular, de esta forma se produce un bypass de la fase en la que podría detenerse el crecimiento de la célula genéticamente dañada (113).

Los VPH se clasifican en base a las diferencias genotípicas en la secuencia de bases de las proteínas E6 y E7, es ésta diferencia genotípica la que permite estratificar el riesgo oncogénico en elevado, intermedio o bajo (P.ej. la proteína E7 del VPH 16 es más oncogénica que la misma proteína del VPH 6). Estos procesos permiten el crecimiento sin una correcta regulación del DNA dañado e inestable, lo que puede dar lugar a una transformación hacia la condición de malignidad (113).

3.4. MÉTODOS DE DETECCIÓN DEL VPH

En los últimos años, se están analizando biomarcadores potenciales que mejorarían la sensibilidad y especificidad para la detección de una displasia de alto grado y/o la predisposición para desarrollarla. Los biomarcadores que actualmente están siendo investigados son proteínas reemplazadas en la disregulación del ciclo celular (p16 y las proteínas mantenedoras de minicromosomas); de este grupo de marcadores cabe destacar el papel del E6/E7 RNAm de los genotipos oncogénicos de VPH más frecuentes el 16, 18, 31, 33, 45. El uso de esta técnica, parece añadir especificidad a la mera detección de infección por VPH-AR, aunque hacen falta más estudios para recomendar su uso (114).

Otros biomarcadores son aquellos que intentan medir el daño en el DNA (53BP1), gamma tubulinas, genotipado VPH de alto riesgo, y betadefensinas (72). Los resultados obtenidos hasta la fecha parecen ser prometedores, aunque son necesarios más

estudios para indicar su uso. El estímulo por parte de los genes E6 y E7 del VPH induce la sobreproducción de una serie de proteínas, que actúan a nivel de la regulación del ciclo celular del huésped en aquellas lesiones que progresan a cáncer. Estas proteínas pueden ser detectadas mediante inmunohistoquímica y podrían proporcionar nuevas herramientas a los patólogos para progresar en el diagnóstico y pronóstico de las lesiones. Uno de estos biomarcadores que ha recibido mayor atención es el p16INK4A (57).

Actualmente, la técnica de PCR es el método más sensible para estudiar el DNA viral, y la más accesible a los profesionales; la técnica permite la amplificación de secuencias de DNA mediante la utilización de la enzima DNA polimerasa, que es capaz de copiar una secuencia de nucleótidos, pero no iniciar la síntesis del DNA. El producto amplificado puede aislarse mediante electroforesis, y su posterior análisis mediante hibridación (Southern blot), que permite identificar la secuencia de nucleótidos (115). En los últimos años, se han desarrollado un importante número de pruebas basadas en la PCR. Actualmente, la U.S. Food and Drug Administration (FDA) ha aprobado el uso de cinco de ellas (116):

1. "Digene Hybrid Capture II High-Risk DNA assay" (Qiagen, Valencia, CA): es una técnica basada en una reacción de hibridación. La muestra de ADN se enfrenta con secuencias de ARN correspondientes a VPH- AR (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, and 68). Esta técnica ofrece rapidez en la obtención del resultado y evita contaminaciones.
2. Cervista HPV HR (Hologic Third Wave Technologies, Madison, WI): detecta los mismos tipos de VPH que la técnica anteriormente descrita, además del serotipo 66. Permite conocer si existe VPH-AR en la muestra, pero no permite

identificar el genotipo.

3.- La versión Cervista HPV 16/18: se limita a la identificación de estos 2 tipos de VPH. La técnica se basa en la superposición de sondas de oligonucleótidos, una enzima divisora y una señal de amplificación fluorescente.

4.- Cobas HPV Test (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA): se basa en PCR en tiempo real y detecta los mismos tipos de VPH-AR que Cervista. El tipado se limita a los serotipos 16 y 18.

5.- APTIMA HPV Assay (Hologic Gen-Probe, San Diego, CA): está dirigida a identificar el ARN de los genes E6 y E7 de los mismos tipos de VPH-AR, y depende de una transcripción mediada por una amplificación para su detección.

Existen otras técnicas no aprobadas, de uso comercial. Algunas permiten la identificación de los tipos de VPH, como LINEAR ARRAY HPV Genotyping test (Roche Molecular Diagnostics), o bien se basan en una tecnología adaptada a los países en vías de desarrollo como careHPV (Qiagen).

Otra de las líneas de investigación desarrolladas en el diagnóstico de las infecciones por VPH, es la medición de la respuesta serológica frente al virus. En los pacientes con verrugas cutáneas, condilomas acuminados o afectos de papilomatosis respiratoria recurrente, se pueden detectar anticuerpos dirigidos frente a la cápside viral. Las partículas recombinantes virus-like (VLP), se basan en las proteínas L1 y L2, y ofrecen las mismas propiedades antigénicas que las de la cápside viral; se determinan mediante técnicas de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), entre un 50% y 90 % de los pacientes infectados por el VPH tienen anticuerpos frente a antígenos de la cápside (117). Dichos anticuerpos tienden a desaparecer con la resolución de la

enfermedad, pero pueden persistir durante muchos años en pacientes asintomáticos.

Una parte de los anticuerpos son neutralizados, pero probablemente no lo hagan en cantidad suficiente para ofrecer una protección significativa (118).

Por el momento, no se dispone de ningún test serológico comercializado para el diagnóstico de la infección por VPH debido a su insuficiente sensibilidad y especificidad clínica. Estas pruebas se emplean en estudios seroepidemiológicos y son de utilidad a la hora de medir la respuesta inmunológica tras la vacunación frente al VPH. Las técnicas basadas en el cultivo del virus no están disponibles para el diagnóstico clínico de las infecciones por VPH (117).

3.5 NEOPLASIAS ASOCIADAS AL VPH

Además de al cáncer anal, los serotipos oncogénicos del VPH se asocian también al desarrollo de otros carcinomas de estirpe escamosa del área anogenital y otras localizaciones (cabeza y cuello, esófago, conjuntiva, pulmonar). La proporción de infección por VPH en estos tumores es tan relevante como: 99% en cérvix, 49% en vulva, 70 % en la vagina, 47% en pene, 72% en orofaringe, 22% en otras neoplasias de cabeza y cuello (108).

Del mismo modo que ocurre con el cáncer anal, en algunos de ellos el riesgo de desarrollar cáncer asociado a VPH es mayor en los pacientes VIH, el carcinoma más estudiado en esta línea es el cáncer de cérvix con un riesgo incrementado en las pacientes VIH de 6-8 veces superior con respecto a las mujeres seronegativas (108).

Otros cánceres relacionados con la infección por serotipos oncogénicos de VPH serían el de vulva (119); los que afectan al área orofaríngea, donde pueden incrementar el riesgo de padecer cáncer hasta en dos a cuatro veces cuando los genotipos de alto

riesgo están presentes (120), fenómeno que ocurre en pacientes VIH hasta en un 34% (121); o el de pene donde pueden aislarse VPH-AR hasta en un 35-62% de los casos (120).

3.6. VPH Y HOMBRES QUE TIENEN SEXO CON HOMBRES (HSH) VIH POSITIVOS

En los últimos años, se ha investigado la prevalencia del VPH en el canal anal de pacientes con distinto riesgo a la hora de desarrollar cáncer anal, encontrándose las siguientes tasas de infección en hombres heterosexuales 33%, HSH VIH negativos 60%, mujeres VIH positivas heterosexuales 76% y en HSH VIH positivos 93% (122,123).

En el caso de HSH, la seroprevalencia de los genotipos de VPH aislados en el canal anal, es parecida a la encontrada en las mujeres con cáncer de cérvix. El serotipo 16 también es el más prevalente, y se observan con más frecuencia algunos genotipos distintos a los que suelen detectarse en el caso del carcinoma de cuello uterino, como son el 53, 58, 61 y 70 (49).

El grupo más estudiado en los últimos años, en cuanto a prevalencia de VPH en el canal anal, ha sido el de los pacientes VIH positivos HSH, los datos de prevalencia varían según las series, pero están en torno a un 75%, de los cuales más de la mitad de los genotipos aislados son de alto riesgo (VPH-AR) (59).

Hasta el momento, se han publicado datos procedentes de todas las latitudes, sobre la prevalencia de VPH en canal anal de pacientes VIH positivos HSH:

- En Canadá, Toronto (Salit IE et al), analizaron muestras procedentes de mucosa anal en 401 HSH VIH positivos, detectándose una prevalencia de VPH del 93 %, con un 92% de aislamiento de múltiples serotipos en un mismo individuo, siendo oncogénicos el

88% de ellos (59).

- En Nueva York (Wilkin TJ et al), en 92 hombres VIH positivos (de los cuales el 60% aseguraban haber sido receptores anales), el 61% presentó VPH de alto riesgo. El genotipo más frecuente fue el 16 (17% participantes), seguido del 52 (10%), 18(8%) y 45(8%) (50).

- En Montpellier (Damay et al), estudiaron a 67 pacientes VIH positivos HSH, de ellos el 74.6%, presentó una infección por al menos un tipo de VPH, y 76% estaban infectados de forma simultánea por varios tipos distintos de virus. Los más frecuentemente aislados fueron VPH 44/55 (19.4%); VPH 53 (19.4%), VPH 16 (16.4%); VPH 39 (16.4%) y VPH 42 (14.9%) (124).

- En la cohorte CoRIS española (Torres et al), se analizó la prevalencia de VPH en la mucosa del canal anal sobre una muestra de 1.439 HSH VIH positivos, obteniendo una prevalencia global de infección por VPH del 95,8%, de los que un 83% eran de alto riesgo, con predominio del 16 (más frecuente), 59, 39, 51,18 (125).

- En Granada (Hidalgo-Tenorio et al) se analizaron 134 pacientes VIH HSH, de los cuales un 91% estaban infectados por VPH, de ellos 66 % eran de alto riesgo; los genotipos más frecuentemente aislados en mucosa anal fueron el 16, 18, 6, 11, 51 y 53, con predominio del 16 con respecto al resto(53).

Por otra parte, hay que señalar que este grupo de pacientes, además de objetivarse porcentajes superiores de infección por VPH-AR en el canal anal a las encontradas en el cuello uterino (30-80% en el caso de los HSH , frente al 5-15% en las mujeres) , la tasa de aclaramiento espontáneo del VPH también parece comportarse de manera

distinta; el 90% de las infecciones por VPH en el cuello uterino de las mujeres VIH seronegativas desaparecen espontáneamente en el periodo de dos años, mientras que en el caso de HSH VIH seronegativos, el 60 % de las infecciones adquiridas por VPH a nivel del canal anal perduran a través de los años (67); lo que favorece la aparición de lesiones premalignas y CA. En un trabajo reciente de nuestro grupo, se analizó la tasa de progresión de las lesiones de la mucosa anal asociadas a VPH. De los pacientes con una biopsia de mucosa anal compatible con la normalidad al inicio del estudio, un 16,1% progresaron a HSIL y un 1,6% lo hicieron a carcinoma escamoso anal. La tasa de transformación de LSIL a lesiones premalignas, resultó ser del 20% (1 de cada 5 pacientes) en un período medio de 18 meses (126).

Los factores de riesgo asociados a la infección por VPH en pacientes HSH VIH+, han sido analizados en múltiples estudios, uno de los trabajos más relevantes es el publicado por el grupo de la universidad de California, en el que se identificaron varios factores de riesgo asociados a la infección por el serotipo 16; entre los que hallaron, haber padecido una infección anogenital por gonorrea, ser usuario de drogas por vía parenteral (ADVP), tener un elevado número de parejas sexuales (>200), y curiosamente en comparación con otros estudios, las prácticas insertivas que presentaron una asociación estadísticamente en lugar de las receptivas. En relación con esto último, otro estudio puso en evidencia que la condición de ser receptor anal en las relaciones sexuales, no resulta ser indispensable a la hora de estar infectado a dicho nivel por el VPH, de hecho, se ha encontrado infección en varones heterosexuales sin ese tipo de prácticas sexuales (127). Por último, señalar que entre los factores protectores frente a la infección por el VPH16 se han descrito, el ser de raza blanca no hispánica y mayor nivel educacional (128).

CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS

La displasia anal en pacientes VIH HSH tiene una alta prevalencia, y la citología anal es una herramienta con baja sensibilidad en el diagnóstico de lesiones premalignas y/o CA. La asociación de la PCR del Virus del papiloma humano de alto riesgo a la citología anal incrementaría la rentabilidad del cribaje de dichas lesiones en este tipo de pacientes.

CAPÍTULO 5. OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Analizar, en una cohorte de pacientes VIH HSH, el valor de la citología y PCR-VPH-AR en el diagnóstico de lesiones premalignas (HSIL) y/o Cancer de ano.

Objetivos secundarios:

- Analizar la prevalencia displasia anal: LSIL (AIN1), HSIL (AIN2/3/C.in situ), Carcinoma invasivo
- Analizar la prevalencia de infección por VPH.
- Estudiar los factores de riesgo asociados con la presencia de HSIL (AIN2/AIN3/C. in situ)

CAPÍTULO 6. PACIENTES Y MÉTODOS

6.1. DISEÑO DEL ESTUDIO. Estudio prospectivo que se llevó a cabo entre Mayo de 2010 y Mayo 2014. Compuesto por pacientes VIH positivos hombres que tienen sexo con hombres procedentes de la consulta externa de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada y del Hospital ciudad de Jaén.

6.1.1. Pacientes.

Los participantes fueron incluidos de forma consecutiva y tras firma de consentimiento informado, en un programa de detección precoz de lesiones displásicas de la mucosa del canal anal. El proyecto fue aprobado por el comité ético del hospital. Cada participante era codificado mediante un número para mantener la privacidad del paciente y los datos fueron tratados según la ley de protección vigente en España 15/1999.

Los criterios de inclusión fueron:

- Edad ≥ 18 años.
- VIH positivos.
- Hombres que tienen sexo con hombres.

Los criterios de exclusión fueron:

- Mujeres.
- Varones VIH que negaban relaciones sexuales con varones.
- Historia de HSIL (AIN2/3/C. in situ) o Cáncer anal previo a la inclusión.

6.2. VARIABLES ANALIZADAS

Las variables recogidas fueron: edad, historia de condilomas anales y/o genitales, número de parejas sexuales distintas en los 12 meses anteriores, uso de preservativo, tabaquismo, uso de drogas por vía parenteral (ADVP), vía de adquisición del VIH,

meses transcurridos desde el diagnóstico de VIH, estadio de la enfermedad VIH según el CDC Atlanta, duración del tratamiento antirretroviral (TAR) expresado en meses, fracaso virológico (RNA viral >50 copias/mL en al menos dos mediciones en los últimos 6 meses), uso de tratamiento concomitantes, historia de otras infecciones como la hepatitis crónica B o C (VHB y VHC respectivamente), sífilis (serología luética positiva), otras infecciones de transmisión sexual (ITS), infección tuberculosa latente, tuberculosis activa (TBC) o bajo tratamiento.

Los parámetros analíticos incluidos fueron cifras de linfocitos CD4 nadir, de CD4, CD8 y carga viral en el momento del diagnóstico de la infección por el VIH y los correspondientes al momento de entrada en el estudio.

Citología anal: en la visita de inclusión, se recogían 2 muestras procedentes de la mucosa anal, mediante una torunda de algodón impregnada en suero fisiológico; esta torunda se introducía en el canal, a unos 2-3 centímetros del margen anal y se realizaban varias rotaciones alrededor de las paredes. La torunda era sumergida en un medio líquido para su posterior análisis en el departamento de Anatomía Patológica del hospital. En dicha muestra se llevaba a cabo la detección de la PCR de VPH “Linear Array HPV Genotyping Test” realizado en termociclador GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystem, Roche. Dicha determinación es un test cualitativo in vitro. También se llevaba a cabo el estudio citológico mediante el sistema ThinPrep Pap test (Thin Prep Processor 2000, Hologic Corp). Ambas muestras eran analizadas por el mismo patólogo, quien se encargaba de validar la técnica de PCR y realizar el estudio citológico e histológico de las muestras.

Los serotipos de VPH obtenidos, se clasificaban en:

- Serotipos de alto riesgo (VPH –AR): 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 53, 56, 58,

59, 66, 68, 73 y 82.

- Serotipos de bajo riesgo (VPH-BR): 6, 11, 34, 40, 42, 44, 54, 55, 57, 61, 70, 72, 81, 83, 84 y 89.

Anoscopia: Los pacientes eran remitidos para la realización de una anoscopia convencional por parte de un médico especialista en Digestivo del departamento de endoscopias, en un intervalo de tiempo no superior a las 12 semanas tras la toma de citología anal. Para la anoscopia se empleó una sonda de gastroscopia standard (sin resolución aumentada) de 9 mm, con un canal de trabajo de 2,8 mm. La exploración permitía una primera inspección que alcanzaba a explorar una longitud de 15-20 cm desde el canal anal hasta recto, con retroversión para mejorar la visualización de la línea pectínea. Se empleó la tinción de ácido acético, y posteriormente lugol. Una vez irrigada la mucosa, se tomaban biopsias de la misma mediante un catéter de colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE), las muestras procedían de los cuatro cuadrantes del canal anal (anterior, posterior, izquierda y derecha) tanto de mucosa aparentemente normal como de las zonas sospechosas (aceto-blancas, lugol-negativas), con el fin de intentar evitar los falsos negativos resultantes de una exploración realizada mediante un anoscopio sin aumento.

La clasificación citológica usada fue la Bethesda, la cual clasifica las lesiones en 3 tipos:

- ASCUS: células escamosas epiteliales de significado incierto. ASC-H (no puede descartar que sea de alto grado)
- LSIL: lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado.
- HSIL: lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado.

La clasificación histológica empleada fue la del LAST Project for HPV-Associated Lesions que divide a las lesiones en (123):

- LSIL (equivalente según la antigua clasificación histológica con AIN 1 (neoplasia intraepitelial anal tipo 1) y condiloma.
- HSIL (equivalente, según la antigua clasificación histológica, con AIN 2/3/ carcinoma in situ)
- Carcinoma escamoso invasivo (CCA)

6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

6.3.1. Tamaño muestral

Para calcular el tamaño de muestra se empleó el programa de cálculo estadístico Ene 2.0.; así para conseguir el objetivo principal del estudio (sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de la citología, PCR de VPH-AR solas y en combinación para diagnosticar HSIL), siguiendo una distribución asintótica normal al 95% bilateral, el número de pacientes necesario para alcanzar una sensibilidad del 75% con una precisión del 6% era de 201 sujetos.

6.3.2. Análisis descriptivo

Realizamos una descripción de las principales variables recogidas en el estudio, se calcularon medidas de tendencia central y dispersión (media, desviación típica, mediana, percentiles) para las variables cuantitativas, y frecuencias absolutas con intervalo de confianza del 95% para las cualitativas. Se calculó la prevalencia de VPH, displasia en estudio citológico e histológico con intervalo de confianza del 95%.

Calculamos la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la citología y PCR VPH-AR en el screening de HSIL.

El grado de concordancia entre los resultados de citología, PCR- VPH de AR y biopsia

fueron analizados usando el índice de Kappa. Los resultados del test fueron evaluados usando la clasificación de Landis y Koch, en la cual un valor de $k < 0,20$ se consideró pobre; 0,21-0,4 débil; 0,41 -0,6 moderado; 0,61-0,8 bueno; 0,81-1 muy bueno.

Analizamos la probabilidad de HSIL en la histología, en función del resultado de la citología y de la PCR de VPH-AR, de forma independiente y en combinación.

Finalmente, se realizó una curva de ROC para analizar el grado de acuerdo entre citología, PCR de VPH-AR e histología. Los resultados se consideraron, pobres (0,5 - 0,6); aceptables (0,6 - 0,75); buenos (0,75- 0,9); muy buenos (0,9 -0,97); excelente (0,97-1).

6.3.3. Análisis bivalente

Se empleó para estudiar la relación entre los posibles factores de riesgo y la presencia de lesiones HSIL (AIN2/3). Para las variables cuantitativas que seguían una distribución normal se aplicó el test t-Student para muestras independientes; para aquellas que no seguían una distribución normal el test de Mann-Whitney. Para las variables cualitativas se empleó, el test chi-cuadrado de Pearson, o Fisher si no se cumplían los criterios de aplicación. Para comprobar si las diferentes variables cumplían la hipótesis de normalidad se empleó el test de Shapiro-Wilk.

6.3.4. Análisis Multivariante

La regresión logística se aplicó usando la fórmula clásica de Freeman [$n=10*(k+1)$]. En el estudio estadístico se incluyeron tanto las variables que fueron estadísticamente significativas en el estudio bivalente como aquellas que eran clínicamente relevantes.

Las variables fueron introducidas individualmente y de forma manual, excluyendo aquellas que no modificaban los objetivos del estudio, y se construyó un modelo con las siguientes variantes: TAR, presencia de condilomas perianales, historia previa de

sífilis, aislamiento de VPH 16, 18, 33, 61 y 68, tiempo de infección por el VIH, duración del TAR, número de serotipos de VPH-AR en la mucosa anal, CD4 nadir, carga viral < 50 copias/mL, número de CD4 en el momento del diagnóstico de la infección VIH, número de CD4 , CD8 y carga viral del VIH del estudio. Se empleó un método de selección por pasos, de tal modo que, en cada paso, la probabilidad de entrar era de 0,05 y la de salir era de 0,10. El test de Hosmer-Lemeshov se empleó para evaluar la idoneidad del modelo de regresión logística.

Un valor $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo en todos los análisis. El programa estadístico utilizado fue el SPSS (versión 15.0).

CAPÍTULO 7. RESULTADOS

7.1. CARACTERÍSTICAS DE LA COHORTE DE PACIENTES VIH-HSH

Se incluyeron 201 pacientes en el estudio, cuya edad media fue de 37 años, nadir de CD4 nadir 362 células/uL, 36 meses (P25-P75: 15,3-106,8) desde el diagnóstico de VIH; 86,6% en TAR durante una mediana de 26,5 meses, 6.6% en fracaso virológico, y CD4 en el momento de inclusión de 724,9 cél /microL. Resto de variables en la tabla 1.

Tabla 1. Descripción general de los pacientes del estudio:

	Cohorte de pacientes HSH-VIH n=201
Edad media en años, (± DS)	37,41, (9,5)
Mediana de parejas sexuales anales 12 meses previos(IQR)	1 (1-5,75)
Uso de condones habitualmente, n (%), IC95%	164 (81,6), (66-86)
Nivel de estudios, n (%)	
Analfabetos	2 (1)
Primaria	24 (11,9)
Secundaria	64 (31,8)
Universitario	111 (55,2)
Jubilado, n (%), IC 95%	13 (6,5), (1-9)
Nacionalidad española, n (%)	192 (95,5)
Antecedentes de Condilomatosis perianal y/o genital, n (%), (IC95%)	69 (34,3), (28-41)
Condilomas perinales y/o genitales actualmente	62 (30,8), (24-37)
Antecedentes de infección luética, n (%), IC95%	42 (20,9), (12-32)
Otras ETS, n (%), IC 95%	67 (33,3), (29-52)
Antecedentes de infección tuberculosa latente, n (%)	19 (9,6)
Mediana Tiempo evolución del VIH (meses), (IQR)	36 (15,25-106,8)
CD4 al diagnóstico de VIH (cel/uL), (± DS)	473,08, (±344,4)
CD4 nadir (cel/uL), (± DS)	362,7, (±248,5)
CD4 actual (cél/uL), (± DS)	724,9, (±603,9)
CD8 actual (cél/uL), (± DS)	1261,1, (±3465,3)
CV actual (log), (± DS)	3,73, (±4,3)
CV < 50 copias/mL, n (%), IC95%	143 (71,1), (65-77)
CV 50 y 199 copias/mL, n (%), IC 95%	13 (6,5), (3-10)
CV 200 y 1000 copias/mL, n (%), IC 95%	9 (4,5), (2-7)
CV > 1000 copias/mL, n (%), IC 95%	35 (17,4), (12-23)
Fracaso virológico, n (%), IC 95%	11 (6,6), (3-10)
Estadio SIDA (A3, B3, C), n (%), IC95%	63 (31,3), (21-43)
Naive, n (%)	27 (13,4)
Mediana de meses de TAR, (P₂₅-P₇₅)	26,5, (9-74.75)
Infección crónica por VHC, n (%), IC 95%	7 (3,5), (0-11)
Infección crónica por VHB, n (%), IC 95%	4 (2), (1-7)
Tabaquismo, n (%), IC95%	93 (46,3), (34-58)
EXADVP, n (%)	2 (1), (1-7)

VHC, infección crónica por el virus de la hepatitis C; VHB, infección crónica por el virus de la hepatitis B; EXADVP, exadicto a drogas vía parenteral; ETS: enfermedad de transmisión sexual; CV: carga viral del VIH; IQR: intervalo intercuartil; DS, (desviación estandar)

7. 2. RESULTADOS DE LA CITOLOGÍA, PCR DEL VPH, E HISTOLOGÍA.

En cuanto a la citología anal, observamos que solamente 38,4% de los pacientes tuvieron citología normal, el resto tuvo algún grado de displasia, 51,1% LSIL, 4,5% HSIL y 6,1% ASCUS.

En el 80,2% (IC 95%: 65-85) de los pacientes se aislaron genotipos de VPH de alto riesgo; en 63,5% (IC 95%: 50-73) de bajo riesgo, y 52,3% (IC 95%: 33-56) de ambos tipos. Los genotipos más frecuentemente aislados fueron, de alto riesgo el 16 (31,5%), 18 (14,7%), 42, 51 y 59 (14,2%), 55 y 68 (11,2%); de bajo riesgo, 6 (17,3%), 11 (14,7%) y 61 (10,2%).

De las 201 anoscopias realizadas, solamente un 33,8% tuvieron una histología normal, 18,4% HSIL y 47,8% LSIL (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de la PCR de VPH, citología e histología

	Cohorte de pacientes HSH-VIH
PCR VPH, n (%), IC 95%	n= 197
VPH-Ar	158 (80,2), (65-85)
VPH-Br	125 (63,5), (50-73)
VPH-Ar y Br	103 (52,3), (33-56)
Mediana de VPH-Ar,	1 (1-3)
Mediana de VPH-Br	1 (0-2)
VPH 6	34 (17,3)
VPH 11	29 (14,7)
VPH 16	62 (31,5)
VPH 18	29 (14,7)
VPH 31	27 (13,7)
VPH 42	28 (14,2)
VPH 51	28 (14,2)
VPH 53	19 (9,6)
VPH 55	22 (11,2)
VPH 59	28 (14,2)
VPH 61	20 (10,2)
VPH 68	22 (11,2)
VPH-AR subespecies del 18 (39,45,59,68)	83 (42,1), (29-59)
VPH-AR subespecies del 16 (31,33,35,52,58,67)	102 (51,8), (35-59)
Citología, n (%)	n=198
Normal	76 (38,4)
LSIL	101 (51)
HSIL	9 (4,5)
ASCUS	12 (6,1)
Anoscopia, Histología, n (%)	n= 201
Normal	68 (33,8)
LSIL	96 (47,8)
HSIL (AIN2/3)	37 (18,4)

LSIL, lesión escamosa intraepitelial de bajo grado; HSIL, lesión escamosa intraepitelial de alto grado; ASC, lesión indeterminada, VPH, virus papiloma humano; VPH-Ar: VPH de alto riesgo, VPH-Br: VPH de bajo riesgo; AIN: Neoplasia intraepitelial anal.

7.3. VALOR DE LA CITOLOGÍA Y PCR DEL VPH EN EL DESPISTAJE DE HSIL

En cuanto a la S, E, VPP, y VPN de la citología anal para diagnosticar HSIL, el resultado obtenido fue de 75,7%, 41,6%, 22,9% y 88%, respectivamente; y para la PCR de VPH-AR, S 88,8 %, E 21,8 %, VPP 20,3%, VPN 89,7%. Al combinar ambas pruebas (PCR de VPH-AR positiva y/o citología con cualquier grado de displasia) la S, E, VPP, VNN era de

100%, 16,2%, 21,5% y 100%. (Tabla 3).

Tabla 3. Valor de la Citología anal y de la PCR de VPH-AR en el diagnóstico de HSIL (AIN2/3)

	S(%)	E(%)	VPP(%)	VPN(%)	LK(+),(95% CI);odds(%) (95%CI)	LK(-),(95% CI);odds (%) (95%CI)
Citología displásica	75,7	41,6	22,9	88,1	1,30, (1,04, 1,62); 23% (19-27)	0,58, (0,32, 1,06); 12%,(7-20)
PCR VPH-AR positiva	88,8	21,8	20,3	89,7	1,14, (0,99, 1,31); 20% (18-23)	0,51, (0,19, 1,34); 10%, (4-23)
Citología displásica y/o VPH-AR positiva	100	16,2	21,5	100	1,14, (0,99, 1,31); 20% (18-23)	0,5, (0,19, 1,35); 10% (4-23)
ASCUS	3	93,2	8,3	80,6	0,4, (0,05, 2,97); 8% (1-41)	1,04, (0,98, 1,12); 19% (18-20)
LSIL	59,5	50,9	21,8	50,9	1,21, (0,89, 1,65); 22% (17-27)	0,8, (0,52, 1,21); 16% (11-22)
HSIL	13,5	97,5	55,5	83	5,44, (1,53, 19); 56% (26-81)	0,89, (0,78, 1,01); 17% (15-29)

S, sensibilidad; E, especificidad; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; VPH-Ar, virus del papiloma humano de alto riesgo. LK (+), Likelihood ratio positivo; LK (-), likelihood ratio negativo; CI, confidencial interval. HSIL: High squamous intraepithelial lesions.

En cuanto a la correlación de la citología, e histología anal, empleando el índice Kappa (IK), encontramos una asociación insignificante entre la citología con cualquier grado de displasia, la presencia de LSIL (AIN1) (IK 0,19; p=0,004) y HSIL (AIN2/3) (IK 0,09; p,05); y desacuerdo en caso de citología e histología normal (IK 0,28; p=0001), (Tabla 4).

En cuanto a la correlación de la PCR de VPH-AR e histología anal encontramos una asociación insignificante con la presencia de LSIL (AIN1) (IK 0,12; p=0,04), y HSIL (AIN2/3) (IK 0,05; p=0,14), (Tabla 4).

Por último, en caso de citología normal y ausencia de VPH oncogénico en la mucosa anal la probabilidad de que el paciente tuviese de HSIL (AIN 2/3) o CA era nula (Tabla 4).

Tabla 4. Correlación entre citología y PCR de VPH-AR de mucosa anal con la histología.

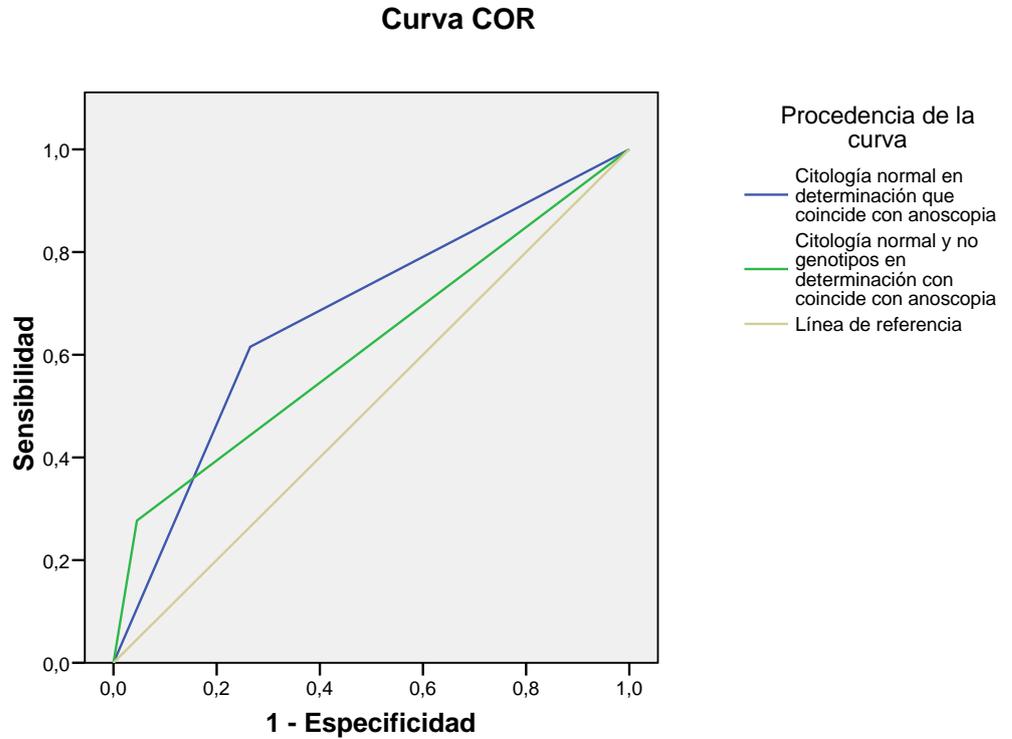
	Normal n (%) Kappa; p	LSIL (AIN 1) n (%) Kappa; p	HSIL (AIN2 y 3) n (%) Kappa; p
Citología normal (n=76)	40(53,9) -0,28; 0,0001	27 (35,5) -0,22; 0,04	9 (11,8) -0,123; 0,05
Citología displásica (n=122)	25 (20,5) 0,33; 0,0001	69 (56,6) 0,19; 0,004	28 (22,9) 0,09; 0,05
LSIL (n=101)	17 (16,8) 0,33; 0,0001	62 (61,4) 0,26; 0,0001	22 (21,8) 0,07; 0,25
HSIL (n=9)	1 (11,1) 0,03; 0,16.	3 (33,3) 0,03; 0,35	5 (55,5) 0,16; 0,04
ASCUS (n=12)	7 (58,3) -0,05; 0,05	4 (33,3) -0,04; 0,28	1 (8,3) -0,56; 0,35
VPH-Ar (n=158)	43 (27,2) 0,23; 0,001	82 (51,2) 0,12; 0,04	32 (20,3) 0,05; 0,14
VPH-AR negativa (n=39)	22 (56,4) 0,23; 0,001	13 (33,3) 0,12; 0,04	4 (10,3) 0,046; 0,15
Citología normal y PCR VPH-AR positiva (n=50)	21 (42) -0,07; 0,12	20 (40) -0,08; 0,16	9 (18) -0,07; 0,92
Citología normal y PCR VPH-AR negativa (n=24)	18 (75) -0,16; 0,0001	6 (25) -0,12; 0,014	0 -0,17; 0,01

VPH-Ar; Virus del papiloma humano de alto riesgo; p, significación; HSIL (High Squamous Intraepithelial lesions)

En cuanto al grado de acuerdo entre los hallazgos histológicos con la citología displásica y la PCR de VPH-AR fue en ambos casos pobre AUC<0,5, (AUC 0,581; IC95% 0,482-0,681; AUC 0,554; IC95% 0,455-0,653, respectivamente).

En el grado de acuerdo entre citología normal e histología normal el AUC de la curva ROC era 0,67; IC 95% 0,593-7,57; y en caso de citología normal sin genotipos oncogénicos 0,616, IC 95% 0,528-0,704; es decir, en ambos casos fue bueno el acuerdo (Figura 1).

Figura 1. Grado de acuerdo entre la citología normal y PCR de VPH-AR negativa y los resultados de la biopsia



Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

Coordenadas de la curva:

Curve coordinates	Cut-off	Sensibilidad	1 - Especificidad
Citología normal	-1,00	1,000	1,000
	,50	,615	,265
	2,00	,000	,000
Citología normal sin genotipos de alto riesgo	-1,00	1,000	1,000
	,50	,277	,045
	2,00	,000	,000

7.4. FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON HSIL

7.4.1. Análisis bivariante.

Como factores de riesgo de HSIL en nuestros pacientes VIH positivos HSH hallamos una carga viral del VIH ≥ 1.000 copias/uL ($p=0,029$), presencia en mucosa anal del genotipo 68 ($p=0,01$), y del 61 asociado a otros virus oncogénicos ($p=0,04$).

Como factores protectores encontramos tomar tratamiento antirretroviral ($p=0,001$), supresión virológica con carga viral inferior a 50 copias/uL ($p=0,01$), y más tiempo de diagnóstico del VIH ($p=0,001$) (Tabla 5).

7.4.2. Análisis de regresión logística

En el análisis multivariante identificamos como factor de riesgo para HSIL, la presencia del genotipo 68 (OR: 20,1; IC 95%: 2,04-197,82), cuya prevalencia era del 11,2%; y como factor protector una carga viral < 50 copias/mL gracias al TAR (OR: 0,312; IC 95%: 0,09-0,98), y tener un diagnóstico previo de sífilis (OR: 0,193; IC 95%: 0,045-0,83).

**Tabla 5. Factores de riesgo asociados con la aparición de HSIL en la anoscopia.
Resultados del análisis univariante.**

	HSH-VIH con HSIL N= 37	HSH-VIH sin HSIL N= 164	p
Edad media (años), (± DS)	35,5, (± 8,8)	37,8, (± 9,7)	0,17
Jubilado, n (%)	2 (0,05)	11 (0,07)	1
Parejas anales en 12 meses previos (IQR)	1 (1-9,5)	1 (1-5)	0,47
Uso de condón, n (%)	28 (75,7)	136 (82,9)	0,3
Verrugas anales y/o peneanas actualmente, n (%)	14 (37,8)	48 (29,3)	0,4
Historia previa de:			
Verrugas anales y/o peneanas, n (%)	14 (37,8)	55 (33,5)	0,62
Sífilis, n (%)	5 (13,5)	37 (22,5)	0,22
ITL, n(%)	4 (10,8)	15 (9,2)	1
Tabaquismo, n (%)	18 (48,6)	75 (45,7)	0,75
Tiempo evolutivo del VIH (meses), (IQR)	18,5, (3-35,3)	46,5 (18,3-111,5)	0,0001
CD4 al diagnóstico de VIH (cél/ul), (± DS)	549,5, (±411,1)	454,9,(±325,6)	0,15
CD4 nadir (cél/ul), (± DS)	380,3, (±302,6)	358,8, (±235,3)	0,64
CD4 (cel/uL), (± DS)	659,8, (±332,7)	739,7, (±649,6)	0,47
CD8 (cel/uL), (± DS)	994,9, (±411,5)	1321,6, (±3833,2)	0,6
CV del VIH (log) (± DS)	4,07, (±4,52)	3,59, (±4,14)	0,16
CV < 50 copias/mL, n (%)	20 (54,1)	123 (75)	0,01
CV 50 y 199 copias/mL, n(%)	2 (5,4)	11 (6,5)	1
CV 200 y 1000 copias/mL, n (%)	2 (5,4)	7 (4,2)	1
CV > 1000 copias/mL, n (%)	11 (29,7)	24 (14,3)	0,029
Fracaso virológico, n (%)	1 (3,8)	10 (7,2)	0,84
Estadio SIDA (A3, B3, C), n (%)	9 (24,3)	54 (32,9)	0,38
TAR, n (%)	29 (78,4)	145 (88,4)	0,18
Mediana de meses de TAR, (IQR)	11,5 (1,25-27)	31 (11,25-83,75)	0,001
PCR de VPH actual			
VPH-Br	25 (67,6)	100 (60,9)	0,41
VPH-Ar	32 (86,5)	126 (76,8)	0,15
VPH-Br y Ar	20 (55,5)	83 (50,6)	0,66
Nº VPH-Ar(IQR)	2 (1-3,75)	1 (1-3)	0,13
Nº VPH-Br(IQR)	1 (0-2)	1 (0-2)	0,57
Genotipos, n (%)			
VPH escala filogenética del VPH 18	19 (55,9)	64 (39)	0,15
VPH escala filogenética del VPH 16	20 (54,1)	82 (50)	0,62
VPH 16 y 18 simultáneamente	5 (13,5)	7 (4,3)	0,046
VPH 6	9 (24,3)	25 (14,9)	0,17
VPH 11	9 (24,3)	20 (11,9)	0,054
VPH 16	15 (40,5)	47 (27,9)	0,15
VPH18	8 (21,6)	21 (12,5)	0,16
VPH 33	0	16 (9)	0,047
VPH 39	6 (16,2)	13 (7,7)	0,12
VPH 42	6 (16,2)	22 (13,1)	0,64
VPH 45	3 (8,1)	19 (11,3)	0,77

VPH 51	7 (18,9)	21 (12,5)	0,32
VPH 52	3 (8,1)	16 (9,5)	1
VPH 53	7 (18,9)	12 (7,1)	0,054
VPH 53 y 16	4 (10,8)	6 (3,6)	0,16
VPH 55	1 (2,7)	21 (12,5)	0,09
VPH 59	6 (16,2)	22 (13,1)	0,64
VPH 61	8 (21,6)	12 (7,1)	0,01
VPH 61 con otro VPH-AR	7 (18,9)	11 (6,5)	0,026
VPH 61 y 16	5 (13,5)	7 (4,3)	0,046
VPH 66	1 (0,59)	20 (54,1)	0,13
VPH 68	9 (24,3)	13 (7,7)	0,007
VPH 68 y 16	5 (13,5)	6 (3,6)	0,03

HSH-VIH, hombres que tienen sexo con hombres VIH positivos; ITL, Infección tuberculosa latente; VHC virus de la hepatitis C; VHB, virus de la hepatitis B; VPH, Virus papiloma humano; EXADV, exadicto a droga vía parenteral; CV, carga viral del VIH. VPH-Ar: VPH de alto riesgo, VPH-Br: VPH de bajo riesgo; LSIL (lesión intraepitelial de bajo grado); HSIL (lesión intraepitelial de alto grado); ASC (anormalidades citológicas de significado incierto).

TEMA 8. DISCUSIÓN

En el despistaje de HSIL, en nuestra cohorte de pacientes HSH VIH positivos, hemos encontrado mayor sensibilidad de la PCR-VPH-AR que de la citología (88,8% vs 75,7%) para el diagnóstico de lesiones premalignas, con poca especificidad en ambos casos (21,8 vs 41,6%) y cifras similares de VPP (20,3% vs 22,9%) y VPN (89,7% vs 88,1%). Cuando se combinan ambas pruebas la sensibilidad y el VPN son del 100%; de forma que ninguno de los pacientes con citología normal y PCR del VPH-AR negativa tenían una lesión HSIL (AIN2/3/C.in situ); dicho resultado ayuda a clasificar mejor a los pacientes VIH HSH a los que se les debe realizar una anoscopia, evitando así pruebas innecesarias.

Nuestros hallazgos se corroboran con los resultados publicados previamente, donde otros autores han comunicado el beneficio de incluir la PCR del VPH-AR a la citología anal en el screening de lesiones HSIL cuyos resultados al igual que los nuestros, muestran una baja especificidad, y valor predictivo positivo, con valores de sensibilidad y VPN del 100% (59). En otros estudios se propone la determinación de la PCR de VPH en mucosa anal sólo en pacientes con citología de significado incierto (82,127) en el grupo HSH seronegativos (62) para evitar el infradiagnóstico de lesiones premalignas, que llegaría a ser hasta del 22% (128).

La técnica más estudiada y empleada hasta el momento en el despistaje de lesiones displásicas de mucosa anal ha sido la citología, una prueba sencilla y barata, que puede ser realizada por el médico en la consulta, o el propio paciente (38). La sensibilidad y especificidad de la citología anal mediante Papanicolau en caso de lesiones de cualquier grado oscilan entre 47-93%, y 32- 50%, respectivamente. La citología tiene mayor sensibilidad en caso de pacientes con lesiones de alto grado, mayor número de cuadrantes afectados, VIH positivos, y CD4 inferior a 200 células/microlitros (63).

Nuestra cohorte de pacientes VIH tenía un excelente estado inmunológico con una media de CD4 de 724 células/uL, y una prevalencia de HSIL del 18%, ambos factores predictores de baja sensibilidad de la citología para predecir HSIL o Cáncer anal.

Por otra parte, hemos encontrado escasa correlación entre la citología e histología anal (índice Kappa <0,2), lo que creemos se debe a la baja especificidad de esta técnica, que le confiere poca capacidad para predecir el grado histológico de las lesiones en dicha mucosa. Este hecho se podría explicar por el tipo de epitelio que tiene el ano, malpighiano queratinizado, el cual encubriría las lesiones de la mucosa anal. Por tanto, a diferencia de la citología cervical, la citología anal no sería útil para graduar el tipo de lesión. Resultados que se corroboran en trabajos previos donde la citología no tenía una buena correlación con la histología, aproximadamente entre un 40-50% de las lesiones ASCUS o LSIL se podían corresponder con lesiones precursoras de Carcinoma escamoso de canal anal (59,129). En nuestro caso hasta un 22% de las LSIL, 11,8% de las normales y 8% de ASCUs se correspondían en el estudio histológico con HSIL.

En la actualidad hay autores que defienden la anoscopia de alta resolución (AAR) como la técnica ideal para realizar despistaje de HSIL (130); nosotros por nuestra parte creemos que la AAR como prueba de screening tiene varios inconvenientes, entre los cuales se encuentran el que debe hacerse en un centro donde se disponga del aparataje, expertos en la técnica, tiempo y espacio disponible, y sus posibles complicaciones, aunque son leves no dejan de ser molestas como el sangrado rectal (que suele ser muy escaso), y dolor con la toma de las muestras. La citología se realiza en unos 20 segundos, no es dolorosa, ni tiene complicaciones, incluso se la puede realizar el propio paciente, no requiere lugar específico y con la misma toma en medio líquido se lleva a cabo la PCR de VPH, evitando así los infra-diagnósticos de HSIL en

pacientes con citología normal, que en nuestro caso era del 12%.

El CA en pacientes VIH tiene especial relevancia por su alta incidencia, siendo una de las neoplasias no definitorias de SIDA más frecuentes sobre todo en HSH y mujeres con patología cervical asociada al VPH (131,132); y también, por su mayor progresión (46), aunque con respuesta a quimio y radioterapia similar a la población seronegativa, a pesar de presentar una reducción prolongada de las cifras de CD4 tras el tratamiento no se produce un incremento de la morbilidad asociada al VIH (133). Por este motivo, realizar un despistaje de lesiones premalignas (HSIL) tiene vital importancia, puesto que el tratamiento de estas lesiones podría, según los estudios publicados, reducir la aparición de CA; dichos tratamientos incluyen desde fármacos de aplicación tópica (Imiquimod, cidofovir), hasta ablación ambulatoria de las lesiones con termocoagulación, o mucosectomía en hospitalizados (75). Sin embargo, las recomendaciones sobre el despistaje de lesiones precursoras de CA de las diferentes sociedades científicas de VIH resultan ser dispares, e incluso ambiguas (55,56,134). Así la sociedad europea (EACS)(55) recomienda hacerlo tan sólo en HSH anual o trianualmente, mediante tacto rectal y/o citología (test de Papanicolau); la Sociedad americana de enfermedades infecciosas inspección visual y tacto rectal anual, y en pacientes VIH HSH con antecedentes de condilomas consideran la citología anal, aunque no como técnica estándar, y en caso de Papanicolau anómalo proponen anoscopia de alta resolución (AAR) (134); finalmente, el Grupo de estudio de SIDA español (GESIDA) recomienda en centros no especializados inspección y tacto rectal; y en el resto citología anual en HSH, y mujeres con CIN2/3 o Carcinoma invasivo de cérvix, y en caso de anormalidad en la citología realizar AAR con biopsia de zonas aceto-blancas, lugol-negativas (56).

En cuanto a la prevalencia de displasia mediante citología en nuestra cohorte encontramos que 51% tenían LSIL, 4,5% HSIL, y 6,1% ASCUS; proporciones similares a las encontradas por otros autores en este tipo de paciente (134). En cuanto a los hallazgos histológicos encontramos 47,8% LSIL (AIN 1) y 18,4% HSIL (AIN 2/3/ C. in situ) y ningún caso de carcinoma invasivo anal. Cifras muy similares a las encontradas en otros estudios, especialmente en el caso de las lesiones de bajo grado (LSIL 40%, HSIL 46%, CA 0%)(46).

En cuanto a la infección de mucosa anal por VPH hallamos que 80,2% de nuestros pacientes tenían genotipos de alto riesgo, 63,5% de bajo riesgo, y 52,3% de ambos genotipos. Los genotipos de VPH más frecuentemente aislados eran, de bajo riesgo el HPV 6 (17,3%), 11 (14,7%) y 61 (10,2%); y de alto riesgo 16 (31,5%), 18 (14,7%), 42, 51 y 59 (14,2%), 55 y 68 (11,2%). Esta alta prevalencia de infección anal por VPH de AR y BR se ha comunicado previamente en pacientes VIH HSH lo que se asociaba de forma significativa con anormalidades citológicas (74).

En el análisis de regresión logística múltiple hemos encontrado como factor predictor de HSIL la presencia del genotipo VPH-68 (OR 20,077; IC 95% 2,038), y como protectores la supresión virológica, con carga viral inferior a 50 copias/uL (OR 0.312; IC 95% 0,099-0,984), y la infección luética previa (OR 0,193, IC 95% 0,045-0,827). La supresión virológica del VIH se relaciona directamente con la toma de tratamiento antirretroviral, lo que confiere un efecto protector del TAR frente a la aparición de HSIL en nuestra cohorte de pacientes HSH VIH positivos. En el período previo a la introducción del TAR (1.985-1.996) la incidencia de CA en pacientes VIH positivos HSH se encontraba en torno a 11casos/100.000 personas/año; a partir de 1.997, 55 casos/100.000personas/año (135), llegando en el período del TAR precoz (1997-

2001) hasta 134 y 144 casos /100.000 personas/año (136); con los datos de la cohorte NA-ACCORD, se constata un incremento de esta neoplasia en los pacientes VIH coincidente con la era precoz del TAR, y posterior mantenimiento de las cifras de incidencia (40). Por contra, en la cohorte suiza, en la que también se analizaba la incidencia de CA, hallaron una reducción de dicha neoplasia a partir del llamado periodo tardío del TAR considerado entre los años 2002-2006 (28), datos que se han confirmado en otras cohortes de pacientes, incluyendo la nuestra, en las que se ha medido el efecto del TAR en período tardío (42,47).

El genotipo oncogénico de VPH más frecuente de nuestra cohorte era el 16, con una prevalencia del 31,5%, y se encontraba distribuido homogéneamente entre pacientes con y sin HSIL (40,5%vs 27,9% p=0,15); analizamos si su asociación con otros virus de alto riesgo se correlacionaban con la aparición de HSIL y encontramos que la combinación con los genotipos 18 y 68 estaba asociada de forma estadísticamente significativa con dicho fenómeno (13,5 %vs 4,3%, p=0,04, y 13,5% vs 3,6% p=0,03, respectivamente). En los estudios publicados tanto en población seropositiva como negativa, independientemente del género u orientación sexual el genotipo 16 es el VPH de AR más prevalente en mucosa anal (74).

El genotipo VPH-68 con una prevalencia en nuestra cohorte del 11,2%, lo encontramos asociado de forma estadísticamente significativa con la aparición de HSIL (OR20, IC 95% 2,04-197,8), de forma que los pacientes que presentaban este genotipo en su mucosa tenía un riesgo 20 veces superior. Este genotipo tiene capacidad oncogénica, pertenece al grupo C de la rama filogenética del VPH, que resulta similar a los genotipos 18, 39, 45 y 59 (137). Estos genotipos, a diferencia del 16, tiene la capacidad de eludir la vigilancia inmunológica, y así favorece el desarrollo de lesiones displásicas

en la mucosa anal (137).

Finalmente, en cuanto al punto débil de nuestro trabajo estaría en el empleo de anoscopia simple, que si bien no difieren significativamente los resultados de HSIL con los encontrados por otros autores que utilizan anoscopio de alta resolución, HSIL 21,5% (75) versus 18,4% en nuestro trabajo (138), podría subestimar los resultados; para intentar evitar ese infradiagnóstico realizamos biopsia tanto de mucosa aceto-blanca/lugol-negativa, como de mucosa aparentemente normal.

La fortaleza de nuestro trabajo se basa en el empleo de un método doble de screening de lesiones premalignas de mucosa anal (PCR del VPH-AR y citología) fácil y rápido de hacer, no invasivo, al alcance de cualquier centro hospitalario, que permite clasificar a los candidatos para anoscopia ya fuese por resultado anómalo de la citología o positividad de la PCR del VPH-AR, ambas eran indicación directa de anoscopia.

Además, de contar siempre con los mismos expertos en cada uno de los campos que se abordaron lo que llevó a constituir un grupo de trabajo en el hospital con su propio espacio web.

TEMA 9. CONCLUSIONES

1. En pacientes VIH positivos HSH se debería hacer de forma sistemática despistaje de lesiones premalignas de la mucosa anal inicialmente con citología. En caso de citología normal realizar la PCR de VPH y si es de alto riesgo, hacer anoscopia. En caso de citología anómala realizar directamente anoscopia. Por último, resaltar que en caso de citología normal y ausencia de virus oncogénicos la probabilidad de tener HSIL era nula.
2. La prevalencia LSIL (AIN1) era del 47,8%, y HSIL (AIN2/3/C. in situ) 18,4%.
3. La prevalencia de infección por VPH-AR, BR, y mixta es de 80,2%, 63,5% y 52,3%, respectivamente.
4. Por último, destacar que como principal factor de riesgo asociado con HSIL hemos encontrado la presencia de VPH-68, y como protector la supresión virológica del VIH.

BIBLIOGRAFÍA

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). The Global HIV/AIDS pandemic. MMRW Morb Mortal Wkly Rep.2006; 55: 841-4.
2. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2016. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2016 [actualizado Nov 2015; citado 1 Nov 2016]. UNAIDS-Gap- report-2016.pdf. [aprox. 56 pantallas]. Disponible en:
http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-prevention-gap-report_en.pdf
3. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2013. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2013 [actualizado Sept 2014; citado 20 marzo 2015]. UNAIDS-Gap- report-2014.pdf. [aprox. 10 y 11 pantallas]. Disponible en:
http://www.unaids.org/sites/default/files/en/media/unaids/contentassets/documents/unaidspublication/2014/UNAIDS_Gap_report_en.pdf.
4. El-Sadr Wafaa M, Holmes Charles B, Mugenyi Peter et al. Scale-up for HIV treatment through PEPFAR: A historic Public Health Achievement. JAIDS.2012; 60: 96-104.
5. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2016. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2016 [actualizado Nov 2015; citado 1 Nov 2016]. UNAIDS-Gap- report-2016.pdf. [aprox. 80 pantallas]. Disponible en:
http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-prevention-gap-

report_en.pdf

6. Miller V., Nwokikeb J., Stergachisc A. Pharmacovigilance and global HIV/AIDS. *Curr Opin HIV AIDS*.2012; 7: 299–304.

7. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2016. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2016 [actualizado Nov 2015; citado 1 Nov 2016]. UNAIDS-Gap- report-2016.pdf. [aprox. 231 pantallas]. Disponible en:

http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-prevention-gap-report_en.pdf

8. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report : UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2013. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2013 [actualizado Sept 2014; citado 20 marzo 2015]. UNAIDS-Gap- report-2014.pdf. [aprox. 19 pantallas]. Disponible en:

http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf.

9. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report : UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2013. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2013 [actualizado Sept 2014; citado 20 marzo 2015]. UNAIDS-Gap- report-2014.pdf. [aprox. 28 pantallas]. Disponible en :

http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf.

10. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2016. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2016 [actualizado Nov 2015; citado 1 Nov 2016]. UNAIDS-Gap- report-2016.pdf. [aprox. 99 pantallas]. Disponible en:

http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-prevention-gap-report_en.pdf

11. Dunkle KL, Stephenson R, Karita E et al. New heterosexually transmitted HIV infections in married or cohabiting couples in urban Zambia and Rwanda: analysis of survey and clinical data. *Lancet*.2008; 37: 2183-91.

12. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2016. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2016

[actualizado Nov 2015; citado 1 Nov 2016]. UNAIDS-Gap- report-2016.pdf. [aprox. 115 pantallas]. Disponible en:

http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-prevention-gap-report_en.pdf

13. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2016. [Internet]. Geneva: UNAIDS 2016 [actualizado Nov 2015; citado 1 Nov 2016]. UNAIDS-Gap- report-2016.pdf. [aprox. 130 pantallas]. Disponible en:

http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-prevention-gap-report_en.pdf

14. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2014. [Internet]. Estocolmo: European Centre for

Disease Prevention and Control ; 2016 [actualizado 5 de Nov 2015; citado 20 de Octubre 2016]. ecdc.europa.eu/en/publications/hiv-aids-surveillance-report-Europe-2016.pdf. [aprox. 1 pantalla] Disponible en :

<http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/aids/Documents/aer2016/aer-hiv-aids-2016.pdf>

15. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2014. [Internet]. Estocolmo: European Centre for Disease Prevention and Control ; 2016 [actualizado 5 de Nov 2015; citado 20 de Octubre 2016]. ecdc.europa.eu/en/publications/hiv-aids-surveillance-report-Europe-2016.pdf. [aprox.2 pantalla]. Disponible en:

<http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/aids/Documents/aer2016/aer-hiv-aids-2016.pdf>

16. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2014. [Internet]. Estocolmo: European Centre for Disease Prevention and Control ; 2016 [actualizado 5 de Nov 2015; citado 20 de Octubre 2016]. ecdc.europa.eu/en/publications/hiv-aids-surveillance-report-Europe-2016.pdf. [aprox. 68 pantalla]. Disponible en:

<http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/aids/Documents/aer2016/aer-hiv-aids-2016.pdf>

17. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH/sida en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - S.G. de Promoción de la Salud y Epidemiología / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. [Internet].Madrid : Ministerio de Sanidad , Servicios Sociales e Igualdad; 2015 [actualizado 30 de Junio de 2015; citado 30 de Octubre 2016]

msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf . [aprox. 6 pantallas].Disponible en :

http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf

18. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH/sida en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - S.G. de Promoción de la Salud y Epidemiología / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. [Internet].Madrid : Ministerio de Sanidad , Servicios Sociales e Igualdad; 2015 [actualizado 30 de Junio de 2015; citado 30 de Octubre 2016]

msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf . [aprox. 5 pantallas].Disponible en :

http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf

19. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH/sida en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - S.G. de Promoción de la Salud y Epidemiología / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. [Internet].Madrid : Ministerio de Sanidad , Servicios Sociales e Igualdad; 2015 [actualizado 30 de Junio de 2015; citado 30 de Octubre 2016]

msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf . [aprox. 7 pantallas].Disponible en :

http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf

20. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH/sida en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y

Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - S.G. de Promoción de la Salud y Epidemiología / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. [Internet].Madrid : Ministerio de Sanidad , Servicios Sociales e Igualdad; 2015 [actualizado 30 de Junio de 2015; citado 30 de Octubre 2016]

[msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf](http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf) . [aprox. 15 pantallas].Disponible en :
http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf

21. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH/sida en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - S.G. de Promoción de la Salud y Epidemiología / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. [Internet].Madrid : Ministerio de Sanidad , Servicios Sociales e Igualdad; 2015 [actualizado 30 de Junio de 2015; citado 30 de Octubre 2016]

[msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf](http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf) . [aprox. 21 pantallas].Disponible en :
http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf

22. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH/sida en España: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - S.G. de Promoción de la Salud y Epidemiología / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. [Internet].Madrid : Ministerio de Sanidad , Servicios Sociales e Igualdad; 2015 [actualizado 30 de Junio de 2015; citado 30 de Octubre 2016]

[msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf](http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIHSida_Junio2015.pdf) . [aprox. 16 pantallas].Disponible en :
http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2015.pdf

23. Cañas E, Viciano P, Lozano F et al. La infección por el VIH en Andalucía. Una década de encuestas hospitalarias de prevalencia. Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas. Sevilla, 2001.

24. López A, Palacios R, Merino D et al. Enfermedades Infecciosas y Microbiología

Clínica. 2011; 29: 639-40.

25. Bonnet F, Lewden C, May T et al. Malignancy-related causes of death in human immunodeficiency virus-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. *Cancer*.2004; 101: 317—24.

26. Silverberg MJ, Abrams DI. AIDS-defining and non-AIDSdefining malignancies: cancer occurrence in the antiretroviral therapy era. *Curr Opin Oncol*. 2007; 19: 446—51.

27. Crum-Cianflone N, Hullsiek KH, Marconi V et al. Trends in the incidence of cancers among HIV-infected persons and the impact of antiretroviral therapy: a 20-year cohort study. *AIDS*.2009; 23: 41—50.

28. Francheschi S, Lise M, Clifford GM et al. Changing patterns of cancer incidence in the early-and late-HAART periods: the Swiss HIV cohort Study. *Br J Cancer*.2010; 103: 416-22.

29. Biggar RJ, Chaturvedi AK, Goedert JJ et al. HIV/AIDS Cancer Match Study SO AIDS-related cancer and severity of immunosuppression in persons with AIDS. *J Natl Cancer Inst*.2007; 99: 962-72.

30. David H. Adlera, Lisa Kakinamib, Tebogo Modisenyanec et al. Increased regression and decreased incidence of human papillomavirus-related cervical lesions among HIV-infected women on HAART *AIDS*.2012; 26: 1645–1652

31. Powles T, Robinson D, Stebbing J et al. Highly active antiretroviral therapy and the incidence of non-AIDS-defining cancers in people with HIV-infection. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 884-90

32. Uptodate. HIV infection and malignancy: management considerations [Internet].Wolters Kluwer Health. [actualizado Enero 2013; citado Mayo 2015].

Disponible en : <http://ws003.juntadeandalucia.es:2092/contents/hiv-infection-and-malignancy>

33. Weber R, Ruppik M , Rickenbach M et al. Swiss HIV Cohort Study (SHCS). Decreasing mortality and changing patterns of causes of death in the Swiss HIV Cohort Study.*HIV Medicine*.2013; 14: 195–207.

34. Bedimo RJ, McGinnis KA, Dunlap M et al. Incidence of non-AIDS-defining malignancies in HIV-infected versus noninfected patients in the HAART era: impact of immunosuppression. *J Acquir Immune Defic Syndr*.2009; 52: 203-8.

35. Hernando V, Alejos B, Monge S et al.; CoRIS cohort. All-cause mortality in the

- cohorts of the Spanish AIDS Research Network (RIS) compared with the general population: 1997-2010. *BMC Infect Dis.* 2013; 13: 382.
36. Fox PA, Seet JA, Stebbing J et al. The value of anal cytology and human papillomavirus typing in the detection of anal intraepithelial neoplasia: a review of cases of an anoscopy clinic. *Sex Transmitted Dis.* 2005; 81: 142-46.
37. Boulet G, Horvarth C, Vanden Broeck D et al. Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39: 2006-11.
38. Chin-Hong PV, Berry JM, Cheng SC et al. Comparison of patient and clinician-collected anal cytology samples to screen for human papillomavirus-associated anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men. *Ann Intern Med.* 2008; 149: 300-6.
39. Palefsky J. Human Papillomavirus and anal neoplasia. *Current HIV/AIDS reports.* 2008; 5: 78-85.
40. Silverberg MJ, Lau B, Justice AC et al. Risk of Anal Cancer in HIV-Infected and HIV-Uninfected Individuals in North America. *Clinical Infectious Diseases.* 2012; 54: 1026–34.
41. Syrjanen S. Human papillomavirus infection and its association with HIV. *Adv Dent Res.* 2011; 23: 84–9.
42. Eric M. van der Snoek, M. E. van der Ende, J. C. den Hollander et al. Use of Highly Active Antiretroviral Therapy Is Associated With Lower Prevalence of Anal Intraepithelial Neoplastic Lesions and Lower Prevalence of Human Papillomavirus in HIV-Infected Men Who Have Sex With Men. *Sexually Transmitted Diseases.* July 2012; 39: 495-501.
43. Palefsky JM, Holly Ea, Efirdc JT 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.
44. Hleyhel M, Hleyhel M, Bouvier AM et al. Risk of non-AIDS-defining cancers among HIV-1-infected individuals in France between 1997 and 2009: results from a French cohort. *AIDS.* 2014; 28: 2109-18.
45. de Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G et al. HAART and progression to high-grade anal intraepithelial neoplasia in men who have sex with men and are infected with HIV. *Clin Infect Dis.* 2011; 52: 1174 –81.

46. Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Anguita C et al. Antiretroviral therapy as a factor protective against anal dysplasia in HIV-infected males who have sex with males. *PLoS One*. 2014 ; 9: e92376.
47. Piketty C, Cochand-Priollet B, Lanoy E et al. Lack of regression of anal squamous intraepithelial lesions despite immune restoration under cART. *AIDS*. 2013; 27: 401-6.
48. Gaisa M, Sigel K, Hand J et al. High rates of anal dysplasia in HIV-infected men who have sex with men, women, and heterosexual men. *AIDS*. 2014; 28: 215-22.
49. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML. Prevalence and risk factors for human papillomavirus infection of the anal canal in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative homosexual men. *J Infect DIS*. 1998; 177: 361-7.
50. Wilkin TJ , Palmer KF, Brudney M A et al. Anal Intraepithelial Neoplasia in Heterosexual and Homosexual HIV-positive Men with access to Antiretroviral Therapy. *JID*. 2004; 190: 1685-91.
51. Salit IE, Timmouth J, Chong S et al. Screening for HIV-associated anal cancer: correlation of HPV genotypes, p16, and E6 transcripts with anal pathology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009; 18: 1986-92.
52. de Pokomandy. Prevalence, clearance, and incidence of anal Human Papillomavirus Infection in HIV-infected Men: The HIPVIRG Cohort Study. *JID*. 2009; 199: 965-73.
53. Hidalgo Tenorio C, Rivero Rodríguez M, Concha Á et al. Linfocitos CD4 como factor protector frente a la infección por genotipos oncogénicos del virus del papiloma humano en la mucosa del canal anal de varones que tienen sexo con varones infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin (Barc)*. 2013; 140: 193-9.
54. Centers for Disease Control and Prevention. 2015 STD Treatment Guidelines [Internet]. Atlanta: U.S. Department of Health & Human Services; 2015 [Febrero 2016, Septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/tg2015/qa/screening-qa.htm>
55. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2014. [Internet]. Estocolmo: European Centre for Disease Prevention and Control ; 2016 [actualizado 5 de Nov 2015; citado 20 de Octubre 2016]. [Ecdc.europa.eu/en/publications/hiv-aids-surveillance-report-Europe-2016.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/hiv-aids-surveillance-report-Europe-2016.pdf). [aprox. 34 pantalla]. Disponible en:

<http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/aids/Documents/aer2016/aer-hiv-aids-2016.pdf>

56. gesida-seimc.org [Internet]. Madrid: Grupo de Estudio sobre el SIDA de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. ; 2014 [2014, Septiembre 2016]. [gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2014/gesida-guiasclinicas-2014-TumoresNoDefinitoriosSIDA](http://www.gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2014/gesida-guiasclinicas-2014-TumoresNoDefinitoriosSIDA). [aprox. 33 pantalla]. Disponible en: <http://www.gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2014/gesida-guiasclinicas-2014-TumoresNoDefinitoriosSIDA.pdf>
57. Pinto AP, Degen M, Villa LL et al. Immunomarkers in gynecologic cytology: the search for the ideal 'biomolecular Papanicolaou test'. *Acta Cytol.*2012; 56: 109-121.
58. Conley L, Bush T, Darragh TM et al. Factors associated with prevalent abnormal anal cytology in a large cohort of HIV-infected adults in the United States. *JID.*2010; 202: 1567–76.
59. Salit IE, Lytwyn A, Raboud J et al. The Role of Cytology (Pap Tests) and Human Papillomavirus Testing in Anal Cancer Screening. *AIDS.* 2010; 24: 1307-1313.
60. Roberts JM, Jin F, Thurloe JK, Biro C et al. High reproducibility of histological diagnosis of human papillomavirus-related intraepithelial lesions of the anal canal. *Pathology.*2015; 47: 308-13.
61. Cachay ER, Agmas W, Mathews WC. Relative accuracy of cervical and anal cytology for detection of high grade lesions by colposcope guided biopsy: a cut-point meta-analytic comparison. *PLoS One.*2012; 7: e38956.
62. Berry JM, Palefsky JM, Jay N et al. 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: 239-47.
63. Nathan M, Singh N. Performance of anal cytology in a clinical setting when measured against histology and high-resolution anoscopy findings. *AIDS.*2010; 24: 373-9.
64. Bean SM, Chheng DC, Roberson J 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: 90-6.
65. Chin-Hong PV, Vittinghoff E, Cranston RD et al. Age-Specific Prevalence of Anal Human Papillomavirus Infection in HIV- Negative Sexually Active Men Who Have Sex

- with Men : The EXPLORE Study. *Journal Infectious Disease*.2004; 190: 2070-6.
66. Ching- Hong PV , Palefsky JM. Natural History and Clinical Management of Anal Human Papillomavirus Disease in Men and Women Infected with Human Immunodeficiency Virus. *CID*.2002; 35: 1127-34.
67. Goldstone SE, Chinedum SE , Davis TW. Detection of Oncogenic Human Papillomavirus and Other Predictors of Anal High-Grade Dysplasia in Men Who Have Sex with Men with Abnormal Citology . *Dis Colon Rectum*.2009; 52: 31-9.
68. Medscape HIV/AIDS [Internet].Nueva York : WebMD LLC, 1994 [actualizado 22 de Abril de 2010, citado 12 de Octubre de 2015].Disponible en <http://www.medscape.com/viewarticle/720388>.
69. Goldie SJ, Kuntz Km, Weinstein MC et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions in homosexual and bisexual HIV-positive men. *JAMA*.1999; 281: 1822-9.
70. Galgano MT, Castle PE, Atkins KA et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *Am J SurgPathol*. 2010; 34: 1077–87.
71. Bala R, Pinsky BA, Beck AH et al. P16 is superior to ProEx C in identifying high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) of the anal canal. *Am J Surg Pathol*.2013; 37: 659-68.
72. Kenneth SH , Cranston Rd. Anal Citology screening in HIV-positive men who have sex with men :what´s new and what´s now?. *Current Opinion in Infectious Disease*. 2010; 23: 21-5.
73. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT et al. Members of LAST Project Work Groups. 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. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2012; 136: 1266-97.
74. Maarten F, Schim van der Loeff, Sofie H et al. HPV and Anal Cancer in HIV-Infected Individuals: A Review. *Curr HIV/AIDS Rep*.2014; 11: 250–62.
75. Machalek DA, Poynten M, Jin F, et al. Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2012; 13: 487–500.
76. Carmen Hidalgo Tenorio, Javier Esquivias López Cuervo, Jessica Ramírez Taboada et

al. Which test is better for screening AIN2+ lesions: P16/ki67, anal cytology or high-risk HPV PCR in HIV+ patients?. Number poster: 1253. 27th ECCMID. Viena Austria. 22-25 april 2017.

77. Goldstone SE; Adam Z. Infrared Coagulator : A useful Tool for Treating Anal squamous Intraepithelial Lesions. *Dis Colon Rectum*.2005; 48: 1042-54

78. Palefsky J.M. Diagnosis and management of HPV-associated anogenital displasia in HIV-infected men and women. *The PRN Notebook*. 2004; 9: 24-31.

79. Chang GJ, Berry JM, Jay N et al . Surgical treatment of High- grade Anal Squamous Intraepithelial Lesions. A prospective Study. *Dis Colon Rectum*.2006; 49: 1648-9.

80. HidalgoTenorio C, Ramírez Taboada J, Palma P et al. Exéresis de lesiones de alto grado y/o carcinoma in situ en una cohorte de pacientes VIH HSH. XV Congreso de la Sociedad andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI); 12-14 diciembre 2013, Jaén.

81. Richel O, de Vries H, Wieland H et al. Topical 5-fluorouracil treatment of anal intraepithelial neoplasia in HIV+ men: results from a prospective multicenter study. Program and abstracts of the 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; February 16-19, 2010; San Francisco. Abstract 768.

82. Fox PA, Nathan M, Francis N et al. A double-blind, randomized controlled trial of the use of imiquimod cream for 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: 2331-35.

83. Carmen Hidalgo Tenorio, Concepción Gil Anguita, Jessica Ramírez Taboada et al. Self-administered treatment with imiquimod 5% cream for intra-anal HSIL (AIN2/3) in HIV-positive patients: efficacy and safety and comfortable option. *HIV DRUG THERAPY. GLASGOW 2016*. 24-26/10/2016.

84. Stier EA, Goldstone SE, Einstein MH et al. Safety and efficacy of topical cidofovir to treat high-grade perianal and vulvar intraepithelial neoplasia in HIV-positive men and women. *AIDS*. 2013; 27: 545-51.

85. Giuliano AR, Palefsky JM, Goldstone S et al. Efficacy of quadrivalent HPV vaccine against HPV Infection and disease in males. *N Engl J Med*.2011; 364: 401-11

86. Palefsky JM, Giuliano AR, Goldstone S et al. HPV vaccine against anal HPV infection and anal intraepithelial neoplasia.*N Engl J Med*. 2011; 365: 1576-85.

87. Cuschieri K, Kavanagh K, Moore C et al. Impact of partial bivalent HPV vaccination

on vaccine-type infection: a population-based analysis. *Br J Cancer*. 2016 Apr 26. doi: 10.1038.

88. Advisory Committee on Immunization Practices. Recommended adult immunization schedule: United States, 2013. *Ann Intern Med*.2013; 158: 191–9.
89. Swedish KA, Factor SH, Goldstone SE. Prevention of recurrent high-grade anal neoplasia with quadrivalent human papillomavirus vaccination of men who have sex with men: a nonconcurrent cohort study. *Clin Infect Dis*.2012; 54: 891–8.
90. Wilkin T, Lee JY, Lensing SY et al. Safety and immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus vaccine in HIV-1-infected men. *J Infect Dis*.2010; 202: 1246-53.
91. Wilkin T, Huichao Chen, Michelle Cespedes et al. ACTG A5298: A Phase 3 Trial of the Quadrivalent HPV Vaccine in Older HIV+ Adults. CROI, febrero 22-25, 2016, Boston. USA
92. C. Hidalgo Tenorio, J. Ramírez Taboada, M. López de Hierro et al. Resultados preliminares del Ensayo clínico (EC) en fase IV sobre la efectividad de la vacuna tetravalente del VPH en la aparición de lesiones displásicas en la mucosa de canal anal de hombres que tienen sexo con hombres (HSH) VIH positivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.2014; 32: 137.
93. Ashish A. Deshmukh, Jagpreet Chhatwal et al. Long-Term Outcomes of Adding HPV Vaccine to the Anal Intraepithelial Neoplasia Treatment Regimen in HIV-Positive Men Who Have Sex With Men. *Clin Infect Dis*.2015; 61: 1527-35.
94. Cranston R, Yang M, Paczuski P et al. Baseline data of a phase 3 trial of the quadrivalent HPV vaccine in HIV+ males and females: ACTG 5298. Presented at: 21st Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; Boston, MA, 3–6 March 2014.
95. AIDS Malignancy Consortium. Disponible en : <http://pub.emmes.com/study/amc/public/CurrentStudies/CurrentStudies.htm>. AMC-072. Protective Effect of quadrivalent vaccine in young HIV-positive males who have sex with males.
96. Winer RL, Hughes JP, Feng Q et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*.2006; 354: 2645-54.
97. Campbell Ch M., Lin Hui.Yi, Fulp W., Papenfuss MR, Salmerón JJ, Quiterio MM et al. Condoms reduce the HPV burden among men. *JID*.2013; 208: 373-84.

98. Aral SO, Holmes KK. The epidemiology of STIs and their social and behavioral determinants: industrialized and developing countries. *Sexually transmitted diseases*. 2008; 72–73.
99. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine*.2008; 26: 11–16.
100. Bosch FX, Castellsague X, Muñoz N, et al. Male sexual behavior and human papillomavirus DNA: key risk factors for cervical cancer in Spain. *J Natl Cancer Inst*. 1996; 88: 1060–67.
101. Giuliano AR, Lazcano-Ponce E, Villa LL et al. The human papillomavirus infection in men study: human papillomavirus prevalence and type distribution among men residing in Brazil, Mexico, and the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008; 17: 2036–43.
102. Mbulawa ZZ, Marais DJ, Johnson LF et al. Impact of human immunodeficiency virus on the natural history of human papillomavirus genital infection in South African men and women. *J Infect Dis*.2012; 206: 15-27.
103. Burchell AN, Winer RL, de Sanjose S et al. Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*.2006; 24: 52–61.
104. 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: 545–54.
105. Minkoff H, Feldman JG, Strickler HD et al. Relationship between smoking and human papillomavirus infections in HIV-infected and-uninfected women. *JID*.2004; 189: 1821–28.
106. Dinh TH, Sternberg M, Dunne EF et al. Genital warts among 18- to 59-year-olds in the United States, national health and nutrition examination survey, 1999-2004. *Sex Transm Dis*.2008; 35: 357-60.
107. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L et al. Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group .Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010; 11: 1048-56.
108. Mandell , Douglas and Bennett´s Principles and Practice of Infectoious Disease. 8E

(2015) . Pag 1796.

109. Nienke J Veldhuijzen, Peter JF Snijders, Peter Reiss et al. Factors affecting transmission of mucosal human papillomavirus . *Lancet Infect Dis.* 2010; 10: 862-74.
110. Frazer I. Correlating immunity with protection for HPV infection . *Int J Infect Dis.* 2007; 11: 10-6.
111. Doorbar J, Quint W, Banks L et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine.* 2012; 30: 55-70.
112. Pang CL, Thierry F. Human papillomavirus proteins as prospective therapeutic targets. *Microb Pathog.* 2013; 58: 55-65.
113. Strickler HD, Palefsky JM, Shah KV et al. Human papillomavirus type 16 and immune status in human immunodeficiency virus-seropositive women. *Natl Cancer Inst.* 2003; 95: 1062-71.
114. Silling S, Kreuter A, Hellmich M et al. Human papillomavirus oncogene mRNA testing for the detection of anal dysplasia in HIV-positive men who have sex with men. *Journal of Clinical Virology.* 2012; 53: 325– 31.
115. Arévalo J, Pedraza AL, Balsa JA et al. Síndrome Constitucional. En: JL Roríguez García/J Arévalo Serrano/Marbán Libros, S.L. Diagnóstico Tratamiento Médico. 1ª Edición. Madrid: Marbán; 2009. 907-931.
116. Torres M, Fraile L, Echevarria JM et al. Human papillomavirus (HPV) genotyping: automation and application in routine laboratory testing. *Open Virol J.* 2012; 6: 144-50.
117. Bonnez W. Papillomaviruses. En: Gatsch M/Ball T/Elsevier. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. 8ª Edición. Philadelphia: Elsevier; 2015. 1794-1806.
118. Olsson SE, Villa LL, Costa RL et al. Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. *Vaccine.* 2007; 25: 4931-39.
119. Bradbury M, Cabrera S, García-Jiménez A, Franco-Camps S et al. Vulvar intraepithelial neoplasia: clinical presentation, management and outcomes in women infected with HIV. *AIDS.* 2016; 30: 859-68.
120. Brickman C, Palefsky JM. Human papillomavirus in the HIV-infected host: epidemiology and pathogenesis in the antiretroviral era. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2015; 12: 6-15.

121. Beachler DC, Weber KM, Margolick JB et al. Risk factors for oral HPV infection among a high prevalence population of HIV-positive and at-risk HIV-negative adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*2012; 21: 122-33.
122. Frisch M, Glimelius B, Adriaan JC et al. Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. *N Engl J Med.*1997; 337: 1350-58.
123. Patel P, Hanson DL, Sullivan PS et al. Incidence of types of cancer among HIV-infected persons compared with the general population in the United States, 1992-2003. *Ann Intern Med.*2008; 148: 728-36.
124. Damay A, Fabre J, Costes V et al. Human Papillomavirus prevalence and type distribution , and HPV-associated cytological abnormalities in anal specimens from men infected with HIV who Have sex with men. *Journal of medical Virology.*2010; 82: 592-96.
125. Torres M, González C, del Romero J et al. Anal human papillomavirus genotype distribution in HIV-infected men who have sex with men by geographical origin, age, and cytological status in a Spanish cohort. *J Clin Microbiol.* 2013; 51: 3512-20.
126. HidalgoTenorio C, Gil Anguita C, Ramírez Taboada J et al. Risk factors in the progression of low grade intraepithelial neoplasia (LSIL) to high grade intraepithelial neoplasia (HSIL) in a cohort of HIV-positive MSM. *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 9-12 april 2016; Amsterdam, Netherlands.
127. Piketty C; Darragh TM. High prevalence of Anal Human Papillomavirus Infection and Anal Cancer Precursors among HIV-Infected Persons in the Absence of Anal Intercourse. *Ann Intern Med.*2003; 138: 453-9.
128. Hernandez AL, Efird JT, Holly EA et al. Risk Factors for Anal Human Papillomavirus Infection Type 16 Among HIV-Positive Men Who Have Sex With Men in San Francisco. *J Acquir Immune Defic Syndr.*2013; 63: 532-9.
127. Walts AE, Thomas P, Bose S. Anal cytology: is there a role for reflex HPV DNA testing?*Diagn Cytol pathol.*2005; 33: 152-6.
128. Padilla-España L, Repiso-Jimenez B, Fernández-Sánchez F et al. Usefulness of human papillomavirus testing in anal intraepithelial neoplasia screening in a risk behaviour population. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*2014; 32: 560-4.
129. Botes LP, Pett S, Carr A et al. Anal cytological abnormalities are poor predictors of high-grade intraepithelial neoplasia amongst HIV-positive men who have sex with men.

Sexual Health.2013; 10: 9-17.

130. Lam JM, HochJS, Tinmouth J et al. Cost-effectiveness of screening for anal precancers in HIV-positive men. *AIDS*.2011; 25: 635-42.
131. Pinzone MR, Fiorica F, Di Rosa M et al. Non-AIDS defining cancers among HIV-infected people. *Eu Rev Med Pharmacol Sci*.2012; 16: 1377-88.
132. Fraunhoiz IB, Harberl A, Klauke S et al. Long term effects of chemotherapy for anal cancer in patients with HIV infection: oncological outcomes, immunological status, and the clinical course of HIV disease. *Dis Colon Rectum*.2014; 57: 423-31.
133. Weis SE. Current treatment options for management of anal intraepithelial neoplasia. *Onco Targets and Therapy*.2013; 6: 651-65.
134. Aberg JA, Kaplan JE, Libman H et al. Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: 2009 update by the HIV medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *CID*.2009; 49: 651-81.
135. Burgos Joaquin, Curran Adria, Tallada Natalia et al. Risk of progression to high-grade anal intraepithelial neoplasia in HIV-infected MSM. *AIDS* 2015; 29: 695-702.
136. D'Souza G, Wiley DJ, Li X, Chmiel JS, Margolick JB, Cranston RD et al. Incidence and epidemiology of anal cancer in the multicenter AIDS cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr*.2008; 48: 491-9.
137. Darwich L, Videla S, Cañadas MP et al. Can Ruti HIV-HPV Team. Distribution of human papillomavirus genotypes in anal cytological and histological specimens from HIV-infected men who have sex with men and men who have sex with women. *Dis Colon Rectum*.2013; 9: 1043-52.
138. Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Anguita C et al. The role of polymerase chain reaction of high-risk human papilloma virus in the screening of high-grade squamous intraepithelial lesions in the anal mucosa of human immunodeficiency virus-positive males having sex with males. *PLoS One*.2015 Apr 7; 10: e0123590.

