

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Escuela de Doctorado de Ciencias de la Salud

Programa de Doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública
Línea de Investigación: Agentes infecciosos relacionados con los
procesos clínicos.



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

*¿Cual es el papel de la PCR del VPH de bajo riesgo en el
despistaje de lesiones HSIL y Cáncer de ano en HSH
VIH?*

Doctoranda: Carmen María García Martínez
Directora de Tesis: Carmen Hidalgo Tenorio

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Carmen María García Martínez
ISBN: 978-84-1195-304-7
URI: <https://hdl.handle.net/10481/92348>

Agradecimientos

En primer lugar, mi mayor y más sincero agradecimiento a mi queridísima directora Carmen Hidalgo. Sobra decir que no hubiese iniciado este camino sin tu incansable apoyo y tu inagotable ánimo. No me avergüenza decir, que hubiese sido imposible llevar este trabajo a término sin ti. Gracias por la confianza que siempre has depositado en mi, por enseñarme las virtudes del campo de la investigación y de lo que somos capaces trabajando juntas. Ha sido un placer y espero, un buen punto de partida para continuar haciendo proyectos realidad.

Gracias como no, a toda la Unidad de Enfermedades Infecciosas, especialmente al equipo de consulta, cuyo trabajo es esencial e imprescindible en la práctica asistencial del día a día.

A los pacientes, pues a ellos nos debemos y por ellos trabajamos diariamente para mejorar su salud y calidad de vida, esto es por ellos, todos los pequeños pasos son buenos si se dan en la dirección correcta.

A mi padre, que me enseñó a comprometerme con el trabajo y con la vida, y a poner lo mejor de mi en cada nueva aventura, y a mi madre, que me acompaña, me guía y me sostiene cuando me creo caer. Por ella me reto a ser mejor día a día.

A Carlos, sin tu infinita paciencia y tu ciega confianza en mi, esto habría sido insoportablemente difícil, gracias por animarme en cada proyecto que emprendo, por loco que sea.

Por último, pero no menos importante, a mis hermanos, familia, amigos, y a cualquiera que haya escuchado mis quejas, calmado mis agobios o animado en esta andanza. Gracias, porque cada pequeño gesto suma e importa y este trabajo lleva un poquito de todos lo que, de una manera u otra, me han acompañado hasta su finalización.

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
AAR	Anoscopia de alta resolución
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADVP	Adicción a drogas por vía parenteral
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	ARN mensajero
ASCC	Adenocarcinoma anal de células escamosas
ASC-H	Células escamosas atípicas sin poder excluir HSIL
ASC-US	Células escamosas atípicas de significado incierto
CA	Cáncer de ano
CAR	Citología anorrectal
CB	Carcinoma basocelular
CCA	Carcinoma de canal anal
CE	Carcinoma espinocelular
CHC	Carcinoma hepatocelular
CIN	Neoplasia intraepitelial cervical
CP	Cáncer de pulmón
CPNM	Cáncer de piel no melanoma
CPRE	Colangio-pancreatografía retrógrada endoscópica
CU	Colitis Ulcerosa.
DE	Desviación estándar
ddPCR	PCR digital en gotas
<i>E</i>	<i>Early</i> (temprana)
E	Especificidad
EC	Enfermedad de Crohn
EII	Enfermedad inflamatoria intestinal
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HSH	Hombres que tienen sexo con hombres
HSIL	Lesiones intraepiteliales de alto grado
HSIL +	Lesiones intraepiteliales de alto grado incluyendo desde HSIL a cáncer de ano
HTLV	Linfotrópico de células T humano
HUVN	Hospital Universitario Virgen de las Nieves
IC	Intervalo de confianza
IFN	Interferón
IHC	Inmunohistoquímica
INI	Inhibidores de la integrasa

IL	Interleucina
IP	Inhibidores de la proteasa
ISG	IFN <i>stimulated genes</i>
ISH	Hibridación <i>in situ</i>
ITIAN	Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos
ITINAN	Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos
ITS	Infección de transmisión sexual
L	<i>Late</i> (tardía)
LAMP	Ampliación por <i>loop</i>
LCR	<i>Long Control Region</i> (región larga de control)
LH	Linfoma de Hodgkin
LSIL	Lesión intraepitelial de bajo grado
MAP	Proteína activadora de la quinasa mitógena
MMC	Mitomicina C
NDS	Neoplasias definitorias de SIDA
NILM	Negativo para lesión o malignidad
NNDS	Neoplasias no definitorias de SIDA
NK	Células <i>Natural Killer</i>
NP12m	Número de parejas sexuales en los últimos 12 meses
NPT	Número de parejas sexuales totales
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PET TAC	Tomografía por emisión de positrones
PVVIH	Personas que viven con el VIH
QT	Quimioterapia
qPCR	PCR cuantitativa
RNM	Resonancia magnética nuclear
ROS	Especies reactivas del oxígeno
RT	Radioterapia
RT- qPCR	PCR de transcripción inversa cuantitativa
RRSS	Relaciones sexuales
S	Sensibilidad
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
TAC	Tomografía axial computerizada
TAR	Terapia antirretroviral
TBC	Tuberculosis
TCA	Ácido tricloroacético
TGF- β	Factor de crecimiento transformante beta
TNF	Factor de necrosis tumoral
UBE	Unidades de bebida estándar
URR	<i>Upstream regulatory region</i>
V0	Visita basal

VaIN	Neoplasia intraepitelial vaginal
VEB	Virus de Epstein Barr
VHB	Virus de la Hepatitis B
VHC	Virus de la Hepatitis A
VHS-8	Virus Herpes Simple 8
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
VIN	Neoplasia intraepitelial vulvar
VPH	Virus del papiloma humano
VPH-AR	Genotipos de Alto Riesgo de Malignidad
VPH-BR	Genotipos de Bajo Riesgo de Malignidad
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo
5-FU	5-Fluorouracilo

Resumen

Objetivos: Analizar el valor de la PCR del VPH de bajo riesgo en el despistaje de “displasia anal de alto grado (HSIL) y Cáncer de ano” (HSIL-plus). Analizar la tasa de pacientes con LSIL (AIN1) que progresan a HSIL-plus y los factores relacionados con dicha progresión.

Diseño: Estudio prospectivo, longitudinal, que incluyó de forma consecutiva a 493 HSH-VVIH entre mayo de 2010 y diciembre de 2021, monitorizados durante 43 meses (P25-P75: 12-76).

Material y Métodos: En la visita basal (V0) se incluían variables clínico-epidemiológicas y analíticas relacionadas con el VIH; se realizaba citología anal para la detección y genotipado del VPH (Linear Array HPV Genotyping Test) y estudio citológico mediante “thin-layer technique” (Procesador Thin Prep 2000 (Hologic), y anoscopia de alta resolución (AAR) con el colposcopio Carl Zeiss 150 fc[®], (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany). El seguimiento se hacía en función del resultado de AAR (en caso de resultado normal o LSIL(AIN1), anualmente; en caso de HSIL plus al acabar el tratamiento), y durante el cual se volvían a evaluar comportamiento sexual, estado viro-inmunológico e infección por el VPH en la mucosa anal.

Resultados: la edad media 36 años, 23,1% tenía CD4 nadir <200 cél/uL y 4,1% estaba en fracaso virológico. 15% había recibido la vacuna tetravalente del VPH hacía más de 5 años. La mono-infección por genotipos de bajo riesgo del VPH en pacientes con citología normal descartaba en el 100% de las ocasiones HSIL-plus (S 100%, E 91,9%, VPP 2,9% y VPN 100%). La tasa de pacientes que progresaron de LSIL a HSIL-plus fue del 4,7% en 12 meses (P25-P75: 12-12). Los factores de riesgo de progresión LSIL a HSIL-plus fueron la adquisición de genotipos de

VPH de alto riesgo (HR: 4,15; IC 95%: 1,14-15,03), bajo riesgo [(HR 3,68 IC95%: 1,04-12,94), concretamente con el genotipo 6 (HR: 4,47, IC95%: 1,34-14,91) e historia de SIDA (HR: 5,81 IC95%: 1,78-18,92).

Conclusiones: La mono-infección por genotipos de VPH-BR en pacientes con citología normal no se asocia con lesiones precursoras, ni cáncer de ano. La tasa de progresión de LSIL a HSIL-plus fue inferior al 5% lo que se relacionaba con la adquisición de genotipos de alto y bajo riesgo del VPH (especialmente el 6) e historia de SIDA.

Índice

Agradecimientos.....	3
Abreviaturas.....	4
Resumen.....	7
Índice.....	8
Capítulo 1: Introducción.....	10
1. Virus del Papiloma Humano.....	10
1.1. Definición y Clasificación.....	10
1.2. Factores relacionados con la infección por VPH.....	11
1.3. Patogénesis, infección persistente y oncogénesis.....	12
1.4. Lesiones asociadas a la infección por VPH.....	13
1.5. VPH en personas que conviven con el VIH	15
1.6. Métodos de detección del VPH.....	16
1.7. Prevención y tratamiento.....	20
2. Neoplasias no definitivas de SIDA.....	23
2.1. Antecedentes.....	23
2.2. Relación VIH y cáncer.....	24
2.3. Linfoma de Hodking.....	25
2.4. Cáncer de pulmón.....	26
2.5. Hepatocarcinoma.....	28
2.6. Cáncer de piel no melanoma.....	29
3. Cáncer de ano.....	32
3.1. Epidemiología.....	32
3.2. Factores de Riesgo.....	32
3.3. Clasificación y nomenclatura.....	33
3.4. Métodos de diagnóstico y screening.....	34
3.5. Prevención y manejo terapéutico.....	35
Capítulo 2: Hipótesis.....	41
Capítulo 3: Objetivos.....	42
1. Objetivo Principal.....	42
2. Objetivos Secundarios	42
Capítulo 4: Material y Métodos.....	43
1. Diseño.....	43
2. Definición de variables.....	46
3. Análisis estadístico.....	46
3.1. Análisis descriptivo.....	46
3.2. Análisis bivalente.....	46
3.3. Análisis multivalente.....	46
4. Aprobación ética y consentimiento.....	47

Capítulo 5: Resultados.....	48
1. Descripción de la cohorte.....	48
1.1. Características epidemiológicas.....	48
1.2. Variables relacionadas con la infección por el VIH.....	50
2. Infección por el VIH y presencia de displasia anal en la visita basal...51	
3. Valor diagnóstico de la citología y PCR del VPH en el diagnóstico de displasia anal.....	53
4. Factores relacionados con la progresión de lesiones de bajo grado (LSIL) a HSIL plus.....	55
Capítulo 6: Discusión.....	59
Capítulo 7: Conclusiones.....	65
1. Conclusiones del objetivo principal.....	65
2. Conclusiones de los objetivos secundarios.....	65
Bibliografía.....	67
Anexos.....	91
1. Copia íntegra del artículo publicado.....	91

1. Virus del Papiloma Humano

1.1 Definición y clasificación.

El Virus del Papiloma Humano (VPH), es un virus compuesto por una doble cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN), que pertenece a la familia Papillomaviridae. Dependiendo del genoma viral y del tropismo por los tejidos, se distinguen 5 géneros (Alpha, Beta, Gamma, Nu y Mupapillomavirus), en los que se agrupan las distintas especies del VPH, denominadas con números correlativos. En cada especie se distinguen genotipos (tal y como denominamos a los distintos VPH de forma más habitual), de los que se conocen más de 200. El género Alphapapillomavirus incluye genotipos que han sido descrito como precursores de cáncer (1).

Desde el punto de vista clínico, los Alphapapillomavirus se dividen en dos grupos, los de alto riesgo (VPH-AR), que tienen alto potencial oncogénico y son responsables de las lesiones neoplásicas, y, por otro lado, aquellos que por norma general no se asocian a lesiones malignas, denominados de bajo riesgo (VPH-BR) (2). Habitualmente, las lesiones causadas por genotipos de bajo riesgo, son autolimitadas y la infección puede ser aclarada por el sistema inmune del huésped, sin embargo, en poblaciones susceptibles, esta condición puede no producirse, desarrollando lesiones precancerosas e incluso cáncer (3). Por ejemplo, los genotipos VPH 6 y 11, considerados como de bajo riesgo, o no oncogénicos, se han detectado en muestras procedentes de cáncer de cabeza y cuello o pene, lo que sugiere su participación en la carcinogénesis de estas neoplasias (4,5).

Los genotipos clasificados como de alto riesgo, en cambio, son responsables de casi la mitad de todos los cánceres inducidos por el virus del papiloma humano (6).

Las diferentes oncoproteínas virales y sus respectivos objetivos celulares, parecen ser la mejor explicación para la variedad de patologías desarrolladas a partir de una infección por VPH de bajo o de alto riesgo (7).

Esta relación entre los distintos genotipos de VPH y el desarrollo de neoplasias, pone en evidencia la importancia de estudiar además de los factores de riesgo para la infección por dicho virus, la distribución de estos en función de la histología y la correlación entre la citología, PCR (reacción en cadena de la polimerasa) del VPH de la mucosa y los hallazgos histológicos, así como la tasa de aclaramiento y adquisición de genotipos oncogénicos (8).

1.2 Factores relacionados con la infección del VPH

La infección por VPH es la infección de transmisión sexual más frecuente, y el contacto piel con piel es suficiente para la transmisión del virus (9). Hasta el momento se han descrito los siguientes factores:

1. Los relacionados con la exposición del huésped al virus: número de parejas sexuales a lo largo de la vida, el número actual o reciente de parejas, la frecuencia de las relaciones sexuales u otro contacto íntimo piel con piel, así como los antecedentes y comportamientos sexuales de las parejas habituales (10).
2. Los relacionados con la susceptibilidad del huésped: factores genéticos, alteraciones de la inmunidad congénitas o adquiridas, uso de anticonceptivos hormonales, paridad, tabaquismo o la existencia de otras infecciones de transmisión sexual intercurrentes (11).

3. Factores virales: incluyen características genéticas (y posiblemente epigenéticas) del VPH que determinan su capacidad oncogénica (12).

1.3 Patogénesis, infección persistente y oncogénesis

El genoma del VPH puede dividirse en 3 secciones funcionales:

- La temprana (*E*, del inglés *early*): está formada por 7 proteínas virales que tienen funciones reguladoras en la célula epitelial infectada (E1, E2, E4, E5, E6, E7, E8);
- La tardía (*L*, del inglés *late*): incluye 2 proteínas estructurales (L1 y L2) que forman la cápside viral;
- La LCR (*long control region*), también llamada URR (*upstream regulatory region*): contiene las secuencias reguladoras que controlan la replicación y la transcripción del ADN viral (13).

El VPH entra en el epitelio escamoso a través de microabrasiones, comenzando su ciclo vital y perpetuando la infección a lo largo del desarrollo de las células epiteliales huéspedes (14).

Tras la infección inicial a las células basales, comienza la fase temprana, con la expresión de las proteínas E1 y E2, que facilitan el establecimiento de la replicación. De esta manera, se dividen de forma simultánea las células infectadas, y el ADN viral. La diferenciación del epitelio induce la fase productiva del ciclo viral, conduciendo a la activación de la fase tardía con la expresión de los genes L1 y L2, así como altos niveles de E1 y E2 que impulsan la amplificación del genoma viral (15).

Una vez que se completa la amplificación del ADN viral, E2 se une a sitios dentro de la URR para reprimir la expresión de proteínas tempranas y cesar la actividad del ciclo celular, lo que permite la diferenciación de los queratinocitos y la expresión de las proteínas estructurales tardías L1 y L2. Esta etapa productiva

tardía abarca la encapsidación del genoma viral, la maduración de la progenie del virus y el desprendimiento de las células superficiales colmadas de nueva progenie infecciosa de la superficie epitelial. La fase vegetativa se acompaña de la expresión de grandes cantidades de E4, una proteína viral de función mal definida pero que contribuye a la eficiencia de esta fase del ciclo de vida del virus (16). Para que todo el proceso culmine, juega un papel clave en la persistencia y en la finalización del ciclo de vida del virus, el hecho de evitar la activación de la respuesta inmunitaria innata durante el curso de la infección. Actualmente se conocen algunos mecanismos por los cuales el VPH desregula la respuesta inmunitaria innata, como son la interferencia en la producción de interferón (IFN) o el bloqueo de la expresión de los genes estimuladores de INF (ISG=*IFN stimulated genes*) (17).

El VPH ha desarrollado estrategias para facilitar la replicación y el mantenimiento del genoma viral dentro del epitelio. Los genotipos de alto riesgo, utilizan las proteínas accesorias virales E5, E6 y E7 para adaptarse a nichos ecológicos específicos, establecer un entorno celular favorable para la replicación y persistencia viral, y evadir los programas de inmunovigilancia, protegiendo el genoma viral de las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas del huésped a lo largo del ciclo infeccioso (18).

La activación de estos mecanismos de evasión permite la persistencia de la infección, de manera que, si bien la mayoría de las infecciones por el VPH son transitorias y desaparecen en un par de años después de la exposición, entre el 10 y el 20 % de las infecciones persisten de forma latente, lo que conduce a la progresión de las lesiones y, en última instancia, a diversas formas de cáncer invasivo (19).

1.4 Lesiones asociadas a la infección por VPH

La infección por VPH tiene un papel fundamental tanto en enfermedades dermatológicas y de transmisión sexual, como en algunos de los cánceres más

frecuentes y con mayor repercusión en todo el mundo (20). De manera que, la infección persistente por los genotipos oncogénicos del VPH es responsable aproximadamente del 5% de los cánceres humanos. Siendo principalmente los genotipos de alto riesgo no solo responsables de la mayoría de los casos de cáncer de cérvix, sino también de una parte nada despreciable de los cánceres de vulva, vagina, pene, ano, cabeza y cuello (21).

En la patología ginecológica es el segundo patógeno más comúnmente identificado y el primero en causar cáncer en esta esfera. El cáncer de cérvix en la población general, es el segundo más frecuente en mujeres tras el de mama y el tercero más prevalente. En su desarrollo se han identificado 17 genotipos de alto riesgo del VPH (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) (22).

En Estados Unidos, se diagnostican anualmente en torno a 44000 casos nuevos de cánceres asociados a VPH y cerca de 34800 de estos son terminales. En mujeres, casi el 50% son cervicales mientras que, en hombres, el cáncer orofaríngeo es el mayormente asociado a la infección por VPH (23). En Estados Unidos ahora es ahora la neoplasia maligna más común relacionada con este virus, afectando a un grupo demográfico completamente diferente al de las personas con cáncer orofaríngeo VPH negativo (24).

El cáncer anal, por otro lado, solía representar una neoplasia relativamente poco común en población general, sin embargo, su incidencia se ha visto incrementada en las últimas décadas, asociado en el 97% a la infección por VPH y fundamentalmente en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) e inmunodeprimidos [especialmente las personas que viven con el VIH (PVVIH)] (25).

El resto de cánceres genitales (pene, vulva y vagina), son entidades poco frecuentes, relacionadas con la infección por VPH en un porcentaje que oscila entre un 40 y 50% (26).

1.5 VPH en personas que viven con el VIH

Las personas que viven con el VIH (PVVIH) tienen mayor riesgo de estar infectados por el VPH que la población general debido a la inmunodeficiencia conferida por el VIH, que además facilita la persistencia y/o la reactivación de la infección por el VPH (27). El grado de inmunosupresión es también un factor importante, según un estudio realizado en Rumania, en el que las mujeres con VIH y cifras de CD4 por debajo de 200, tenían un riesgo hasta 9 veces mayor de estar coinfectadas con el VPH que aquellas con un mayor número de CD4 (28). También en una cohorte española de HSH VVIH, el análisis de factores de riesgo para la infección por VPH-AR, identificó el NADIR menor de 200 como factor de riesgo para la infección por serotipos oncogénicos (29).

En general, los genotipos de VPH no varían de los identificados en personas seronegativas, si bien, existe una mayor tasa de persistencia de la infección por VPH especialmente de los subtipos oncogénicos (30). En una revisión internacional recientemente publicada sobre incidencia y aclaramiento del VPH en el canal anal, las PVVIH presentaron una mayor incidencia de genotipos de alto riesgo, en especial el VPH-16, así como una menor tasa de aclaramiento (31).

La coinfección aumenta el riesgo de lesiones premalignas y malignas, son especialmente frecuentes las displasias anales y cervicales, con un incremento destacable de neoplasias relacionadas con el VPH en PVVIH, incluyendo orofaringe, vagina, vulva y pene, tras el inicio del TAR (32).

El metaanálisis publicado por Stelzle et al., concluyó que las mujeres que vivían con el VIH tenían 6 veces mayor riesgo de desarrollar cáncer de cuello uterino con respecto a las seronegativas; por otra parte, en todas ellas la infección por VPH era siempre la causa subyacente de dicho cáncer, quienes además tenían más probabilidades de adquirir la infección y de no aclararla (33).

La displasia anal también está relacionada con la infección por VPH siendo común tanto en HSH-VVIH como en mujeres, en las que la infección cervical por VPH aumenta el riesgo de infección también en el canal anal (34). En un metaanálisis de prevalencia del VPH en el canal anal de mujeres, en relación a su presencia cervical, la prevalencia del VPH-AR en el canal anal de mujeres VIH negativo con VPH-AR cervical positivo fue del 43%, con un aumento de dicha prevalencia hasta el 62% en mujeres VIH positivas (35).

En el estudio de Farahmand et al., la prevalencia del VPH fue significativamente mayor en los HSH VIH-positivos que en seronegativos. Siendo el VPH-16 el genotipo detectado con mayor frecuencia en ano, cavidad oral y pene de los HSH (36).

También un estudio multicéntrico americano reveló un riesgo mayor tanto de infección por VPH como de su persistencia en la cavidad oral significativamente mayor en adultos con VIH, sobre todo en aquellos con una mala situación viro-inmunológica (37). Si bien la prevalencia del VPH en la cavidad oral es menor que en otras localizaciones como el canal anal, en este caso, la TAR parece ser un factor protector según un reciente estudio español (38).

El inicio temprano de una TAR efectiva juega, por tanto, un papel fundamental en el control de la infección por VPH en PVVIH, sin embargo, ante la mayor prevalencia del virus en esta población, es igualmente importante establecer medidas de prevención tanto primarias (vacunación) como secundarias (screening) específicas (39).

1.6 Métodos de detección del VPH.

La detección del papillomavirus es importante para el diagnóstico, prevención y tratamiento de las lesiones. Las técnicas utilizadas varían poco en función de la

localización del virus. El cáncer de cuello uterino se diagnostica comúnmente mediante citología de base líquida, seguida de pruebas de VPH utilizando la reacción en cadena de la polimerasa de ADN (PCR), inmunohistoquímica (IHC) de p16 o hibridación in situ de ADN/ARN. En los cánceres de cabeza y cuello se diagnostica comúnmente mediante p16 IHC o por PCR de transcripción inversa cuantitativa (RT-qPCR) de las oncoproteínas E6 y E7 del VPH-16. La PCR digital en gotas es un método ultrasensible y muy preciso de cuantificación de ácidos nucleicos para el análisis de biomarcadores y se ha utilizado para detectar el VPH oncogénico en cánceres de orofaringe y cuello uterino (40).

La prueba de Papanicolaou es uno de los logros más importantes en la detección y prevención del cáncer, habiéndose utilizado como método de screening desde 1950. Se trata de una prueba sencilla y práctica, basada en la observación de la morfología nuclear aberrante de las células malignas, consecuencia de la pérdida o reducción de la envoltura nuclear y de las proteínas estructurales de la lámina, lo que las distingue perfectamente de las células benignas, que presentan una forma lisa y ovalada (41).

El reconocimiento del papel de VPH en el desarrollo del cáncer de cuello uterino entre otros, hace necesaria su detección. La identificación del VPH aumenta la sensibilidad en la detección de lesiones precancerosas, aunque con una especificidad algo menor que la citología. Por esta razón surgió el “co-testing”, pues la realización de ambas pruebas proporciona una mayor seguridad en la ausencia de lesiones, si bien posteriormente se aceptó la detección del VPH como método primario de screening, debido a su seguridad y reducción de las pruebas a realizar con la consecuente disminución del gasto (42).

Teniendo en cuenta la importancia de la detección del VPH y biomarcadores relacionados, se han desarrollado diversos métodos con este fin (43):

- Técnicas de detección molecular:
 - Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Es una prueba de amplificación selectiva, capaz de aumentar las secuencias de VPH presentes en muestras biológicas de forma exponencial y reproducible. La sensibilidad y especificidad de los métodos basados en la PCR varían dependiendo de los procedimientos de extracción del ADN, la procedencia y tipo de la muestra clínica, su transporte y almacenamiento, y el rendimiento de la ADN polimerasa utilizada en el procedimiento (44).
 - PCR cuantitativa (qPCR): proporciona la detección del VPH, así como una cuantificación de la carga viral. Esta técnica es más reproducible, rápida y aplicable a las muestras clínicas que otras pruebas basadas en la PCR. Ofrece una sensibilidad y especificidad de detección y cuantificación de los subtipos de VPH en una gran cantidad de muestras, incluyendo tejido fresco, congelado, o muestras celulares (45).
 - PCR de transcripción inversa cuantitativa (RT-qPCR): La detección mediante RT PCR del ARNm E6/E7 del VPH tiene una sensibilidad del 97% y una especificidad del 100%, y algunos autores la consideran el *gold standar* para diagnosticar el cáncer de cabeza y cuello relacionado con el VPH, pero requiere de muestras frescas o congeladas y es técnicamente exigente, por lo que no es útil para la detección de rutina (46).
 - PCR digital en gotas (ddPCR): La ddPCR cuantifica la cantidad absoluta de moléculas de ácido nucleico diana encapsuladas en particiones de gotas de agua en aceite definidas volumétricamente. Su alta sensibilidad, especificidad y cuantificación absoluta para

la medición del ADN diana son especialmente interesantes para la detección del VPH (47).

- La Amplificación por *loop* (LAMP) es un método isotérmico de amplificación rápida del ADN con alta especificidad. Su simplicidad y necesidad de mínima extracción y purificación del ADN, así como su bajo coste, hace que se pueda implementar en áreas de escasos recursos o acceso reducido a la atención médica (48).
- Detección mediante técnicas de hibridación: La hibridación in situ es una técnica que se utiliza para detectar secuencias de nucleótidos en células, secciones de tejido e incluso tejido completo. Este método se basa en la unión complementaria de una sonda de nucleótidos a una secuencia diana específica de ADN o ARN (49):
 - Hibridación in situ del ADN (ISH de ADN): es una técnica de amplificación de señales que utiliza sondas de ADN marcadas complementarias a las secuencias de ADN viral objetivo. Las sondas de ADN pueden hibridar secuencias de ADN específicas de uno o varios tipos de VPH para detectar una amplia gama de genotipos (50).
 - Hibridación in situ del ARN (ISH de ARN): El desarrollo de sondas de hibridación in situ complementarias al ARNm de E6/E7 permite la visualización directa de transcripciones virales en tejidos procesados. Esta prueba puede confirmar tanto la presencia de VPH en las células tumorales como su actividad transcripcional (51).
- Inmunohistoquímica p16: La sobreexpresión de p16 se acepta como diagnóstico alternativo al ser un biomarcador de actividad de transcripción en la infección oncogénica por el VPH. Se trata de una técnica bastante

específica, siendo el método más popular y coste-efectivo para detectar la infección por VPH-AR (52).

1.7 Prevención y tratamiento.

Se cree que la mayoría de los cánceres relacionados con el VPH son causados por la transmisión sexual del virus, por lo que la actividad sexual o no usar protección de barrera se han identificado como factores de riesgo de infecciones persistentes por VPH (53). Siendo, por tanto, el uso del preservativo y la frecuencia de las relaciones sexuales factores de comportamiento modificables que deben incluirse en las medidas preventivas para reducir la incidencia del VPH (54). Sin embargo, la transmisión del virus requiere contacto piel con piel, piel-mucosa, o contacto mucosa-mucosa para el cual no es estrictamente necesario que el contacto sea sexual (55), por lo que la protección de barrera como el preservativo, no es una medida completamente eficaz (56).

El tabaquismo, por otro lado, es también un factor cuyo abandono reduciría el riesgo asociado (57). Un estudio publicado en agosto de 2022 señalaba que los fumadores activos tenían una mayor prevalencia, persistencia e incidencia de VPH en comparación con los que nunca habían sido fumadores (58).

Otros estudios abalan que intervenciones como la circuncisión masculina es efectiva para reducir la incidencia de infección por VPH en hombres (59,60).

La prevención del VPH también es factible a través de la vacunación, que brinda protección contra los subtipos de VPH más frecuentes y las lesiones precancerosas relacionadas (61).

Existen cuatro vacunas frente al VPH disponibles en el mercado, todas ellas con múltiples estudios que han demostrado eficacia, seguridad e inmunogenicidad en la prevención de enfermedades relacionadas con el virus. A continuación en la tabla 1 se describen las principales características de las cuatro (62).

Tabla 1. Tipos de vacunas comercializadas frente al VPH.

Tipo de vacuna	Serotipos incluidos	Nombre comercial	Grupo al que va dirigida	Indicaciones
Bivalente	HPV-16 HPV-18	Cervarix	Mujeres y niñas entre los 9 – 25 años	Prevención de cáncer cuello uterino, CIN grados I-III y adenocarcinoma in situ causados por el HVP 16 y 18.
		Cecolin	Mujeres y niñas entre los 9 - 45 años	Prevención de cáncer cuello uterino, CIN grados I-III y adenocarcinoma in situ causados por el HVP 16 y 18.
Tetraivalente	VPH-6 VPH-11 VPH-16 VPH-18	Gardasil	Mujeres y niñas entre los 9 – 26 años	Prevención de: <ul style="list-style-type: none"> - Cáncer vulvar y vaginal - Cáncer de cuello uterino - Verrugas genitales - CIN grados I-III - Adenocarcinoma in situ cervical - VIN grados II-III - VaIN grados II-III - AIN I-III
			Hombres y niños entre 9-26 años	Prevención de: <ul style="list-style-type: none"> - Verrugas genitales - Cáncer anal y lesiones premalignas asociadas a los VPH 6, 11, 16 y 18
Nonavalente	VPH-6 VHP-11 VPH-16 VPH-18 VPH-31 VPH-33 VPH-45 VPH-52 VPH-58	Gardasil-9	Mujeres y niñas entre los 9 - 45 años	Prevención de: <ul style="list-style-type: none"> - Cáncer cervical, vulvar, vaginal, anal, orofaríngeo y otros tumores de cabeza y cuello, relacionados con los serotipos 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del VPH. - Verrugas genitales causadas por los serotipos 6 y 11 del VPH. - CIN grados I-III - Adenocarcinoma in situ cervical - VIN grados II-III - VaIN grados II-III - AIN grados I-III
			Hombres y niños entre los 9-45 años	Prevención de: <ul style="list-style-type: none"> - Cáncer anal, orofaríngeo y otros tumores de cabeza y cuello, relacionados con los serotipos 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 del VPH. - Verrugas genitales causadas por los serotipos 6 y 11 del VPH. - AIN grados I-III

VPH: virus del papiloma humano; CIN: neoplasia intraepitelial cervical, VIN: neoplasia intraepitelial vulvar, VaIN: neoplasia intraepitelial vaginal; AIN: neoplasia intraepitelial anal.

La última vacuna en comercializarse ha sido la nonavalente que podría prevenir hasta el 87,4% de los cánceres en área genital femenina y hasta el 90% de los cánceres relacionados con el VPH (63).

Todas las vacunas desarrolladas hasta ahora, han sido evaluadas, autorizadas y recomendadas para un programa de vacunación de 3 dosis, tema controvertido pues, un programa de vacunación de dosis única incluiría una administración simplificada que ahorraría costes y mejoraría la aceptabilidad, además de permitir que más países lo introdujeran (64). La mayoría de estudios posteriores no han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre dos y tres dosis y casi la mitad de ellos encontraron efectividad en la pauta de dosis única (65).

Por esto, existen estudios que comparan la eficacia e inmunogenicidad de las diferentes pautas de dosificación, y sugieren una buena protección de la dosis única frente al VPH, si bien son necesarios otros que aborden específicamente este tema (66).

Las PVVIH tienen un mayor riesgo de infección, enfermedad y cánceres relacionados con el VPH en comparación con las personas seronegativas debido a la inmunodeficiencia y a la inflamación persistente producidas por el VIH (67). De ahí la importancia de vacunar a esta población contra el VPH, pues puede ayudar a reducir la carga de cánceres relacionados con el virus (68).

Un reciente metaanálisis realizado sobre la vacunación en PVVIH, demostró la seguridad de las vacunas frente al VPH y el desarrollo de una respuesta inmunitaria inicial sólida en esta población (69).

En conclusión, la prevalencia del VPH en PVVIH y la susceptibilidad de esta población a la infección permanente por el virus, especialmente por genotipos AR, crean la necesidad de establecer un protocolo de prevención a la diseminación del virus, con un calendario vacunal de género neutro, que ofrezca una protección universal ante el desarrollo de lesiones premalignas relacionadas con el VPH.

2. Neoplasias no definitorias de SIDA.

2.1 Antecedentes.

Desde el inicio de la pandemia del VIH, las neoplasias han sido una causa importante de morbi - mortalidad en esta población. Tres de las neoplasias calificadas como definitorias de SIDA (NDS) están causadas por virus oncogénicos: el Sarcoma de Kaposi y el Linfoma No-Hodking relacionados ambos con la infección crónica por el Virus de Epstein Bar (VEB), y el cáncer de cuello uterino con la infección persistente por el VPH (70).

Tanto el sarcoma de Kaposi como algunos tipos de linfomas B, se presentan habitualmente en pacientes con cifras bajas de linfocitos CD4+ (< 200 cél/uL) (71). Antes del descubrimiento de la terapia antirretroviral (TAR) estas neoplasias se diagnosticaban hasta en un 30% de pacientes con SIDA, mientras que, tras su introducción, la incidencia cayó más de un 70% (72). Dado que la TAR ha mejorado la supervivencia de las personas que viven con el VIH, las casusas de morbilidad y mortalidad han cambiado en las últimas décadas en países desarrollados, creciendo en importancia las neoplasias no definitorias de SIDA (NNDS), hasta el punto de que el cáncer es una de las principales causas de muerte en dichos sujetos (73). El cáncer de pulmón, ano, hígado y el linfoma de Hodgkin representan la mayoría de los casos de NNDS (74).

Por último, reseñar que existen estudios que asocian la infección por VIH con un diagnóstico más tardío, en edades más tempranas y con diferencias en tratamiento y resultados (75). Según una revisión publicada en 2021 por Pumpalova et al. (76), las PVVIH con neoplasias malignas gastrointestinales tenían menos probabilidades de recibir tratamiento frente al cáncer, y tenían una mortalidad más alta por todas las causas que los seronegativos. Esto recalca la necesidad de investigar los efectos de dicha infección en la mortalidad específica

por cáncer, además de la necesidad de mejora en la detección precoz en esta población que genere mejores resultados de salud y calidad de vida (77).

2.2 Relación VIH y cáncer.

La cronificación de la infección por el VIH gracias a la eficacia del TAR, ha desembocado en un aumento de la esperanza de vida en esta población, que ha invertido la balanza en la prevalencia de las NDS frente a las NNDS (78).

El riesgo de cáncer en PVVIH depende de numerosos factores, entre los que se encuentran factores de riesgo tradicionales, como las infecciones por virus oncogénicos, o el estado de la propia infección VIH (79). Incluso se ha planteado que la propia terapia antirretroviral pudiera estar relacionada con el incremento del desarrollo de algunas neoplasias no definitorias de SIDA, pero no por efecto directo adverso de los antirretrovirales sino por el aumento en la supervivencia (80), ya que los antirretrovirales han demostrado ser potencialmente antineoplásicos (81).

El tabaquismo es más frecuente en PVVIH que en la población general, y por ello, tienen un riesgo mayor de padecer complicaciones relacionadas con el tabaco, entre ellas, el cáncer (82). Estudios recientes han señalado la creciente incidencia de neoplasias de pulmón, cabeza y cuello, anal y cervical en pacientes VIH fumadores, por lo que el abandono del tabaco podría ser una medida preventiva crucial en esta población (83).

Un importante número de virus tienen efecto oncogénico para el ser humano, habiéndose establecido claramente su papel en el desarrollo de determinadas neoplasias por diferentes mecanismos. Es el caso de virus como el Epstein-Barr (VEB), Virus de la Hepatitis B (VHB), Virus de la Hepatitis C (VHC), Papillomavirus (VPH), Herpervirus 8 (VHS-8) o HTLV-1 (Linfotrópico de células T humano-1) (84). En personas cuyo sistema inmune se ve comprometido, este mecanismo de desarrollo de neoplasias, adquiere aun mayor importancia,

particularmente en PVVIH ya que el virus, además de deteriorar la inmunidad del huésped, participa de manera activa en la génesis tumoral (85).

Se desconoce cómo la infección por VIH aumenta el riesgo de cáncer mediado por oncovirus en pacientes coinfectados. Por un lado, la infección por el VIH provoca una inflamación crónica permanente que se asocia con el desarrollo de neoplasias (86), y por otro, el VIH altera el microambiente tumoral suprimiendo la apoptosis, iniciando la angiogénesis, y estimulando las vías de señalización de las células tumorales, lo que lleva al crecimiento, la proliferación y la invasión del tumor (87).

Por último, la inmunosupresión inducida también juega un papel importante en el desarrollo de estas patologías. El estadio SIDA al diagnóstico, cifras de CD4 menores de 200 cél/uL tras 6 meses de TAR, un Nadir o un recuento bajo persistente de CD4 (< 200 cél/uL), así como una disminución de la ratio CD4/CD8 (<0.5) están relacionados con el riesgo de neoplasias, tanto definitivas, como no definitivas de SIDA (88).

2.3.Linfoma de Hodgking.

El riesgo relativo de Linfoma de Hodgking (LH) en PVVIH es de 5 a 26 veces mayor que en la población general, con una incidencia estimada de alrededor de 50 casos por 100 000 personas por año (89). Inicialmente con la introducción de la TAR, se observó un aumento en la incidencia, sin embargo, esta parece haberse mantenido estable en los últimos años. En cuanto a su etiopatogenia, existen algunas características diferenciales resultantes de la coinfección del VIH y el VEB, y la diferente composición del microambiente en comparación con los pacientes seronegativos (90). En las PVVIH con respecto a la población general las células neoplásicas son positivas para VEB prácticamente en su totalidad; y en cuanto a las diferencias en el microambiente, existe un mayor número de células T CD8 positivas, lo cual invierte el cociente CD4/CD8 y, un menor número

tanto de CD561 (natural killer -NK-) como de CD571 (células T diferenciadas y células NK maduras) (91).

El diagnóstico requiere la identificación anatomopatológica, idealmente mediante biopsia escisional de un ganglio linfático afectado, junto con una evaluación clínica y un estadiaje adecuado (92).

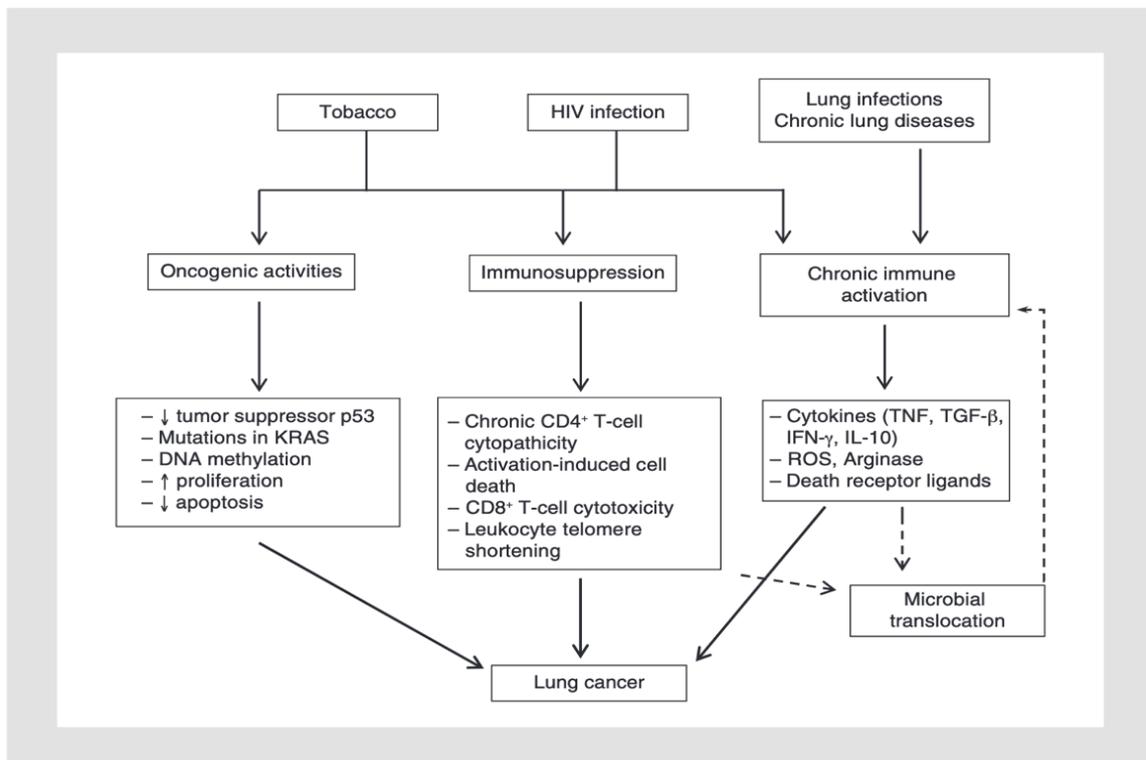
Los linfomas asociados al VIH se pueden tratar con éxito con dosis estándar de quimioterapia sin efectos tóxicos graves; incluso las dosis altas de quimioterapia y el trasplante autólogo de células madre son bien tolerados, ya que la TAR, al reducir la replicación del virus del VIH, restaura el deterioro inmunológico, reduciendo las infecciones oportunistas y mejora tanto la respuesta al tratamiento, como la supervivencia general y las tasas de remisión completa (93).

2.3 Cáncer de Pulmón.

Dentro de los pacientes con VIH, se estima que la incidencia de cáncer de pulmón (CP) es aproximadamente de 2 a 4 veces mayor que en la población general (94). Suelen presentar, una enfermedad avanzada al diagnóstico (estadios III-IV) que suele realizarse a una edad más temprana y tienen, en general, una supervivencia inferior, comparado con la población no infectada por el VIH (95). La distribución de las variantes histológicas, sin embargo, es similar a la de la población general (96).

El cáncer de pulmón dentro de las neoplasias no definatorias de SIDA en PVVIH no tiene una confección viral conocida en su etiología (97). El aumento de la incidencia de esta neoplasia está en relación en mayor medida con factores de riesgo tradicionales tales como el tabaquismo, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o la edad, además de los relacionados con la propia

infección por el VIH que provoca inmunosupresión, inflamación, y tiene capacidad per sé oncogénica (98).



Tomado de Mena A et al (99)

TNF: factor de necrosis tumoral; TGF-β: factor de crecimiento transformante beta; IFN-γ: interferón gamma; IL-10: interleucina 10; ROS: especies reactivas del oxígeno.

De nuevo el diagnóstico y el tratamiento en el cáncer de pulmón en PVVIH, no difiere del manejo en personas no infectadas. La cirugía es una opción a tener en cuenta en aquellos estadios locales o localmente avanzados e igualmente la radioterapia es una alternativa terapéutica cuando está indicada, siempre prestando atención a los posibles efectos adversos (100).

La quimioterapia también es un tratamiento generalmente bien tolerado. En PPVIH es importante evaluar la medicación debido a que los agentes antineoplásicos de elección pueden tener interacciones farmacológicas, por lo que es importante seleccionar bien la TAR en estos casos, ya que debe mantenerse a lo largo del tratamiento del cáncer de pulmón en PVVIH (101).

Por otro lado, en los últimos años, la inmunoterapia se ha convertido en una gran aliada en el tratamiento de diferentes neoplasias, entre ellas, el cáncer de pulmón. En PVVIH, puede ser también una gran opción de tratamiento, pues parece ser tan efectiva como en la población general, para lo que se hace necesario un abordaje integral con oncólogos y especialistas en enfermedades infecciosas con un estrecho seguimiento del estado inmunológico de los pacientes (102).

Dado que las PVVIH tienen una mayor morbimortalidad por cáncer de pulmón, la inclusión de esta población en programas de detección precoz debe ser considerada (103); en este sentido, la intervención sobre el abandono del tabaco es clave, si bien también podría resultar beneficioso en estos pacientes, la realización de un programa de screening mediante tomografía computarizada de baja radiación (104).

1.3. Carcinoma hepatocelular.

El carcinoma hepatocelular (CHC) representa aproximadamente el 90% de los casos de cáncer de hígado primarios, con una incidencia de 850 000 nuevos casos por año, entre sus principales factores de riesgo se encuentran la infección por los virus de la hepatitis B y C (105).

A pesar de esta clara evidencia epidemiológica, el mecanismo de hepatocarcinogénesis viral aún no se comprende en su totalidad, postulándose por un lado que la inflamación crónica durante un largo periodo de tiempo puede ser cancerígena independientemente del desencadenante inicial (virus, alcohol, hemocromatosis, etc); y por otro la acción directa de las oncoproteínas virales (106). En cualquier caso, tanto el VHB como el VHC son importantes factores de riesgo en el desarrollo del CHC y ambas infecciones han sido muy frecuentes entre las PVVIH (107). Por otro lado, se ha debatido sobre el papel del VIH como factor de riesgo independiente sobre el desarrollo del CHC llegando a la conclusión de que el efecto carcinogénico lo ejerce en sinergia con los virus

hepatotropos a través de la inmunodeficiencia. El deterioro de las respuestas naturales de las células T CD4 y CD8, así como de los procesos de presentación de antígenos, afecta a la cinética viral tanto del VHB como del VHC, favoreciendo la replicación viral y una progresión más rápida hacia la fibrosis, la cirrosis y, finalmente, la malignidad (108).

Los métodos diagnósticos no difieren de los utilizados en la población seronegativa, si bien, las PVVIH son un grupo de riesgo prioritario en el que aumenta la importancia de validar estrategias de vigilancia estrecha para el diagnóstico temprano de la enfermedad; entre ellas se propone la ecografía abdominal semestral, y la determinación de la alfa-fetoproteína con el objeto de identificar pacientes en etapa temprana que puedan beneficiarse de terapias curativas (109).

Las opciones de tratamiento para el CHC en PVVIH están sujetas a la estadificación del tumor, la función hepática y el estado de salud, al igual que en población general, el estado serológico no influye en la elección del tratamiento, si bien, algunas terapias más recientes, como las locorreccionales, requieren aún de más estudios para confirmar su éxito en esta población (110).

Otro punto controvertido en el tratamiento del CHC es la inmunoterapia, con resultados favorables (111), y otros no tan alentadores (112), resultados que generan la necesidad de evaluar terapias novedosas para el CHC entre las PVVIH (113).

En cuanto al trasplante hepático como opción terapéutica, parece ser igualmente exitoso que en pacientes VIH negativos (114).

1.4. Cáncer de piel no melanoma.

El carcinoma de células basales o basocelular (CB) y el carcinoma de células escamosas, o espinocelular (CE), representan las dos neoplasias malignas de la

piel más comunes y se agrupan bajo el término genérico de cáncer de piel no melanoma (CPNM) (115).

Los CPNM, constituyen el grupo más grande de neoplasias no definatorias de SIDA y los factores de riesgo que los predisponen son los mismos que en VIH negativos, añadiendo, en PVVIH, la edad mayor de 40 años, una mayor duración de la enfermedad y antecedentes de infecciones oportunistas (116). Si bien suelen presentar subtipos histológicos más agresivos, los CPNM no parecen estar significativamente asociados con el estado inmunológico o la TAR (117).

Algo más discutida es la implicación del VPH como virus oncogénico en el desarrollo de lesiones dérmicas; por un lado, la mayor tasa de CE sobre CB en PVVIH, podría explicarse por la implicación de este virus, sin embargo, la identificación del material genético del VPH en las lesiones es errática, y por otro su mayor prevalencia en esta población no determina causalidad, por lo que esta asociación aún resulta controvertida (118,119). En cualquier caso, el VPH requiere de la acción sinérgica de la radiación ultravioleta para la oncogénesis, por lo que, la prevención en este caso radica en evitar la exposición y utilizar protectores solares (120); de esclarecerse el papel del VPH en el desarrollo de CPNM, la vacunación frente al citado virus sería interesante (121,122).

La evaluación dermatológica es fundamental para el diagnóstico precoz de los cánceres de piel, tanto CPNM como melanoma, especialmente teniendo en cuenta el aumento de la esperanza de vida en las PVVIH en tratamiento con un TAR eficaz (123).

La presentación clínica del CPNM es, generalmente, idéntica a la descrita en personas inmunocompetentes, aunque con un curso más agresivo, un diagnóstico más tardío y una supervivencia más corta, lo cual requiere de un tratamiento agresivo desde el inicio. Este incluye la escisión quirúrgica siempre que sea posible, tratamiento de radio y quimioterapia en regímenes que no difieren de los utilizados en la población VIH negativa y por último la

inmunoterapia, que ha demostrado ser un tratamiento eficaz en los cánceres relacionados con el VIH (124).

Tanto en el CPNM como en el resto de neoplasias, los programas de detección precoz en PVVIH son ampliamente beneficiosos para mejorar el pronóstico de cualquiera de ellas, y, sin embargo, a pesar de ser imprescindibles en el cuidado de la salud de esta población, aún no están del todo definidos (125).

Como vemos, la TAR ha modificado por completo el espectro de enfermedades asociadas al VIH sobre todo en la prevalencia de las neoplasias. La mejora del estado inmunológico de estos pacientes los hace menos susceptibles a patologías clásicamente relacionadas con el SIDA, pero están igualmente expuestos al desarrollo del cáncer que la población general, siendo incluso más susceptibles a aquellos en los que una infección viral participa en la oncogénesis. La prevención primaria en estilo de vida y supresión de factores de riesgo modificables, así como los programas de screening para el diagnóstico temprano de estas patologías son indispensables en las PVVIH, quienes precisan además de una vigilancia viruinmunológica estrecha con una valoración integral por personal especializado.

3. Cáncer de ano.

3.1. Epidemiología.

El cáncer de ano (CA) es una neoplasia rara, si bien se ha producido en la última década un aumento de la incidencia del 2,7% anual (126). En PVVIH, su incidencia aumenta hasta 30 veces, y es 80 veces mayor en hombres que tienen sexo con hombres seropositivos (HSH- VVIH), con una supervivencia superponible a la de la población general (127), siendo del 68,7% a los cinco años (128).

3.2. Factores de Riesgo.

Entre los factores de riesgo para el desarrollo de esta neoplasia, se han encontrado clásicamente la enfermedad inflamatoria del intestino (EII): el Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU), consecuencia de un estado inflamatorio (129).

Por otro lado, el desarrollo de cáncer anal está fuertemente asociado con la infección por VPH, al que se le atribuye el 91 % de los casos.

Las prácticas sexuales que aumentan el riesgo de transmisión de este virus, como las anales receptivas, múltiples parejas, así como los antecedentes de displasia o cáncer de vulva, vagina o cuello uterino, también han sido asociadas con dicha neoplasia (130).

El riesgo de CA aumenta con la edad, el tabaquismo, o la inmunosupresión, en pacientes trasplantados, o infectados por el VIH, ya que se facilita la persistencia de la infección por VPH (131).

Estudios de cohortes han relacionado el grado de inmunodepresión con la incidencia de CA en PVVIH, de manera que el nadir y el CD4 acumulado pueden representar marcadores útiles para identificar aquellos con mayor riesgo (132). Un nadir de CD4 menor de 200 células/mm³ o la mayor duración de cifras de CD4 < 200 células/mm³ están relacionadas con riesgo incrementado de CA,

constituyendo en la actualidad una de las neoplasias no definatorias de SIDA más frecuentes en PVVIH (133).

3.3. Clasificación y nomenclatura.

El adenocarcinoma anal de células escamosas (ASCC) es el tipo histológico más común, y, en el 90% de las ocasiones se relaciona con el VPH (134). En este sentido, al estar el virus implicado, la oncogénesis del CA se asemeja mucho más a neoplasias del área genital (como el de cérvix), que a otras gastrointestinales (135).

El ASCC asociado al VPH, se clasifica utilizando la *Lower Anogenital Squamous Terminology (LAST project)*, una terminología simplificada y uniforme para el ASCC en todas las localizaciones anogenitales, partiendo de la base de que el ASCC relacionado con el VPH comparte una biología epitelial común, grupos de trabajo multidisciplinar han desarrollado las siguientes recomendaciones (136):

- Una nomenclatura binaria: Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL, del inglés, *low grade squamous intraepithelial lesion*) y HSIL o *high grade squamous intraepithelial lesion* (lesión escamosa intraepitelial de alto grado), se recomiendan para las lesiones no invasivas asociadas al VPH. La neoplasia intraepitelial anal (AIN) también se incluye bajo esta nomenclatura, así, LSIL incluye lesiones AIN 1 y AIN 2 y 3, se definen como HSIL.
- Las lesiones conocidas como condilomas acuminados se designan como LSIL, con denominación opcional de condiloma.
- Se define como carcinoma superficialmente invasivo, cuando presenta una profundidad de menos de 3 mm desde la membrana basal del punto de origen, con una extensión horizontal máxima menor de 7 mm, y una escisión completa en la biopsia.

- Se recomienda la inmunohistoquímica con p16 cuando el diagnóstico diferencial se encuentra entre HSIL y LSIL: la expresión fuerte y difusa, “en bloque” de p16 dentro de la lesión apoya el diagnóstico de HSIL.

3.4. Métodos de diagnóstico y screening.

La neoplasia intraepitelial anal (AIN) es la lesión precursora del cáncer de células escamosas del ano (ASCC), si bien, el riesgo real de progresión sigue sin estar claro, se ha demostrado que este es elevado en ciertos grupos, como son: aquellos con infección persistente con genotipos VPH-AR, las PVVIH (especialmente aquellas con recuentos bajos de CD4), los HSH, y personas con antecedentes de cánceres genitales asociados al VPH (particularmente el cáncer de cérvix) (137).

La existencia de un agente biológico implicado y la capacidad para detectar lesiones pre-neoplásicas, hacen necesarios programas de prevención y screening, además de la recomendación de la vacunación frente al VPH (138).

La citología anal o citología anorrectal (CAR) es una herramienta común para la evaluación tanto de la infección por VPH, como de las lesiones intraepiteliales, y el CA de células escamosas (139).

- La citología anal.

La citología recoge muestras del canal anal, que deben incluir el epitelio escamoso queratinizado y no queratinizado, y la zona de transformación anorrectal (140). Son muestras fáciles de extraer y su recogida la puede realizar tanto el propio paciente como el médico, a ciegas, o bien dirigido mediante visualización por anoscopia y puede prepararse de forma convencional, y, una vez procesada, la citología permite la siguiente interpretación (141):

- Negativo para lesión intraepitelial o malignidad (NILM)
- Anomalía de células epiteliales: células escamosas atípicas de significado incierto (ASC-US), células escamosas atípicas sin poder excluir HSIL

(ASC-H), lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL), lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL) y carcinoma de células escamosas.

La citología es una técnica mínimamente invasiva, económica y relativamente fácil de realizar, por lo que, a pesar de sus limitaciones, tales como la escasa correlación con el grado histológico, o su sensibilidad limitada en algunos entornos, se recomienda como abordaje inicial para el cribado de CA en los grupos de riesgo (142), pero no como única prueba de screening (143).

- *Identificación del VPH.*

Aproximadamente, el 90% de los CA son resultado de una infección crónica por VPH, con una amplia participación del VPH-16, que, junto con el VPH-18 son responsables del 87% de los CA (144). Esta condición hace que su detección mediante técnicas moleculares de hibridación o inmunohistoquímica sea una actuación simple y económica reconocida como un método rentable de prevención, especialmente en poblaciones susceptibles como las PVVIH y los HSH (145).

- *Anoscopia de alta resolución (AAR).*

La AAR es un procedimiento mínimamente invasivo que se puede realizar de forma ambulatoria con anestesia tópica. Se realiza a través de un colposcopio tradicional o digital o bien con una plataforma de anoscopia digital desarrollada específicamente. El paciente generalmente se coloca en la posición de decúbito lateral izquierdo y, tras una inspección externa, se realiza la AAR. En primer lugar, se introduce una torunda empapada en ácido acético al 5% que se deja reposar un mínimo de 2 min. A continuación, se evalúan el canal anal y la piel perianal y se identifican las áreas de mayor captación de ácido acético. Posteriormente, se aplica el yodo de Lugol para identificar áreas de disminución de la captación, ya que la displasia y el tejido neoplásico no se tiñen con el mismo.

Han de describirse la ubicación por cuadrantes, el tamaño, contorno, patrón de superficie, vascularización y márgenes de las lesiones identificadas y tomar las biopsias adecuadas. Por lo general, no se recomiendan las biopsias a ciegas, pero estas pueden aumentar la detección de HSIL en grupos seleccionados de alto riesgo. Es una técnica bien tolerada, siendo el dolor y el sangrado transitorios los efectos adversos más comunes (146).

La AAR es, un método rentable y poco agresivo para detectar lesiones de alto grado y ha demostrado ser más sensible que la prueba de Papanicolaou anal, por lo que los estudios recomiendan la realización de la citología anal junto con la AAR, para ser más exhaustivos en la detección de AIN, no solo en el screening y diagnóstico de estas lesiones, sino también en el seguimiento de pacientes con AIN ya diagnosticado, especialmente en AIN III, para evitar la recurrencia y la progresión del cáncer (147).

- Diagnóstico definitivo y pronóstico de la enfermedad.

El CA, al ser una entidad poco frecuente, puede resultar infradiagnosticado o mal identificado, con resultados devastadores, por lo que es imprescindible un diagnóstico a tiempo, con una estadificación precisa y una vigilancia rutinaria para iniciar una terapia oportuna. Es indispensable, por tanto, biopsiar cualquier lesión en el canal anal cuando existe indicación, para evitar retrasos en el diagnóstico (148).

El diagnóstico del CA requiere, además de una valoración clínica que incluya tacto rectal y exploración de la región inguinal en búsqueda de posibles ganglios afectos, y la realización de un estudio de extensión una vez confirmado el diagnóstico histológico (149), que puede realizarse mediante RMN pélvica, TAC abdominal o incluso PET-TAC, para descartar la diseminación metastásica (150,151).

Otros indicadores pronósticos además de la afectación linfática son, el tamaño del tumor y la identificación del VPH en la muestra histológica (152). El sexo masculino se ha identificado como factor de mal pronóstico al identificarse mayores tasas de recidiva y una peor supervivencia global en hombres (153,154). También biomarcadores tales como la presencia previa al tratamiento de leucocitosis, neutrofilia o anemia se han identificado como factores pronósticos (155).

3.5. Prevención y manejo terapéutico.

- VIH y cáncer de ano asociado a VPH. Influencia del tratamiento antirretroviral en el manejo del CA.

La prevalencia tanto de la infección por VPH como de HSIL en el canal anal de los PVVIH, continúa siendo alta ya que a menudo no pueden eliminar el virus y la incidencia del CA en esta población sigue aumentando a pesar del tratamiento antirretroviral efectivo (156). Sin embargo estudios abalan que el tratamiento antirretroviral podría ejercer un papel protector frente a la presencia de lesiones \geq AIN2 (157,158), e incluso que la eliminación de genotipos oncogénicos en la mucosa anal de HSH-VVIH parece estar asociada positivamente con la duración del TAR (159).

- Papel de la vacunación frente al VPH como prevención en el desarrollo del cáncer anal.

La vacunación frente al VPH genital en hombres es moderadamente eficaz a cualquier edad contra las lesiones intraepiteliales de alto grado y la infección persistente, si bien su efectividad es mayor en pacientes *naive*, sin infección activa (160). Un reciente estudio multicéntrico en el que participaron hombres heterosexuales y HSH entre 16 y 26 años de 18 países, que evaluaba la eficacia de la vacuna tetravalente en la prevención de lesiones genitales externas, AIN o CA relacionados con la infección por VPH-6, 11, 16 o 18, concluyó que proporcionaba una protección duradera frente a la enfermedad anogenital relacionada con estos

genotipos. Respaldando la vacunación contra el VPH tetravalente en hombres, no solo en adolescentes, pues los adultos jóvenes no vacunados también podrían beneficiarse de esta actuación (161).

- *Tratamiento de las lesiones precursoras de cáncer (HSIL).*

Las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (HSIL) pueden progresar a CA, por lo que su tratamiento puede reducir la incidencia de CA (162). En el estudio *Treatment of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions to Prevent Anal Cancer (Palefsky et al.)* publicado recientemente, se observó que el riesgo de CA fue significativamente menor en el grupo de tratamiento de HSIL vs vigilancia activa (163); hallazgo similares a los publicados en estudios previos (164).

Las opciones de tratamiento para lesiones de bajo o alto grado incluyen la escisión, fulguración, terapia con láser o el tratamiento tópico como ácido tricloroacético (TCA), imiquimod o 5-fluorouracilo (5-FU). En el pasado, la escisión quirúrgica era el tratamiento de elección en la mayoría de los casos, sin embargo, a pesar de ser un tratamiento agresivo, existe un rango muy amplio de recurrencia tras el mismo, aún mayor en pacientes con lesiones multifocales o con carga de enfermedad elevada. Por otro lado, la realización de escisiones repetidas aumenta el riesgo de estenosis o incontinencia fecal, especialmente en pacientes con enfermedad circunferencial (165).

El tratamiento dirigido de HSIL tras su identificación con AAR tiene como objetivo destruir las lesiones AIN sin exponer a los pacientes a las complicaciones asociadas a la escisión local. Pudiendo realizarse mediante electrocauterización, coagulación infrarroja o crioterapia (166).

Las terapias tópicas son un enfoque alternativo a los tratamientos ablativos. No existe ninguna aprobada por la FDA para HSIL anal, pero en base a las similitudes con otras lesiones intraepiteliales, se han utilizado imiquimod, 5-fluorouracilo, cidofovir o ácido tricloroacético (167). Hay pocos ensayos clínicos controlados que determinen la eficacia de los tratamientos y menos estudios que

comparen modalidades de tratamiento, por lo que el enfoque actual para el tratamiento de HSIL anal con terapia tópica se basa principalmente en series de casos y pequeños ensayos no aleatorizados (168).

- *Tratamiento del adenocarcinoma anal de células escamosas (ASCC).*

El tratamiento del ASCC, depende de la estadificación del tumor y se basa en radioterapia (RT), quimioterapia (QT) y cirugía. Los tumores locales y localmente avanzados se tratan con una combinación de QT y RT, mientras que la quimioterapia en monoterapia generalmente se emplea para tratar la enfermedad metastásica. En caso de enfermedad recurrente y residual, la cirugía sigue siendo el estándar de tratamiento (169).

Antes de la década de los 80, el abordaje preferente consistía en la resección abdominoperineal, una intervención quirúrgica que conllevaba una considerable morbilidad y la necesidad de quedar con una estoma permanente, motivo por el que progresivamente fue sustituyéndose por la quimiorradiación, quedando la cirugía radical reservada para el tratamiento de recidivas, o los casos en los que el resto de terapias estén contraindicadas (170).

Las recomendaciones actuales, reservan la escisión del cáncer anal para lesiones pequeñas y bien diferenciadas del margen anal (T1, N0); en caso de que los tumores involucren el canal anal, el tratamiento de primera línea es la quimiorradioterapia, ya que esta permite la preservación del esfínter y una menor morbilidad (171).

La quimiorradioterapia combina 2 ciclos de infusión intravenosa continua de 1000 mg/m²/día de 5-fluorouracilo (5-FU) (días 1 a 4 y 29 a 32) asociado a 10 mg/m² de mitomicina C (MMC) intravenoso (días 1 y 29). Se han ensayado otras QT sin mejoría en términos de supervivencia libre de enfermedad o colostomía (172). Este esquema se administra en intervalos de 28 días junto con radioterapia (RT); lo que ha demostrado aumentar los beneficios del tratamiento único con RT (173).

La enfermedad metastásica ocurre entre un 10 y 20% de los casos, principalmente como recidiva de la enfermedad y con solo en el 5-8% como diseminación metastásica al diagnóstico por lo que existen datos limitados sobre el tratamiento de estos pacientes (174). La combinación de cisplatino y 5- fluorouracilo continúa siendo una buena primera opción según proponen las guías americanas, aunque se requieren más ensayos clínicos para confirmar el tratamiento tanto de la enfermedad metastásica como de las recidivas (175). La combinación de inmunoterapia con anticuerpos monoclonales anti-EGFR o con antiangiogénicos puede traer avances que cambien la práctica en el tratamiento sistémico del CA en los próximos años (176).

En conclusión, el CA es una neoplasia con una incidencia nada despreciable en los HSH-VVIH. La infección persistente por el VPH es un factor de riesgo de especial importancia implicado en el desarrollo de lesiones tanto premalignas como malignas. Existe una gran variedad de tratamientos disponibles, pero aún son necesarios ensayos que estandaricen los esquemas terapéuticos y, si bien la supervivencia es similar a la de la población general, la mejor estrategia continúa siendo la prevención de la enfermedad.

Capítulo 2: Hipótesis

La monoinfección por genotipos de bajo riesgo del VPH coincidente con una citología anal normal en HSH que viven con el VIH, descarta la presencia lesiones de alto grado y/o Cáncer de ano.

Capítulo 3: Objetivos

1. *Objetivo principal:*

Analizar, en una cohorte de HSH-VVIH, la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de la PCR del VPH de bajo riesgo (VPH-BR) en el despistaje de displasia anal (LSIL, HSIL y cáncer de ano).

2. *Objetivos secundarios:*

- a.* Describir los genotipos de VPH-BR y AR presentes en la mucosa del canal anal de HSH-VIH.
- b.* Analizar la tasa de aclaramiento y adquisición de VPH-BR durante el seguimiento.
- c.* Analizar la tasa de pacientes con LSIL (AIN1) que progresan a HSIL y/o CA.
- d.* Estudiar los factores relacionados con la progresión a HSIL y/o CA.

Capítulo 4: Material y Métodos

1. *Diseño.*

Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal, unicéntrico, compuesto por 493 HSH-VVIH, incluidos de forma consecutiva, entre mayo de 2010 y diciembre de 2021, en un programa de despistaje, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de lesiones displásicas de mucosa anal. Los pacientes fueron atendidos íntegramente en el hospital Universitario Virgen de las Nieves (HUVN) y procedían de la consulta especializada de Enfermedades Infecciosas perteneciente del HUVN de Granada y del Complejo hospitalario de Jaén.

Criterios de inclusión: hombres que tenían sexo con hombres y vivían con el VIH, mayores de 17 años.

Criterios de exclusión: mujeres y hombres heterosexuales que vivían con el VIH y tenían antecedentes de neoplasia de canal anal.

En la visita basal (V0) se explicaba a los pacientes condiciones y objetivos de la investigación, se les facilitaba un documento de consentimiento informado para su firma, y se recogían datos epidemiológicos, clínicos y analíticos, que fueron tratados siguiendo la ley de protección de datos vigente (Ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal).

Visita basal (V0): se incluían las siguientes variables clínico-epidemiológicas: edad, antecedentes de condilomas perianal-genital, número de parejas sexuales en toda su vida, número de parejas sexuales en los últimos 12 meses, edad de inicio de relaciones sexuales, uso de condón y porcentaje de uso, tabaquismo (si/no) y paquetes/año, consumo de alcohol (si/no y unidades de bebida estándar: UBE), adicción a drogas por vía parenteral (ADVP), ExADVP, nacionalidad, nivel de estudios, meses de diagnóstico de VIH, estadio del VIH según la clasificación CDC; meses en tratamiento antirretroviral (TAR), antirretrovirales y líneas,

fracaso virológico (se consideró cuando había ARN-viral ≥ 50 copias/mL en al menos dos determinaciones en 6 meses previos), uso de tratamiento concomitante. Otras infecciones: Hepatopatía crónica por virus de la hepatitis B (VHB) o virus de la hepatitis C (VHC), serología luética positiva y otras enfermedades de transmisión sexual, e infección tuberculosa latente, tratada o activa. Las variables analíticas fueron linfocitos CD4 nadir, CD4, CD8 y carga viral al diagnóstico del VIH, CD4, CD8, ratio CD4/CD8 y carga viral en el momento de inclusión en la cohorte.

En la visita V0 se procedía a la toma de 2 muestras de la mucosa del canal anal con un par de torundas de algodón impregnadas en suero fisiológico para la detección y genotipado del VPH mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cualitativa (Linear Array HPV Genotyping Test) realizada con el termociclador "GeneAmp PCR System 9700" (Applied Biosystems, Roche, Switzerland); y la segunda para realización de citología, ambas muestras eran incluidas en medio líquido (liquid medium Thin Layer Liquid), para estudio citológico se empleó la técnica de "thin-layer technique" (Procesador Thin Prep 2000 (Hologic). Ambas muestras, se enviaban al laboratorio de Anatomía Patológica, donde se llevaba a cabo el dictamen de las citologías y validación de resultados de la PCR del VPH. Los genotipos 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51–53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82 fueron considerados de alto riesgo (VPH-AR). Los genotipos 6, 11, 34, 40, 42–44, 54, 55, 57, 61, 70–72, 81, 83, 84 y 89 de bajo riesgo (VPH-BR). Se clasificaron como sub-especies del genotipo VPH 18, los virus 39, 45, 59, 68; y del VPH 16 los genotipos 31, 33, 35, 52, 58, 67.

Posteriormente, se realizaba anoscopia de alta resolución (AAR) con el colposcopio Carl Zeiss 150 fc [©], (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) en un intervalo de 4 a 12 semanas. Previa a la AAR se hacía inspección y tacto rectal tras lo cual se introducía un anoscopio desechable transparente a través del cual

se instilaba 5mL de ácido acético que se dejaba durante unos 3 minutos, se retiraba y se inspeccionaba la mucosa; y posteriormente, lugol al 5% un minuto y se volvía a inspeccionar a través del anoscopio. Se tomaban muestras tanto de mucosa aparentemente normal de los 4 cuadrantes, como de aquellas zonas con lesiones aceto-blanco lugol negativas. Las biopsias se hacían con un catéter de colangio pancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE).

-Visitas de seguimiento: tras la realización de la anoscopia en función de los hallazgos histológicos se hacía el seguimiento posterior. En caso de anoscopia normal y LSIL(AIN1), se evaluaba en un año con citología, PCR del VPH y anoscopia. En caso de HSIL el paciente tenía dos opciones: unidad de coloproctología del Servicio de Cirugía general para mucosectomía mediante bisturí eléctrico desde mayo de 2010 y la otra la autoadministración de Imiquimod al 5% 3 veces por semana durante 16 semanas desde 2014. Tras completar el tratamiento de las lesiones se les hacía anoscopia de control y en función del resultado se programaba la evaluación en un año (histología normal o LSIL), o retratamiento si aún permanecía el HSIL. En caso de cáncer de ano, se enviaba a oncología y se trataba con los protocolos convencionales de esa neoplasia. En las visitas anuales se recogía el número de parejas sexuales en los últimos 12 meses, aparición de infecciones de transmisión sexual (serología de lúes siempre, y estudio de PCR y cultivo de exudado anal-uretral solo en caso de sintomatología o pareja infectada), condilomas genitales/anales, toma de TAR (cambio, fracaso virológico, tasa de adherencia), cifras de linfocitos CD4, y CD8, ratio CD4/CD8 y carga viral del VIH.

La clasificación que empleamos para la citología fue la de Bethesda (177) que clasifica las lesiones en 4 tipos: atypical squamous cells (ASC), atypical squamous cells-high (ASC-H), low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) y high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL).

La clasificación histológica empleada fue Squamous Terminology (LAST) Standardization Project for HPV que clasifica a las lesiones en LSIL (AIN1/condyloma), HSIL (AIN2, AIN3, C. in situ), and invasive carcinoma (ASCC) (178).

2. Definición de variables:

- Citología anormal aquella que incluye ASCUS, LSIL o HSIL.
- Histología con lesión anal HSIL plus, incluía desde HSIL a Cáncer invasivo (High-grade SIL/Cancer).

3. Análisis estadístico:

3.1. Análisis descriptivo:

Se describieron las principales variables recogidas en el estudio, se calcularon las medidas de tendencia central y de dispersión (media, desviación típica, mediana, y percentiles) para las variables cuantitativas, y frecuencias absolutas y relativas para las cualitativas.

3.2. Análisis bivariante:

Para las variables cuantitativas se aplicó el test T de Student para muestras independientes en caso de variables con una distribución normal, o la prueba U de Mann-Whitney en caso de no normalidad. Para las variables cualitativas se aplicó el estadístico Chi-Cuadrado de Pearson o el test de Fisher en caso de no cumplirse los criterios de aplicación. Para comprobar si las diferentes variables verificaban la hipótesis de normalidad se usó el test de Kolmogorov-Smirnov.

3.3 Análisis multivariante:

Se realizó mediante regresión logística múltiple incluyendo las variables que resultaron significativas en el análisis bivariante y aquellas que no siéndolo podían influir, por haberse descrito previamente en la literatura.

Para todos los test se consideró un nivel de significación de 0,05. El software estadístico utilizado fue el SPSS 21.0.

4. Aprobación ética y consentimiento.

Este estudio fue aprobado por el comité ético del centro coordinador. Todos los pacientes habían dado su consentimiento para el uso de sus datos con fines de investigación. Todos los datos han sido recabados de acuerdo con la legislación española de protección de datos de carácter personal.

Capítulo 5: Resultados

1. Descripción de la cohorte.

1.1. Características epidemiológicas

Se incluyeron 493 hombres que tenían sexo con hombres (HSH) que vivían con el VIH (PVVIH), con edad media de 36,48 años, 94,1% europeos. Con una mediana de parejas sexuales en los últimos 12 meses de 50; y de parejas sexuales totales desde el inicio de las relaciones sexuales de 2; siendo, la mediana de edad de inicio de las relaciones sexuales de 18 años. El 66,7% usaba preservativo durante el sexo anal. El 48% eran fumadores activos y 74 de los pacientes estaban vacunados frente al VPH.

El 3,5% tenían infección crónica por VHB y el 2,8% por VHC. En cuanto a las infecciones de transmisión sexual concomitantes, el 31,2% de los pacientes tenían una sífilis activa en la primera visita y un 21,3% condilomatosis ano-genital.

El resto de variables en la tabla 1.

Tabla 1. Características epidemiológicas de la cohorte.

	Cohorte N=493
Género, n (%)	
Hombres	493 (100)
Mujeres	0 (0)
Edad, media (años), (± DS)	36,48 (±10,434)
Edad, n (%)	
<30 años	151 (30,6)
Entre 30 y 50 años	290 (58,8)
>50 años	52 (10,5)
Nacionalidad, n (%)	
Europea	464 (94,1)
Centrosudamericana	27 (5,5)
Africana	2 (0,4)

Mediana de NP12m (P25-P75)	50 (20-200)
Mediana de NPT (P25-P75)	2 (1-8)
Número de parejas totales, n (%)	
Menos de 10	64 (13)
Entre 10 y 49	152 (30,8)
Entre 50 y 99	79 (16)
Entre 100 y 149	46 (9,3)
Entre 150 y 199	24 (4,9)
Entre 200 y 299	39 (7,9)
>299	97 (19,6)
Mediana de edad de inicio de las RRSS (P25-P75)	18 (16-20)
Uso de preservativo, n (%)	329 (66,7)
Mediana de % de uso (P25-P75)	100 (0-100)
Tener RRSS durante el último año, n (%)	442 (89,7)
Laboral, n (%)	
Activo	434 (88)
Nivel de estudios, n (%)	
Analfabetos	5 (3,5)
Primarios	24 (16,9)
Secundarios	40 (28,2)
Universitarios	69 (48,6)
Tabaquismo, n (%)	237 (48,1)
Ex-tabaquismo, n (%)	45 (9,1)
Mediana paquetes/año, (P25-P75)	1,65 (0-15)
Alcohol, n (%)	210 (42,6)
Mediana UBEs, (P25-P75)	0 (0-4)
ADVP, n (%)	0 (0)
Ex-ADVP, n (%)	4 (0,8)
Polifarmacia, n (%)	55 (11,2)
Toma tratamiento para VHC, n (%)	5 (1)
Toma tratamiento para TBC, n (%)	4 (0,8)
Toma metadona, n (%)	1 (0,2)
Vacunación VPH, n (%)	74 (15)
Hepatopatía crónica por VHB, n (%)	16 (3,2)
Hepatopatía crónica por VHC, n (%)	14 (2,8)
Sífilis en visita basal, n (%)	154 (31,2)
Otras ITS en visita basal, n (%)	144 (29,2)
Número total de ITS en visita basal, n (%)	
Ninguna	288 (58,4)
Una	196 (39,8)
Dos	6 (1,2)
Tres	2 (0,4)
Mantoux positivo en la visita basal, n (%)	33 (6,7)
Comorbilidades, n (%)	60 (12,2)
Condilomas en la visita de inclusión, n (%)	105 (21,3)
Antecedentes de condilomas genitales, n (%)	149 (30,2)

NP12m, número de parejas sexuales en los 12 meses previos; NPT, número de parejas sexuales totales desde el inicio de las relaciones; RRSS, relaciones sexuales; UBEs, unidades de bebida estándar; ADVP, adicción a drogas por vía parenteral; Ex-ADVP, ex-adicción a drogas por vía parenteral; VPH, virus del papiloma humano; VHB, virus de la hepatitis B; VHC, virus de la hepatitis C; TBC, tuberculosis; ITS, infección de transmisión sexual.

1.2. Variables relacionadas con la infección por el VIH

El 98% habían adquirido la infección vía sexual. La mediana de tiempo desde el diagnóstico de infección por VIH era de 30,5 meses, 23,1% estaba en estadio SIDA y 100% tomaban tratamiento antirretroviral (TAR). El resto de variables relacionadas con la infección por el VIH se pueden consultar en la tabla 2.

Tabla 2. Variables relacionadas con la infección por el VIH.

	Cohorte N=493
Adquisición infección VIH, n (%)	
HSH	485 (98)
Heterosexual	1 (0,2)
ADVP	1 (0,2)
Desconocida	5 (1)
Mediana de meses desde el diagnóstico de infección por VIH (P25-P75)	30,5 (10-105)
Mediana edad al diagnóstico de infección por VIH (P25-P75)	31 (25-37)
SIDA (A3, B3, C), n (%)	114 (23,1)
CD4 al diagnóstico, media (± DS)	444,58 (± 288,8)
CD8 al diagnóstico, media (± DS)	1115,57 (± 749,9)
CV al diagnóstico, (log10) media (± DS)	5,5 (± 6,1)
Nadir, n (%)	
<200	114 (23,1)
200-500	231 (46,9%)
>500	129 (26,2)
CD4 visita basal, media (± DS)	689,8 (± 450,5)
CD8 visita basal, media (± DS)	1954,4 (± 528,7)
CD4/CD8 visita basal, media (± DS)	3,3 (± 14,8)
CV (log10) visita basal, media (±DS)	3,6 (±4,2)
CV< 50 cop/mL visita basal, n (%)	344 (70,9)
Naive, n (%)	53 (10,8)
Mediana de líneas TAR desde el inicio (P25-P75)	1 (1-2)
Mediana de meses con TAR hasta V0 (P25-P75)	20 (7-73)
Línea TAR visita basal, mediana, (P25-P75)	1 (1-2)
Adherencia al TAR en V0, mediana de % de adherencia (P25-P75)	100 (100-100)
Fracaso virológico, n (%)	20 (4,1)
Motivo abandono TAR, n (%)	
Efectos adversos	8 (1,6)
Otras causas	5 (1)
Tratamiento antirretroviral, n (%)	
ITIAN	393 (79,7)
ITINAN	162 (32,9)
IP	129 (26,2)
INI	190 (38,5)

VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; **SIDA**, síndrome de la inmunodeficiencia humana; **HSH**, hombres que tienen sexo con hombres; **ADVP**, adicción a drogas por vía parenteral; **CD4**, linfocitos CD4; **CD8**, linfocitos CD8; **CV**, carga viral; **CD4/CD8**, cociente CD4/CD8; **TAR**, terapia antirretroviral; **ITIAN**, inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de los nucleótidos; **ITINAN**, inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleótidos; **IP**, inhibidor de la proteasa; **INI**, inhibidor de la integrasa.

2. Infección por el VPH y presencia de displasia anal en la visita basal.

De los 493 pacientes incluidos, 74% estaban infectados por genotipos de alto riesgo del VPH en mucosa anal; el 71,2% de bajo riesgo, 56% infección mixta, y 24,1%, infección simultánea por VPH oncogénicos de los subtipos A7 y A9. Los genotipos más frecuentes fueron el 16 de alto riesgo (26,4%), seguido de los 6 y 62 de bajo riesgo (18,9% y 17%, respectivamente).

Con respecto a las citologías anales, 201 (40,8%) fueron normales, 230 (46,7%) LSIL, 13 (2,6%) HSIL, 38 (7,7%) ASCUS. Con respecto a las anoscopias y biopsias, 190 (38,5%) fueron AIN1 y 54 (11%) HSIL (AIN 2/3/carcinoma in situ). Se diagnosticaron en visita basal 3 casos (0,6%) de carcinoma escamoso de canal anal.

El resto de variables se pueden consultar en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Infección por el VPH, en la visita basal.

	Cohorte N=493
VPH-alto riesgo, n (%)	365 (74)
Número de serotipos VPH-alto riesgo, mediana (P25-P75)	1 (1-3)
VPH-bajo riesgo, n (%)	351 (71,2)
Número de serotipos VPH-bajo riesgo, mediana (P25-P75)	1 (0-2)
VPH-mixto (alto y bajo riesgo), n (%)	276 (56)
Rama A9 VPH 18, 39, 45, 59, 60, n (%)	206 (41,8)
Rama A7 16, 31, 33, 35, 52, 58, 67, n (%)	238 (48,3)
Infección simultánea VPH oncogénicos Rama A7 y A9, n (%)	119 (24,1)
VPH 6, n (%)	93 (18,9)
VPH 11, n (%)	82 (16,6)
VPH 12, n (%)	1 (0,2)
VPH 16, n (%)	130 (26,4)
VPH 16 y 51 simultáneos, n (%)	24 (4,9)
VPH 16 y 42 simultáneos, n (%)	28 (5,7)
VPH 18, n (%)	64 (13)
VPH 16 y 18 simultáneos, n (%)	22 (4,5)
VPH 26, n (%)	8 (1,6)
VPH 31, n (%)	67 (13,6)
VPH 33, n (%)	36 (7,3)
VPH 35, n (%)	48 (9,7)
VPH 39, n (%)	61 (12,4)
VPH 40, n (%)	12 (2,4)
VPH 42, n (%)	88 (17,8)
VPH 43, n (%)	20 (4,1)
VPH 45, n (%)	63 (12,8)
VPH 48, n (%)	1 (0,2)

VPH 51, n (%)	71 (14,4)
VPH 52, n (%)	63 (12,8)
VPH 53, n (%)	42 (8,5)
VPH 16 y 53 simultáneos, n (%)	17 (3,4)
VPH 54, n (%)	36 (7,3)
VPH 55, n (%)	83 (16,8)
VPH 56, n (%)	40 (8,1)
VPH 58, n (%)	35 (7,1)
VPH 59, n (%)	50 (10,1)
VPH 61, n (%)	35 (7,1)
VPH 61 con VPH oncogénico, n (%)	28 (5,7)
VPH 16 y 61 simultáneos, n (%)	15 (3)
LAGM en V0 y VPH 61, n (%)	9 (1,8)
VPH 62, n (%)	84 (17)
VPH 64, n (%)	1 (0,2)
VPH 66, n (%)	40 (8,1)
VPH 68, n (%)	55 (11,2)
VPH 16 y 68 simultáneos, n (%)	17 (3,4)
VPH 69, n (%)	16 (3,2)
VPH 70, n (%)	38 (7,7)
VPH 71, n (%)	3 (0,6)
VPH 72, n (%)	31 (6,3)
VPH 73, n (%)	44 (8,9)
VPH 81, n (%)	79 (16)
VPH 82, n (%)	25 (5,1)
VPH 83, n (%)	5 (1,0)
VPH 84, n (%)	33 (6,7)
VPH 89, n (%)	1 (0,2)
VPH 108, n (%)	13 (2,6)

VPH, virus del papiloma humano; **AR**, genotipo alto grado; **BR**, genotipo bajo grado; **V0**, visita basal.

Tabla 4: Resultados de la citología y anoscopia

Citología normal , n (%)	201 (40,8%)
Citología normal, sin genotipos AR, n (%)	42 (8,5)
Citología normal, con genotipos AR, n (%)	149 (30,2)
ASCUS , n (%)	38 (7,7)
LSIL , n (%)	230 (46,7)
HSIL , n (%)	13 (2,6)
AAR patológica , n (%)	235 (47,7)
LSIL , n (%)	190 (38,5)
HSIL , n (%)	54 (11)
Carcinoma extramucoso	3 (0,6)

AR, genotipos de alto riesgo; **LSIL**, lesión escamosa intraepitelial de bajo grado; **HSIL**, lesión escamosa intraepitelial de alto grado; **ASC**, lesión indeterminada; **AAR** anoscopia de alta resolución.

3. Valor diagnóstico de la citología y PCR del VPH en el diagnóstico de displasia anal.

El valor de la PCR de VPH de bajo riesgo (BR) para el diagnóstico de HSIL plus es limitado, con una Sensibilidad (S) de 79,6%, Especificidad (E) del 27,9%, valor predictivo positivo (VPP) del 12,7% y valor predictivo negativo (VPN) del 91,6%.

La PCR del VPH de alto riesgo (AR) es la prueba diagnóstica con mayor S para el diagnóstico de HSIL plus, del 85,7%, seguida de la PCR del VPH-BR 79,6% y por último de la citología 72,7% (tabla 5). La combinación de la citología y la PCR de VPH-AR incrementa la sensibilidad hasta el 100% así como el VPN; de forma que, ningún paciente con citología normal y PCR del VPH negativa tiene un HSIL plus (Tabla 6), aunque tenga la PCR del VPH-BR positiva (S 100%, E 91,9%, VPP 2,9% y VPN 100%).

Por otra parte, la correlación existente entre los resultados de la biopsia, la citología y las PCR del VPH de mucosa anal era baja, ninguna supera el valor de 0,4 establecido como cifra mínima para considerar que hay acuerdo entre dichas técnicas comparadas (Tabla 6).

Tabla 5. Sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para el diagnóstico de citología y PCR de VPH para diagnosticar HSIL plus

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Citología Normal (n= 202)	27,3	56,3	7,4	85,7
Citología anormal (n=281)	72,7	43,7	14,2	82,4
LSIL (n=230)	61,8	54,2	14,8	91,7
HSIL (n= 13)	12,7	98,6	53,8	89,7
ASCUS (n=38)	1,8	91,3	2,6	87,8
HPV- Alto riesgo (n=368)	85,7	25,4	13	93,2
HPV-Bajo riesgo (n=43)	79,6	27,9	12,7	91,6

HPV-Alto y Bajo riesgo (n=277)	66,1	43,9	13,4	90,8
HPV-Bajo riesgo positivo y citología normal (n=125)	14,8	72,3	6,4	86,9
HPV-Bajo riesgo positivo, HPV-Alto riesgo negativo y citología normal (n=35)	100	91,9	2,9	100
HPV- Bajo riesgo negativo y citología normal (n=75)	9,4	83,4	6,7	88
HPV negativo y citología normal (n=61)	100	90,2	87,5	100

Tabla 6. Correlación de la citología y PCR del VPH anal con la histología.

	Normal N= 250		LSIL (AIN 1) N= 189		HSIL (AIN2 y 3) N= 54		SCCA N=1	
	n (%)	p*	n(%)	p*	n (%)	p*	n(%)	p*
	Kappa	Sperman						
Citología Normal (n= 201)	136 (54,4)	0,0001	55 (29,1)	0,0001	13(24,1)	0,005	1 (100)	0,3
	0,26	0,26	0,21	0,21	0,09	0,13	0,006	0,054
Citología Anormal (n=281)	101 (40,4)	0,0001	134 (70,9)	0,0001	41(75,9)	0,005	0	0,3
	0,29	0,3	0,21	0,21	0,09	0,13	0,006	0,054
LSIL (n=230)	82 (32,8)	0,0001	118 (62,4)	0,0001	35(64,8)	0,007	0	0,34
	0,31	0,31	0,23	0,24	0,08	0,12	0,004	0,04
HSIL (n= 13)	3 (1,2)	0,036	3 (1,6)	0,23	7(13)	0,001	0	1
	0,032	0,095	0,02	0,05	0,17	0,23	0,004	0,008
ASCUS (n= 38)	24 (9,6)	0,143	16 (8,5)	0,69	1(1,9)	0,8	0	1
	0,037	0,067	0,011	0,02	0,08	0,08	0,004	0,01
HPV- Alto riesgo (n=368)	170 (68)	0,0001	161(85,2)	0,0001	47(87)	0,04	2 (100)	1
	0,16	0,19	0,13	0,17	0,04	0,09	0,003	0,04
HPV-Bajo riesgo(n=353)	170 (68)	0,012	147(77,8)	0,055	43(79,6)	0,24	2(100)	1
	0,1	0,12	0,07	0,09	0,02	0,05	0,003	0,04
HPV-Alto y Bajo riesgo (n=277)	122 (49)	0,0001	126(66,7)	0,001	36(66,7)	0,14	2 (100)	0,5
	0,17	0,17	0,14	0,15	0,04	0,07	0,006	0,06
HPV-Alto riesgo negativo y citología normal (n=61)	49 (19,6)	0,0001	11(5,9)	0,001	0	0,003	0	0,7
	0,15	0,22	0,13	0,17	0,14	0,14	0,004	0,02
HPV-Bajo riesgo positivo y citología normal (n=125)	81 (33,2)	0,0001	39(20,7)	0,027	8(14,8)	0,04	1 (100)	0,09
	0,14	0,162	0,09	0,1	0,08	0,09	0,012	0,08
HPV-Bajo riesgo positivo, HPV- Alto riesgo negativo y citología normal (n=34)	28 (11,5)	0,0001	6 (3,2)	0,007	0	0,023	0	0,8
	0,09	0,17	0,076	0,124	0,096	0,09	0,004	0,013
	51 (20,9)	0,002	19 (0,1)	0,006	5(9,4)	0,18	0	0,7

HPV-Bajo riesgo negativo y citología normal (n=75)	0,11	0,14	0,11	0,13	0,06	0,06	0,004	0,02
--	------	------	------	------	------	------	-------	------

ASCUS: células escamosas atípicas de significado incierto; LSIL: lesión intraepitelial de bajo grado; HSIL: lesión intraepitelial de alto grado; AIN: neoplasia intraepitelial anal. SCCA: carcinoma anal de células escamosas. $P^* > 0.005$; correlación (kappa y Spermán)

4. Factores relacionados con la progresión de lesiones de bajo grado (LSIL) a HSIL plus.

23(4,7%) pacientes progresaron de LSIL (AIN1) a HSIL plus en una mediana de 12 meses (P25-P75: 12-12); 150 (30,4%) LSIL desapareció de forma espontánea en una mediana de 12 meses (P25-P75: 12-24).

Los factores de riesgo de progresión de LSIL a HSIL plus en el análisis bivariante fueron: edad más joven al diagnóstico de VIH (25,5 años vs 31; $p = 0,016$), estadio SIDA (43,5 vs 23,8; $p = 0,036$), la presencia de condilomas en el momento de la AAR (43,5 vs 20,3; $p = 0,009$) o tener antecedentes de condilomas previamente (56,5 vs 29,3; $p = 0,007$), así como la adquisición de genotipos de alto riesgo (82,6% vs 45,3%; $p = 0,001$), la adquisición de VPH de bajo riesgo 78,3% vs 40,3%; $p = 0,0001$) infección en la mucosa anal de los genotipos 6 (39,1 vs 17; $p = 0,021$) y 84 (21,7 vs 7,1; $p = 0,029$). Como factor protector de progresión el VPH- 62 (0 vs 16,4, $p = 0,033$).

En el análisis multivariante las variables que hayamos relacionadas con la progresión de LSIL a HSIL fueron: la adquisición de VPH de alto riesgo (HR: 4,27; IC 95% 1,165-15,7), de bajo riesgo (HR 3,75 IC95% (1,06-13,27), historia de SIDA previa (HR: 5,83 IC95%: 1,8-18,82), y la infección por el genotipo 6 (HR 4,5, IC95%: 1,36-15,1). Tabla 7.

Tabla 7. Resultados de los análisis bivariante y multivariante.

	Progresor N= 23	No progresor N= 317	Bivariante p*	Multivariante HR, IC 95%
Edad media (años), (± DS)	32,43 (8,98)	36,79 (10,36)	0,051	0.965 (0.874-1.064)
<30 años, n (%)	9 (39,1)	90 (28,4)	0,274	
30-50 años, n (%)	12 (52,2)	194 (61,2)	0,392	
>50 años, n (%)	2 (8,7)	33 (10,4)	1	
Jubilado, n (%)	2 (8,7)	17 (5,4)	0,374	
Activo, n (%)	16 (69,6)	284 (89,6)	0,011	
Nivel de estudios				
No estudios	0 (0)	6 (1,9)	0,761	
Primaria	4 (17,4)	36 (11,4)	0,761	
Secundario-FP	7 (30,4)	95 (30,1)	0,761	
Universitario	12 (52,2)	179 (56,6)	0,761	
Nacionalidad, n (%)				
Europeo, n (%)	21 (91,3)	300 (94,6)		
Centrosudamericano, n (%)	2 (8,7)	16 (5)		
Africano, n (%)	0 (0)	1 (0,3)		
Tabaquismo activo	13 (56,5)	144 (45,4)	0,303	
Alcohol	10 (43,5)	139 (43,8)	0,963	
Uso de condón, n (%)	2 (8,7)	91 (29,4)	0,096	2,810 (0,582-13,57)
Relaciones sexuales en el último año, n (%)	22 (95,7)	282 (89,2)	0,490	
Historia previa de:				
Hepatopatía por VHC	2 (8,7)	6 (1,9)	0,096	
Hepatopatía por VHB	0 (0)	12 (3,8)	1	
Sífilis, n (%)	9 (39,1)	87 (27,6)	0,237	
Otras ITS, n (%)	8 (34,8)	87 (27,4)	0,449	
Montoux positivo, n (%)	2 (8,7)	24 (7,7)	0,696	
Condilomas, n (%)				
Antecedentes de condilomas, n (%)	13 (56,5)	92 (29,3)	0,007	1,292 (0,396- 4,213)
Condilomas en AAR basal, n (%)	10 (43,5)	64 (20,3)	0,009	1,743 (0,510-5,962)
CD4 nadir (cél/ul), (± DS)	380,6 (211,9)	368,2 (233,8)	0,806	
CD4 nadir < 200 cel/uL, n (%)	7 (30,4)	76 (24,6)	0,533	
CD4 nadir 200-500 cel/uL, n (%)	8 (34,8)	147 (47,6)	0,236	
CD4 nadir >500 cél/uL, n (%)	8 (34,8)	84 (27,2)	0,432	
Estadio SIDA (A3, B3, C), n (%)	10 (43,5)	75 (23,8)	0,036	
CD4 al diagnóstico, media (± DS)	474,5 (285,8)	439,8 (293,8)	0,593	
CD8 al diagnóstico, media (± DS)	1055,6 (737,4)	1161,7 (831,4)	0,638	
CV al diagnóstico (log), media (± DS)	4,7 (4,84)	5,5 (6,11)	0,349	5,809 (1,784-18,916)
CD4/CD8 basal, media (± DS)	0,65 (0,24)	2,45 (11,8)	0,465	
CD4 en primera AAR, media (± DS)	642,6 (309,7)	704 (516,4)	0,574	
CD8 en primera AAR, media (± DS)	1022,6 (369)	1083,7 (545,95)	0,598	
CV en primera AAR (log), media (± DS)	3,78 (3,3)	3,5 (4,2)	0,454	
Toma TAR, n (%)	21 (91,3)	285 (89,9)	1	
Abandona TAR, n (%)	0 (0)	8 (2,8)	1	
Fracaso virológico, n (%)	3 (15)	14 (4,9)	0,91	
Mediana de edad al diagnóstico de VIH, años (P25-P75)	25,5 (20,3-30,4)	31 (25,3-37)	0,016	0,971 (0,856-1,103)

Mediana tiempo desde el diagnostico VIH, meses (P25-P75)	28,5 (14,5-69)	28 (8-98,75)	0,5	
Mediana de número VPH-BR	1 (0,75-3)	1 (1-2)	0,42	
Mediana de número VPH-AR	1 (1-3)	2 (1-3)	0,61	
VPH-BR cercano a la AAR, n (%)	18 (78,3)	222 (71,2)	0,46	
VPH-AR cercano a la AAR, n (%)	19 (82,6)	239 (76,6)	0,50	
VPH- mixto cercano a la AAR, n (%)	15 (65,2)	177 (56,9)	0,43	
VPH oncogénicos A7+A9	5 (21,7)	76 (24,4)	0,77	
Rama A9	11 (47,8)	126 (40,5)	0,49	
Rama A7	10 (43,5)	168 (54)	0,32	
VPH 6	9 (39,1%)	53 (17)	0,021	4,465 (1,337-14,913)
VPH 11	3 (13)	57 (18,3)	0,778	
VPH 12	1 (4,3)	0 (0)	0,69	
VPH 16	4 (17,4)	80 (25,8)	0,37	
VPH 16+51	0 (0)	13 (4,2)	1	
VPH 16+42	0 (0)	14 (4,5)	0,61	
VPH 18	4 (17,4)	36 (11,6)	0,50	
VPH 16+18	0 (0)	10 (3,2)	1	
VPH 26	1 (4,3)	7 (2,3)	0,43	
VPH 31	2 (8,7)	51 (16,4)	0,552	
VPH 33	2 (8,7)	28 (9)	1	
VPH 35	1 (4,3)	33 (10,6)	0,49	
VPH 39	1 (4,3)	37 (11,9)	0,49	
VPH 40	0 (0)	8 (2,6)	1	
VPH 42	5 (21,7)	54 (17,4)	0,57	
VPH 43	0 (0)	8 (2,6)	1	
VPH 45	4 (17,4)	40 (12,9)	0,52	
VPH 48	0 (0)	1 (0,3)	1	
VPH 51	5 (21,7)	41 (13,2)	0,341	
VPH 52	1 (4,3)	42 (13,5)	0,333	
VPH 53	1 (4,3)	23 (7,4)	1	
VPH 16+53	1 (4,3)	10 (3,2)	0,54	
VPH 54	1 (4,3)	18 (5,8)	1	
VPH 55	2 (8,7)	57 (18,3)	0,394	
VPH 56	3 (13)	29 (9,3)	0,473	
VPH 58	0 (0)	21 (6,8)	0,38	
VPH 59	3 (13)	31 (10)	0,717	
VPH 61	1 (4,3)	23 (7,4)	1	
VPH 61 + oncogénico	1 (4,3)	17 (5,5)	1	
VPH 16+61	0 (0)	9 (2,9)	1	
LAGM + VPH 61	0 (0)	1 (0,3)	1	
VPH 62	0 (0)	51 (16,4)	0,033	0 (0-0)
VPH 66	4 (17,4)	30 (9,6)	0,273	
VPH 68	2 (8,7)	27 (8,7)	1	
VPH 16+68	1 (4,3)	7 (2,3)	0,438	
VPH 69	0 (0)	9 (2,9)	1	
VPH 70	2 (8,7)	24 (7,7)	0,697	
VPH 71	0 (0)	1 (0,3)	1	
VPH 72	3 (13)	21 (6,8)	0,223	
VPH 81	3 (13)	45 (14,5)	1	
VPH 82	1 (4,3)	13 (4,2)	1	
VPH 83	1 (4,3)	2 (0,6)	0,193	
VPH 84	5 (21,7)	22 (7,1)	0,029	0,428 (0,104-1,764)
VPH 108	1 (4,3)	10 (3,2)	0,549	
Aclaran VPH de Alto riesgo, n (%)	7 (30,4)	101 (33,9)	0,735	

Aclaran VPH de bajo riesgo, n (%)	10 (43,5)	84 (27,7)	0,108	
Adquisición VPH de alto riesgo, n (%)	19 (82,6)	140 (45,3)	0,001	4,14 (1,14-15,031)
Adquisición de VPH de bajo riesgo, n (%)	18 (78,3)	124 (40,3)	0,0001	3,675 (1,044-12,944)

FP, formación profesional; **HB**, virus de la hepatitis B; **VHC**, virus de la hepatitis C; **ITS**, infección de transmisión sexual; **AAR**, anoscopia de alta resolución, **VIH**, virus de la inmunodeficiencia humana; **SIDA**, síndrome de la inmunodeficiencia humana; **CD4**, linfocitos CD4; **CD8**, linfocitos CD8; **CV**, carga viral; **CD4/CD8**, cociente CD4/CD8; **TAR**, terapia antirretroviral; **VPH**, virus del papiloma humano; **AR**, genotipo alto grado; **BR**, genotipo bajo grado

Capítulo 6: Discusión

Nuestra cohorte de pacientes incluidos y seguidos durante una mediana de 43 meses, tenían un tercio de ellos menos de 30 años, y tres quintos oscilaban entre 30-50 años. Aproximadamente la mitad fumaban y uno de cada cinco había tenido más de 300 parejas sexuales en toda su vida.

En cuanto a la infección por el VIH, tenían una excelente situación viroinmunológica, con tan solo un 4,1% de fracaso virológico y una mediana de CD4 de 698,9 células/uL. El 71,2 % estaban infectados por virus de papiloma de bajo riesgo y el 56% coinfectados con genotipos de alto riesgo. Menos de la mitad tenían una mucosa anal normal, aproximadamente uno de cada diez tenía un HSIL en el momento de ser incluido y tres (0,6%) un Cáncer de ano en la visita basal. Datos muy similares a las de otras cohortes europeas (179), e incluso norteamericanas, donde la principal diferencia con la nuestra estaba en el raza, ya que en esas predominaban los sujetos afroamericanos (180).

En un estudio llevado a cabo en el norte de Taiwán (181), realizado en HSH seropositivos y negativos, hallaron que la prevalencia tanto de LSIL como de HSIL en la citología anal fue significativamente mayor en PVVIH, 23,8% de LSIL y un 15,8% de HSIL. Resultados dispares con respecto los que encontramos nosotros en la citología de despistaje en la que hallamos un porcentaje más elevado de LSIL (46,7%) con una prevalencia mucho menor de HSIL (2,6%). Epidemiológicamente, la cohorte no distaba mucho de la nuestra, con una media de edad de 32 años, y una situación viroinmunológica similar, destacando como principales diferencias, una escasa vacunación contra el VPH (menos del 10% de los HSH-VVIH del estudio estaban vacunados) y un menor uso del preservativo en torno al 50%; con una prevalencia de serotipos de alto riesgo similar a la nuestra (72,8% vs 74%) y la de BR algo menor (65,45 vs 71,2).

Sin embargo, los datos de la cohorte italiana de Benevolo et al. son muy similares a los nuestros con una prevalencia de LSIL del 47,9% y de HSIL del 8,3%. En esta cohorte, la edad media de los participantes era algo mayor a la nuestra (43 años), tenían también una situación viroinmunológica y comportamientos sexuales parecidos, con una diferencia radical en la metodología con respecto a nuestro estudio, pues los participantes requerían como criterio de inclusión en la cohorte una citología normal en la primera visita; en nuestra cohorte a todos los pacientes incluidos se les realizaba citología anal y AAR. Por último, en la cohorte italiana, ninguno de los participantes estaba vacunado frente al VPH, era un criterio de exclusión del estudio (182).

En cuanto al valor de la PCR del VPH de bajo riesgo como única prueba de despistaje de HSIL o Cáncer de ano, encontramos una sensibilidad y un valor predictivo negativo superiores a la de la citología anal y muy parecidos a la de la PCR de VPH de alto riesgo. Hallamos que la mono-infección por genotipos de bajo riesgo del VPH en pacientes con citología normal descartaba en el 100% de las ocasiones HSIL plus. Siendo este el primer trabajo que analiza el valor de la PCR de VPH de bajo riesgo en el diagnóstico de estas lesiones en el canal anal de HSH-VVIH. Por otra parte, también hallamos que la combinación de la PCR de VPH de alto riesgo junto a la citología anal conseguía una sensibilidad y un valor predictivo negativos del 100% para descartar HSIL plus. Nuestros resultados son similares a los publicados previamente, en cuyos trabajos exponen la necesidad de asociar la PCR del VPH de alto riesgo a la citología anal en el despistaje de lesiones precursoras y de cáncer de ano en HSH VIH positivos (183,184).

Por otra parte, en relación a la progresión de pacientes con lesiones LSIL a HSIL plus encontramos, que esto ocurría en menos del cinco por ciento de los sujetos, y durante el primer año de seguimiento, aproximadamente. Nuestra tasa de progresión fue menor a la descrita por otros autores que la sitúan entre 16,4%

(185) y 36% (186). La primera cohorte tenía una edad media mayor, y un mayor porcentaje de pacientes con nadir de $CD4 < 200$ cél/uL; y la segunda era una cohorte más heterogénea con inclusión de hombres, mujeres y pacientes con y sin infección por el VIH. En ambos casos, el porcentaje de fumadores y exfumadores era superior al 50%. En nuestro estudio había un 15% de sujetos vacunados frente al VPH, y eran tratados con Imiquimod en caso de condilomas intra-anales, o genitales, con una tasa de aclaramiento del VPH-AR de 30,4% y BR del 43,5%. En las cohortes descritas, los pacientes no estaban vacunados, y los que recibían tratamiento eran excluidos del análisis en el primer caso. En ninguno se describe la tasa de aclaramiento del virus.

En un estudio italiano compuesto por 204 HSH-VVIH (187), con características demográficas y viro-inmunológicas similares a las de nuestra cohorte, describen tasas de aclaramiento del VPH en el canal anal de $15,6 \times 1000$ p-m para genotipos de AR y de $23,1 \times 1000$ p-m para genotipos de BR. Encontramos como principal diferencia con respecto a nuestra cohorte, que ninguno de los participantes del estudio italiano se sometió a la vacunación profiláctica contra el VPH durante el período de seguimiento. Tampoco se incluyeron al inicio del estudio pacientes que hubiesen recibido la vacuna frente al virus del papiloma humano.

En nuestro estudio, los factores que se relacionaban con la progresión de LSIL a HSIL plus fueron la adquisición de genotipos de alto y bajo riesgo del VPH (específicamente el 6) y la historia de SIDA.

El grado de inmunosupresión es un factor asociado con en el riesgo de progresión de lesiones, identificándose como tal, tanto las cifras de linfocitos CD4 recientes, como el nadir de $CD4 < 200$ cél/uL (188,189). Igualmente, existe evidencia del papel de la inmunosupresión en el grado de incidencia y eliminación de genotipos oncogénicos como es el VPH-16, en las PVVIH; en una cohorte francesa, este genotipo era incluso más persistente que el VPH-18 (190). También

un estudio realizado en el Sudeste Asiático, para analizar la incidencia, aclaramiento y persistencia del VPH-AR en el canal anal, identificó el VPH-16 como el genotipo más persistente tanto en VIH positivos como en no infectados, con un riesgo 4,48 veces mayor de infección persistente por VHP-16 en pacientes con cifras menores de CD4 nadir (191).

Los genotipos con mayor prevalencia e incidencia en canal anal son el 16 entre los de AR y el 6 en los de BR (192,193). Según diferentes autores, el genotipo 16 tiene reducidas tasas de aclaramiento (194, 195, 196,); un estudio australiano realizado en HSH-VIH (194) concluyó que dos tercios de los hombres con este genotipo tenían infección persistente 2 años más tarde, con la tasa más baja de eliminación de todos los de alto riesgo; resultados coincidentes con otras investigaciones (195,196). Este hallazgo es trascendental pues una infección persistente por dicho genotipo en mucosa anal es un factor clave en el desarrollo de lesiones precursoras y cáncer ano (197,198).

En un estudio recientemente realizado, también en HSH-VVIH, se estudió el genotipado de VPH en lesiones verrugosas de canal anal y hallaron que dichas lesiones eran en más del 20% HSIL y que estaban infectadas por genotipos de bajo, y alto riesgo; por lo que los autores concluyeron que tanto los genotipos oncogénicos como no oncogénicos estaban implicados en la génesis de las HSIL plus en dicha mucosa (199). Los genotipos de alto riesgo son los que habitualmente han sido relacionados con la progresión de lesiones anales (200), fundamentalmente el 16, que es, además, el más aislado. En un metaanálisis publicado en 2018 se concluyó que el VPH-16 era el genotipo oncogénico por excelencia en mucosa anal, responsable del desarrollo tanto de lesiones precursoras como neoplásicas (201).

El genotipo VPH 6, sin embargo, ha sido históricamente clasificado como de bajo riesgo, y asociado con el desarrollo verrugas y LSIL (202, 203). Sin embargo, en

la literatura hay trabajos en los que se demuestra la asociación entre la mono-infección por el genotipo 6 y la progresión a HSIL (204, 205). Además, también se ha encontrado que la infección crónica producida de forma solitaria por los siguientes genotipos de bajo riesgo el 6, 11, 42, 44 o 70 podría ser la causa de un pequeño número de cánceres de ano (206).

Es necesario, por tanto, la vigilancia activa de los condilomas anogenitales, tal como señala un estudio estadounidense diseñado para evaluar el riesgo de desarrollar CA en PVVIH con antecedentes de verrugas anogenitales (207). Este estudio concluyó que las PVVIH con antecedentes de verrugas anogenitales tenían un riesgo sustancialmente mayor de desarrollar CA en comparación con las PVVIH sin dicho antecedente. En nuestro estudio, el porcentaje de pacientes con antecedentes de condilomas fue de un 30,2% y un 21,3% de los pacientes presentaban condilomas en el momento de la primera AAR, resultando esto último un factor de riesgo de progresión a HSIL en el análisis bivariante. Si bien no se confirmó posteriormente en el análisis multivariante. Todos estos datos enfatizan la necesidad de tratamiento o vigilancia estrecha de pacientes con verrugas ano-genitales ante el riesgo de desarrollar CA.

El estudio SPANC evidenció la necesidad de detectar aquellas lesiones precancerosas con mayor probabilidad de convertirse en cáncer, puesto que no todos los HSIL progresan a CA (208). En nuestro estudio, un 30,4% de los LSIL desapareció de forma espontánea en una mediana de tiempo de 12 meses. Un estudio australiano publicado por Poynten et al. (209), encontró una tasa de aclaramiento de HSIL de 24 por 100 personas-año, en una cohorte de pacientes que incluía tanto HSH seropositivos como negativos y que nunca recibieron intervención alguna sobre las lesiones. Lo cual nos lleva de nuevo a la necesidad de adquirir una mejor comprensión del riesgo de progresión de la infección por VPH a lesiones precursoras y CA, para definir los casos que precisan actuación

médica y establecer así unas pautas que mejoren la vigilancia, detección y tratamiento de lesiones en poblaciones de riesgo (210).

No existen en la actualidad métodos de detección de HSIL o cáncer anal estandarizados, si bien se han publicado recomendaciones para la detección de estas lesiones en PVVIH mediante exámenes rectales, anoscopia y/o citología anal por varias organizaciones especializadas en ITS y enfermedades colorrectales (211). Este estudio pretende avanzar en esta línea de investigación hacia programas de prevención y diagnóstico seguros y fiables.

Las limitaciones de nuestra investigación son las derivadas del propio diseño realizado en una población muy concreta HSH VIH positivos, por lo que los datos no se pueden extrapolar a otros grupos. En cuanto a las fortalezas, es el primer estudio que analiza el valor de la mono infección por genotipos del VPH de bajo riesgo en canal anal en HSHVVIH; el diseño (prospectivo y longitudinal); el gran número de sujetos incluidos seguidos de una forma sistemática y homogénea durante un largo periodo de tiempo; diseñada para analizar y obtener los objetivos planteados.

En conclusión, la mono infección por genotipos del VPH-BR en pacientes con citología normal no se asocia con lesiones precursoras ni cáncer de ano. La tasa de progresión de LSIL a HSIL plus fue inferior al 5% lo que se relacionaba con la adquisición de genotipos de alto y bajo riesgo del VPH (específicamente el 6) e historia de SIDA.

Capítulo 7: Conclusiones.

Conclusiones del Objetivo principal:

1. En nuestro estudio, el valor de la PCR de VPH de bajo riesgo para el diagnóstico de HSIL plus (CA y/o HSIL) tuvo una S del 79.6%, E del 27.9%, VPP del 12.7% y VPN del 91.6%.

Conclusiones de los objetivos secundarios:

2. El 74% de los pacientes estaban infectados por genotipos VPH-AR en mucosa anal y el 71.2% por genotipos de bajo riesgo. El 56% presentaba infección mixta (genotipos de AR y BR), y el 24.1%, infección simultánea por VPH oncogénicos de los subtipos A7 y A9. Los genotipos hallados más frecuentes fueron el 16 de alto riesgo (26.4%), seguido de los 6 y 62 de bajo riesgo (18.9% y 17%, respectivamente).

3. La tasa de adquisición de VPH-BR fue del 78,3% en pacientes progresores y del 40,3% en no progresores ($p=0.0001$). La tasa de aclaramiento fue del 43,5% en progresores y del 27.7% en no progresores ($p=0.108$).

4. En nuestra cohorte, la tasa de pacientes con LSIL (AIN1) que progresó a HSIL plus fue del 4.7%, en una mediana de 12 meses (P25-P75: 12-12).

5. Los factores que hallamos relacionados con la progresión a HSIL plus fueron: la adquisición de VPH de alto (HR: 4,27; IC 95% 1,165-15,7), y bajo riesgo (HR 3.75 IC95% (1.06-13.27), historia de SIDA previa (HR: 5.83 IC95%: 1.8-18.82), y la infección por el genotipo 6 (HR 4.5, IC95%: 1.36-15.1).

Bibliografía

1. Sendagorta-Cudós E, Burgos-Cibrián J, Rodríguez-Iglesias M. Infecciones genitales por el virus del papiloma humano. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*. 2019; 37:324-34.
2. Santos-López G, Márquez-Domínguez L, Reyes-Leyva J, Vallejo-Ruiz V. General aspects of structure, classification and replication of human papillomavirus. *Revista Medica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2015; 53: S166-171.
3. Egawa N, Doorbar J. The low-risk papillomaviruses. *Virus Research*. 2017; 231:119-27.
4. Uehara K, Tanabe Y, Hirota S, Higa S, Toyoda Z, Kurima K, et al. Co-expression of low-risk HPV E6/E7 and EBV LMP-1 leads to precancerous lesions by DNA damage. *BMC Cancer*. 2021; 21:688.
5. Anic GM, Giuliano AR. Genital HPV infection and related lesions in men. *Prev Med*. 2011; 53: S36-41.
6. Mehta K, Laimins L. High-Risk Human Papillomaviruses and DNA Repair. *Recent Results in Cancer Research. Fortschritte Krebsforsch Progres Dans les Recherches Sur Cancer*. 2021; 217:141-55.
7. Pim D, Banks L. Interaction of viral oncoproteins with cellular target molecules: infection with high-risk vs low-risk human papillomaviruses. *APMIS*. 2010; 118: 471-93.
8. Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Anguita C, Esquivias J, López-Castro R, Ramírez-Taboada J, 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; 10: e0123590.

9. Manini I, Montomoli E. Epidemiology and prevention of Human Papillomavirus. *Annali di Igiene Medicina Preveventiva E di Comunità*. 3 2018; 30: 28-32.
10. Chelimo C, Wouldes TA, Cameron LD, Elwood JM. Risk factors for and prevention of human papillomaviruses (HPV), genital warts and cervical cancer. *Journal of Infection*. 2013; 66: 207-17.
11. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *Journal of Clinical Virology*. 2005; 32: 16-24.
12. Schiffman M, Doorbar J, Wentzensen N, de Sanjosé S, Fakhry C, Monk BJ, et al. Carcinogenic human papillomavirus infection. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016; 2: 1-20.
13. Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clinical Science*. 2017; 131: 2201-21.
14. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Reviews in Medical Virology*. 2015; 25: 2-23.
15. Mac M, Moody CA. Epigenetic Regulation of the Human Papillomavirus Life Cycle. *Pathogens*. 2020; 9: 483.
16. Burley M, Roberts S, Parish JL. Epigenetic regulation of human papillomavirus transcription in the productive virus life cycle. *Seminars in Immunopathology*. 2020; 42: 159-71.
17. Moody CA. Regulation of the Innate Immune Response during the Human Papillomavirus Life Cycle. *Viruses*. 2022; 14: 1797.
18. Della Fera AN, Warburton A, Coursey TL, Khurana S, McBride AA. Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses*. 2021; 13: 321.
19. Shanmugasundaram S, You J. Targeting Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses*. 2017; 9: 229.
20. Brianti P, Flammoneis ED, Mercuri SR. Review of HPV-related diseases and cancers. *New Microbiologica*. 2017; 40: 80-85.

21. de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2018; 47: 2-13.
22. Kombe Kombe AJ, Li B, Zahid A, Mengist HM, Bounda GA, Zhou Y, et al. Epidemiology and Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases, Molecular Pathogenesis, and Vaccine Evaluation. *Frontiers in Public Health* 2021; 8: 552028
23. Anna Szymonowicz K, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. *Cancer Biology and Medicine*. 2020; 17: 864-78.
24. Nogues JC, Fassas S, Mulcahy C, Zapanta PE. Human Papillomavirus-Associated Head and Neck Cancer. *The Journal of the American Board of Family Medicine*. 2021; 34: 832-7.
25. Li Y, Xu C. Human Papillomavirus-Related Cancers. Cai Q, Yuan Z, Lan K, editores. *Infectious Agents Associated Cancers: Epidemiology and Molecular Biology*. Singapore; 2017 p. 23-34.
26. de Sanjosé S, Bruni L, Alemany L. HPV in genital cancers (at the exception of cervical cancer) and anal cancers. *Presse Médicale*. 2014; 43: e423-8.
27. Myers KO, Ahmed NU. The Role of HIV in the Progression through the Stages of the Human Papillomavirus to Cervical Cancer Pathway. *AIDS Reviews*. 2018; 20: 94-1043
28. Cambrea SC, Aschie M, Resul G, Mitroi AF, Chisoï A, Nicolau AA, et al. HPV and HIV Coinfection in Women from a Southeast Region of Romania—PICOPIV Study. *Medicina*. 2022; 58: 760.
29. Hidalgo-Tenorio C, Gil-Anguita C, Ramírez-Taboada J, Esquivias J, López-Ruz MA, Balgahata OM, et al. Risk factors for infection by oncogenic human papillomaviruses in HIV-positive MSM patients in the ART era (2010–2016). *Medicine*. 2017; 96: e8109.
30. Pautier P, Morice P, de Crevoisier R. HIV and uterine cervical cancer. *Bulletin Du Cancer*. 2003; 90: 99-404.

31. Wei F, Goodman MT, Xia N, Zhang J, Giuliano AR, D'Souza G, et al. Incidence and Clearance of Anal Human Papillomavirus Infection in 16 164 Individuals, According to Human Immunodeficiency Virus Status, Sex, and Male Sexuality: An International Pooled Analysis of 34 Longitudinal Studies. *Clinical Infectious Diseases*. 2023; 76: e692-701.
32. Pérez-González A, Cachay E, Ocampo A, Poveda E. Update on the Epidemiological Features and Clinical Implications of Human Papillomavirus Infection (HPV) and Human Immunodeficiency Virus (HIV) Coinfection. *Microorganisms*. 2022; 10: 1047.
33. Stelzle D, Tanaka LF, Lee KK, Ibrahim Khalil A, Baussano I, Shah ASV, et al. Estimates of the global burden of cervical cancer associated with HIV. *The Lancet Global Health*. 2021; 9: e161-9.
34. Stier EA, Sebring MC, Mendez AE, Ba FS, Trimble DD, Chiao EY. Prevalence of anal human papillomavirus infection and anal HPV-related disorders in women: a systematic review. *American Journal of Obstetrics Gynecology*. 2015; 213: 278-309.
35. Lin C, Slama J, Gonzalez P, Goodman MT, Xia N, Kreimer AR, et al. Cervical determinants of anal HPV infection and high-grade anal lesions in women: a collaborative pooled analysis. *The Lancet. Infectious Diseases*. 2019; 19: 880-91.
36. Farahmand M, Monavari SH, Tavakoli A. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection in different anatomical sites among men who have sex with men: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology*. 2021; 31: e2219.
37. Riddell J, Brouwer AF, Walline HM, Campredon LP, Meza R, Eisenberg MC, et al. Oral human papillomavirus prevalence, persistence, and risk-factors in HIV-positive and HIV-negative adults. *Tumour Virus Research*. 2022; 13: 200237.
38. Hidalgo-Tenorio C, Calle-Gómez I, Moya-Megías R, Rodríguez-Granges J,

Omar M, López Hidalgo J, et al. HPV Infection of the Oropharyngeal, Genital and Anal Mucosa and Associated Dysplasia in People Living with HIV. *Viruses*. 2023; 15: 1170.

39. Poljak M, Šterbenc A, Lunar MM. Prevention of human papillomavirus (HPV)-related tumors in people living with human immunodeficiency virus (HIV). *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2017; 15: 987-99.

40. Williams J, Kostiuk M, Biron VL. Molecular Detection Methods in HPV-Related Cancers. *Frontiers in Oncology*. 2022; 12: 864820.

41. Smith ER, George SH, Kobetz E, Xu XX. New biological research and understanding of Papanicolaou's test. *Diagnostic Cytopathology*. 2018; 46: 507-15.

42. Bhatla N, Singhal S. Primary HPV screening for cervical cancer. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2020; 65: 98-108.

43. Abreu ALP, Souza RP, Gimenes F, Consolaro MEL. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Virology Journal*. 2012; 9: 262.

44. Pagliusi SR, Garland SM. International Standard Reagents for HPV Detection. *Disease Markers*. 2007; 23: 283-96.

45. Fauzi FH, Hamzan NI, Rahman NA, Suraiya S, Mohamad S. Detection of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Journal of Zhejiang University Science*. 2020; 21: 961-76.

46. Prigge ES, Arbyn M, von Knebel Doeberitz M, Reuschenbach M. Diagnostic accuracy of p16INK4a immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinomas: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cancer*. 2017; 140: 1186-98.

47. Hindson CM, Chevillet JR, Briggs HA, Gallichotte EN, Ruf IK, Hindson BJ, et al. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nature Methods*. 2013; 10: 1003-5.

48. Vo DT, Story MD. Facile and direct detection of human papillomavirus (HPV) DNA in cells using loop-mediated isothermal amplification (LAMP).

Molecular and Cellular Probes. 2021; 59: 101760.

49. Jensen E. Technical Review: In Situ Hybridization. *The Anatomical Record*. 2014; 297: 1349-53.

50. Westra WH. Detection of Human Papillomavirus in Clinical Samples. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2012; 45: 765-77.

51. Rooper LM, Gandhi M, Bishop JA, Westra WH. RNA in-situ hybridization is a practical and effective method for determining HPV status of oropharyngeal squamous cell carcinoma including discordant cases that are p16 positive by immunohistochemistry but HPV negative by DNA in-situ hybridization. *Oral Oncology*. 2016; 55: 11-6.

52. Rahimi S. HPV-related squamous cell carcinoma of oropharynx: a review. *Journal of Clinical Pathology*. 2020; 73: 624-9.

53. Quinlan JD. Human Papillomavirus: Screening, Testing, and Prevention. *American Family Physician*. 2021; 104: 152-9.

54. Zhang Z, Ling X, Liu L, Xi M, Zhang G, Dai J. Natural History of Anal Papillomavirus Infection in HIV-Negative Men Who Have Sex With Men Based on a Markov Model: A 5-Year Prospective Cohort Study. *Frontiers in Public Health*. 2022;10.

55. Kero K, Rautava J. HPV Infections in Heterosexual Couples: Mechanisms and Covariates of Virus Transmission. *Acta Cytologica*. 2019; 63: 143-7.

56. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Holmes KK, et al. Condom Use and the Risk of Genital Human Papillomavirus Infection in Young Women. *New England Journal Medicine*. 2006; 354: 2645-54.

57. Aguayo F, Muñoz JP, Perez-Dominguez F, Carrillo-Beltrán D, Oliva C, Calaf GM, et al. High-Risk Human Papillomavirus and Tobacco Smoke Interactions in Epithelial Carcinogenesis. *Cancers*. 2020; 12: 2201.

58. Umutoni V, Schabath MB, Nyitray AG, Wilkin TJ, Villa LL, Lazcano-Ponce E, et al. The Association Between Smoking and Anal Human Papillomavirus in the HPV Infection in Men Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and*

Prevention: A Publication of American Association for Cancer Research, Cosponsored by American Society of preventive Oncology. 2022; 31: 1546-53.

59. Smith JS, Backes DM, Hudgens MG, Mei W, Chakraborty H, Rohner E, et al. Male circumcision reduces penile HPV incidence and persistence: Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention: A Publication of American Association for Cancer Research, Cosponsored by American Society of preventive Oncology. 2021; 30: 1139-48.

60. Hebnes JB, Munk C, Frederiksen K, Joergensen HO, Iftner T, Kjaer SK. The role of circumcision, tobacco, and alcohol use in genital human papillomavirus infection among men from Denmark. International Journal of STD and AIDS. 2021; 32: 1028-35.

61. Ntanasis-Stathopoulos I, Kyriazoglou A, Lontos M, A Dimopoulos M, Gavriatopoulou M. Current trends in the management and prevention of human papillomavirus (HPV) infection. Journal of BUON: Official Journal of the Balkan Union of Oncology. 2020; 25: 1281-5.

62. Akhatova A, Azizan A, Atageldiyeva K, Ashimkhanova A, Marat A, Iztleuov Y, et al. Prophylactic Human Papillomavirus Vaccination: From the Origin to the Current State. Vaccines. 2022; 10: 1912.

63. Mariani L, Preti M, Cristoforoni P, Stigliano CM, Perino A. Overview of the benefits and potential issues of the nonavalent HPV vaccine. International Journal of Gynaecology and Obstetrics: the Official Organ of International Federation of Gynaecology and Obstetrics. 2017; 136: 258-65.

64. Markowitz LE, Naleway AL, Klein NP, Lewis RM, Crane B, Querec TD, et al. Human Papillomavirus Vaccine Effectiveness Against HPV Infection: Evaluation of One, Two, and Three Doses. Journal of Infection Disease. 2020; 221: 910-8.

65. Markowitz LE, Drolet M, Perez N, Jit M, Brisson M. Human papillomavirus vaccine effectiveness by number of doses: Systematic review of data from national immunization programs. Vaccine. 2018; 36: 4806-15.

66. Toh ZQ, Russell FM, Reyburn R, Fong J, Tuivaga E, Ratu T, et al. Sustained Antibody Responses 6 Years Following 1, 2, or 3 Doses of Quadrivalent Human Papillomavirus (HPV) Vaccine in Adolescent Fijian Girls, and Subsequent Responses to a Single Dose of Bivalent HPV Vaccine: A Prospective Cohort Study. *Clinical Infectious Disease*. 2017; 64: 852-9.
67. Lacey CJN. HPV vaccination in HIV infection. *Papillomavirus Research*. 2019; 8: 100174.
68. Koskan A, Brennhof SA, Helitzer D. Administering the HPV Vaccine to People Living with HIV: Providers' Perspectives. *The Journal of Primary Prevention*. 2020; 41: 349-62.
69. Staadegaard L, Rönn MM, Soni N, Bellerose ME, Bloem P, Brisson M, et al. Immunogenicity, safety, and efficacy of the HPV vaccines among people living with HIV: A systematic review and meta-analysis. *eClinicalMedicine*. 2022; 52: 101585.
70. Engels EA. Non-AIDS-defining malignancies in HIV-infected persons: etiologic puzzles, epidemiologic perils, prevention opportunities. *AIDS* 2009; 23: 875-85.
71. Ji Y, Lu H. Malignancies in HIV-Infected and AIDS Patients. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2017; 1018: 167-79.
72. Yarchoan R, Uldrick TS. HIV-Associated Cancers and Related Diseases. *The New England Journal of Medicine*. 2018; 378: 1029-41.
73. Coghill AE, Pfeiffer RM, Shiels MS, Engels EA. Excess Mortality among HIV-infected Individuals with Cancer in the United States. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention: a Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2017; 26: 1027-33.
74. Mitsuyasu RT. Non-AIDS-Defining Cancers. *Topics in Antiviral Medicine*. 2016; 22: 660-5.
75. Coghill AE, Han X, Suneja G, Lin CC, Jemal A, Shiels MS. Advanced Stage

at Diagnosis and Elevated Mortality among HIV-infected US Cancer Patients in the National Cancer Database. *Cancer*. 2019; 125: 2868-76.

76. Pumpalova YS, Segall L, Felli R, Bhatkhande G, Jacobson JS, Neugut AI. The Impact of HIV on Non-AIDS Defining Gastrointestinal Malignancies: A Review. *Seminars in Oncology*. 2021; 48: 226-35.

77. Corrigan KL, Wall KC, Bartlett JA, Suneja G. Cancer Disparities in People With Human Immunodeficiency Virus: A Systematic Review of Screening for Non-AIDS-Defining Malignancies. *Cancer*. 2019; 125: 843-53.

78. Franceschi S, Lise M, Clifford GM, Rickenbach M, Levi F, Maspoli M, et al. Changing patterns of cancer incidence in the early- and late-HAART periods: the Swiss HIV Cohort Study. *British Journal of Cancer*. 2010; 103: 416-22.

79. Abbar B, Veyri M, Solas C, Poizot-Martin I, Spano JP. VIH et cancer : mise au point en 2020. *Bulletin du Cancer*. 2020; 107: 21-9.

80. Mbang PA, Kowalkowski MA, Amirian ES, Giordano TP, Richardson PA, Hartman CM, et al. Association between Time on Protease Inhibitors and the Incidence of Squamous Cell Carcinoma of the Anus among U.S. Male Veterans. *PLOS ONE*. 2015; 10: e0142966.

81. Shmakova A, Germini D, Vassetzky Y. HIV-1, HAART and cancer: A complex relationship. *International Journal of Cancer*. 2020; 146: 2666-79.

82. Ale BM, Amahowe F, Nganda MM, Danwang C, Wakaba NN, Almuwallad A, et al. Global burden of active smoking among people living with HIV on antiretroviral therapy: a systematic review and meta-analysis. *Infectious Diseases of Poverty*. 2021; 10:12.

83. Ranjit S, Kumar S. Recent advances in cancer outcomes in HIV-positive smokers. *F1000Research*. 2018; 7: F1000 Faculty Rev-718.

84. Warowicka A, Nawrot R, Broniarczyk J, Węglewska M, Goździcka-Józefiak A. Oncogenic viruses and cancer. *Postepy Biochemii*. 2020; 66: 336-55.

85. Pierangeli A, Antonelli G, Gentile G. Immunodeficiency-associated viral oncogenesis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015; 21: 975-83.

86. Proulx J, Ghaly M, Park IW, Borgmann K. HIV-1-Mediated Acceleration of Oncovirus-Related Non-AIDS-Defining Cancers. *Biomedicines*. 2022;10: 768.
87. Dandachi D, Morón F. Effects of HIV on the Tumor Microenvironment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2020; 1263: 45-54.
88. Chiao EY, Coghill A, Kizub D, Fink V, Ndlovu N, Mazul A, et al. The effect of non-AIDS-defining cancers on people living with HIV. *The Lancet. Oncology*. 2021; 22: e240-53.
89. Hernández-Ramírez RU, Shiels MS, Dubrow R, Engels EA. Cancer risk in HIV-infected people in the USA from 1996 to 2012: a population-based, registry-linkage study. *The Lancet HIV*. 2017; 4: e495-504.
90. Navarro JT, Moltó J, Tapia G, Ribera JM. Hodgkin Lymphoma in People Living with HIV. *Cancers*. 2021; 13: 4366.
91. Lilly AJ, Fedoriw Y. Human Immunodeficiency Virus-Associated Lymphoproliferative Disorders. *Surgical Pathology Clinics*. 2019; 12: 771-82.
92. Kaplan LD. HIV-associated lymphoma. *Best Practice and Research Clinical Haematology*. 2012; 25: 101-17.
93. Castelli R, Schiavon R, Preti C, Ferraris L. HIV-Related Lymphoproliferative Diseases in the Era of Combination Antiretroviral Therapy. *Cardiovascular and Hematological Disorders Drug Targets*. 2020; 20: 175-80.
94. Sigel K, Wisnivesky J, Gordon K, Dubrow R, Justice A, Brown ST, et al. HIV as an Independent Risk Factor for Incident Lung Cancer. *AIDS*. 2012; 26: 1017-25.
95. Pakkala S, Ramalingam SS. Lung Cancer in HIV-Positive Patients. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010; 5: 1864-71.
96. Kiderlen TR, Siehl J, Hentrich M. HIV-Associated Lung Cancer. *Oncology Research and Treatment*. 2017; 40: 88-92.
97. Bedimo RJ, McGinnis KA, Dunlap M, Rodriguez-Barradas MC, Justice AC. Incidence of Non-AIDS-Defining Malignancies in HIV-Infected Vs. Non-Infected Patients in the HAART Era: Impact of Immunosuppression. *Journal of Acquired*

Immune Deficiency Syndromes (1999). 2009; 52: 203.

98. Sigel K, Makinson A, Thaler J. Lung Cancer in Persons with HIV. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2017; 12: 31-8.

99. Mena Á, Meijide H, Marcos PJ. Lung Cancer in HIV-Infected Patients. *Aids Reviews*. 2016; 18.

100. Frega S, Ferro A, Bonanno L, Guarneri V, Conte P, Pasello G. Lung Cancer (LC) in HIV Positive Patients: Pathogenic Features and Implications for Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21: 1601.

101. Moltó J, Moran T, Sirera G, Clotet B. Lung cancer in HIV-infected patients in the combination antiretroviral treatment era. *Translational Lung Cancer Research*. 2015; 4: 678-88.

102. Guaitoli G, Baldessari C, Maur M, Mussini C, Meschiari M, Barbieri F, et al. Treating cancer with immunotherapy in HIV-positive patients: A challenging reality. *Critical Reviews in Oncology//Hematology*. 2020; 145:102836.

103. Haddad DN, Sandler KL, Henderson LM, Rivera MP, Aldrich MC. Disparities in Lung Cancer Screening: A Review. *Annals of the American Thoracic Society*. 2020; 17: 399-405.

104. Díaz-Álvarez J, Roiz P, Gorospe L, Ayala A, Pérez-Pinto S, Martínez-Sanz J, et al. Implementation of a lung cancer screening initiative in HIV-infected subjects. *PLOS ONE*. 2021; 16: e0260069.

105. Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2018; 391: 1301-14.

106. Hu J, Liu K, Luo J. HIV–HBV and HIV–HCV Coinfection and Liver Cancer Development. Meyers C. *HIV/AIDS-Associated Viral Oncogenesis*. 2019. p. 231-50.

107. Nunnari G, Berretta M, Pinzone MR, Di Rosa M, Berretta S, Cunsolo G, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV positive patients. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2012; 16: 1257-70.

108. Pinato DJ, Dalla Pria A, Sharma R, Bower M. Hepatocellular carcinoma: an evolving challenge in viral hepatitis and HIV coinfection. *AIDS*. 2017; 31:603-611
109. Merchante N, Rodríguez-Fernández M, Pineda JA. Screening for Hepatocellular Carcinoma in HIV-Infected Patients: Current Evidence and Controversies. *Current HIV/AIDS Reports*. 2020; 17: 6-17.
110. Micali C, Russotto Y, Caci G, Ceccarelli M, Marino A, Celesia BM, et al. Loco-Regional Treatments for Hepatocellular Carcinoma in People Living with HIV. *Infectious Disease Reports*. 2022; 14: 43-55.
111. Berretta M, Di Benedetto F, Dal Maso L, Cacopardo B, Nasti G, Facchini G, et al. Sorafenib for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma in HIV-positive patients. *Anticancer Drugs*. 2013; 24: 212-8.
112. Merchante N, Ibarra S, Revollo B, Rodríguez-Arrondo F, Merino E, Delgado-Fernández M, et al. Real-life experience with sorafenib for the treatment of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients. *AIDS* 2017; 31: 89-95.
113. Rimassa L, Personeni N, Czauderna C, Foerster F, Galle P. Systemic treatment of HCC in special populations. *Journal of Hepatology*. 2021; 74:931-43.
114. Guerrini GP, Berretta M, Guaraldi G, Magistri P, Esposito G, Ballarin R, et al. Liver Transplantation for HCC in HIV-Infected Patients: Long-Term Single-Center Experience. *Cancers*. 2021; 13: 4727.
115. Brandt MG, Moore CC. Nonmelanoma Skin Cancer. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. 2019; 27: 1-13.
116. Honda KS. HIV and Skin Cancer. *Dermatologic Clinics*. 2006; 24: 521-30.
117. Garlassi E, Harding V, Weir J, Francis N, Nelson M, Newsom-Davis T, et al. Nonmelanoma skin cancers among HIV-infected persons in the HAART era. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)*. 2012; 60: e63-65.
118. Wang J, Aldabagh B, Yu J, Arron ST. Role of human papillomavirus in cutaneous squamous cell carcinoma: A Meta-analysis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2014; 70: 621-9.

119. Coates SJ, Leslie KS. What's new in HIV dermatology? *F1000Research*. 2019; 8: F1000 Faculty Rev-980.
120. Corbalán-Vélez R, Ruiz-Maciá JA, Brufau C, Carapeto FJ. Carcinoma espinocelular cutáneo y papilomavirus (VPH). *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 2007; 98: 583-93.
121. Gupta R, Rady PL, Doan HQ, Tyring SK. Development of a β -HPV vaccine: Updates on an emerging frontier of skin cancer prevention. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2020; 126: 104348.
122. Vinzón SE, Rösl F. HPV vaccination for prevention of skin cancer. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 2015; 11: 353-7.
123. Latini A, Alei L, Magri F, Eibenschutz L, Cota C, Dona' MG, et al. Nonmelanoma skin cancer and melanoma in HIV-1-infected patients. *AIDS* 2020; 34: 1570-2.
124. Venanzi Rullo E, Maimone MG, Fiorica F, Ceccarelli M, Guarneri C, Berretta M, et al. Non-Melanoma Skin Cancer in People Living With HIV: From Epidemiology to Clinical Management. *Frontiers in Oncology*. 2021; 11: 689789.
125. Spence AB, Levy ME, Monroe A, Castel A, Timpone J, Horberg M, et al. Cancer incidence and cancer screening practices among a cohort of persons receiving HIV care in Washington, DC. *Journal of Community Health*. 2021; 46: 75-85.
126. Gondal TA, Chaudhary N, Bajwa H, Rauf A, Le D, Ahmed S. Anal Cancer: The Past, Present and Future. *Current Oncology*. 2023; 30: 3232.
127. Oehler-Jänne C, Huguet F, Provencher S, Seifert B, Negretti L, Riener MO, et al. HIV-Specific Differences in Outcome of Squamous Cell Carcinoma of the Anal Canal: A Multicentric Cohort Study of HIV-Positive Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. *Journal of Clinical Oncology*. 2008; 26: 2550-7.
128. Khandwala P, Singhal S, Desai D, Parsi M, Potdar R. HIV-Associated Anal

Cancer. *Cureus*. 2021; 13: e14834.

129. Faye AS, Holmer AK, Axelrad JE. Cancer in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2022; 51: 649-66.

130. Symer MM, Yeo HL. Recent advances in the management of anal cancer. *F1000Research*. 2018; 28;7: F1000

131. Valvo F, Ciurlia E, Avuzzi B, Doci R, Ducreux M, Roelofsen F, et al. Cancer of the anal region. *Critical Reviews in Oncology// Hematology*. 2019; 135: 115-27.

132. Hernández-Ramírez RU, Qin L, Lin H, Leyden W, Neugebauer RS, Althoff KN, et al. Association of Immunosuppression and Human Immunodeficiency Virus (HIV) Viremia With Anal Cancer Risk in Persons Living With HIV in the United States and Canada. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; 70: 1176-85.

133. Wang C ching J, Sparano J, Palefsky JM. Human Immunodeficiency Virus/AIDS, Human Papillomavirus, and Anal Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*. 2017; 26: 17-31.

134. Hoff PM, Coudry R, Moniz CMV. Pathology of Anal Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*. 2017; 26: 57-71.

135. Albuquerque A, Nathan M, Cappello C, Dinis-Ribeiro M. Anal cancer and precancerous lesions: a call for improvement. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2021;6: 327-34.

136. Eng C, Ciombor KK, Cho M, Dorth JA, Rajdev LN, Horowitz DP, et al. Anal Cancer: Emerging Standards in a Rare Disease. *Journal of Clinical Oncology*. 2022; 40: 2774-2788.

137. Roberts JR, Siekas LL, Kaz AM. Anal intraepithelial neoplasia: A review of diagnosis and management. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2017; 9: 50-61.

138. Rao S, Guren MG, Khan K, Brown G, Renehan AG, Steigen SE, et al. Anal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2021; 32: 1087-100.

139. de Carvalho NS, Ferreira AM, Tremel Bueno CC. HPV infection and

intraepithelial lesions from the anal region: how to diagnose? *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2011; 15: 473-7.

140. Bean SM, Chhieng DC. Anal-rectal cytology: A review. *Diagnostic Cytopathology*. 2010; 38: 538-46.

141. Darragh TM, Winkler B. Screening for anal neoplasia: anal cytology - sampling, processing and reporting. *Sexual Health*. 2012; 9: 556.

142. Albuquerque A. Cytology in Anal Cancer Screening: Practical Review for Clinicians. *Acta Cytologica*. 2020; 64: 281-7.

143. Silva M, Peixoto A, Sarmiento JA, Coelho R, Macedo G. Anal cytology, histopathology and anoscopy in an anal dysplasia screening program: is anal cytology enough? *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2018; 110: 109-114

144. de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *International Journal of Cancer*. 2017; 141: 664-70.

145. Ehrenpreis ED, Smith DG. Patients with newly diagnosed cervical cancer should be screened for anal human papilloma virus and anal dysplasia: Results of a pilot study using a STELLA computer simulation and economic model. *Papillomavirus Research*. 2017; 5:38-45.

146. Bull-Henry K, Morris B, Buchwald UK. The importance of anal cancer screening and high-resolution anoscopy to gastroenterology practice. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2020; 36: 393.

147. Gudur A, Shanmuganandamurthy D, Szep Z, Poggio JL. An Update on the Current Role of High Resolution Anoscopy in Patients With Anal Dysplasia. *Anticancer Research*. 2019; 39: 17-23.

148. Young AN, Jacob E, Willauer P, Smucker L, Monzon R, Ocegüera L. Anal Cancer. *Surgical Clinics of North America*. 2020; 100: 629-34.

149. Pessia B, Romano L, Giuliani A, Lazzarin G, Carlei F, Schietroma M. Squamous cell anal cancer: Management and therapeutic options. *Annals of*

Medicine and Surgery. 2020; 55: 36-46.

150. Ciombor KK, Ernst RD, Brown G. Diagnosis and Diagnostic Imaging of Anal Canal Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*. 2017; 26: 45-55.

151. Mistrangelo M, Pelosi E, Bellò M, Ricardi U, Milanese E, Cassoni P, et al. Role of Positron Emission Tomography-Computed Tomography in the Management of Anal Cancer. *International Journal of Radiation Oncology*. 2012; 84: 66-72.

152. Slørdahl KS, Klotz D, Olsen JÅ, Skovlund E, Undseth C, et al. Treatment outcomes and prognostic factors after chemoradiotherapy for anal cancer. *Acta Oncologica*. 2021; 60: 921-930

153. Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D, Adams R, Gollins S, Harrison M, Meadows HM, et al. Prognostic factors for recurrence and survival in anal cancer. *Cancer*. 2013; 119: 748-55.

154. Ajani JA, Winter KA, Gunderson LL, Pedersen J, Benson AB, Thomas CR, et al. Prognostic Factors Derived From A Prospective Database Dictate Clinical Biology Of Anal Cancer: The Intergroup Trial (RTOG 98-11). *Cancer*. 2010; 116: 10.1002/cncr.25188.

155. Theophanous S, Samuel R, Lilley J, Henry A, Sebag-Montefiore D, Gilbert A, et al. Prognostic factors for patients with anal cancer treated with conformal radiotherapy – a systematic review. *BMC Cancer*. 2022; 22: 607.

156. Wang CCJ, Palefsky JM. HPV-Associated Anal Cancer in the HIV/AIDS Patient. *Cancer Treatment and Research*. 2019; 177: 183-209.

157. Hidalgo-Tenorio C, Rivero-Rodriguez M, Gil-Anguita C, Lopez De Hierro M, Palma P, Ramírez-Taboada J, 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.

158. van der Snoek EM, van der Ende ME, den Hollander JC, Schutten M, Neumann H a. M, van Doornum GJJ. 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*. 2012; 39: 495-500.

159. Hidalgo-Tenorio C, Gil-Anguita C, López Ruz MA, Omar M, López-Hidalgo J, Pasquau J. ART is key to clearing oncogenic HPV genotypes (HR-HPV) in anal mucosa of HIV-positive MSM. *PLOS ONE*. 2019; 14: e0224183.

160. Harder T, Wichmann O, Klug SJ, van der Sande MAB, Wiese-Posselt M. Efficacy, effectiveness and safety of vaccination against human papillomavirus in males: a systematic review. *BMC Medicine*. 2018; 16: 110.

161. Goldstone SE, Giuliano AR, Palefsky JM, Lazcano-Ponce E, Penny ME, Cabello RE, et al. Efficacy, immunogenicity, and safety of a quadrivalent HPV vaccine in men: results of an open-label, long-term extension of a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2022; 22: 413-25.

162. Berry JM, Jay N, Cranston RD, Darragh TM, Holly EA, Welton ML, et al. Progression of anal high-grade squamous intraepithelial lesions to invasive anal cancer among HIV-infected men who have sex with men. *International Journal of Cancer*. 2014; 134: 1147-55.

163. Palefsky JM, Lee JY, Jay N, Goldstone SE, Darragh TM, Dunlevy HA, et al. Treatment of Anal High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions to Prevent Anal Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2022; 386: 2273-82.

164. Orchard M, Roman A, Parvaiz AC. Anal intraepithelial neoplasia – Is treatment better than observation? *International Journal of Surgery*. 2013; 11: 438-41.

165. Siddharthan RV, Lanciault C, Tsikitis VL. Anal intraepithelial neoplasia: diagnosis, screening, and treatment. *Annals of Gastroenterology*. 2019; 32: 257-63.

166. Long KC, Menon R, Bastawrous A, Billingham R. Screening, Surveillance, and Treatment of Anal Intraepithelial Neoplasia. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*. 2016; 29: 57-64.

167. Megill C, Wilkin T. Topical therapies for the treatment of anal high-grade

squamous intraepithelial lesions. *Seminars in Colon and Rectal Surgery*. 2017; 28: 86-90.

168. Hidalgo-Tenorio C, García-Martínez CM, Pasquau J, Omar-Mohamed-Balgahata M, López-Ruz M, López-Hidalgo J, et al. Risk factors for \geq high-grade anal intraepithelial lesions in MSM living with HIV and the response to topical and surgical treatments. *PLOS ONE*. 2021; 16: e0245870.

169. Ghosn M, Kourie HR, Abdayem P, Antoun J, Nasr D. Anal cancer treatment: Current status and future perspectives. *World Journal Gastroenterology: WJG*. 2015; 21: 2294-302.

170. Morton M, Melnitchouk N, Bleday R. Squamous cell carcinoma of the anal canal. *Current Problems in Cancer*. 2018; 42: 486-92.

171. Houlihan OA, O'Neill BDP. Chemoradiotherapy for anal squamous cell carcinoma. *The Surgeon*. 2016; 14: 202-12.

172. Klausner G, Blais E, Jumeau R, Biau J, de Meric de Bellefon M, Ozsahin M, et al. Management of locally advanced anal canal carcinoma with intensity-modulated radiotherapy and concurrent chemotherapy. *Medical Oncology*. 2018; 35: 134.

173. Northover J, Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D, James R, Meadows H, Wan S, et al. Chemoradiation for the treatment of epidermoid anal cancer: 13-year follow-up of the first randomised UKCCCR Anal Cancer Trial (ACT I). *British Journal of Cancer*. 2010; 102: 1123-8.

174. Rogers JE, Eng C. Pharmacotherapy of Anal Cancer. *Drugs*. 2017; 77: 1519-30.

175. Yellu M, Deeb A, Olowokure O. Overview of Recent Trends in the Management of Metastatic Anal Cancer. *World Journal of Oncology*. 2015; 6: 311-5.

176. Farias JPF, Rangel da Silva MHC, Jácome AA. Emerging and Experimental Agents for Anal Cancer: What is New? *Journal of Experimental Pharmacology*. 2021; 13: 433-40.

177. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System Terminology for Reporting Results of Cervical Cytology. *JAMA*. 2002; 287: 2114-9.
178. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: Background and Consensus Recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2012; 136: 1266-97.
179. Nemcova J, Cerna K, Rob F, Smahelova J, Tresnak Hercogova J, Marx J, et al. Prevalence of high-risk human papillomavirus DNA and mRNA and its association with abnormal anal cytology in the Czech male anal cancer screening cohort. *Diagnostic Cytopathology*. 2021; 49: 1188-95.
180. Piyathilake CJ, Badiga S, Kumar R, Crowley MR, Burkholder GA, Raper JL. A rigorous exploration of anal HPV genotypes using a next-generation sequencing (NGS) approach in HIV-infected men who have sex with men at risk for developing anal cancer. *Cancer Medicine*. 2020; 9: 807-15.
181. Wu PF, Hang JF, Strong C, Chen SJ, Lin LY, Chen SS, et al. Anal human papillomavirus and its associations with abnormal anal cytology among men who have sex with men. *Scientific Reports*. 2020; 10: 3165.
182. Benevolo M, Latini A, Rollo F, Giuliani M, Giglio A, Giuliani E, et al. Incidence of abnormal anal cytology in HIV-infected and HIV-uninfected men who have sex with men. *Cancer Cytopathology*. 2023; 131: 262-70.
183. Kimura CMS, Nahas CSR, Silva-Filho EV, Ribeiro VL, Segurado AC, Alcântara FFP, et al. High-risk human papillomavirus test in anal smears: can it optimize the screening for anal cancer? *AIDS*. 2021; 35: 737-45.
184. Nadal LR, Saad SS, Lopes Filho GJ, Joaquim HPG, Manzione TDS, Manzione CR, et al. Comparison between anal cytology, high-resolution anoscopy and HPV DNA genotyping by polymerase chain reaction in the post-

treatment follow-up of condylomata acuminata. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgioes*. 2020; 47: e20202543.

185. Jongen VW, Richel O, Marra E, Siegenbeek van Heukelom ML, van Eeden A, de Vries HJC, et al. Anal Squamous Intraepithelial Lesions (SILs) in Human Immunodeficiency Virus–Positive Men Who Have Sex With Men: Incidence and Risk Factors of SIL and of Progression and Clearance of Low-Grade SILs. *The Journal of Infectious Diseases*. 2020; 222: 62-73.

186. Liu Y, Blakely M, Sigel K, Thin TH, Hui P, Donovan M, et al. Biomarker P16 predicts progression risk of anal low-grade squamous intraepithelial lesions. *AIDS*. 2018; 32: 2309-16.

187. Donà MG, Giuliani M, Rollo F, Vescio MF, Benevolo M, Giglio A, et al. Incidence and clearance of anal high-risk Human Papillomavirus infection and their risk factors in men who have sex with men living with HIV. *Scientific Reports*. 2022; 12:184.

188. Tong WWY, Jin F, McHugh LC, Maher T, Sinclair B, Grulich AE, et al. Progression to and spontaneous regression of high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-infected and uninfected men. *AIDS* 2013; 27: 2233-43.

189. de Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Trottier H, Vézina S, Côté P, et al. HAART and Progression to High-Grade Anal Intraepithelial Neoplasia in Men Who Have Sex with Men and Are Infected with HIV. *Clinical Infectious Diseases*. 2011; 52: 1174-81.

190. Alberts CJ, Heard I, Canestri A, Marchand L, Fléjou JF, Piroth L, et al. Incidence and Clearance of Anal Human Papillomavirus (HPV)-16 and HPV-18 Infection, and Their Determinants, Among Human Immunodeficiency Virus-Infected Men Who Have Sex With Men in France. *The Journal of Infectious Diseases*. 2020; 221: 1488-93.

191. Yunihastuti E, Teeratakulpisarn N, Jeo WS, Nilasari H, Rachmadi L, Somia IKA, et al. Incidence, Clearance, Persistence and Factors Related with High-risk

Anal HPV Persistence in South-East Asian MSM and Transgender Women. *AIDS*. 2020; 34: 1933-41.

192. Darwich L, Cañadas MP, Videla S, Coll J, Molina-López RA, Sirera G, et al. Prevalence, clearance, and incidence of human papillomavirus type-specific infection at the anal and penile site of HIV-infected men. *Sexually Transmitted Diseases*. 2013; 40: 611-8.

193. Patel P, Bush T, Kojic EM, Conley L, Unger ER, Darragh TM, et al. Prevalence, Incidence, and Clearance of Anal High-Risk Human Papillomavirus Infection Among HIV-Infected Men in the SUN Study. *The Journal of Infectious Diseases*. 2018; 217: 953-63.

194. Ong JJ, Walker S, Grulich A, Hoy J, Read TRH, Bradshaw C, et al. Incidence, Clearance, and Persistence of Anal Human Papillomavirus in Men Who Have Sex With Men Living With Human Immunodeficiency Virus: Implications for Human Papillomavirus Vaccination. *Sexually Transmitted Diseases*. 2019; 46: 229-33.

195. de Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Vézina S, Côté P, Macleod J, et al. Prevalence, clearance, and incidence of anal human papillomavirus infection in HIV-infected men: the HIPVIRG cohort study. *The Journal Infectious Diseases*. 2009; 199: 965-73.

196. Geskus RB, González C, Torres M, Del Romero J, Viciano P, Masiá M, et al. Incidence and clearance of anal high-risk human papillomavirus in HIV-positive men who have sex with men: estimates and risk factors. *AIDS*. 2016; 30: 37-44.

197. Guerendiain D, Mühr LSA, Grigorescu R, Holden MTG, Cuschieri K. Mapping HPV 16 Sub-Lineages in Anal Cancer and Implications for Disease Outcomes. *Diagnostics*. 2022; 12: 3222.

198. Guerendiain D, Grigorescu R, Kirk A, Stevenson A, Holden MTG, Pan J, et al. HPV status and HPV16 viral load in anal cancer and its association with clinical outcome. *Cancer Medicine*. 2022; 11: 4193-203.

199. Siegenbeek van Heukelom ML, Richel O, de Vries HJC, van de Sandt MM,

- Beck S, van den Munckhof H a. M, et al. Low- and high-risk human papillomavirus genotype infections in intra-anal warts in HIV-positive men who have sex with men. *The British Journal of Dermatology*. 2016; 175: 735-43.
200. Liu Y, Sigel KM, Westra W, Gitman MR, Zheng W, Gaisa MM. HIV-Infected Patients With Anal Cancer Precursors: Clinicopathological Characteristics and Human Papillomavirus Subtype Distribution. *Diseases of the Colon and Rectum*. 2020; 63: 890-6.
201. Lin C, Franceschi S, Clifford GM. Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus, according to sex and HIV status: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Infectious Diseases*. 2018; 18: 198-206.
202. Syrjänen KJ. Annual disease burden due to human papillomavirus (HPV) 6 and 11 infections in Finland. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2009; 107: 3-32.
203. Pina A, Fonseca F, Pontes F, Pontes H, Pires F, Taylor A, et al. Benign epithelial oral lesions – association with human papillomavirus. *Medicina Oral. Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 2019; e290-5.
204. Liu MZ, Hung YP, Huang EC, Howitt BE, Nucci MR, Crum CP. HPV 6-associated HSIL/Squamous Carcinoma in the Anogenital Tract. *International Journal of Gynecological Pathology: Official Journal of the International Society of Gynecological Pathologists*. 2019; 38: 493-7.
205. Cornall AM, Roberts JM, Garland SM, Hillman RJ, Grulich AE, Tabrizi SN. Anal and perianal squamous carcinomas and high-grade intraepithelial lesions exclusively associated with “low-risk” HPV genotypes 6 and 11. *International Journal of Cancer*. 2013; 133: 2253-8.
206. Guimerà N, Lloveras B, Lindeman J, Alemany L, van de Sandt M, Alejo M, et al. The occasional role of low-risk human papillomaviruses 6, 11, 42, 44, and 70 in anogenital carcinoma defined by laser capture microdissection/PCR methodology: results from a global study. *The American Journal of Surgical Pathology*. 2013; 37: 1299-310.

207. Arnold JD, Byrne ME, Monroe AK, Abbott SE. The Risk of Anal Carcinoma After Anogenital Warts in Adults Living With HIV. *JAMA Dermatology*. 2021;157: 283-9.
208. Machalek DA, Grulich AE, Hillman RJ, Jin F, Templeton DJ, Tabrizi SN, et al. The Study of the Prevention of Anal Cancer (SPANC): design and methods of a three-year prospective cohort study. *BMC Public Health*. 2013; 13: 946.
209. Poynten IM, Jin F, Roberts JM, Templeton DJ, Law C, Cornall AM, et al. The Natural History of Anal High-grade Squamous Intraepithelial Lesions in Gay and Bisexual Men. *Clinical Infectious Diseases*. 2021; 72: 853-61.
210. Clarke MA, Wentzensen N. Strategies for screening and early detection of anal cancers: A narrative and systematic review and meta-analysis of cytology, HPV testing, and other biomarkers. *Cancer Cytopathology*. 2018; 126: 447-60.
211. Kosmidis C, Sevva C, Magra V, Varsamis N, Koulouris C, Charalampous I, et al. HPV-Induced Anal and Peri-Anal Neoplasia, a Surgeon's Experience: 5-Year Case Series. *Diagnostics*. 2023; 13: 702.

Anexos

ANEXO I: COPIA ÍNTEGRA DEL ARTÍCULO PUBLICADO.



Article

Role of Low-Risk HPV PCR Monoinfection in Screening for HSIL and Anal Cancer in Men Who Have Sex with Men Living with HIV

Carmen María García-Martínez ¹, Inmaculada Calle-Gómez ¹, Javier López-Hidalgo ² ,
Patricia Gómez-Ronquillo ¹, Mohamed Omar-Mohamed Balgahata ³ and Carmen Hidalgo-Tenorio ^{4,*}

- ¹ Service of Internal Medicine, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitario de Granada (IBS-Granada), 18012 Granada, Spain
² Service of Pathology, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitario de Granada (IBS-Granada), 18012 Granada, Spain
³ Unit of Infectious Diseases, Complejo Hospitalario de Jaén, 23007 Jaen, Spain
⁴ Unit of Infectious Diseases, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Instituto de Investigación Biosanitario de Granada (IBS-Granada), 18012 Granada, Spain
* Correspondence: chidalgo72@gmail.com; Tel.: +34-958020322



Citation: García-Martínez, C.M.; Calle-Gómez, I.; López-Hidalgo, J.; Gómez-Ronquillo, P.; Omar-Mohamed Balgahata, M.; Hidalgo-Tenorio, C. Role of Low-Risk HPV PCR Monoinfection in Screening for HSIL and Anal Cancer in Men Who Have Sex with Men Living with HIV. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 5642. <https://doi.org/10.3390/ijms24065642>

Academic Editors: Nakano Kazumi and Toshiaki Watanabe

Received: 16 February 2023

Revised: 10 March 2023

Accepted: 14 March 2023

Published: 15 March 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: To determine the value of low-risk human papillomavirus (HPV) PCR to screen for “high-grade anal squamous intraepithelial lesion and anal cancer” (HSIL-plus), rate of patients with low-grade anal squamous intraepithelial lesion (LSIL) progressing to HSIL-plus, and progression-related factors. Prospective, longitudinal study of consecutive MSM-LHIV attended between May 2010 and December 2021 and followed for 43 months (IQR: 12–76). HIV-related variables were gathered at baseline, performing anal cytology for HPV detection/genotyping, thin-layer cytological study, and high-resolution anoscopy (HRA). Follow-up was annual when HRA was normal or LSIL, and post-treatment in cases of HSIL-plus, re-evaluating sexual behavior, viral-immunological status, and HPV infection of anal mucosa. The 493 participants had mean age of 36 years: CD4 nadir < 200 cells/uL in 23.1%, virological failure in 4.1%, and tetravalent HPV vaccine > 5 years earlier in 15%. HSIL-plus was ruled out in patients with monoinfection by low-risk HPV genotype and normal cytology (100% sensitivity, 91.9% specificity, PPV 2.9%, and NPV 100%). Progression from LSIL to HSIL-plus occurred in 4.27% of patients within 12 months (IQR: 12–12): risk factors were acquisition of high-risk (HR: 4.15; 95% CI: 1.14–15.03) and low-risk (HR: 3.68 95% CI: 1.04–12.94) HPV genotypes, specifically genotype 6 (HR: 4.47, 95% CI: 1.34–14.91), and history of AIDS (HR: 5.81 95% CI: 1.78–18.92). Monoinfection by LR-HPV genotypes in patients with normal cytology is not associated with anal cancer or precursor lesions. Progression from LSIL to HSIL-plus, observed in <5% of patients, was related to acquisition of HR and LR HPV genotypes, especially 6, and a history of AIDS.

Keywords: human immunodeficiency virus (HIV); men who have sex with men living with HIV (MSM-LHIV); human papillomavirus (HPV); non-AIDS-defining diseases; anal canal

1. Introduction

Anogenital infection by human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection (STI) worldwide [1]. It has a predilection for skin and mucosal cells and is associated with a wide range of lesions, from warts to low- and high-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL and HSIL) and vulvar, vaginal, penis, oropharyngeal, and anal carcinomas [2].

Immunosuppression is a risk factor for HPV acquisition and is produced by infection with the human immunodeficiency virus (HIV). The degree of immunodepression has been related to the incidence of anal dysplasia from chronic infection by HPV genotypes [3,4]. This infection commonly involves the anal mucosa, and anal cancer is one of the most

frequent non-AIDS-defining diseases in people living with HIV (PLHIV), mainly in women and men who have sex with men (MSM) [5,6].

Research to date has established a relationship between high-risk (HR) genotypes and a greater likelihood of precursor lesions of anogenital or oropharyngeal cancer/carcinomas [7,8]. MSM living with HIV (MSM-LHIV) who have normal anal cytology and are not infected by an oncogenic HPV genotype have shown no increased risk of HSIL or anal cancer [9].

Inadequate data are available on the presence/absence of HSIL or anal cancer in patients with mono-infection by LR HPV genotype. The objectives of this study were to verify the sensitivity (S), specificity (Sp), and negative (NPV) and positive (PPV) predictive value of the presence of anal mucosal infection by LR HPV genotypes to screen for HSIL and/or anal cancer (HSIL-plus) in MSM-LHIV; to determine the percentage of these patients progressing from LSIL to HSIL-plus; and to analyze the factors related to this progression.

2. Results

2.1. Baseline Characteristics of the Cohort

The study included 493 MSM-LHIV aged 36 years (± 10.36), 48.6% were university students, 48.1% smoked a mean of 1.65 packs/year (IQR: 0–15), 15% had received the full course of tetravalent HPV vaccine; and 39.8% had another STI; the median number of partners to date was 50 sexual partners (IQR: 20–200), and the median number in the previous 12 months was 2 (IQR 1–8). Table 1 exhibits results for the remaining characteristics.

Table 1. Epidemiological characteristics of the cohort.

	Cohort N = 493
Age, mean (years), (\pm SD)	36.48 (± 10.434)
<30 years	151 (30.6)
Between 30 and 50 years	290 (58.8)
>50 years	52 (10.5)
Nationality, n (%)	
European	464 (94.1)
Central/South American	27 (5.5)
African	2 (0.4)
Median NPT (IQR)	50 (20–200)
Median NP12m (IQR)	2 (1–8)
Median age at start of sexual relations (IQR)	18 (16–20)
Use of condom, n (%)	329 (66.7)
Median % of use of condom (IQR)	100 (0–100)
Relationships during the previous year, n (%)	442 (89.7)
Occupation (%)	
Non-retired (including students, actively employed, unemployed, etc.)	434 (88)
Schooling level, n (%)	
No schooling	5 (3.5)
Primary	24 (16.9)
Secondary	40 (28.2)
University	69 (48.6)
Smoking, n (%)	237 (48.1)
Ex-smoker, n (%)	45 (9.1)
Median packs/year, (IQR)	1.65 (0–15)
Alcohol, n (%)	210 (42.6)
Median SDUs, (IQR)	0 (0–4)
Ex-IDU, n (%)	4 (0.8)
Polypharmacy, n (%)	55 (11.2)
HPV vaccination, n (%)	74 (15)
Chronic hepatopathy by HBV, n (%)	16 (3.2)
Chronic hepatopathy by HCV, n (%)	14 (2.8)
Syphilis in baseline visit, n (%)	154 (31.2)
Other STIs at baseline visit, n (%)	144 (29.2)
Total number of STIs at baseline visit, n (%)	
- None	288 (58.4)
- One	196 (39.8)
- Two	6 (1.2)
- Three	2 (0.4)
Positive Mantoux at baseline visit, n (%)	33 (6.7)
Comorbidities, n (%)	60 (12.2)

Table 1. Cont.

	Cohort N = 493
Condylomas in inclusion visit, n (%)	105 (21.3)
History of genital condylomas, n (%)	149 (30.2)

NP12m, number of sexual partners during the previous 12 months; NPT, total number of sexual partners since initiation of sexual relations; SRs, sexual relationship; SDUs, standard drink units; IDU, injection drug user; Ex-IDU, ex-injection drug user; HPV, human papillomavirus; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; TBC, tuberculosis; STI, sexually transmitted infection.

The mean age at HIV diagnosis was 31 years, and the mean CD4 count was 444.6 cells/uL, with 23.1% of participants having CD4 nadir < 200 cells/uL. At study enrolment, the CD4 count was 689.8 cells/uL and CD4/CD8 ratio 0.7 (0.46–0.98), 10.8% were naïve, and 4.1% were in virological failure. They had received antiretroviral treatment (ART) for a median of 20 months (IQR: 7–73): 32.9% with non-nucleoside analog reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), 26.2% with protease inhibitor (PI), and 38.5% with integrase strand transfer inhibitors (INSTI). Table 2 exhibits the findings for other study variables.

Table 2. Variables related to HIV infection.

	Cohort N = 493
Risk for acquiring HIV infection	
- MSM	485 (98)
- IDU	1 (0.2)
- Unknown	6 (1.2)
Median months since diagnosis of HIV infection (IQR)	30.5 (10–105)
Median age at diagnosis of HIV infection (IQR)	31 (25–37)
AIDS (A3, B3, C), n (%)	114 (23.1)
CD4 at diagnosis, mean (±SD)	444.58 (±288.8)
CD8 at diagnosis, mean (±SD)	1115.57 (±749.9)
VL at diagnosis, (log10) mean (±SD)	5.5 (±6.1)
Nadir, n (%)	
<200	114 (23.1)
200–500	231 (46.9%)
>500	129 (26.2)
CD4 baseline visit, mean (±SD)	689.8 (±450.5)
CD8 baseline visit, mean (±SD)	1954.4 (±528.7)
CD4/CD8 baseline visit, median (IQR)	0.7(0.46–0.98)
VL (log10) baseline visit, mean (±SD)	3.6 (±4.2)
VL < 50 cop/mL baseline visit, n (%)	344 (70.9)
Naïve, n (%)	53 (10.8)
Median ART lines from initiation (IQR)	1 (1–2)
Median months with ART up to V0 (IQR)	20 (7–73)
ART line baseline visit, median, (IQR)	1 (1–2)
Adherence to ART at V0, median % adherence (IQR)	100 (100–100)
Virological failure, n (%)	20 (4.1)
Reason for ART abandonment, n (%)	
- Adverse effects	8 (1.6)
- Other causes	5 (1)
ART, n (%)	
- NRTI	393 (79.7)
- NNRTI	162 (32.9)
- PI	129 (26.2)
- INSTI	190 (38.5)

HIV, human immunodeficiency virus; AIDS, acquired immunodeficiency syndrome; MSM, men who have sex with men; IDU; injection drug user; CD4, CD4 lymphocytes; CD8, CD8 lymphocytes; VL, viral load; CD4/CD8, CD4/CD8 ratio; ART, antiretroviral therapy; NRTI, nucleoside analog reverse transcriptase inhibitor; NNRTI, non-nucleoside analog reverse transcriptase inhibitor; PI, protease inhibitor; INSTI, integrase strand transfer inhibitors.

Infection by oncogenic genotypes was detected in 74%, with a median of 1 genotype (IQR:1–3); infection by non-oncogenic genotypes in 71.2%, with a median of 1 genotype (IQR:0–2); and coinfection in 56%. HR genotypes 16 (26.4%) and 31 (13.6%) were the most frequently isolated, followed by LR genotypes 6 (18.9%) and 42 (17.8%). Table 3 displays results for the other variables.

Table 3. HPV infection data at baseline visit.

	N = 493
HR-HPV, n (%)	365 (74)
Number of HR-HPV serotypes, median (P25–P75)	1 (1–3)
LR-HPV, n (%)	351 (71.2)
Number of LR-HPV serotypes, median (P25–P75)	1 (0–2)
HPV coinfection (HR and LR), n (%)	276 (56)
A9 clade: HPV 18, 39, 45, 59, 60, n (%)	206 (41.8)
A7 clade: HPV 16, 31, 33, 35, 52, 58, 67, n (%)	238 (48.3)
Simultaneous infection oncogenic HPV clades A7 and A9, n (%)	119 (24.1)
HPV 6, n (%)	93 (18.9)
HPV 11, n (%)	82 (16.6)
HPV 16, n (%)	130 (26.4)
HPV 18, n (%)	64 (13)
HPV 26, n (%)	8 (1.6)
HPV 31, n (%)	67 (13.6)
HPV 33, n (%)	36 (7.3)
HPV 35, n (%)	48 (9.7)
HPV 39, n (%)	61 (12.4)
HPV 40, n (%)	12 (2.4)
HPV 42, n (%)	88 (17.8)
HPV 43, n (%)	20 (4.1)
HPV 45, n (%)	63 (12.8)
HPV 51, n (%)	71 (14.4)
HPV 52, n (%)	63 (12.8)
HPV 53, n (%)	42 (8.5)
HPV 54, n (%)	36 (7.3)
HPV 55, n (%)	83 (16.8)
HPV 56, n (%)	40 (8.1)
HPV 58, n (%)	35 (7.1)
HPV 59, n (%)	50 (10.1)
HPV 61, n (%)	35 (7.1)
HPV 62, n (%)	84 (17)
HPV 66, n (%)	40 (8.1)
HPV 68, n (%)	55 (11.2)
HPV 69, n (%)	16 (3.2)
HPV 70, n (%)	38 (7.7)
HPV 72, n (%)	31 (6.3)
HPV 73, n (%)	44 (8.9)
HPV 81, n (%)	79 (16)
HPV 82, n (%)	25 (5.1)
HPV 83, n (%)	5 (1.0)
HPV 84, n (%)	33 (6.7)
HPV 108, n (%)	13 (2.6)

Baseline cytology results showed LSIL in 46.7%, normal mucosa in 40.8%, atypical squamous cells of uncertain significance (ASCUS) in 7.7%, and HSIL in 2.6%. High-resolution anoscopy (HRA) results were normal in 52.3% of participants, LSIL (AIN1) in 38.5%, HSIL (AIN2/3) in 11%, and ASCC in 0.6% (Table 4).

Table 4. Cytology and anoscopy results at baseline visit.

Cytology	N = 493
Normal, n (%)	201 (40.8)
- Normal, without HR genotypes, n (%)	42 (8.5)
- Normal, with HR genotypes, n (%)	149 (30.2)
ASCUS, n (%)	38 (7.7)
LSIL, n (%)	230 (46.7)
HSIL, n (%)	13 (2.6)
High-resolution anoscopy (HRA)	N = 493
Abnormal, n (%)	235 (47.7)
LSIL (AIN1), n (%)	190 (38.5)
HSIL (AIN2/3), n (%)	54 (11)
Anal carcinoma (ASCC)	3 (0.6)

LSIL, low-degree squamous intraepithelial lesion; HSIL, high-degree squamous intraepithelial lesion; ASCUS, atypical squamous cells of undetermined significance; HRA high-resolution anoscopy; HPV, human papillomavirus; HR, high-risk genotype; LR, low-risk genotype.

2.2. Diagnostic Value of Cytology and HPV PCR for Anal Dysplasia

LR-HPV PCR achieved 79.6% sensitivity (S), 27.9% specificity (Sp), 12.7% positive predictive value (PPV), and 91.6% negative predictive value (NPV) for the diagnosis of HSIL-plus, while cytology demonstrated 72.7% S, 43.7% Sp, 14.2% PPV, and 82.4% NPV for this diagnosis. HSIL-plus could be ruled out in all patients with anal mucosa mono-infection

by LR-HPV genotypes and normal cytology (100% S, 91.9% Sp, 2.9% PPV, and 100% NPV) (Table 5). Correlations between biopsy, cytology, and HR and LR HPV PCR results for HSIL-plus never exceeded 0.4, the minimum value for analyzing agreement between techniques (Table 6).

Table 5. Sensitivity, specificity, PPV, and NPV of anal cytology and HPV PCR for diagnosis of HSIL-plus.

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
Normal Cytology (n = 202)	27.3	56.3	7.4	85.7
Abnormal Cytology (n = 281)	72.7	43.7	14.2	82.4
LSIL (n = 230)	61.8	54.2	14.8	91.7
HSIL (n = 13)	12.7	98.6	53.8	89.7
ASCUS (n = 38)	1.8	91.3	2.6	87.8
HPV—High-risk (n = 368)	85.7	25.4	13	93.2
HPV—Low-risk (n = 43)	79.6	27.9	12.7	91.6
HPV—High- and low-risk (n = 277)	66.1	43.9	13.4	90.8
HPV—Low-risk positive and normal cytology (n = 125)	14.8	72.3	6.4	86.9
HPV—Low-risk positive, HPV—High-risk negative, and normal cytology (n = 35)	100	91.9	2.9	100
HPV—Low-risk negative and normal cytology (n = 75)	9.4	83.4	6.7	88
HPV—High-risk negative and normal cytology (n = 61)	100	90.2	87.5	100

LSIL: low-grade intraepithelial lesions; HSIL: high-grade intraepithelial lesions; ASCUS: atypical squamous cells of unknown significance.

2.3. Factors Related to the Progression of Lesions from LSIL to HSIL-Plus

The median follow-up period was 43 months (IQR: 12–76). After a mean follow-up of 12 months, progression from LSIL (AIN1) to HSIL-plus was observed in 23 participants (4.7%) (IQR: 12–12), with 1 progressing to invasive anal cancer (ASCC) and 22 to HSIL (AIN2/AIN3), while spontaneous regression of LSIL (AIN1) was recorded in 150 (30.4%) (IQR: 12–24).

In bivariate analyses, the risk factors for progression from LSIL to HSIL-plus were age at HIV diagnosis (25.5 [IQR: 20.3–30.4] vs. 31 [IQR: 25.3–37] years; $p = 0.016$), AIDS stage (43.5 vs. 23.8%; $p = 0.036$), non-retired (69.6 vs. 89.6%; $p = 0.011$), the presence of condylomas (43.5 vs. 20.3%; $p = 0.009$), a history of condylomas (56.5 vs. 29.3%; $p = 0.007$), the acquisition of HR (82.6 vs. 45.3%; $p = 0.001$) and LR (78.3 vs. 40.3%; $p = 0.0001$) genotypes, and anal mucosa infection by genotypes 6 (39.1 vs. 17%; $p = 0.021$) and 84 (21.7 vs. 7.1%; $p = 0.029$). Infection by HPV-62 genotype emerged as a protective factor against progression (0 vs. 16.4%, $p = 0.033$) (Table 7).

In the multivariate analysis, progression from LSIL to HSIL-plus was related to the acquisition of HR (HR: 4.15; 95% CI 1.14–15.03) and LR (HR 3.68 95% CI: 1.04–12.94) HPV genotypes, including infection by genotype 6 (HR 4.47 95% CI: 1.34–14.91) and a history of AIDS (HR: 5.81 95% CI: 1.78–18.92) (Table 7).

In the study of factors favoring progression from AIN1 to HSIL-plus in patients with AIDS, no statistically significant association was found in bivariate analyses, which considered age, age at start of sexual relations, number of sexual partners in previous 12 months, VPH vaccination, time since HIV diagnosis, CD4 count, CD8 count, viral load, and number of HR and LR HPV genotypes and of all genotypes.

Table 6. Correlation of anal HPV cytology and PCR with histology.

	Normal N = 250		LSIL (AIN 1) N = 189		HSIL (AIN2 and 3) N = 54		SCCA N = 1	
	n (%) Kappa	p* Spearman	n (%) Kappa	p* Spearman	n (%) Kappa	p* Spearman	n (%) Kappa	p* Spearman
Normal Cytology (n = 201)	136 (54.4) 0.26	0.0001 0.26	55 (29.1) 0.21	0.0001 0.21	13 (24.1) 0.09	0.005 0.13	1 (100) 0.006	0.3 0.054
Abnormal Cytology (n = 281)	101 (40.4) 0.29	0.0001 0.3	134 (70.9) 0.21	0.0001 0.21	41 (75.9) 0.09	0.005 0.13	0 0.006	0.3 0.054
LSIL (n = 230)	82 (32.8) 0.31	0.0001 0.31	118 (62.4) 0.23	0.0001 0.24	35 (64.8) 0.08	0.007 0.12	0 0.004	0.34 0.04
HSIL (n = 13)	3 (1.2) 0.032	0.036 0.095	3 (1.6) 0.02	0.23 0.05	7 (13) 0.17	0.001 0.23	0 0.004	1 0.008
ASCUS (n = 38)	24 (9.6) 0.037	0.143 0.067	16 (8.5) 0.011	0.69 0.02	1 (1.9) 0.08	0.8 0.08	0 0.004	1 0.01
HPV—High-risk (n = 368)	170 (68) 0.16	0.0001 0.19	161 (85.2) 0.13	0.0001 0.17	47 (87) 0.04	0.04 0.09	2 (100) 0.003	1 0.04
HPV—Low-risk (n = 353)	170 (68) 0.1	0.012 0.12	147 (77.8) 0.07	0.055 0.09	43 (79.6) 0.02	0.24 0.05	2 (100) 0.003	1 0.04
HPV—High- and low-risk (n = 277)	122 (49) 0.17	0.0001 0.17	126 (66.7) 0.14	0.001 0.15	36 (66.7) 0.14	0.14 0.07	2 (100) 0.006	0.5 0.06
HPV—High-risk negative and normal cytology (n = 61)	49 (19.6) 0.15	0.0001 0.22	11 (5.9) 0.13	0.001 0.17	0 0.14	0.003 0.14	0 0.004	0.7 0.02
HPV—Low-risk positive and normal cytology (n = 125)	81 (33.2) 0.14	0.0001 0.162	39 (20.7) 0.09	0.027 0.1	8 (14.8) 0.08	0.04 0.09	1 (100) 0.012	0.09 0.08
HPV—Low-risk positive, HPV—High-risk negative, and normal cytology (n = 34)	28 (11.5) 0.09	0.0001 0.17	6 (3.2) 0.076	0.007 0.124	0 0.096	0.023 0.09	0 0.004	0.8 0.013
HPV—Low-risk negative and normal cytology (n = 75)	51 (20.9) 0.11	0.002 0.14	19 (0.1) 0.11	0.006 0.13	5 (9.4) 0.06	0.18 0.06	0 0.004	0.7 0.02

ASCUS: atypical squamous cells of unknown significance; LSIL: low-grade intraepithelial lesions; HSIL: high-grade intraepithelial lesions; AIN: anal intraepithelial neoplasia. SCCA: squamous cell carcinoma of the anus. p* > 0.005; correlation (kappa and Spearman).

Table 7. Results of bivariate and multivariate analyses.

	Progressor N = 23	Non-Progressor N = 317	Bivariate p*	Multivariate HR, 95% IC
Mean age (years), (±DS)	32.43 (8.98)	36.79 (10.36)	0.051	
Retired, n (%)	2 (8.7)	17 (5.4)	0.374	
Schooling level				
- No schooling	0 (0)	6 (1.9)	0.761	
- Primary	4 (17.4)	36 (11.4)		
- Secondary—Vocational	7 (30.4)	95 (30.1)		
- University	12 (52.2)	179 (56.6)		0.97 (0.87–1.06)
Nationality, n (%)				
- European, n (%)	21 (91.3)	300 (94.6)	0.727	
- Central/South American, n (%)	2 (8.7)	16 (5)		
- African, n (%)	0 (0)	1 (0.3)		
Active smoking	13 (56.5)	144 (45.4)	0.303	
Alcohol	10 (43.5)	139 (43.8)	0.963	
Use of condom, n (%)	2 (8.7)	91 (29.4)	0.096	
Sexual relations during previous year, n (%)	22 (95.7)	282 (89.2)	0.490	2.81 (0.58–13.57)
Previous history of				
- Hepatopathy by HCV	2 (8.7)	6 (1.9)	0.096	
- Hepatopathy by HBV	0 (0)	12 (3.8)	1	
- Syphilis, n (%)	9 (39.1)	87 (27.6)	0.237	
- Other STIs, n (%)	8 (34.8)	87 (27.4)	0.449	
- Montoux-positive, n (%)	2 (8.7)	24 (7.7)	0.696	
History of condylomas, n (%)	13 (56.5)	92 (29.3)	0.007	1.29 (0.39–4.21)
Current condylomas, n (%)	10 (43.5)	64 (20.3)	0.009	1.74 (0.51–5.96)

Table 7. Cont.

	Progressor N = 23	Non-Progressor N = 317	Bivariate p*	Multivariate HR, 95% IC
CD4 nadir (cells/uL), (±SD)	380.6 (211.9)	368.2 (233.8)	0.806	
AIDS stage (A3, B3, C), n (%)	10 (43.5)	75 (23.8)	0.036	
CD4 at diagnosis, mean (±SD)	474.5 (285.8)	439.8 (293.8)	0.593	
CD8 at diagnosis, mean (±SD)	1055.6 (737.4)	1161.7 (831.4)	0.638	
VL at diagnosis (log), mean (±SD)	4.7 (4.84)	5.5 (6.11)	0.349	5.81 (1.78–18.92)
Baseline CD4/CD8, mean (±SD)	0.65 (0.24)	2.45 (11.8)	0.465	
Baseline CD4, mean (±SD)	642.6 (309.7)	704 (516.4)	0.574	
Baseline CD8, mean (±SD)	1022.6 (369)	1083.7 (545.9)	0.598	
Baseline VL of HIV (log), mean (±SD)	3.78 (3.3)	3.5 (4.2)	0.454	
ART, n (%)	21 (91.3)	285 (89.9)	1	
Virological failure, n (%)	3 (15)	14 (4.9)	0.91	
Median age at HIV diagnosis, years (IQR)	25.5 (20.3–30.4)	31 (25.3–37)	0.016	0.97 (0.86–1.10)
Median time since HIV diagnosis, months (IQR)	28.5 (14.5–69)	28 (8–98.75)	0.5	
Median number of LR-HPV	1 (0.75–3)	1 (1–2)	0.42	
Median number of HR-HPV	1 (1–3)	2 (1–3)	0.61	
LR-HPV, n (%)	18 (78.3)	222 (71.2)	0.46	
HR-HPV, n (%)	19 (82.6)	239 (76.6)	0.50	
Coinfection HR and LR-HPV, n (%)	15 (65.2)	177 (56.9)	0.43	
Oncogenic HPV clades (A7 plus A9)	5 (21.7)	76 (24.4)	0.77	
HPV 6	9 (39.1)	53 (17)	0.021	4.47 (1.34–14.91)
HPV 11	3 (13)	57 (18.3)	0.778	
HPV 16	4 (17.4)	80 (25.8)	0.37	
HPV 18	4 (17.4)	36 (11.6)	0.50	
HPV 31	2 (8.7)	51 (16.4)	0.552	
HPV 33	2 (8.7)	28 (9)	1	
HPV 35	1 (4.3)	33 (10.6)	0.49	
HPV 39	1 (4.3)	37 (11.9)	0.49	
HPV 42	5 (21.7)	54 (17.4)	0.57	
HPV 45	4 (17.4)	40 (12.9)	0.52	
HPV 51	5 (21.7)	41 (13.2)	0.341	
HPV 52	1 (4.3)	42 (13.5)	0.333	
HPV 55	2 (8.7)	57 (18.3)	0.394	
HPV 56	3 (13)	29 (9.3)	0.473	
HPV 58	0 (0)	21 (6.8)	0.38	
HPV 59	3 (13)	31 (10)	0.717	
HPV 61	1 (4.3)	23 (7.4)	1	
HPV 62	0 (0)	51 (16.4)	0.033	0 (0–0)
HPV 66	4 (17.4)	30 (9.6)	0.273	
HPV 68	2 (8.7)	27 (8.7)	1	
HPV 70	2 (8.7)	24 (7.7)	0.697	
HPV 72	3 (13)	21 (6.8)	0.223	
HPV 81	3 (13)	45 (14.5)	1	
HPV 82	5 (21.7)	22 (7.1)	0.029	0.43 (0.104–1.76)
Clearance HR-HPV, n (%)	7 (30.4)	101 (33.9)	0.735	
Clearance LR-HPV, n (%)	10 (43.5)	84 (27.7)	0.108	
Acquisition HR-HPV, n (%)	19 (82.6)	140 (45.3)	0.001	4.15 (1.14–15.03)
Acquisition LR-HPV, n (%)	18 (78.3)	124 (40.3)	0.0001	3.68 (1.04–12.94)

HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; STI, sexually transmitted infection; HRA, high-resolution anoscopy; HIV, human immunodeficiency virus; AIDS, acquired immunodeficiency syndrome; CD4, CD4 lymphocytes; CD8, CD8 lymphocytes; VL, viral load; CD4/CD8, CD4/CD8 ratio; ART, antiretroviral therapy; HPV, human papillomavirus; HR, high-risk genotype; LR, low-risk genotype.

3. Discussion

The participants in this study were followed for a median of 43 months. One-third were aged under 30 years, and three-fifths between 30 and 50 years; around one-half of them smoked, and one-fifth reported a history of >300 sexual partners throughout life. In regard to HIV infection, their viroimmunological status was excellent, with only 4.1% in virologic failure and a median CD4 count of 698.9 cells; 71.2% were infected with LR genotypes, 74% with HR genotypes, and 56% were coinfecting with LR and HR genotypes. Less than half of the participants had normal anal mucosa, around one-tenth had HSIL at enrolment, and three (0.6%) had anal cancer, a similar profile to that of other European cohorts [10], and even of a North American study population that mainly differed in ethnic make-up, with a predominance of Afro-Americans [11].

With respect to the value of LR-HPV PCR as the sole screening test for HSIL or anal cancer, it achieved S and NPV values that were higher than obtained with anal cytology and very similar to those observed with HR-HPV PCR. HSIL-plus could be ruled out in all participants with mono-infection by LR-HPV genotypes and normal cytology. This is the first report on the value of LR-HPV PCR in the diagnosis of these lesions in MSM-LHIV,

showing that the combination of LR-HPV PCR and anal cytology ruled out HSIL-plus with 100% S and 100% NPV. These findings are in line with previously published results supporting the combination of HR-HPV PCR with anal cytology to screen for anal cancer and precursor lesions in HIV-positive MSM [12,13]

LSIL progressed to HSIL-plus (1 ASCC and 22 AIN2/3) in less than 5% of participants during the follow-up period, largely within one year of follow-up, lower than the progression rates of 16.4% [14] and 36% [15] described in previous studies. However, in comparison to the present study, the mean age was higher and a larger percentage of patients had CD4 nadir < 200 cells/uL in the former study [14] and the cohort was more heterogeneous in the latter, including men and women with and without HIV infection [15], which may in part account for the differences in progression rates; in addition, more than half of participants were smokers or ex-smokers in both previous studies, whereas less than half of the present patients were smokers and only 9.1% were ex-smokers. The objective of the present study was to investigate the screening, early diagnosis, treatment, and prophylaxis of anal dysplasia, resulting in a highly treated cohort. Thus, 15% had been vaccinated against HPV, and those with HSIL or intra-anal or genital condylomas had been treated with imiquimod, achieving HR-HPV and LR-HPV clearance rates of 30.4% and 43.5%, respectively, which would have contributed to the lower percentage who progressed to high-grade lesions or cancer of the anal mucosa. Participants were not vaccinated in the other two studies [14,15], those receiving treatment for HSIL-plus were excluded from one of them [14], and neither study described the virus clearance rate. In the present investigation, progression from LSIL to HSIL-plus in anal mucosa was associated with the acquisition of HR- and LR-HPV genotypes (specifically HPV-6) and a history of AIDS, while no association was observed with coinfection by HR- and LR-HPV genotypes.

The degree of immunosuppression, defined by current CD4 count and CD4 nadir < 200 cells/uL, has been associated with the risk of lesion progression [16,17]. A recent HPV genotyping study of anal warts/condylomas in MSM-LHIV found that >20% of these lesions were HSIL and infected by LR and HR genotypes; the authors concluded that oncogenic and non-oncogenic HPV genotypes were involved in the genesis of HSIL-plus [18]. HR genotypes, in particular HPV-16, have frequently been related to anal lesion progression [19]. A meta-analysis published in 2018 described HPV-16 as the carcinogenic genotype *par excellence* in anal mucosa and responsible for both precursor lesions and anal cancer [20]. HPV-6 has historically been classified as an LR genotype and associated with the development of benign verrucous lesions or LSIL; however, an association was recently found between mono-infection by HPV-6 and progression to HSIL [21]. Furthermore, chronic mono-infection by LR genotypes 6, 11, 42, 44, or 70 has also been reported as the cause of a small number of anal cancers [22].

The results of this study are limited to a specific population of HIV-positive MSM and cannot be extrapolated to other types of subjects. Study strengths include the prospective and longitudinal design, large sample size, and systematic long-term follow-up. Notably, this is the first published report on mono-infection by LR-HPV genotypes in the anal canal of MSM-LHIV.

In conclusion, mono-infection due to LR-HPV genotypes is not associated with anal cancer or precursor lesions in patients with normal cytology. The progression rate from LSIL to HSIL-plus was <5% and was related to the acquisition of HR- and LR-HPV genotypes (specifically HPV-6) and a history of AIDS. These findings are directly relevant to the care of anal dysplasia in MSM-LHIV, because the presence of LR-HPV genotypes alone with normal cytology rules out precancerous lesions and anal cancer, allowing for a longer interval between anoscopy examinations. Furthermore, given that only a very small percentage of patients with low-grade AIN1 progress, and over a prolonged period, these can be monitored by HRA every year rather than every three or six months.

4. Materials and Methods

This prospective, longitudinal, single-center study included consecutive MSM-LHIV who participated between May 2010 and December 2021 in a program for the screening, diagnosis, treatment, and follow-up of anal mucosa dysplastic lesions. All participants were attended at Virgen de las Nieves University Hospital (HUVN) of Granada, after referral from Infectious Disease Units of the HUVN of Granada and Hospital Complex of Jaen (Jaen, Spain). This study was approved by the ethical committee of the coordinating center. All patients had given consent to the use of their data for research purposes, and all data were gathered in accordance with Spanish personal data protection legislation (Organic Law 3/5 December 2018).

The inclusion criterion was to be MSM-LHIV aged over 17 years. Exclusion criteria were being a heterosexual man or woman living with HIV and having a history of anal canal neoplasm in the previous five years.

At the baseline visit (V0), patients were informed about the conditions and objectives of this investigation, and data were gathered on their age, history of perianal-genital condylomas, number of sexual partners throughout life, number of sexual partners over past 12 months, age at onset of sexual relations, utilization of condoms and their percentage utilization, smoking (yes/no and packs/year), alcohol consumption (yes/no and standard drink units, SDUs), injection drug use (IDU), ex-IDU, nationality, schooling, months with HIV diagnosis, CDC-classified HIV stage, months under antiretroviral treatment (ART) and lines used, virological failure (RNA ≥ 50 copies/mL in ≥ 2 determinations during previous 6 months), CD4 nadir, CD4 and CD8 lymphocyte counts, viral load at HIV diagnosis, and the presence of other infections, including chronic hepatopathy by hepatitis B virus (HBV) or hepatitis C virus (HCV), syphilis, other sexual transmitted infections (STIs), perianal-genital warts, and latent, treated, or active tuberculous infection. Information was also collected on CD4 and CD8 cell counts, CD4/CD8 ratio, and viral load at V0.

At the same visit, cotton swabs impregnated with physiological saline were used to take two anal canal mucosal samples: one for HPV detection and genotyping by qualitative polymerase chain reaction (PCR) (Linear Array HPV Genotyping Test) with a "GeneAmp PCR System 9700" thermocycler (Applied Biosystems, Roche, Switzerland), and the other for thin-layer cytological study with a ThinPrep 2000 Processor (Hologic, Mississauga, Canada). Both samples were immersed in thin-layer liquid and sent to the hospital pathology laboratory for analysis. Genotypes 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51–53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, and 82 were considered high risk (HR-HPV), and genotypes 6, 11, 34, 40, 42–44, 54, 55, 57, 61, 70–72, 81, 83, 84, and 89 low risk (LR-HPV). Genotypes 39, 45, 59, and 68 were classified as subspecies of genotype HPV 18 and genotypes 31, 33, 35, 52, 58, and 67 as subspecies of HPV 16 [23].

After an interval of 4–12 weeks, participants underwent rectal inspection and digital rectal examination followed by high-resolution anoscopy (HRA) with a Carl Zeiss 150 fc[®] colposcope (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany), introducing a transparent disposable anoscope through which 5 mL acetic acid was instilled and left for around 3 min, removing it for examination of the mucosa. Next, 5% Lugol's iodine was instilled for 1 min and the anoscopic examination was repeated. Samples were taken from quadrants of apparently normal mucosa and from areas with Lugol-negative aceto-white lesions. Biopsies were performed with endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

Patients with normal anoscopy or LSIL(AIN1) were followed up at one year with cytology, HPV PCR, and anoscopy studies. Patients with HSIL either underwent mucosectomy by electrical scalpel (offered from May 2010 onwards) in the Coloproctology Unit of the General Surgery Department or self-administered 5% imiquimod three times a week for 16 weeks (offered from 2014 onwards). Anoscopy was performed in these patients at the end of their treatment, scheduling a follow-up at one year if the outcome was normal/LSIL or retreatment if HSIL, and referring the patient to the hospital oncology department if anal cancer was detected. Information was gathered at the follow-up visit on the number of sexual partners in the previous 12 months, the emergence of STIs (conducting syphilis serol-

ogy in all patients but ordering PCR and anal-urethral exudate culture solely in patients with symptoms or infected partners), genital/anal condylomas, ART experience (change, virological failure, adherence rate), CD4 and CD8 lymphocyte counts, CD4/CD8 ratio, and HIV viral load.

In the cytology study, the Bethesda classification [24] was used to categorize lesions as atypical squamous cells (ASC), atypical squamous cells—high (ASC-H), LSIL, or HSIL. The study variable “abnormal cytology” includes ASCUS, LSIL, or HSIL. In the histology study, the proposal of the Lower Anogenital Squamous Terminology (LAST) Standardization Project for HPV served to classify lesions as LSIL (AIN1/condyloma), HSIL (AIN2, AIN3, C. in situ), or invasive carcinoma (ASCC) [25]. The study variable “HSIL plus” includes anal lesions ranging from HSIL to invasive cancer (high-grade SIL/cancer).

Statistical Analysis

In descriptive analysis, means, standard deviations, medians, and percentiles were calculated for quantitative variables and absolute and relative frequencies for qualitative variables. In bivariate analyses, the Student’s *t*-test for independent samples was applied for quantitative variables when normally distributed according to the Kolmogorov–Smirnov test and the Mann–Whitney U test when non-normally distributed. Qualitative variables were analyzed with Pearson’s chi-square test or, when application criteria were not met, Fisher’s test. Multiple logistic regression analysis was then performed, entering variables that were significant in bivariate analyses or considered relevant in the literature. SPSS 21.0 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) was used for data analyses, and the level of significance was 0.05 in all tests.

Author Contributions: Conceptualization C.H.-T., methodology, C.H.-T. and C.M.G.-M.; software, C.M.G.-M.; validation, J.L.-H. and I.C.-G. formal analysis, C.H.-T., investigation, C.H.-T., C.M.G.-M., I.C.-G. and P.G.-R.; data curation, J.L.-H., M.O.-M.B. and P.G.-R.; writing—original draft preparation, C.M.G.-M.; writing—review and editing, C.H.-T.; visualization, M.O.-M.B., J.L.-H., P.G.-R. and I.C.-G.; supervision M.O.-M.B. and J.L.-H.; project administration, C.H.-T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Granada (CEIM/CEI of Granada); code: 0098-N-22.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The researchers confirm the accuracy of the data provided for the study, as well as their availability.

Acknowledgments: The authors are grateful to the staff of Virgen de las Nieves University Hospital, particularly the Department of Pathology, for their support. They also thank the participants and their relatives for their generous cooperation.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Sendagorta-Cudós, E.; Burgos-Cibrián, J.; Rodríguez-Iglesias, M. Infecciones genitales por el virus del papiloma humano. *Microbiol. Clínica* **2019**, *37*, 324–334. [[CrossRef](#)]
- Burd, E.M.; Dean, C.L. Human Papillomavirus. *Microbiol. Spectr.* **2016**, *4*, DMIH2-0001-2015. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Cameron, J.E.; Hagensee, M. HPV-Associated Oropharyngeal Cancer in the HIV/AIDS Patient. *Cancer Treat Res.* **2019**, *2019*, 131–181.
- Hidalgo-Tenorio, C.; García-Martínez, C.M.; Pasquau, J.; Omar-Mohamed-Balgahata, M.; López-Ruz, M.; López-Hidalgo, J.; Gil-Anguita, C. Risk factors for \geq high-grade anal intraepithelial lesions in MSM living with HIV and the response to topical and surgical treatments. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0245870. [[CrossRef](#)]
- Hidalgo-Tenorio, C.; de Jesus, S.E.; Esquivias, J.; Pasquau, J. Alta prevalencia e incidencia de lesiones precursoras de cáncer anal asociada a la infección por VPH en mujeres VIH positivas en la era tardía del TAR. *Microbiol. Clínica* **2018**, *36*, 555–562. [[CrossRef](#)]
- Wang, C.C.J.; Palefsky, J.M. HPV-Associated Anal Cancer in the HIV/AIDS Patient. *Cancer Treat Res.* **2019**, *2019*, 183–209.

7. Darwich, L.; Videla, S.; Cañadas, M.P.; Piñol, M.; García-Cuyàs, F.; Vela, S.; Molina-López, R.A.; Coll, J.; Sirera, G.; Clotet, B.; et al. Distribution of human papillomavirus genotypes in anal cytological and histological specimens from HIV-infected men who have sex with men and men who have sex with women. *Dis. Colon Rectum* **2013**, *56*, 1043–1052. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Sendagorta, E.; Herranz, P.; Guadalajara, H.; Bernardino, J.I.; Viguier, J.M.; Beato, M.J.; García-Olmo, D.; Peña, J.M. Prevalence of abnormal anal cytology and high-grade squamous intraepithelial lesions among a cohort of HIV-infected men who have sex with men. *Dis. Colon Rectum* **2014**, *57*, 475–481. [[CrossRef](#)]
9. Clarke, M.A.; Cheung, L.C.; Lorey, T.; Hare, B.; Landy, R.; Tokugawa, D.; Gage, J.C.; Darragh, T.M.; Castle, P.E.; Wentzensen, N. 5-Year Prospective Evaluation of Cytology, Human Papillomavirus Testing, and Biomarkers for Detection of Anal Precancer in Human Immunodeficiency Virus–Positive Men Who Have Sex with Men. *Clin. Infect. Dis.* **2019**, *69*, 631–638. [[CrossRef](#)]
10. Nemcova, J.; Cerna, K.; Rob, F.; Smahelova, J.; Tresnak Hercogova, J.; Marx, J.; Traxmandlova, I.; Ondic, O. Prevalence of high-risk human papillomavirus DNA and mRNA and its association with abnormal anal cytology in the Czech male anal cancer screening cohort. *Diagn. Cytopathol.* **2021**, *49*, 1188–1195. [[CrossRef](#)]
11. Piyathilake, C.J.; Badiga, S.; Kumar, R.; Crowley, M.R.; Burkholder, G.A.; Raper, J.L. A rigorous exploration of anal HPV genotypes using a next-generation sequencing (NGS) approach in HIV-infected men who have sex with men at risk for developing anal cancer. *Cancer Med.* **2020**, *9*, 807–815. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Hidalgo-Tenorio, C.; Rivero-Rodriguez, M.; Gil-Angueta, C.; Esquivias, J.; López-Castro, R.; Ramírez-Taboada, J.; de Hierro, M.L.; López-Ruiz, M.A.; Martínez, R.J.; Llaño, J.P. 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**, *10*, e0123590.
13. Kimura, C.M.S.; Nahas, C.S.R.; Silva-Filho, E.V.; Ribeiro, V.L.; Segurado, A.C.; Alcântara, F.F.P.; Ceconello, I.; Nahas, S.C. High-risk human papillomavirus test in anal smears: Can it optimize the screening for anal cancer? *AIDS* **2021**, *35*, 737–745. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Jongen, V.W.; Richel, O.; Marra, E.; Van Heukelom, M.L.S.; Van Eeden, A.; De Vries, H.J.C.; Cairo, I.; Prins, J.M.; Van Der Loeff, M.F.S. Anal Squamous Intraepithelial Lesions (SILs) in Human Immunodeficiency Virus–Positive Men Who Have Sex with Men: Incidence and Risk Factors of SIL and of Progression and Clearance of Low-Grade SILs. *J. Infect. Dis.* **2020**, *222*, 62–73. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Liu, Y.; Blakely, M.; Sigel, K.; Thin, T.H.; Hui, P.; Donovan, M.; Gaisa, M.M. Biomarker P16 predicts progression risk of anal low-grade squamous intraepithelial lesions. *AIDS* **2018**, *32*, 2309–2316. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Tong, W.W.; Jin, F.; McHugh, L.C.; Maher, T.; Sinclair, B.; Grulich, A.E.; Hillman, R.J.; Carr, A. Progression to and spontaneous regression of high-grade anal squamous intraepithelial lesions in HIV-infected and uninfected men. *AIDS* **2013**, *27*, 2233–2243. [[CrossRef](#)]
17. de Pokomandy, A.; Rouleau, D.; Ghattas, G.; Trottier, H.; Vézina, S.; Coté, P.; Macleod, J.; Allaire, G.; Hadjeres, R.; Franco, E.L.; 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*, 1174–1181. [[CrossRef](#)]
18. Siegenbeek van Heukelom, M.L.; Richel, O.; de Vries, H.J.; van de Sandt, M.M.; Beck, S.; van den Munckhof, H.A.; Pirog, E.C.; de Koning, M.N.; Prins, J.M.; Quint, K.D. Low- and high-risk human papillomavirus genotype infections in intra-anal warts in HIV-positive men who have sex with men. *Br. J. Dermatol.* **2016**, *175*, 735–743. [[CrossRef](#)]
19. Liu, Y.; Sigel, K.M.; Westra, W.; Gitman, M.R.; Zheng, W.; Gaisa, M.M. HIV-Infected Patients With Anal Cancer Precursors: Clinicopathological Characteristics and Human Papillomavirus Subtype Distribution. *Dis. Colon Rectum* **2020**, *63*, 890–896. [[CrossRef](#)]
20. Lin, C.; Franceschi, S.; Clifford, G.M. Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus, according to sex and HIV status: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* **2018**, *18*, 198–206. [[CrossRef](#)]
21. Liu, M.Z.; Hung, Y.P.; Huang, E.C.; Howitt, B.E.; Nucci, M.R.; Crum, C.P. HPV 6-associated HSIL/Squamous Carcinoma in the Anogenital Tract. *Int. J. Gynecol. Pathol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Pathol.* **2019**, *38*, 493–497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Guimerà, N.; Lloveras, B.; Lindeman, J.; Alemany, L.; van de Sandt, M.; Alejo, M.; Hernandez-Suarez, G.; Bravo, I.G.; Molijn, A.; Jenkins, D.; et al. The occasional role of low-risk human papillomaviruses 6, 11, 42, 44, and 70 in anogenital carcinoma defined by laser capture microdissection/PCR methodology: Results from a global study. *Am. J. Surg. Pathol.* **2013**, *37*, 1299–1310. [[CrossRef](#)]
23. Muñoz, N.; Bosch, F.X.; de Sanjosé, S.; Herrero, R.; Castellsagué, X.; Shah, K.V.; Snijders, P.J.; Meijer, C.J.; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 518–527. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Solomon, D.; Davey, D.; Kurman, R.; Moriarty, A.; O'Connor, D.; Prey, M.; Raab, S.; Sherman, M.; Wilbur, D.; Wright, T., Jr.; et al. The 2001 Bethesda System Terminology for Reporting Results of Cervical Cytology. *JAMA* **2002**, *287*, 2114–2119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Darragh, T.M.; Colgan, T.J.; Cox, J.T.; Heller, D.S.; Henry, M.R.; Luff, R.D.; McCalmont, T.; Nayar, R.; Palefsky, J.M.; Stoler, M.H.; et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: Background and Consensus Recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2012**, *136*, 1266–1297. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

