Detección y Genotipificación del Virus Papiloma Humano (VPH) en población masculina del departamento de Sucre

Julia María Perez Jiménez

Trabajo de grado para optar al título de Magíster en Biología

Director
PhD. Pedro José Blanco Tuirán

Universidad de Sucre
Facultad de Educación y Ciencias
Sincelejo
2016

Notas de aceptación:

Firma de presidente del jurado

Firma del jurado 2

Firma del jurado 3

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN 11
1. MARCO REFERENCIAL 13
1.1 Estado del arte 13
1.1.1 Virus del papiloma humano (VPH) 13
1.1.2 Cáncer de cuello uterino y VPH 13
1.1.3 VPH en hombres 14
1.2 MARCO TEÓRICO 17
1.2.1 Virus Papiloma 17
1.2.2 Historia 18
1.2.3 Estructura del genoma 18
1.2.4 Biología del VPH 21
1.2.5 Clasificación de los VPH 22
1.2.6 Inmunidad de la infección por VPH 23
1.2.7 Regulación del ciclo celular 23
1.2.8 Epidemiología 24
1.2.9 Manifestaciones clínicas 26
1.2.10 Diagnóstico 28
1.2.11 Tratamiento y profilaxis 29
1.3 Objetivo general 31
1.4 Objetivos específicos 31
METODOLOGÍA 32
1.5 Tipo y área de estudio 32
1.6 Selección de pacientes y tamaño de la muestra 32
1.7 Criterios de inclusión 33
1.8 Criterios de exclusión 33
1.9 Aspectos éticos 33
1.10 Obtención de la muestra biológica 33
1.11 Extracción del ADN viral 34
1.12 Valoración de la calidad del ADN 34
1.13 Detección de VPH 35

1.14 Genotipificación de VPH 16 y VPH 18 35
1.15 Diseño estadístico 36
RESULTADOS..... 37
1.16 Detección de VPH en muestras de genitales masculinos 37
1.16.1 Amplificación del gen β-globina humana..... 37
1.16.2 Detección de VPH con primers MY09/MY11..... 38
1.17 Genotipificación de VPH 39
1.17.1 Genotipificación de VPH16 y VPH18..... 39
1.18 Prevalencia de infección por VPH 41
1.18.1 Prevalencia general de VPH por municipio..... 41
1.18.2 Prevalencia de infección por VPH en surco balanoprepucial y escroto. 42
1.19 Factores de riesgo asociados a la infección por VPH..... 43
1.19.1 Variables sociodemográficas..... 43
1.19.2 Consumo de alcohol y tabaquismo 43
1.19.3 Comportamiento sexual..... 44
1.19.4 Asociación de factores de riesgo por regresión logística..... 44
DISCUSIÓN 45
CONCLUSIONES 56
PERSPECTIVAS..... 57
BIBLIOGRAFIA 58

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Encuesta epidemiológica.

Anexo 2: Consentimiento informado.

Anexo 3. Protocolo de extracción de ADN.

Anexo 4. Análisis de correspondencia múltiple para aspectos sociodemográficos.

Anexo 5. Análisis de correspondencia múltiple para el consumo de cigarrillo y alcohol.

Anexo 6. Análisis de correspondencia múltiple para variables de comportamiento sexual.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Secuencia de cebadores GH20/PC04. 35
Tabla 2. Secuencia cebadores MY09/11. 35
Tabla 3. Secuencia de sondas escorpión empleadas en la genotipificación de VPH16. 36
Tabla 4. Secuencia de sondas escorpión empleadas en la genotipificación de VPH18. 36
Tabla 5. Distribución del número de muestras aptas por β-globina. 37
Tabla 6. Distribución del número de muestras positivas para la amplificación de VPH. 38
Tabla 7. Prevalencia general de VPH oncogénicos. 39
Tabla 8. Prevalencia general de infección por VPH en tres municipios del departamento de Sucre. 42
Tabla 9. Prevalencia por zona anatómica en los tres municipios seleccionados en el departamento de Sucre. 43
Tabla 10. Análisis de regresión logística para factores de riesgo y la infección por VPH. 44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación tridimensional de la cápside de VPH. 17
Figura 2. Mapa genético de la región larga de control (RLC) de VPH. 19
Figura 3. Mapa genético de VPH..... 20
Figura 4. Representación esquemática de la infección por VPH de una capa epitelial. 22
Figura 5. Mapa del departamento de Sucre- Colombia. 32
Figura 6. Zonas anatómicas del pene para toma muestra. 34
Figura 7. Electroforesis de los productos de amplificación de PC04 y GH20. 37
Figura 8. Electroforesis de los productos de amplificación de MY09 y MY11..... 38

LISTA DE GRAFICAS

Gráfico 1. Diagrama de barras de la distribución de prevalencia de VPH por zona anatómica. 39
Gráfico 2. Diagrama de barras de la distribución de prevalencia de VPH oncogénico 16 y 18. 40
Gráfico 3. Detección de VPH 16 mediante PCR en tiempo real utilizando ADN obtenido de hombres infectados. 40
Gráfico 4. Detección de VPH 18 mediante PCR en tiempo real utilizando ADN obtenido de hombres infectados. 41
Gráfico 5. Diagrama de barras de la prevalencia de infección por VPH en Sincelejo, San Marcos y Tolú. 42

RESUMEN

El Virus Papiloma Humano (VPH) es uno de los virus más frecuentemente transmitidos por contacto sexual, se estima que más del 50% de la población ha adquirido la infección en algún momento de su vida, lo que la convierte en un grave problema de salud pública. Existen pocos datos sobre la prevalencia de esta infección en hombres debido a que la atención se ha centrado en la población femenina, lo que ha dejado de lado la importancia que tienen los hombres en la transmisión del virus. El objetivo del presente estudio es determinar la prevalencia de infección por VPH e identificar los genotipos 16 y 18 en hombres asintomáticos. Se analizaron 121 muestras de hombres asintomáticos pertenecientes a tres municipios del departamento de Sucre (Sincelejo, Tolú y San Marco). La detección del ADN viral se realizó por PCR convencional y la genotipificación se llevó a cabo mediante PCR en tiempo real con sondas tipo escorpión. Se obtuvo una prevalencia de infección de 73% en el municipio de Tolú, seguido de San Marcos 32,4% y Sincelejo con 29,8%. La prevalencia para los genotipos oncogénicos fue de 17,3% para VPH16 y de 19,0% para VPH18. Los posibles factores de riesgos asociados a la infección por VPH en este estudio fueron la edad de la primera relación sexual, haber contraído una infección de transmisión sexual (ITS), el consumo de tabaco y la edad. En este trabajo se puede concluir que la prevalencia de infección por VPH en hombres es alta y que la presencia de al menos un genotipo oncogénico en esta población puede aumentar el riesgo en sus parejas sexuales de adquirir una lesión maligna hasta el posible desarrollo de cáncer.

Palabras claves: Virus Papiloma Humano (VPH), hombres, genotipificación.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) infection is one of the most common sexually transmitted infections in the world, it is estimated that more than 50% of the population has acquired the infection at some point in their lives. The World Health Organization (WHO) warns that HPV infection is a serious public health problem and estimates the presentation of 445,000 new cases of cervical cancer annually, of which 80% occur in developing countries. There is little data on the prevalence of this infection in men because attention has focused mainly on the female population, leaving aside the importance that men have in transmitting the virus. The objective of the present study is to determine the prevalence of HPV infection and to identify genotypes 16 and 18 in asymptomatic men. 127 samples of asymptomatic men belonging to three municipalities in the department of Sucre (Sincelejo, Tolú and San Marco) were analyzed. Detection of viral DNA was performed by conventional PCR and genotyping was carried out by real-time PCR with specific scorpion probes. A 73% prevalence of infection was obtained in the municipality of Tolú, followed by 32.4% in San Marcos and 29.8% in Sincelejo. Prevalence for oncogenic genotypes was 17.3% for HPV16 and 19.0% for HPV18. Among the possible risk factors associated with HPV infection are the age of onset of sexual intercourse, contracting a sexually transmitted infection (STI), alcohol and tobacco use. In the present study we can conclude that the prevalence of HPV infection in men is high and that the presence of at least one oncogenic genotype in this population may increase the risk in their sexual partners of acquiring a malignant lesion until the possible development of cancer.

Keywords: Human Papilloma Virus (HPV), asymptomatic men, genotyping.

INTRODUCCIÓN

Los Virus Papiloma Humano (VPH) pertenecen a la familia *papillomaviridae*, estos son virus de ADN que infectan el epitelio estratificado de la piel y/o membranas mucosales de humanos y animales. Existen alrededor de 100 tipos de VPH, con potencial oncogénico diferente (Faridi, Zahra, Khan, & Idrees, 2011), siendo los tipos 16 y 18 los más prevalentes. Alrededor del 50% de las mujeres se infectan con VPH entre los 20 y 30 años de edad (Kjaer et al., 2008) y la infección persistente con estos virus puede permitir el desarrollo de neoplasias cervicales. Hasta la fecha se conoce el papel del VPH en cáncer cervical, en lesiones pre-malignas del cérvix, vulva y vagina (Khan et al., 2007).

En Colombia la prevalencia de infección por VPH en mujeres es alta, y a pesar de las campañas de vacunación y oportuno tamizaje, los casos de cáncer cervicouterino siguen en aumento, convirtiéndose en el segundo cáncer más común en la población femenina a nivel mundial y la principal causa de morbilidad y mortalidad (Sheng & Zhang, 2010). A pesar del importante papel que el hombre desempeña en la patogénesis del cáncer de cérvix, son pocas las investigaciones llevadas a cabo en esta población. Algunos autores reportan diferencias en las tasas de prevalencia infección por VPH en población masculina, debido principalmente a los métodos de diagnóstico empleados, la toma de muestra y la zona anatómica escogida (glande, surco balanoprepucial, escroto, uretra, prepucio, cuerpo del pene).

Las herramientas moleculares han cobrado gran impacto en los últimos años debido a su gran sensibilidad y especificidad; Actualmente la PCR en tiempo real es ampliamente utilizada y a pesar de su alto costo se ha convertido en una excelente herramienta para la detección y genotipicación de VPH (Abreu, Souza, Gimenes, & Consolaro, 2012). En el departamento de Sucre no existen estudios que reporten la prevalencia de VPH en hombres asintomáticos, así como tampoco los genotipos que puedan estar circulando en la región. Por esta razón los estudios encaminados a la detección del virus en esta población son de suma importancia para aclarar el papel que juegan los hombres en el ciclo epidemiológico de la infección por VPH.

Se realizó la detección y genotipificación de VPH por PCR y se analizaron los posibles factores de riesgo asociados a la positividad para estos virus, tales como comportamiento sexual, consumo de tabaco y alcohol, variables sociodemográficas, entre otros, esto con el objetivo de conocer la situación actual sobre la infección de VPH en hombres en el departamento de Sucre y llevar a cabo campañas educativas para el control y prevención.

1. MARCO REFERENCIAL

1.1 Estado del arte

1.1.1 Virus del papiloma humano (VPH)

Los *papilomavirus* son un grupo de virus que pertenecen a la familia *papovaviridae* y que comprenden más 120 genotipos. La investigación en estos virus inició hace más de 100 años cuando McFadyean y Hobday en 1896 demostraron la transmisión acelular de las verrugas en los perros. En humanos fue reportado por primera vez por Ciuffo, que publicó en 1907 la transmisión de verrugas comunes usando células libres infiltradas. El papilomavirus fue descrito en 1933 por Richard Shope y hasta los años 70 fue cuando por primera vez el genoma del papiloma humano es clonado en bacteria (Shope & Hurst, 1933). Sin embargo**,** el interés por la investigación en este campo resurgió hasta casi 80 años después, cuando se demostró la relación entre algunas infecciones específicas por virus del papiloma humano (VPH) y el cáncer de cuello uterino, basándose en técnicas empleadas previamente para detectar ADN del virus de Epstein-Barr en linfoma de Burkitt y en cáncer naso-faríngeo. En 1983 se descubrió mediante Southern blot, la presencia de ADN de VPH tipo 16 en cánceres de cuello uterino, descubrimiento que le otorgó a Harald zur Hausen el Premio Nobel de Medicina en 2008, junto con Luc Montagnier y Françoise Barré-Sinoussi, descubridores del VIH.

1.1.2 Cáncer de cuello uterino y VPH

Hasta la fecha se conoce que la infección por Virus Papiloma Humano es causa necesaria pero no suficiente para el desarrollo de cáncer de cuello uterino (CCU). Esta infección constituye un grave problema de salud pública, como lo evidencia la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual estima que cada año son diagnosticados aproximadamente 500,000 casos nuevos de cáncer de cérvix. Este cáncer es responsable de 190,000 muertes anuales, de las cuales, 80% ocurren en países en vía de desarrollo. En Colombia, el CCU es la principal causa de mortalidad por cáncer en edad reproductiva debido a que la enfermedad es detectada en la

mayoría de los casos en estadíos avanzados. Según datos de la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), para el año 2002 la patología presentó una incidencia anual de 36,4 nuevos casos por cada 100.000 mujeres y una tasa de mortalidad de 18,2/100.000, valores superiores al promedio de los países latinoamericanos. Numerosos estudios epidemiológicos han detectado diferencias en la prevalencia de infección por VPH, esto generalmente por el método de diagnóstico empleado.

1.1.3 VPH en hombres

En Colombia, al igual que en otros países, las políticas y programas de salud sexual y de la reproducción, y los esfuerzos en investigación se han concentrado en ejercer un amplio control epidemiológico de la infección en la población femenina, omitiendo el rol que el hombre cumple en el ciclo de infección. El problema en los hombres no ha sido evaluado completamente y se cree que el carácter asintomático de la infección en ellos es el responsable de la transmisión en mujeres, lo que los convierte en un posible reservorio, que contribuye a mantener los niveles de infección y de cáncer cervical. La existencia de reservorios de VPH potencialmente oncogénicos entre hombres es frecuentemente subclínica. Sin embargo existe una clara relación entre VPH de alto riesgo y cáncer (Hartwig, Syrjanen, Dominiak-Felden, Brotons, & Castellsague, 2012). El carcinoma de células escamosas del pene es un tumor maligno poco común, el cual representa menos del 1% de los canceres en hombres adultos en Norte América y Europa, pero en Asia, África y Sur América representa más del 10%. Algunos estudios han correlacionado VPH con neoplasias en otras áreas anogenitales, tales como carcinoma de células transicionales de vejiga, uretra, laringe, ano etc. La magnitud de la contribución del hombre al riesgo de desarrollar canceres relacionados con el VPH en la población, depende principalmente de dos factores: el patrón de conductas sexuales en la población y la prevalencia de VPH en la misma.

Desafortunadamente es poco lo que se conoce acerca de la historia natural de la infección por VPH en hombres, los estudios realizados hasta la fecha se han

centrado en la detección del virus por diferentes métodos de diagnóstico lo que ha proporcionado que los resultados y las tasas de prevalencia de la infección en estas investigaciones difieran significativamente. La variación en la prevalencia reportada es probablemente debido a las diferencias en las técnicas de muestreo, la población de estudio, los sitios genitales muestreados (escroto, glande, cuerpo del pene etc.), y los métodos para la detección de ADN del virus. En un estudio realizado por Anna Giuliano y colaboradores en Tucson y Florida (USA) reportaron una prevalencia de 52,8% en 290 hombres entre 18 y 44 años. En países latinoamericanos como México, diversos autores han reportado prevalencias de 8,5%, 44,6% y 57,3% (Aguilar et al., 2006; Lajous et al., 2005; Lazcano-Ponce et al., 2001). En Chile Guzmán et al.,(Guzmán et al., 2008) reportaron una prevalencia de 80%, así mismo un estudio realizado en Brasil se demostró una prevalencia de la infección de 72,1% por cualquier genotipo (Freire et al., 2014).

No solo las técnicas usadas para la detección de VPH han incurrido en las diferencias presentadas en las tasas de prevalencia si no también el tipo de muestra empleada en cada ensayo, así lo indica un estudio realizado por Aguilar et al.,(Aguilar et al., 2006) donde evalúan diferentes sitios anatómicos y concluyen que algunas zonas de genitales como meato y uretra no contribuyen de manera significativa para la detección y análisis de VPH. Otros autores sin embargo han demostrado que como mínimo, el cuerpo del pene y el glande/surco coronal deben ser muestreados en hombres heterosexuales y que las muestras de escroto, perianales, o muestras anales también debe incluirse para la detección óptima de VPH (Giuliano et al., 2007).

Por otro lado la asociación de infección con VPH y posibles factores de riesgos como consumo de alcohol, comportamiento sexual, fumar, entre otros, han sido ampliamente abordados en varias investigaciones. Schabath et al., en un estudio prospectivo multinacional demostró que hombres fumadores exhibían una alta incidencia y una mayor probabilidad de adquirir una infección genital por VPH (Schabath et al., 2014). Otro estudio realizado en el estado de Morelos- México en estudiantes hombres encontraron asociación estadística entre el inicio de relaciones

sexuales, enfermedades de transmisión sexual y relaciones con prostitutas con la infección de VPH (Vera-Uehara et al., 2014).

La importancia de la circuncisión en hombres como posible factor de protección ha sido ampliamente demostrada en diversos estudios. Un estudio multicéntrico llevado a cabo por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC) en hombres circuncidados y no circuncidados arrojó como resultado que los hombres circuncidados tienen tres veces menos probabilidad para albergar el VPH en el pene que los hombres no circuncidados.

Castellsagué y colaboradores (Castellsagué et al., 2002) demostraron que la circuncisión en hombres está asociada con una reducción en el riesgo de adquisición de VPH en el pene y en el caso de hombres con historia de múltiples parejas sexuales, una reducción del riesgo de cáncer cervical en su pareja femenina actual. Así mismo en un estudio realizado en Kenia reportaron que los hombres no circuncidados y con mayor número de parejas sexuales tienen mayor riesgo de adquirir VPH de alto riesgo (Backes et al., 2013).

Sin embargo algunos autores como Ginesa Albero et al., en un trabajo realizado en hombres de México, Brasil y Estados Unidos, reportaron que la circuncisión en esta población no está asociada con la incidencia y aclaramiento de la infección del virus, excepto para algunos genotipos, estos autores manifiestan que esto pudo deberse a las muestras utilizadas para la obtención del ADN que provenían de una combinación de exfoliado de pene y escroto lo que probablemente limitó la posibilidad de elucidar el verdadero efecto de la circuncisión en hombres en la zona distal del pene (Albero et al., 2014). Todas las investigaciones antes mencionadas están encaminadas a la detección del VPH en hombres, estimar su prevalencia y elucidar posibles factores de riesgos, sin embargo es poco lo que se ha realizado en nuestro país para determinar y conocer el verdadero rol del hombre como portador asintomático del Virus Papiloma Humano.

En Colombia se han realizado algunos estudios para detectar y genotipificar VPH en hombres y se espera que con los avances en diagnóstico molecular se puedan incrementar estos estudios y a la vez se establezca una técnica Gold estándar para la detección de este virus en hombres y de esta forma se puedan reducir las muertes

por cáncer de cérvix en nuestro país. El presente estudio se basó en la detección y genotipicación de VPH en hombres asintomáticos en tres municipios del departamento de Sucre con el fin de conocer la prevalencia, los posibles factores de riesgos asociados a la infección y por consiguiente generar campañas de prevención y control del cáncer de cérvix y pene.

1.2 MARCO TEÓRICO

1.2.1 Virus Papiloma

Los Virus Papiloma son los microorganismos responsables de las verrugas cutáneas y genitales que afectan al ser humano y a los animales. Los virus pertenecientes a este grupo están ubicados dentro de la familia *papillomaviridae*. Las partículas virales tienen un diámetro de 52-55 nm. Su genoma está compuesto por una doble cadena de ADN, constituida aproximadamente por 7.900 pares de bases, e incluida dentro de una cápside icosaédrica de 72 capsómeros, que contienen las proteínas L1 y L2 (Pfister, Nurnberger, Gissmann, & zur Hausen, 1981) (Figura1).

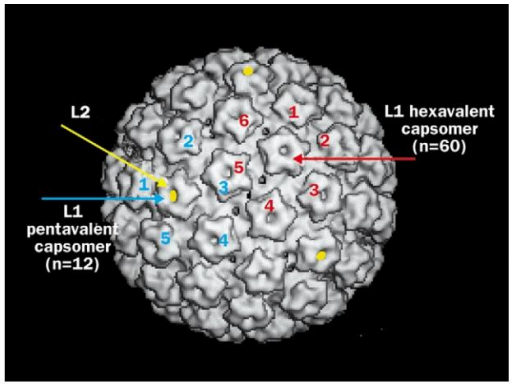


Figura 1. Representación tridimensional de la cápside de VPH.
Representación tridimensional de la cápside de VPH. Imagen obtenida por criomicroscopía electrónica (cryEM) de la cápside de VPH compuesta por 72 capsómeros en forma de estrellas. El VPH se compone de 60 capsómeros hexavalente y 12 capsómeros pentavalentes, que consiste en todos los pentámeros de L1. La proteína L2 no es visible por cryEM pero se cree que está asociado con los capsómeros pentavalentes (D. A. Galloway, 2003).

1.2.2 Historia

En 1959 Stone y colaboradores aislaron por primera vez el virus del papiloma a partir de un corte histológico de tumor de conejo el cual había sido mantenido en glicerina durante un año, de esta forma lograron comprobar que el virus de papiloma se puede ubicar en estratos celulares donde exista poca presencia de queratina y de igual forma pudieron establecer que la proliferación del virus inicia en el nucléolo de las células infectadas (R. S. Stone, Shope, & Moore, 1959).

Morgan et al., en 1964, cultivaron cortes de tejido obtenido de condiloma de mujer, que revelaron un aumento en la densidad celular, generado por la formación de capas múltiples de tejido, que hicieron pensar la existencia de fases en proliferación en la lesión preexistente (Morgan & Balduzzi, 1964).

Posteriormente Zur Hausen H. en 1976 fue el primero en relacionar y estudiar al Virus Papiloma Humano (VPH) como agente causal de cáncer del cuello uterino.

En Noviembre de 1991 la Organización Mundial de la Salud, basada en estudios epidemiológicos y de laboratorio, determinó oficialmente al Virus Papiloma Humano como agente asociado al desarrollo de cáncer cervical. A partir de esto se han instaurado programas de prevención en la población femenina, para darles a conocer la importancia de la realización de tamizajes periódicos una vez hayan iniciado relaciones sexuales (Bosch, Munoz, Shah, & Meheus, 1992)

1.2.3 Estructura del genoma

El ADN de los VPH es circular, de doble cadena, y contiene aproximadamente 7900 pares de bases. Su genoma se puede dividir en tres zonas: La región larga de control (LCR), la región temprana (E= Early), y la región tardía (L= Late) (Munger et al., 2004).

La región **LCR** corresponde al 15% del genoma viral y contiene los promotores que inician la replicación y controlan la trascripción. Esta región se encuentra dividida en dos dominios principales: el RE2, regulado por la presencia de la proteína viral E2, el promotor temprano; y el dominio CE (celular enhancer), un fuerte potenciador de la transcripción (Munger et al., 2004). La especificidad tisular de los papilomavirus reside en el CE, donde la participación conjunta de factores celulares promueve la

actividad del promotor temprano exclusivamente en células de origen epitelial (Munger et al., 2004). La región CE se compone de numerosos sitios de asociación específica de diversos factores de transcripción de origen celular, tales como AP-1, NF-1/CTF, Octa-1, TEF o F. Además, se ha descrito la presencia de un elemento de respuesta a glucocorticoides (ERG), el cual promueve la transcripción de VPH por un estímulo hormonal (Munger et al., 2004). (Figura 2).

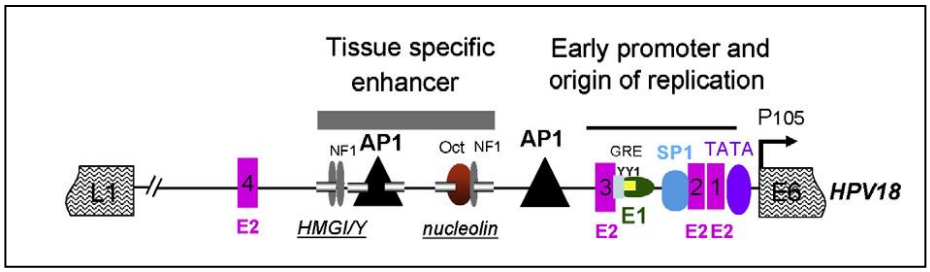


Figura 2. Mapa genético de la región larga de control (RLC) de VPH.

Representación esquemática de la región reguladora de HPV con los sitios de unión para factores de transcripción representados. Los cuatro sitios de unión de E2 se muestran y su disposición y el espaciamiento se conservan entre los tipos de HPV de la mucosa, así como la caja TATA de unión a la TFIID factor de transcripción general y los sitios de unión SP1. Se muestra la secuencia de núcleo potenciador que contiene AP1 que se ha demostrado estar involucrados en la regulación de varios otros tipos de VPH (Thierry, 2009).

La región temprana **(E= Early)** representa el 45% del genoma, contiene 7 marcos de lectura abierta que codifican para proteínas no estructurales, cuya función es controlar la replicación del DNA e inducir la transformación maligna de la célula huésped.

La proteína **E1** controla la replicación episomal del ADN, a través de la codificación de un modulador de (E1-M), y de un factor de replicación (E1-R). Mientras que esta zona del genoma se encuentre completa y funcional se produce una replicación normal, evitando la integración del DNA viral al genoma de la célula (Munger et al., 2004).

La proteína **E2** juega un papel muy importante en el ciclo de vida ya que posee la capacidad de reprimir o activar los promotores virales. Codifica un factor represor de transcripción (E2-TR) que inhibe la transcripción del promotor P97, el cual dirige la síntesis de E6 y E7 (Munger et al., 2004). La proteína **E4** interviene en la maduración de las partículas virales. Se cree que esta proteína inicia los cambios coilocíticos en las células epiteliales. Su acción se pierde cuando se integra el ADN

viral al genoma de la célula (Munger et al., 2004). La proteína **E5** es una pequeña proteína de 44 aminoácidos que se une a la membrana citoplasmática. La pérdida o mutación de esta región, evita la replicación episomal del DNA y favorece la integración del ADN al cromosoma (Munger et al., 2004).

La proteína **E6** y **E7** del VPH inactivan a las proteínas celulares *p53* y *pRB* respectivamente, las cuales están implicadas en el ciclo de división celular, perdiendo la actividad reguladora del mismo y facilitando los procesos de transformación celular, escasa en los VPH de bajo riesgo pero importante en los de alto riesgo. E7 evita la apoptosis de las células infectadas formando complejos con una proteína celular (E6-AP) y uniéndose a p53, una proteína supresora de tumores, a la cual degrada y la proteína E7 actúa como un "mitógeno" cuya función es facilitar la infección del virus (Munger et al., 2004).

La región **tardía (L)**, corresponde al 40% del genoma, contiene dos genes que codifican las proteínas estructurales de la cápside: L1, produce una proteína de 54,000 daltons que se produce a mayor cantidad, la cual se encuentra muy conservada entre los diferentes tipos de VPH, L2 es específica para cada tipo viral (Munger et al., 2004) (Figura 3).

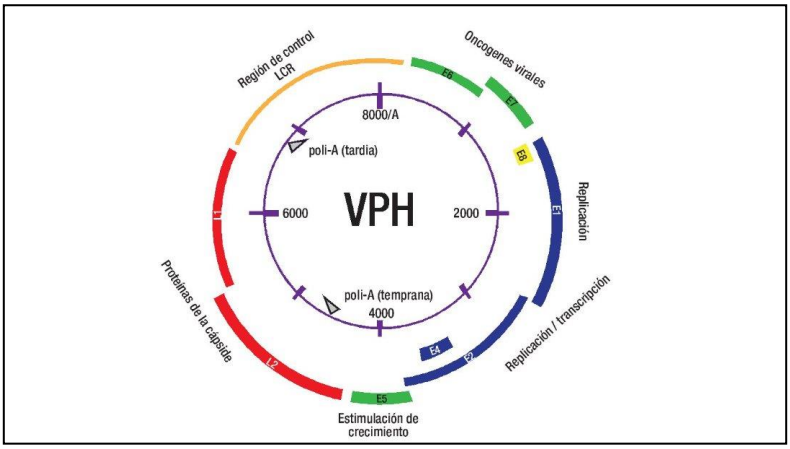


Figura 3. Mapa genético de VPH.
La región temprana del genoma de VPH contiene seis Marcos abiertos de lectura que corresponden a los genes E1, E2, E3, E4, E5, E6 y E7, los cuales codifican para las proteínas necesarias en la replicación viral y la transformación de los tejidos. La región tardía codifica para dos proteínas de la cápside viral: L1, la mayor proteína estructural; y L2, la proteína que se une al ADN encapsulado. Además se observa una región reguladora aguas arriba, también llamada la región larga de control (RLC), que contiene un origen de replicación y elementos reguladores de acción en cis de la transcripción (Margaret A. Stanley, 2012)

1.2.4 Biología del VPH

El Virus Papiloma Humano, al igual que otros virus, aprovecha la maquinaria celular para replicarse; El ciclo de vida del VPH está ligado al programa de diferenciación de la célula huésped infectada, el queratinocito, pero la expresión de altos niveles de proteínas virales y el ensamblaje viral ocurren exclusivamente en las capas superiores, es decir, en los estratos espinoso y granuloso del epitelio escamoso (Pett et al., 2006). Las células en la capa basal consisten en células troncales y células en tránsito que se están dividiendo continuamente y proveen un reservorio de células para las regiones suprabasales (Middleton et al., 2003).

La infección de estas células por el VPH conduce a la activación de la expresión en cascada de los genes virales, que provoca la producción de aproximadamente 20 a 100 copias extra cromosómicas de ADN viral por célula. Este promedio de número de copias permanece estable en las células basales indiferenciadas a través del curso de la infección (Bosch, Lorincz, Munoz, Meijer, & Shah, 2002; Middleton et al., 2003). La integración viral ocurre más comúnmente en las células que contienen este número de episomas. En estos, la expresión de genes virales es mínima; en particular, la expresión de los oncogenes E6 y E7 está bajo un control muy estricto, y sus proteínas son discretamente detectables. Cuando el queratinocito infectado entra al compartimento de diferenciación, sale del ciclo celular, ocurre una regulación positiva de la expresión de los genes virales, sobreviene la replicación del ADN viral y entonces el número de copias virales aumenta al menos a 1000 copias/célula, observándose abundante expresión de los genes tempranos E6 y E7 y de los genes tardíos(Longworth & Laimins, 2004). Las infecciones genitales por el VPH son transmitidas principalmente por contacto sexual, se considera que a través de micro- abrasiones del epitelio que expone a la infección viral a las células de la capa basal (Bosch et al., 2002) (Figura 4).

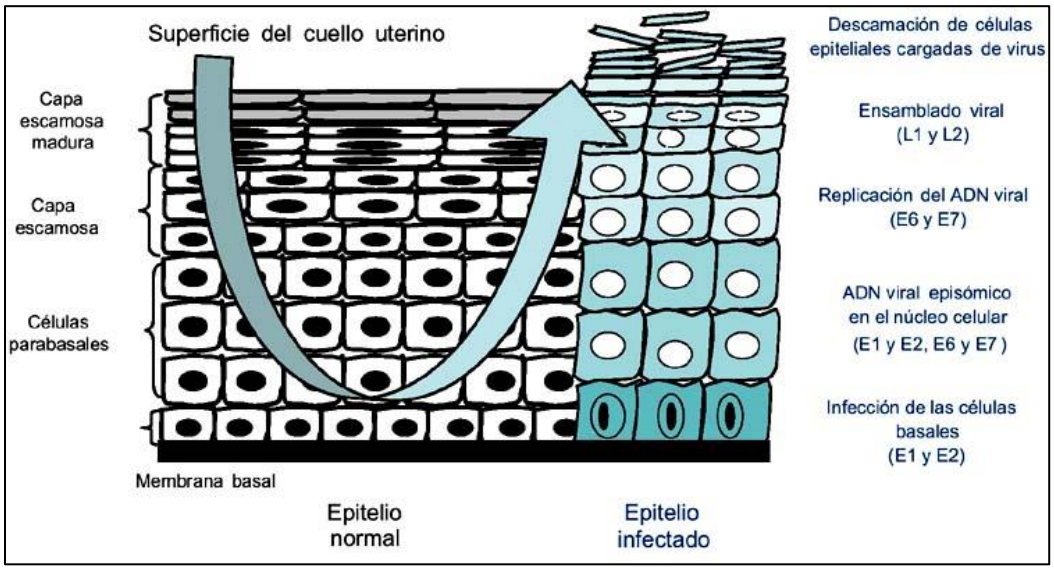


Figura 4. Representación esquemática de la infección por VPH de una capa epitelial.
Representación esquemática de la infección por VPH de una capa epitelial. La infección comienza con la unión de los viriones a las células basales. El genoma VPH se amplifica a 20-50 copias por los genes E1 y E2 que actúan como factores de transcripción. La expresión de las proteínas E6 y E7 en las células parabasales bloquea la quiescencia permitiendo de este modo la continuación de la proliferación celular, sin interrumpir la diferenciación de las células epiteliales. En las capas periféricas del epitelio, los genes tardíos se transcriben, y se produce el ensamblaje del virus. Los viriones se encuentran en las células que están destinados a ser liberados (Denise A. Galloway & Laimins, 2015) .

1.2.5 Clasificación de los VPH

Hasta el momento han sido secuenciados total o parcialmente más de 100 tipos y subtipos de VPHs. De todos ellos, aproximadamente 40 tipos se han aislado en lesiones intraepiteliales del tracto genital inferior (TGI) y entre 15 y 20, en carcinomas. Según su riesgo oncogénico, se clasifican en tipos de VPH de bajo riesgo (VPH-BR) y VPH de alto riesgo (VPH-AR) (Munoz et al., 2003)

Ciertos tipos virales pueden aparecer en lesiones cancerosas como resultado de una co-infección y no ser los agentes etiológicos causales de la transformación tumoral. Es indudable la gran prevalencia o implicación en las patologías de alto grado y carcinomas de los tipos 16 y 18 y los tipos 6 y 11 tienen efecto en las patologías de tipo condilomatoso (Torroella-Kouri et al., 1998).

1.2.6 Inmunidad de la infección por VPH

En las etapas previas al cáncer invasor, como son el condiloma acuminado, las neoplasias pre invasoras y Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC), el sistema inmunológico aún es capaz de combatir y promover la regresión o mantener el tumor localizado. Durante la regresión de las verrugas genitales se presentan infiltrados locales de células mononucleares, incluyendo linfocitos T citotóxicos, células asesinas naturales y macrófagos que invaden la epidermis y destruyen las células neoplásicas. Durante la evolución del tumor, las células tumorales adquieren nuevas lesiones genéticas que les confieren ventajas selectivas, para evadir mejor mecanismos de control del sistema inmune, hasta que éste se hace ineficiente para combatirlo. (Fierlbeck, Schiebel, & Muller, 1989).

1.2.7 Regulación del ciclo celular

El VPH, infecta las células basales del epitelio cervical y aprovecha el proceso de diferenciación del epitelio para sintetizar las proteínas que le permitirán ensamblar nuevas partículas víricas. Las células epiteliales infectadas activan su mecanismo de defensa celular consistente en una revisión de la secuencia del ADN antes de dividirse. Este proceso ocurre durante una fase del ciclo celular y está dirigido por una cascada de proteínas entre las que se destacan la p53 y la proteína Rb.

Cuando la célula localiza el ADN viral, en un proceso perfectamente regulado, intenta reparar el error y dado que este ADN es excesivamente grande como para ser eliminado, p53 y Rb dirigen a la célula infectada a una “muerte celular programada” por apoptosis, evitando así que esta célula sirva de propagadora de la infección. Los tipos de VPH-AR, se protegen de este mecanismo celular sintetizando unas proteínas que bloquean este sistema de defensa celular.

Los genes E6 y E7, transcriben un producto cuya traducción resultará en la producción de las proteínas E6 y E7 que respectivamente serán capaces de bloquear a p53 y Rb del ciclo celular y protegerse de la muerte de la célula por apoptosis, pudiendo de este modo seguir utilizándola como centro de producción de partículas virales (M. A. Stanley, 2001).

Como consecuencia del bloqueo del sistema de reparación de errores, la célula no solamente es incapaz de eliminar el ADN viral, sino que también se ve imposibilitada para arreglar errores intrínsecos al ADN celular, de modo que va acumulando alteraciones genéticas y además, como el proceso de apoptosis también se ha bloqueado, se convertirá en una célula inmortalizada con ADN en progresiva decadencia, es decir, en una célula con fenotipo neoplásico (M. A. Stanley, 2001).
Efectivamente, las infecciones con alta carga viral, en las que el sistema inmune no es competente para eliminar la infección tienen un riesgo más alto de transformación neoplásica. Sin embargo, se ha demostrado que ciertas infecciones persistentes con baja carga viral, generan un fenotipo tumoral efectivo.
El mecanismo de oncogénesis por VPH comienza con la expresión de E6 y E7 que bloquean a p53 y Rb y que inmortaliza a la célula comprometiendo, con ello, la funcionalidad de su ADN; sin embargo, ciertos experimentos han demostrado que la expresión basal de E6 y E7 en el VPH es muy baja ya que la proteína E2, por medio de la región reguladora LCR que mantiene prácticamente silenciada la expresión de las mismas. Ante esto, únicamente una infección con gran cantidad de virus sería capaz de producir las suficientes unidades de E6 y E7 como para iniciar este proceso (M. A. Stanley, 2001).

1.2.8 Epidemiología

En EE.UU, la infección por VPH es la ITS de origen viral más frecuente, en constante ascenso, pasando de 169.000 casos en 1966 a más de 1.150.000 en 1984; aproximadamente el 1% de los adultos sexualmente activos tienen condilomas acuminados y al menos el 15% de la población tiene infección subclínica, con las tasas más altas entre los 18 y 28 años de edad (Koutsky, 1997). En la actualidad, se observan cifras muy altas de esta infección; en mujeres mayores de 15 años, la tasa de infección se calcula en 270 millones portadoras en todo el mundo. En España, algunos autores piensan que es la infección más frecuente en este tipo de consultas sobre todo en su forma subclínica. En la mayoría de las mujeres con VPH, la infección se produce antes de los 25 años, suele durar de 8-10 meses y en condiciones de inmunidad habituales es eliminada en la mayoría de los casos; sólo

persisten el 10% de las infecciones a los 35 años. Estos son los casos que deben ser seguidos más de cerca en la consulta de Ginecología ya que son las enfermas que pueden desarrollar procesos neoplásicos del área genital (Franco, Villa, Ruiz, & Costa, 1995). La transmisión del VPH se produce habitualmente durante las relaciones sexuales, sin embargo, se han reportado algunas situaciones y circunstancias en las que la infección se puede transmitir por vía extra sexual. Es conocida la transmisión vertical, durante el parto. Se ha demostrado que en niños y adultos, algunos genotipos del 1-4, se pueden transmitir a través de los dedos contaminados, por auto inoculación, produciéndose verrugas en el área anogenital sin que hayan tenido que existir abusos sexuales (Fairley, Gay, Forbes, Abramson, & Garland, 1995; Handley et al., 1997). Recientemente algunos trabajos han puesto de manifiesto la detección de VPH en la cavidad bucal y saliva de hombres y mujeres (Badaracco et al., 1998) por lo que no se puede excluir el contacto sexual no genital, lo que implica nuevas interrogantes epidemiológicas, diagnósticas y terapéuticas. Se ha descrito la existencia de VPH en espéculos vaginales (McCance, Campion, Baram, & Singer, 1986) en pinzas, guantes y en las puntas de las sondas de crioterapia, incluso después de la esterilización con antisépticos y limpieza con alcohol (Ferenczy, Bergeron, & Richart, 1989).

Por último se ha señalado la posibilidad de la transmisión a través de ropas y se ha detectado ADN de papillomavirus en el humo generado después de la vaporización de lesiones condilomatosas con láser (Wisniewski et al., 1990). De las situaciones anteriores se deduce la posibilidad del contagio del VPH por vía extra sexual en determinadas ocasiones, aunque la falta de contacto mucosa-mucosa, la escasa cantidad de partículas o la exposición del virus al medio ambiente hacen difíciles estas modalidades de contagio, que solamente podrían explicar una pequeña cantidad de casos pero no la mayoría, que se producen por vía sexual (Mindel & Tideman, 1999).

Los genotipos más frecuentes que se aíslan en el varón están en relación íntima con la forma clínica que presentan. Cuando existen condilomas acuminados, los genotipos 6 y 11, debajo riesgo oncogénico, son los más habituales. En cambio, en las lesiones preneoplásicas y neoplásicas se encuentran con más frecuencia los

genotipos 16, 18, 31 y 33, considerados de alto riesgo oncogénico. En infecciones subclínicas y latentes se pueden encontrar genotipos de alto o bajo riesgo y no es infrecuente una co-infección simultanea (Aznar, Ojeda, Torres, Palomares, & Rodriguez-Pichardo, 1993; Brown, Schroeder, Bryan, Stoler, & Fife, 1999) siendo habitual que en el transcurrir del tiempo tengan una diferente expresividad clínica o que puedan quedar latentes, incluso el varón puede permanecer como un simple portador sin que llegue a manifestarse la enfermedad, ni siquiera a nivel subclínico e incluso las partículas virales puedan llegar a desaparecer.

La situación en Colombia es similar a la de los países en desarrollo, siendo este la principal causa de cáncer y el primero en las mujeres (16% de todos), con una incidencia según las regiones que varía de 44 a 88 x 100 000, con un pico de incidencia más temprano de 40 a 50 años y es la principal causa de muerte en las mujeres de 35 a 44 años.

1.2.9 Manifestaciones clínicas

La gran mayoría de las infecciones por VPH son benignas, y la clínica que puede producir puede manifestarse de múltiples formas:

- La forma más aparente consiste en la presencia de ***condilomas acuminados*** o verrugas genitales. Suelen localizarse en el surco balanoprepucial, corona de glande, frenillo, dorso del pene y a veces en el meato uretral y/o en la fosa navicular. Menos frecuentes son los *condilomas planos*. Es frecuente, la presentación multifocal y su presencia en la zona anoperineal.
- La ***Balanopostitis*****,** se aprecian alteraciones inflamatorias en el pene con apariencia muy similar a las originadas por *Candida albicans,* en las que se detecta el ADN viral (Petersen, Larsen, & Albrectsen, 1991) .
- La ***infección subclínica*****,** se expresa en las denominadas lesiones acetoblancas que se pueden detectar por medio de la penescopia o genitoscopia (Wikstrom et al., 1992) con amplificación mediante lupa, previa preparación de la zona afecta con una solución de ácido acético al 5% durante 3-5 minutos. Esta situación es la que presentan la mayoría de los hombres cuyas parejas femeninas tiene infección por VPH. Al igual que los condilomas, estas lesiones pueden asentar en distintas

localizaciones; como el prepucio, surco balanoprepucial, glande, meato uretral y la fosa navicular. Al ser una infección multifocal hay que considerar también puede afectarse la zona anogenital.

- No es infrecuente el hallazgo de VPH en hombres sin ninguna sintomatología incluso sin lesiones acetoblancas ni alteraciones citológicas lo que nos llevaría al concepto de *portador asintomático* (Wikstrom, Popescu, & Forslund, 2000)
- La ***papulosis bowenoide*** (Pala, Poleva, & Vocatura, 2000*)* y otras *lesiones precancerosas**,*** como la Eritroplastia de Queirat.
- Respecto al papel del VPH en los ***tumores urogenitales***, la asociación entre infección por VPH y el cáncer genital femenino, en concreto del cérvix uterino, ha impulsado el estudio de su participación en otros tumores urogenitales, y en concreto en el cáncer genital masculino.

En el ***cáncer de pene***, los datos existentes apoyan el papel etiológico de la infección por VPH (Griffiths & Mellon, 1999), y al igual que ocurre en el cáncer genital femenino, los genotipos más asociados son el 16 y el 18 (Cupp, Malek, Goellner, Smith, & Espy, 1995). Factores étnicos pueden explicar en algunos casos la dominancia de un genotipo sobre otro, tal y como ocurre con el 18 en Brasil (Villa & Lopes, 1986). Al igual que en cáncer de cérvix uterino, existen otra serie de factores que colaboran con VPH en la génesis del cáncer de células escamosas de pene; el tabaco, la inmunosupresión, y la deficiente higiene genital.

En relación al ***cáncer anal*** parece existir una clara relación entre este y los VPH con genotipos 16 y 18, sobre todo en enfermos homosexuales VIH (+). En este grupo de enfermos, la infección por VPH es más frecuente que en los VIH (-), y además, desarrollan lesiones preneoplásicas del canal anal con más frecuencia que los VIH (-). En el cáncer de células escamosas de uretra, los datos son escasos aunque apuntan a una participación de los genotipos más oncogénicos, y concretamente el 16 (Wiener, Liu, & Walther, 1992). Hasta la fecha el papel etiológico del VPH en la patología tumoral, está claramente definido en el cáncer genital femenino, sobre todo a nivel de cérvix uterino de los genotipos 16 y 18 (Durst, Gissmann, Ikenberg, & zur Hausen, 1983; Munoz et al., 2003). En el varón los datos apoyan el papel de VPH en cáncer de pene y en cáncer anal**;** siendo muy

contradictorios los que sugieren la relación de VPH con el cáncer de vejiga y próstata y muy escasos respecto a otras localizaciones tumorales genitales (Griffiths & Mellon, 2000).

1.2.10 Diagnóstico

El diagnóstico de la infección por VPH se puede realizar por métodos inmunológicos citológicos, histológicos, histoquímicos, o por procedimientos de biología molecular. Los métodos inmunológicos ponen de manifiesto la presencia de anticuerpos frente a VPH. Esta determinación tiene una limitada sensibilidad, produce resultados de difícil interpretación y habitualmente no permite diferenciar los distintos genotipos que producen la infección. En todo caso, su utilización estaría dirigida fundamentalmente a estudios epidemiológicos y de prevalencia de la infección. No se recomiendan para el diagnóstico de la enfermedad.

Los métodos citológicos se han utilizado principalmente para el diagnóstico de la enfermedad en la mujer, y ponen de manifiesto las alteraciones morfológicas que la infección por VPH puede producir, destacando presencia de disqueratosis, paraqueratosis, células gigantes y sobre todo de coilocitos, células muy sugestivas de esta infección. Junto con la colposcopia sigue constituyendo el diagnóstico de aproximación a la infección por VPH en la mujer, a veces complementado por los métodos inmunohistoquímicos. En el varón se deben estudiar aquellas lesiones sugestivas de condilomas o las denominadas acetoblancas, con la ayuda de la penescopia. Se debe proceder a un cepillado enérgico de la piel del prepucio, frenillo, surco balanoprepucial, glande, meato uretral, fosa navicular, y mucosa anoperineal o de aquellas zonas que la exploración clínica considere sospechosas. Las muestras de orina tienen menor rentabilidad (Lazcano-Ponce et al., 2001).

En el varón, el valor diagnóstico de la citología exfoliativa de las lesiones condilomatosas y, sobre todo, de las lesiones acetoblancas son de escaso valor. En la actualidad, el diagnóstico de certeza sobre las lesiones anteriores está basado en la detección del VPH por procedimientos de biología molecular y en concreto por dos métodos, la hibridación y la amplificación genómica mediante la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La hibridación realizada con dos tipos

de sonda múltiple, (una contiene genotipos de bajo riesgo y la otra contiene los de alto riesgo) tiene una limitada sensibilidad y no permite averiguar genotipo exacto, lo que conlleva a determinados problemas de tipo epidemiológico y social. Por el contrario, la PCR tiene una sensibilidad más elevada, ya que permite la detección de un escaso número de copias del ADN viral, y además permite la genotipificación individual del VPH (Trofatter, 1997).

1.2.11 Tratamiento y profilaxis

El tratamiento de la infección por VPH en el varón puede enfocarse desde el punto de vista médico y/o quirúrgico (Pinto & Mellinger, 1999). El tratamiento médico ha sido realizado con podofilina, ácido tricloroacetico, 5-fluouracilo e interferón alfa (local y/o sistémico). El tratamiento con cremas o soluciones de podofilina (0.15% ó 0.5% respectivamente) ha sido hasta ahora el de elección pero no ha estado exento de numerosos inconvenientes. En alguna ocasión se ha llegado a comentar que este tratamiento es frecuentemente doloroso, caro e insatisfactorio (K. M. Stone, 1995), frase que expresa las múltiples molestias que conlleva, su costo económico, y por último, los resultados inciertos que produce. Una reciente incorporación terapéutica, el imiquimod, inmunomodulador a través de la estimulación en la producción de citoquinas, aplicado 3 veces por semana durante 14-16 semanas, parece un fármaco prometedor en el tratamiento de los condilomas, pero no está exento de efectos colaterales, sobre todo eritema, ardor y prurito en casi la mitad de los pacientes (Beutner & Ferenczy, 1997; Trofatter, 1998). El tratamiento quirúrgico de los condilomas mediante cirugía convencional, electroterapia, crioterapia o últimamente con exéresis láser proporciona buenos resultados, con mayor eficacia terapéutica que los tratamientos médicos (Schneede & Hofstetter, 2002).

Dentro de los aspectos preventivos de esta infección, está por definir la necesidad del estudio y tratamiento en hombres que son pareja de las mujeres con alteraciones citológicas sugestivas de lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cáncer de cérvix uterino. Es llamativo que después de meses o años de convivencia, la tasa de hombres con detección positiva sea inferior al 25 % y raros, los casos en que coincide el mismo genotipo en la pareja (Franceschi et al., 2002). Esto puede

significar que los métodos diagnósticos en el varón no son adecuados o que este puede eliminar la infección con más rapidez que las mujeres y además permanecer inmune a la reinfección de su propia pareja. Los datos anteriores, apoyarían, inicialmente, sólo el tratamiento de los hombres positivos, surgiendo numerosas dudas en el resto. La utilización de preservativos, puede disminuir la propagación de la infección (Manhart & Koutsky, 2002); parece obligada su recomendación cuando se ha demostrado la presencia del virus en el varón y durante el tiempo que se detecte, pero quedan numerosos interrogantes acerca de la conveniencia de su utilización después del terminar el tratamiento y en los hombres cuya pareja tiene VPH pero en ellos no se ha detectado. En las líneas anteriores permanecen gran cantidad de preguntas sin respuesta. Es probable que la utilización de las vacunas (Hughes, Garnett, & Koutsky, 2002; Manhart & Koutsky, 2002), actualmente en desarrollo, pueda a medio plazo, arrinconar numerosas cuestiones que hoy nos planteamos y que las próximas generaciones se vean libres de esta infección y de las secuelas de todo tipo que han originado.

1.3 OBJETIVO GENERAL

Detectar e identificar los genotipos oncogénicos 16 y 18 de Virus Papiloma Humano (VPH) presentes en hombres del departamento de Sucre.

1.4 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la prevalencia de infección por Virus Papiloma Humano en hombres asintomáticos en muestras de escroto y surco balanoprepucial.

- Identificar los genotipos de alto grado oncogénico VPH16 y VPH18 mediante PCR en tiempo real en muestras positivas para VPH.

- Correlacionar los posibles factores de riesgo con positividad para VPH en población masculina del departamento de Sucre.

METODOLOGÍA

1.5 Tipo y área de estudio

Se llevó a cabo un estudio de tipo descriptivo transversal donde se evaluó la prevalencia de VPH16 y VPH18 en muestras genitales de hombres asintomáticos a la infección por VPH. Se seleccionó como área de muestreo los municipios de Sincelejo, Tolú y San Marcos en el departamento de Sucre (Figura 5). Para la selección de la población se ubicaron los principales centros de salud de cada municipio para la recepción y toma de muestra.

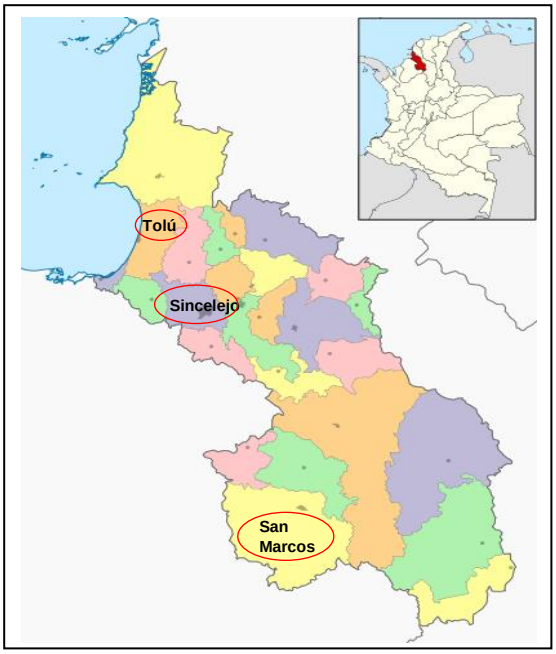


Figura 5. Mapa del departamento de Sucre- Colombia.
Se señala con círculos de color rojo los municipios que fueron seleccionados para captar los participantes del estudio y tomar las respectivas muestras biológicas.

1.6 Selección de pacientes y tamaño de la muestra

Se realizó un muestreo por conveniencia de 127 individuos de tres municipios del departamento. Los participantes eran hombres sexualmente activos y que no presentaron al momento de la inspección lesión compatible con VPH, esto con el fin de detectar portadores subclínicos de VPH. Las muestras fueron tomadas por un profesional en el área de la salud durante un periodo de 12 meses comprendidos

desde mayo de 2012 hasta mayo de 2013. Para establecer los posibles factores de riesgos asociados a la infección, fueron colectados datos mediante encuestas clínicas y epidemiológicas para recopilar información sobre datos demográficos, hábitos saludables y comportamiento sexual (anexo 1).

1.7 Criterios de inclusión

Hombres asintomáticos y que aceptaron diligenciar el formato de consentimiento informado.

1.8 Criterios de exclusión

Hombres que no dieron su consentimiento para participar en el presente estudio o que presentaban alguna lesión sugestiva para VPH.

1.9 Aspectos éticos

Este estudio se realizó con el aval del comité de ética de la Universidad de Sucre para realizar investigación científica en muestras humanas. Todos los pacientes que aprobaron participar en el estudio firmaron un acta de consentimiento informado para el procesamiento de la muestra según dicta la Resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, Dirección de Desarrollo Científico y Tecnológico (Anexo 2).

1.10 Obtención de la muestra biológica

Las muestras biológicas fueron obtenidas a partir de dos zonas en genitales masculinos (surco balanoprepucial y escroto) (Figura 6). Estas muestras fueron tomadas mediante la exfoliación de células epiteliales con un citocepillo humedecido con buffer fosfato salino (PBS) 1X. Las muestras fueron separadas en tubos cónico estéril previamente rotulados con el número del participante. Los viales contenían 1.5 ml de PBS 1X para su conservación y transporte al laboratorio Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Sucre. Las muestras biológicas fueron almacenadas a -20°C para su posterior procesamiento.

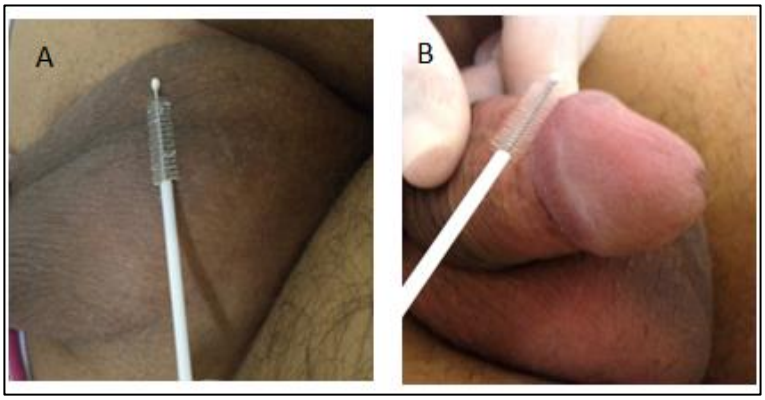


Figura 6. Zonas anatómicas del pene para toma muestra.
Zonas anatómicas del pene para toma muestra. Se tomaron dos zonas del pene para la toma de muestra mediante exfoliación celular con un citocepillo. En el panel de la izquierda (A) se muestra imagen de la toma de muestra en el escroto; a la derecha (B) se muestra imagen del cepillado en el surco balanoprepucial.

1.11 Extracción del ADN viral

El aislamiento del ADN se realizó a partir de las muestras obtenidas del surco balanoprepucial y el escroto mediante el uso del kit de extracción QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, Germany). Para proceder a la extracción con el kit se realizó previamente la descongelación de las muestras mediante agitación en vórtex por 1 minuto para desprender el material biológico adherido a las fibras del citocepillo, luego se centrifugó a 8000rpm x 1 minuto, y posteriormente se retiró el citocepillo con una pinza estéril, y se repitió el proceso con el vórtex por 1 minuto para homogenizar la muestra. Las condiciones de extracción de ADN fueron realizadas como lo indica el protocolo del fabricante (Anexo 3). Se determinó la cantidad y pureza de ADN purificado mediante la cuantificación por espectrofotometría a 260/280nm utilizando el BioSpectrometer (eppendorf).

1.12 Valoración de la calidad del ADN

La calidad de ADN de las muestras se evaluó mediante la amplificación por PCR convencional de una región de 260pb del gen β-globina humana usando dos oligonucleótidos PC04 y GH20 (Tabla 1). El coctel de PCR tenía un volumen final de 25 µl que contenía PCR buffer 1x, 0,2Mm dNTPs, 2 mM MgCl2, 0,2 µM de cada primer PCO4 y GH20, 1U de Platinum® Taq DNA Polymerase y 5ul de ADN. El perfil térmico fue el siguiente: 94 °C x 3 min, 94°C x 1 min, 55 °C x 1 min, 72 °C x 1 min,

por 40 ciclos, y una temperatura final de extensión de 72 °C x 4 min. Los productos de PCR fueron visualizados en gel de agarosa al 1,5 %.

Primer	Longitud	Posición	Secuencia (5'-3')
GH20	20 pb	Forward	GAAGAGCCAAGGACAGGTAC
PC04	20 pb	Reverse	CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC

Tabla 1. Secuencia de cebadores GH20/PC04.
Secuencia de cebadores GH20/PC04. La tabla describe la pareja de cebadores empleados para la amplificación de una región 260pb del gen β-globina.

1.13 Detección de VPH

Se amplificó un fragmento de 450 pb pertenecientes a la región L1 del genoma de VPH mediante los cebadores consenso MY09 y MY11 (Tabla 2), descritos por Resnick y cols (Resnick et al., 1990). La mezcla de reacción contenía PCR buffer 1x, 0,2 mM dNTPs, 2 mM MgCl2, 0,2 µM de cada cebador, 1Ude Platinum® Taq DNA Polymerase y 5ul de ADN. El perfil térmico utilizado para la amplificación por PCR fue: 94 °C x 3 min, 94°C x 1 min, 56 °C x 1 min, 72 °C x 1 min, por 40 ciclos, y una temperatura final de extensión de 72 °C x 4 min. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1,5 %. Se utilizó como control negativo agua ultrapura y como control positivo ADN de VPH (Papillomavirus type 16 y 18 (Ca Ski cells).

Primer	Longitud	Posición	Secuencia (5'-3')
MY09	20 pb	Forward	GCT CCM ARR GGA WAC TGA TC
MY11	20 pb	Reverse	GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG

Tabla 2. Secuencia cebadores MY09/11.
Secuencia cebadores MY09/11. La tabla describe la pareja de cebadores empleados para la amplificación de una región de 450pb de la región L1 de VPH.

1.14 GENOTIPIFICACIÓN DE VPH 16 Y VPH 18

La identificación de los genotipos VPH16/18 se llevó a cabo mediante PCR en tiempo real donde se emplearon sondas específicas tipo Escorpión con el primer reverso GP5+ (Tabla 3 y 4). El volumen final de reacción fue de 10ul donde utilizó

9ul de FastStart Universal probe Master (Roche S.A) y 1ul de ADN. Se utilizó como control positivo un 1ul de Papillomavirus type 16 y 18 (Ca Ski cells) y como control negativo 1ul de agua ultrapura. El diseño de los primers y las condiciones térmicas de la PCR fueron realizadas según las condiciones reportadas por Keithw Hart, et al., (Hart et al., 2001).

Primer	Longitud	Posición	Secuencia (5'-3')
VPH-16 Sc16	29 pb	Forward	**FAM-**cgcggAGTACCTACGACATGGGccgcgg-**MR-HEG**GAAAAATAAACT
GP5+	23 pb	Reverse	TTTgTTACTgTggTAgATACTAC

Tabla 3. Secuencia de sondas escorpión empleadas en la genotipificación de VPH16.
FAM= Fluoróforo (6-carboxilfluoresceína) MR= Apagador de la fluorescencia (Rojo metilo) HEG= Bloqueador de PCR (etilen glicol).

Primer	Longitud	Posición	Secuencia (5'-3')
VPH-18 Sc18	32 pb	Forward	**FAM**-cgcggcAGCAGTATAGCAGACATGgccgcgg-**MR-HEG**GAAAAATAAATCATATTC
GP5+	23 pb	Reverse	TTTgTTACTgTggTAgATACTAC

Tabla 4. Secuencia de sondas escorpión empleadas en la genotipificación de VPH18.
FAM= Fluoróforo (6-carboxilfluoresceína) MR= Apagador de la fluorescencia (Rojo metilo) HEG= Bloqueador de PCR (etilen glicol).

1.15 DISEÑO ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de proporciones para establecer la prevalencia de la infección por VPH en población masculina. Para la asociación entre factores de riesgos y la infección con VPH se realizó un análisis correspondencia múltiple (ACM) y una regresión logística con el fin de obtener un modelo reducido de los factores de riesgo estadísticamente más significativos con relación a la infección por VPH. Estos análisis se realizaron usando el software estadístico R.

RESULTADOS

1.16 Detección de VPH en muestras de genitales masculinos

1.16.1 Amplificación del gen β-globina humana.

Para la detección de Virus Papiloma Humano (VPH) se obtuvieron un total de 127 muestras distribuidas de la siguiente manera: 47 muestras en el municipio de Sincelejo, 40 muestras en el municipio de San Marcos y 40 muestras para el municipio de Tolú. De las 127 muestras procesadas 6 fueron negativas para una región de 260 pb del gen β-globina por lo tanto fueron eliminadas del estudio, lo que arrojó como resultado para el análisis de detección de VPH un total de 121 muestras (Tabla 5 y figura 7).

Municipio	N° muestras	Positivo β-globina (%)	Negativo β-globina (%)
Sincelejo	47	41 (87,23)	6 (12,77)
San marcos	40	40 (100)	-
Tolú	40	40 (100)	-
Total	127	121	6

Tabla 5. Distribución del número de muestras aptas por β-globina.
Se describe los resultados del análisis con el gen de la β-globina por municipio. Se indica el número de muestras positivas y negativas para la amplificación del gen y el total de muestras aptas para detección de VPH por PCR.

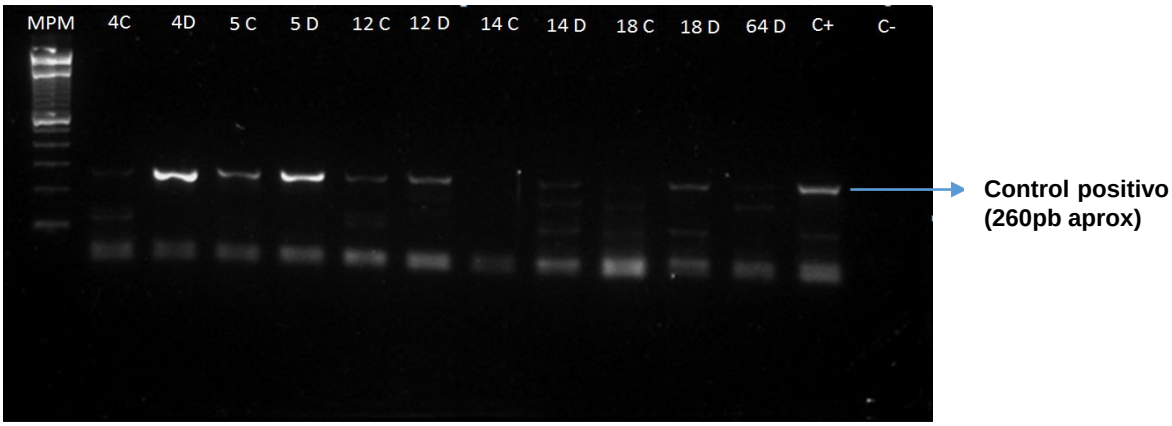


Figura 7. Electroforesis de los productos de amplificación de PC04 y GH20.
Corrido electroforético en gel de agarosa al 1,5% de los amplicones obtenidos por PCR utilizando cebadores para el gen de la β- globina humana (260pb). En el primer carril se observa el marcador de peso molecular (ZR 100pb DNA Marker), en los carriles del 2 al 12 excepto el carril 7, 9 y 12 se observa amplificación del gen constitutivo y en los carriles 13 y 14 se corrió un control negativo (agua destilada) y el control positivo (ADN sangre humana) respectivamente.

1.16.2 Detección de VPH con primers MY09/MY11

De las 121 muestras aptas para el análisis de detección de VPH por PCR convencional, solo 53 amplificaron un fragmento de 450pb que corresponde al gen L1 del virus (Figura 8). Los 53 casos positivos correspondían a individuos que presentaban infección en el surco balanoprepucial y/o escroto. (Tabla 6 y Gráfico 1).

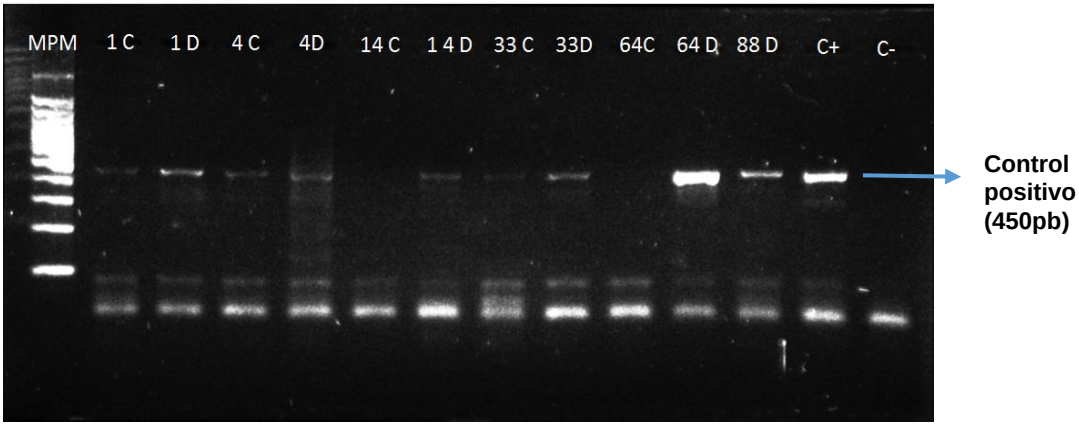


Figura 8. Electroforesis de los productos de amplificación de MY09 y MY11.
Corrido electroforético en gel de agarosa al 1,5% de los amplicones obtenidos por PCR utilizando cebadores genéricos MY09/MY11 para el gen L1 del VPH (450pb). En el primer carril se observa el marcador de peso molecular (ZR 100pb DNA Marker), en los carriles del 2 al 12 excepto el carril 6 y 10 se observa amplificación del gen constitutivo y en los carriles 13 y 14 se corrió un control positivo (Ca Ski cells de VPH 16 y 18) y un control negativo (agua destilada) respectivamente.

Amplificación de VPH por PCR convencional		
Zona Anatómica	**No. VPH Pos**	**Prevalencia (%)**
Surco balanoprepucial y escroto	53	43,80

Tabla 6. Distribución del número de muestras positivas para la amplificación de VPH.
Se observa la prevalencia de la infección por VPH y el número de individuos que presentaron la infección en ambas zonas del pene.

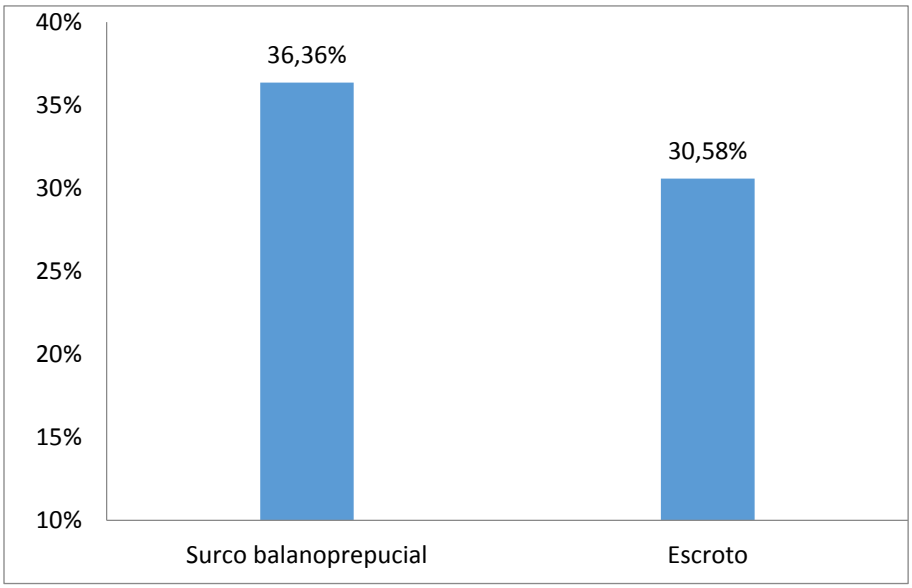


Gráfico 1. Diagrama de barras de la distribución de prevalencia de VPH por zona anatómica.
Prevalencia de infección de VPH por zona genital en los municipios de Sincelejo, Tolú y San marcos. En el gráfico se muestra que la zona del surco balanoprepucial tiene una mayor tasa de frecuencia en comparación con la frecuencia de detección visualizada en la zona del escroto

1.17 Genotipificación de VPH

1.17.1 Genotipificación de VPH16 y VPH18

Se utilizaron para el análisis sondas específicas tipo Escorpión para los genotipos VPH16 y VPH18, esto arrojó como resultado una prevalencia de 17,35% y 19,0% respectivamente (Tabla 7, grafico 2). Se consideraron positivas para VPH16 todas aquellas muestras que mostraron un ciclo umbral (CT) entre 60 y 70 (Gráfico 3). Para VPH 18 el CT fue entre 45 y 65 (Gráfico 4). Todas muestras con CT igual a 0 o por debajo del punto de corte establecido fueron consideradas negativas. El punto de corte se realizó mediante una curva de dilución del control positivo.

Departamento	VPH 16	Prevalencia %	VPH 18	Prevalencia %
Sucre	**21/121**	**17,35**	**23/121**	**19**

Tabla 7. Prevalencia general de VPH oncogénicos.
Se observa la prevalencia de los genotipos 16 y 18 en los municipios de Sincelejo, Tolú y San Marco, departamento de Sucre. Se observa el número de muestras positivas para la detección del genotipo entre el total de la población muestreada.

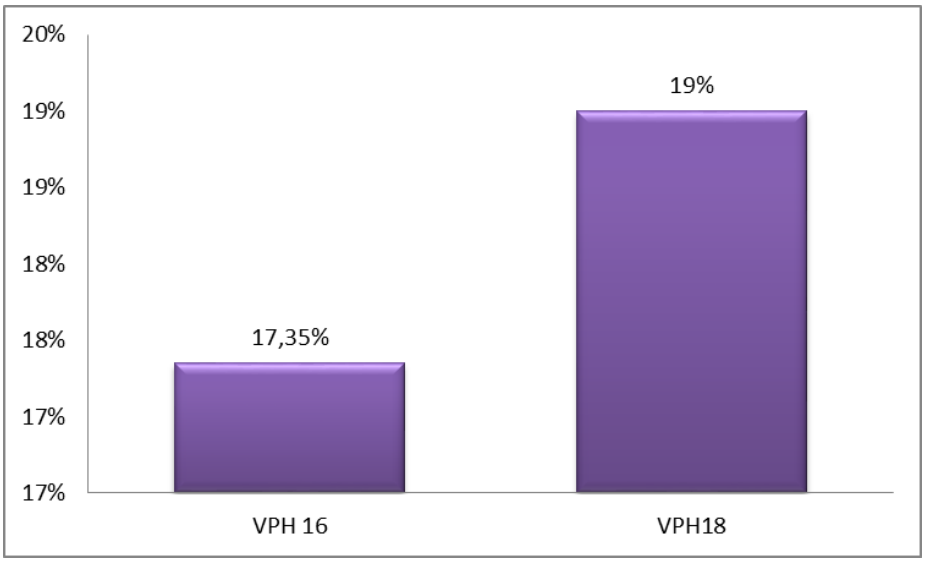


Gráfico 2. Diagrama de barras de la distribución de prevalencia de VPH oncogénico 16 y 18. Se observa la frecuencia de detección de los genotipos oncogénicos VPH16 y 18 en la población total muestreada en los municipios de Sincelejo, Tolú y San Marcos. Se observa que el genotipo con mayor frecuencia fue VPH18.

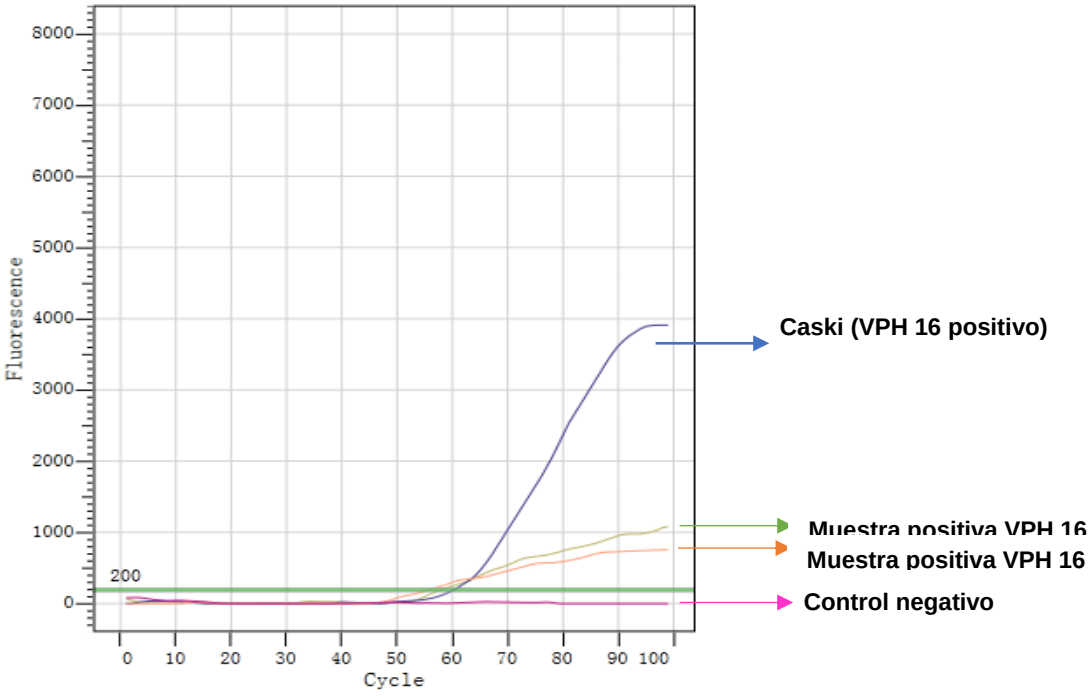


Gráfico 3. Detección de VPH 16 mediante PCR en tiempo real utilizando ADN obtenido de hombres infectados.
Se utilizaron oligonucleótidos de tipo específico para VPH 16 (Sc16). En el grafico se observa con la flecha azul el control positivo utilizado en la reacción (Células Caski VPH16), con las líneas en color verde y naranja se observa dos muestras positivas para VPH 16 y la flecha en color fucsia indica el control negativo (agua ultrapura).

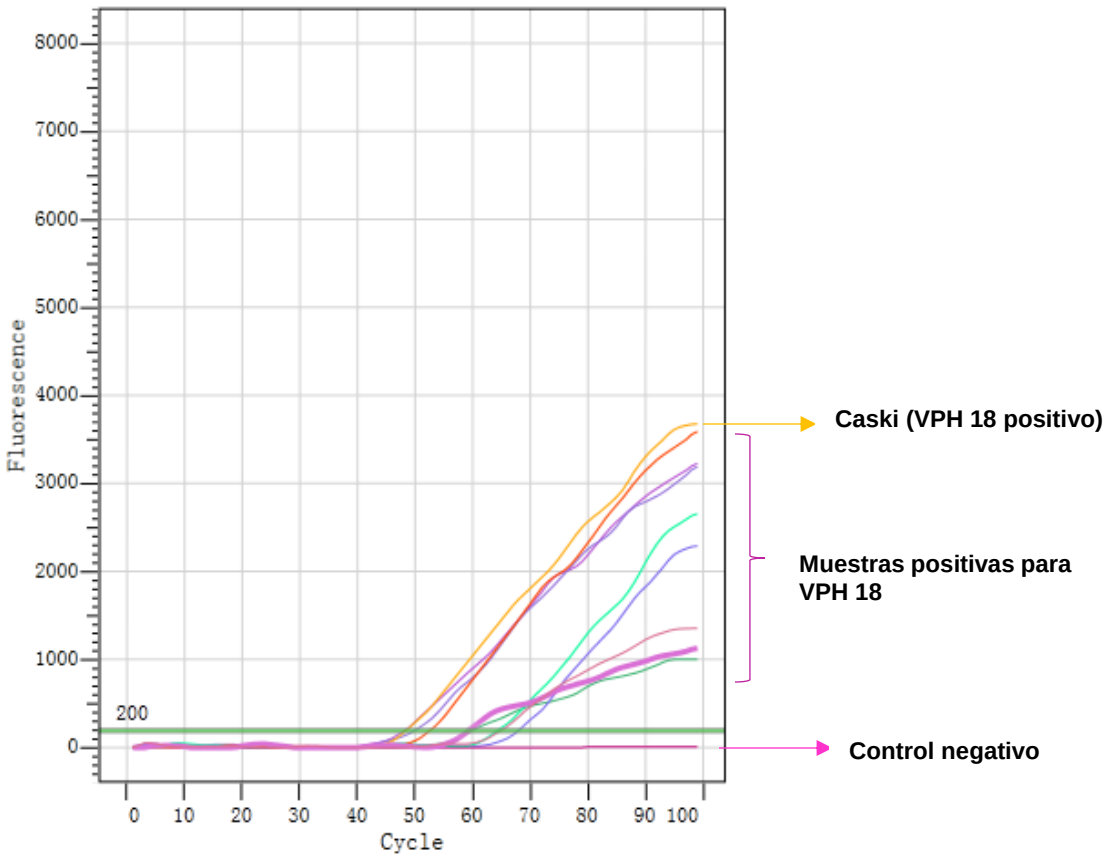


Gráfico 4. Detección de VPH 18 mediante PCR en tiempo real utilizando ADN obtenido de hombres infectados.
Se utilizaron oligonucleótidos de tipo específico para VPH 16 (Sc18). En el grafico se observa con la flecha naranja el control positivo utilizado en la reacción (Células Caski VPH18), el corchete en morado agrupa varias muestras analizadas que resultaron positivas para VPH 18 y la flecha en color fucsia indica el control negativo (agua ultrapura).

1.18 Prevalencia de infección por VPH

1.18.1 Prevalencia general de VPH por municipio

Se observó una prevalencia general del 43,8% de infección por VPH en hombres asintomáticos en el departamento de Sucre, donde Tolú registra la mayor prevalencia seguido del municipio de San Marcos y por ultimo Sincelejo (Tabla 8 y gráfico 5).

Prevalencia por sitio de muestreo	N° individuos	N° individuos VPH PCR Pos	Prevalencia%	IC 95%	p-value
Municipios					**<0,0001**
Sincelejo	47	14	29,8	17,7-45,1	
Tolú	37	27	73,0	55,6-85,6	
San Marcos	37	12	32,4	18,5-49,9	

Tabla 8. Prevalencia general de infección por VPH en tres municipios del departamento de Sucre. Se observa el número de individuos total por municipio, el número de individuos positivos para VPH y la prevalencia de infección obtenida en cada sitio de muestreo.

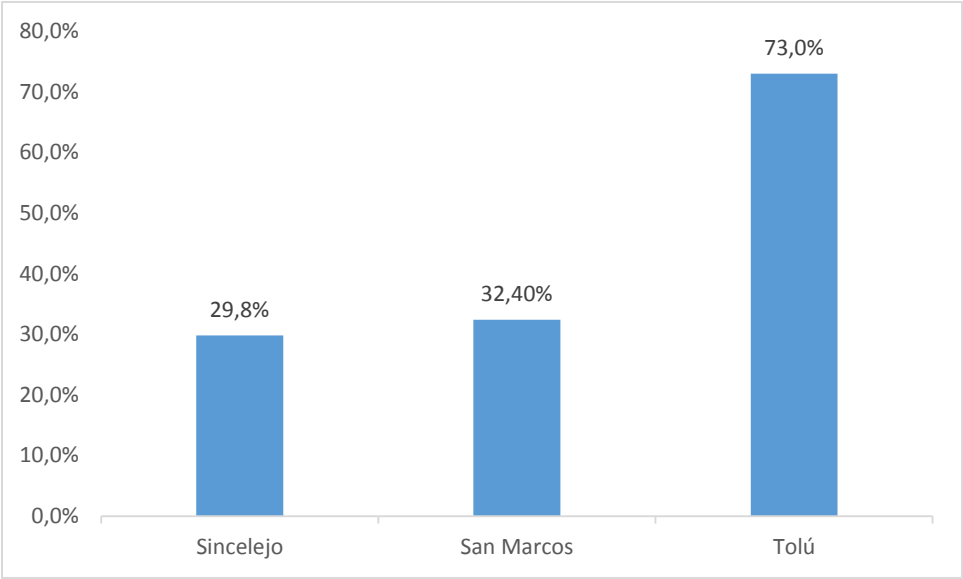


Gráfico 5. Diagrama de barras de la prevalencia de infección por VPH en Sincelejo, San Marcos y Tolú. Se observa que Tolú presenta la tasa más alta de infección por VPH en hombres de este municipio, seguido de Sincelejo y San Marcos.

1.18.2 Prevalencia de infección por VPH en surco balanoprepucial y escroto.

La prevalencia por zona anatómica en los tres municipios que se incluyeron en el estudio demostró que el municipio de Tolú presenta mayor prevalencia de infección por VPH en la zona del escroto y San marcos en el surco balanoprepucial, mientras que en Sincelejo las prevalencias se mantuvieron por debajo del 50% principalmente en la zona del escroto (Tabla 9).

MUNICIPIOS	Surco balanoprepucial		Escroto	
	Total / No. VPH Pos	% VPH Pos (IC 95%)	Total / No. VPH Pos	% VPH Pos (IC 95%)
Sincelejo	47(11)	23,4 (12,8-38,3)	47(4)	8,51 (2,76-21,3)
Tolú	37(10)	27,0 (14,4-44,4)	37(25)	67,6 (50,1-81,4)
San Marcos	37(23)	62,1 (44,8-77,0)	37(8)	21,6 (10,4-38,7)

Tabla 9. Prevalencia por zona anatómica en los tres municipios seleccionados en el departamento de Sucre.
Se observa que para la zona del surco balanoprepucial el municipio de San Marcos presenta la mayor tasa de infección, mientras que para la zona del escroto el municipio de Tolú registra la mayor tasa de prevalencia de infección por VPH.

1.19 Factores de riesgo asociados a la infección por VPH

1.19.1 Variables sociodemográficas

Loa análisis de correspondencia múltiple muestran una asociación entre variables sociodemográficas tales como: Estado civil, sitio de muestreo, edad y escolaridad. El estado civil “unión libre” muestra asociación significativa con la positividad de VPH, de los tres municipios muestreados, Tolú fue el sitio que más asociación estadística mostró con la infección y la edad comprendida entre los 37 y 45 también tuvo asociación significativa. En cuanto al nivel de escolaridad el nivel medio de educación se asoció positivamente con la infección por VPH (Anexo 4).

1.19.2 Consumo de alcohol y tabaquismo

En el análisis de correspondencia múltiple se observó asociación significativa en los individuos fumadores y aquellos que también fumaron en algún momento de su vida. También se encontró que el consumo de alcohol puede ser un factor de riesgo para contraer la infección por VPH (Anexo 5)

1.19.3 Comportamiento sexual

Dentro de las variables de comportamiento sexual el número de parejas sexuales (20 o más), el no uso del condón, las relaciones extramaritales, la edad de la primera relación sexual (entre 14-18 años) y el no aseo de genitales después del coito son variables que se asociaron estadísticamente con la infección por VPH (Anexo 6).

.

1.19.4 Asociación de factores de riesgo por regresión logística

Para confirmar los resultados obtenidos en el análisis de correspondencia múltiple, se realizó un análisis de regresión logística sobre las variables estadísticamente significativas mostradas en el ACM. En la tabla 10 se muestra que la edad (27-36), fumar (actual), ETS (Sí) y la edad de inicio de relaciones sexuales (entre 8-13 años) fueron incorporados en el modelo.

Factor	B	SE	Wald	P-value	Exp (B)	I.C. 95 %	
						Min.	Max.
Edad							
27-36	-2,5	0,795	6,651	0,01	1,29	0,27	0,611
Fumar							
Actual	1,29	0,592	4,781	0,029	3,648	1,144	11,64
ETS							
Si	-1,5353	0,556	5,924	0,015	3,259	0,087	0,768
ED1RelS							
ED 8 - 13	2,214	0,843	6,893	0,009	9,149	1,753	47,764

Tabla 10. Análisis de regresión logística para factores de riesgo y la infección por VPH.
Se observa que los factores de riesgos incluidos en el modelo definitivo fueron edad (27-36), fumar (actual), las personas que hayan reportado alguna ETS y la edad del inicio de relaciones sexuales (ED1RelsS).

DISCUSIÓN

La infección con Virus Papiloma Humano (VPH) es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuente a nivel mundial y está fuertemente asociada al desarrollo de lesiones neoplásicas y cáncer de cuello uterino (Bosch et al., 1995). Esta infección constituye un grave problema de salud pública, como lo evidencia la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual estima la presentación de 445.000 nuevos casos de cáncer de cérvix anualmente, de los cuales, 80% suceden en países en desarrollo; además, es una problemática que se agudiza por generar elevados gastos en salud, y presentar limitada práctica de pruebas para la detección e insuficiente financiación para los programas de prevención y control.

Hasta la fecha se han descrito más de 150 tipos de VPH que se han reconocido con base en sus diferencias genómicas en su secuencia de ADN, de éstos, 85 genotipos fueron completamente caracterizados (Bernard, 2005). Existen aproximadamente 30 tipos conocidos de VPH genitales los cuales se dividen en VPH de bajo y alto riesgo oncogénico, donde estos últimos están relacionados con la progresión de cáncer de cérvix (Bosch et al., 1995).

En Colombia se conoce la prevalencia de infección por VPH en mujeres, pero han sido pocos los estudios realizados para determinar la prevalencia en el género masculino, lo que origina que a pesar de las campañas de vacunación y oportuno tamizaje en mujeres esta infección siga siendo un problema de salud pública en nuestro país. Por esta razón los estudios encaminados a la detección de VPH en hombres son de suma importancia para aclarar el papel que cumplen los hombres dentro del ciclo epidemiológico de la infección.

De acuerdo al trabajo realizado por Castellsagué y colaboradores se evidencia que en países como Colombia donde los hombres tienden por lo general a ser altamente promiscuos y a tener inicios de relaciones sexuales a temprana edad, las tasas de infección por VPH son altas, así como la incidencia de cáncer cervical en sus parejas sexuales, a diferencia de otros países donde el comportamiento sexual es más monógamo. (Castellsague, Bosch, & Munoz, 2003). Estos datos concuerdan con los obtenidos en la presente investigación donde las tasas de prevalencia de infección

por VPH en hombres alcanzan el 43,8%, de igual manera estos resultados son similares a la prevalencia informada por Lajous et al, en un estudio realizado en soldados mexicanos (Lajous et al., 2005).

De los tres municipios analizados, Tolú reportó la mayor tasa de prevalencia (73%) esto puede deberse a los aspectos socioculturales propios de la región y al ambiente turístico que conlleva a comportamientos de riesgo para adquirir la infección tales como tener relaciones con múltiples parejas, el inicio de relaciones a temprana edad y la baja frecuencia del uso del condón. Estos datos difieren con los realizados en otros estudios donde las tasas de prevalencia son menores debido a que el comportamiento sexual es más conservado (He et al., 2013). La frecuencia de los genotipos oncogénicos VPH16/18 observadas en este estudio fue de 17,3% para VPH 16 y de 19% para VPH 18, esta información es consistente con datos actualmente publicados donde los tipos VPH16/18 son los genotipos más comúnmente observados entre hombres y mujeres (Anic & Giuliano, 2011; de Lima Rocha et al., 2012; Dunne, Nielson, Stone, Markowitz, & Giuliano, 2006; Moreira et al., 2014). Sin embargo las tasas de prevalencias encontradas en este estudio son más altas que en otras investigaciones (Afonso et al., 2013). Estas diferencias pueden deberse al tipo de sondas especificas utilizadas, las cuales son altamente específicas y sensibles (Hart et al., 2001).

En un estudio realizado por Carrie et al (Nielson et al., 2007); se reportó que los genotipos oncogénicos son más frecuentes de detectar en glande, surco balanoprepucial y escroto. Teniendo en cuenta que las zonas de muestreo utilizadas en este estudio fue escroto y surco balanoprepucial, se puede deducir que esa sería una posible explicación de los resultados obtenidos. La frecuencia de estos genotipos en la población masculina constituye un posible factor de riesgo que tienen las parejas de estos hombres para desarrollar lesiones neoplásicas incluyendo cáncer de cérvix. (Hernandez, Wilkens, Zhu, Thompson, et al., 2008; Oriel, 1971).

La alta proporción de positividad de β- globina (95,3%) en las muestras tomadas mediante exfoliación con citocepillo difiere de otros resultados donde indican que el uso del citocepillo tiene baja eficiencia con relación a otros instrumentos para

realizar la colecta de células epiteliales de áreas superficiales del pene como escroto, surco balanoprepucial, glande (He et al., 2013; Weaver et al., 2004). La posible explicación de los resultados obtenidos puede deberse a que el cepillado se realizó correctamente y también posiblemente a que el kit de extracción utilizado fue altamente eficiente.

La prevalencia de la infección por VPH varía en función de la edad de la población estudiada, siendo mayor en las edades que siguen a la iniciación sexual. En hombres, la prevalencia de la infección también es más frecuente en la primera etapa de la vida adulta. Así lo demuestra un estudio realizado por Winer *et al*, Partridge *et al* en el 2007 con estudiantes universitarios estadounidenses de sexo masculino, demostrando una prevalencia de infección genital por VPH de 62,4% (Partridge et al., 2007). La prevalencia a otras edades suele ser menor. En un estudio realizado en hombres mexicanos que acudieron a consultas de vasectomía, con edad media de 34 años, la prevalencia fue de un 8,7% (Vaccarella et al., 2006). Los resultados de regresión logística realizados en este estudio demuestran que la edad comprendida entre 27 y 36 años es un posible factor de riesgo para la infección con VPH, estos datos concuerdan con el estudio de Vaccarella y colaboradores, pero difiere con la mayoría de los estudios donde indican que el mayor riesgo de infección por VPH se da en personas más jóvenes, los resultados obtenidos pueden ser explicados porque entre mayor edad, es posible que el número de parejas sexuales que hayan tenido a lo largo de su vida sea mayor que el reportado por jóvenes entre los 17 y 26 años.

Diversas investigaciones han reportado que el mayor portador de VPH es el hombre, debido a aspectos socioculturales que propician la adopción de comportamientos de riesgo para contraer y diseminar la infección, como el tener múltiples parejas sexuales, la baja frecuencia en el uso de métodos de barrera por atentar contra la masculinidad, el machismo que ha conllevado a que los hombres no se interesen por temas relacionados con esta infección y también el mayor consumo de alcohol y de otros psicoactivos que conllevan a tener comportamientos de riesgo para adquirir la infección.

Los resultados analizados para el consumo de tabaco muestran que los hombres fumadores tienen tres veces más riesgo de adquirir la infección frente aquellos hombres que nunca han fumado, estos datos concuerdan con un estudio realizado por Matthew y colaboradores donde indican que individuos fumadores activos tienen mayor riesgo de adquirir la infección principalmente con los tipos oncogénicos que aquellos individuos no fumadores (Schabath et al., 2012). Así mismo la asociación de exfumadores con la infección por VPH concuerda con un estudio realizado en jóvenes universitarios donde también reportan una asociación positiva entre la adquisición de VPH con individuos que manifestaron haber sido fumadores (Partridge et al., 2007). Aunque la influencia del tabaquismo en la historia natural de infección por VPH en hombres aún no está bien clara, fumar podría influir en la incidencia y persistencia de las infecciones por VPH mediante la supresión de la función inmune celular, incremento de la proliferación y metaplasia celular (Harris et al., 2004) que a su vez podría resultar en un aumento en la replicación o producción de VPH debido a la proliferación celular inducida por el tabaquismo. También se ha demostrado que algunos constituyentes del humo del cigarrillo pueden modificar la función de las células inmunes (Holt, 1987; Holt & Keast, 1977). La acroleína es un aldehído que se encuentra en el humo de tabaco y que afecta la función de neutrófilos (Finkelstein, Nardini, & van der Vliet, 2001), también provoca daños en el ADN (Feng, Hu, Hu, & Tang, 2006) lo que incrementa la susceptibilidad a la infección (Barton et al., 1988; Wright et al., 1983).

Dentro de los factores de riesgos relacionados con el comportamiento sexual y la infección con cualquier tipo de VPH oncogénico o no, varios autores han reportado que condiciones tales como número de parejas sexuales, la edad de inicio de la primera relación sexual, el uso del condón entre otros están asociados con la adquisición del virus. Varios estudios han demostrado que el comportamiento sexual de los hombres impacta sobre las tasas de infección de VPH, neoplasias cervicales Intra-epiteliales (CIN) y cáncer cervical en sus parejas sexuales femeninas (Zunzunegui, King, Coria, & Charlet, 1986).

En este estudio los individuos que iniciaron relaciones sexuales entre los 8 y 13 años fueron asociados con la positividad para VPH y se evidenció que estos

hombres tienen tres veces más riesgo de adquirir la infección. El inicio precoz de las relaciones sexuales, que se define como toda relación sexual antes de los 16 años, incrementa el riesgo de infección por este virus. Algunos autores afirman que la edad de la primera relación sexual no es más que un indicador de actividad sexual, comprobándose que si se inicia la actividad sexual a edad temprana, aumentaría el riesgo de infección por estos virus. En este contexto el número de pareja sexuales se considera un factor directamente proporcional al riesgo de infección por VPH, reportándose que aumenta considerablemente en los hombres que han tenido más de cinco parejas sexuales en un tiempo inferior de seis meses. El análisis estadístico realizado en esta investigación demuestra que la infección por VPH está asociada con el hecho de tener múltiples compañeras sexuales debido a que el número de individuos positivos que presentaban esta condición era mayor que los que mantenían una relación estable, estos resultados concuerdan con otros estudios donde demuestran que los hombres que tienen una pareja sexual estable tienen un menor riesgo de adquirir la infección (Baldwin et al., 2004).

Como se ha informado en otros estudios hay una fuerte asociación entre el número de parejas que han tenido tanto la mujer como su compañero a lo largo de su vida y la adquisición del virus (Burk et al., 1996). Este hallazgo indica que los hombres con mayor número de parejas sexuales deben recibir más atención a la hora de elaborar estrategias de prevención y control de la infección por VPH en esta región. La no circuncisión es uno de los posibles factores de riesgos para contraer la infección de VPH ya que se ha demostrado que las verrugas genitales ocurre con mayor frecuencia en poblaciones de hombres no circuncidados (Aynaud, Piron, Bijaoui, & Casanova, 1999; Castellsagué et al., 2002; Lajous et al., 2005), además los hombres con esta característica tienen un riesgo mayor de desarrollar cáncer de pene (Daling et al., 2005). En nuestra región, este tipo de práctica es casi nula por lo que esta variable no se incluyó dentro del análisis estadístico. Sin embargo existen reportes de prevalencia en otros países donde la práctica de circuncisión es muy común como lo reporta un estudio realizado por Hernández y colaboradores en el cual demuestran que los hombres no circuncidados tienen un riesgo mayor de infección por VPH, principalmente con los genotipos oncogénicos específicamente

localizados en el glande y corona del pene, debido posiblemente a la proximidad con el prepucio, los cuales pueden ser particularmente vulnerables a la infección (Hernandez, Wilkens, Zhu, McDuffie, et al., 2008). Así mismo lo demuestra la investigación de Baldwin y colaboradores en una investigación llevada a cabo en hombres que son atendido en una clínica de enfermedades de transmisión sexual donde se evidencia la notable reducción de las tasas de infección por VPH en hombres circuncidados (Baldwin et al., 2004).

Varios autores sugieren que el mecanismo por el cual la circuncisión constituye un factor protector, radica en que la superficie de la mucosa interna del prepucio está compuesta por epitelio escamoso queratinizado y éste se retrae durante la relación sexual, dejando expuesta la superficie de la mucosa; por lo tanto, al eliminar el prepucio se reduce la superficie expuesta y, además, los individuos circuncidados están menos expuestos a abrasiones durante el coito, las cuales permiten la entrada de partículas virales (Cook, Koutsky, & Holmes, 1993; Frisch et al., 1999; Hussain & Lehner, 1995). En los países en desarrollo, donde la circuncisión se realiza con poca frecuencia y la incidencia de cáncer de cuello uterino es alta, la circuncisión, podría desempeñar un papel en la prevención del cáncer ano-genital.

Otro de los comportamientos sexuales más comunes está el uso del condón, en este estudio no se pudo evidenciar que este fuese un factor de protección contra la adquisición de la infección. Sin embargo la prevalencia de infección por VPH en la zona del escroto fue alta (30,6%), lo que sugiere además que aunque haya protección es probable que se produzca la infección en esta zona, esto puede deberse posiblemente a que las infecciones de transmisión sexual (ITS) pueden infectar la piel genital más allá del área cubierta por un condón, por tanto el uso de estos métodos de barrera no ofrecen una protección completa contra estas infecciones, aunque algunos estudios han demostrado que el uso del condón disminuye la incidencia de infección con herpes genital entre hombres y mujeres (Wald et al., 2001). Este hecho hace mucho más vulnerable a las mujeres para la adquisición de la infección y afianza aún más la importancia que tiene el hombre en la transmisión de VPH. Los resultados de este estudio concuerdan con investigaciones anteriores, donde no han demostrado una disminución en el riesgo

de la infección por VPH entre mujeres o hombres con el uso del condón (Jamison et al., 1995; Kjaer et al., 1990; Svare et al., 2002), sin embargo otros estudios han reportado la reducción del riesgo de neoplasia cervical en mujeres parejas de hombres que usan condón (Thomas et al., 1996). A pesar de esto algunos autores han evaluado la protección del condón frente a la infección por VPH y ellos sugieren que los condones de látex son normalmente impermeable al paso de partículas de virus pequeños como lo demostraron algunos experimentos in vitro (Lytle et al., 1997), así como estudios in vitro e in vivo en el que los condones de látex han impedido la transmisión de citomegalovirus (CMV), un herpesvirus de 120 a 150 nm, siendo más pequeño el papilomavirus con un diámetro aproximado de 50nm (Drew, 1998; Katznelson, Drew, & Mintz, 1984). Los resultados obtenidos en este estudio pueden tener implicaciones importantes para la salud pública debido al conocimiento generado de que el condón no es un factor protector para VPH, por lo tanto las campañas educativas con respecto al uso del condón y la infección con VPH deben ser reevaluadas.

En los resultados obtenidos también se pudo determinar la posible asociación de la infección de VPH en hombres con la presencia de infecciones de transmisión sexual (ITS), estos datos concuerdan con los reportados en un estudio realizado en militares mexicanos en 2003 donde demuestran que existe una asociación directa en la positividad para el virus y las ITS (Lajous et al., 2005). En algunos estudios se ha demostrado que la presencia de infecciones previas de transmisión sexual aumentan el riesgo de infección por VPH (Gilbert, Brewer, & Reiter, 2011); esto podría sustentarse en que algunas de dichas infecciones generan lesiones que favorecen la entrada del virus y pueden alterar la respuesta inmunológica que se instaura contra el VPH. Otros estudios reportan la asociación de algunas infecciones de transmisión sexual como la infección con *Chlamydia trachomatis (CT)* y Herpes simple tipo 2 (HSV-2), sin embargo ellos sugieren que se necesitan más estudios prospectivos en los hombres para aclarar el papel de las ITS como cofactor en VPH historia natural, especialmente la adquisición del VPH y la persistencia. En general, los resultados del estudio antes mencionado muestran que después de corregir el

comportamiento sexual, los hombres infectados con CT y los hombres seropositivos para HSV – 2 están en mayor riesgo de infección por VPH (Alberts et al., 2013).

Por otra parte en este estudio no se encontró una correlación estadística con el aseo de genitales después de las relaciones sexuales y la infección con VPH, estos resultados concuerdan con estudios en los cuales demuestran que no existe asociación positiva de la infección y del aseo de genitales (Lajous et al., 2005; Vaccarella et al., 2006).

Existe de acuerdo a la literatura una enorme variabilidad en las estimaciones de prevalencia del VPH en población masculina, esto debido a los diferentes sitios anatómicos muestreados, los dispositivos utilizados para la toma de muestra, y los métodos de laboratorio para el análisis de muestras.

La mayoría de los estudios de infección por VPH en hombres utilizan la zona del cuerpo del pene principalmente, el surco coronal, el glande del pene y la uretra (Bosch et al., 1996; Strand, Rylander, Evander, & Wadell, 1993; Thomas et al., 2001). Sin embargo otros trabajos combinan muestras de la piel del pene y la uretra para reportar prevalencia de ADN de VPH. En dos estudios realizados por Lazcano y Levine, fueron utilizadas muestras de orina para detección de VPH, sin embargo, no se obtuvieron buenos resultados para la obtención de ADN del virus (Lazcano-Ponce et al., 2001; Levine et al., 1984).

Recientemente se ha discutido que las zonas con mayor eficiencia para la detección de VPH es el surco y el glande coronal del pene debido al contacto directo con el cérvix (Dunne et al., 2006), no obstante hay menos claridad en cuanto a toma de muestras de la uretra, sobre todo en hombres asintomáticos ya que este tipo de muestreo puede disminuir la participación en estos estudios, sobre todo en aquellos de tipo prospectivos que requieren muestreo repetitivo de sitios anatómicos. Varios estudios han evaluado la presencia de ADN de VPH en escroto y semen (Weaver et al., 2004); Sin embargo, la mayoría no evalúan la presencia de VPH en otros sitios anatómicos (Aynaud, Poveda, Huynh, Guillemotonia, & Barrasso, 2002; Green, Monteiro, Bolton, Sanders, & Gibson, 1991; Inoue, Nakazawa, Fujita, & Tanizawa, 1992; Lai et al., 1997). Como resultado de ello, no está claro si el muestreo del escroto y el semen aportan información significativa para la estimación

de la prevalencia del VPH. En un estudio realizado en USA donde evaluaron seis tipos de muestras de diferentes áreas de pene pudieron concluir que la zona del escroto si es un sitio eficiente para la obtención de muestras y detección de VPH (Nielson et al., 2007).

En este trabajo se evaluó por separado la presencia de ADN de VPH en escroto y surco balanoprepucial, y se pudo detectar VPH en ambas sitios genitales, obteniéndose una prevalencia para la zona del escroto de 30,6%, con esta información se puede predecir que el escroto es una fuente importante para la detección de VPH. Cinco estudios publicados han reportado estimaciones de la prevalencia del VPH para muestras escrotales, con estimaciones que van desde el 7,1 % (Fife et al., 2003) hasta 46,2 % (Hernandez et al., 2006). Informes recientes de detección de VPH en muestras escrotales son notables, porque indican que la transmisión a las mujeres puede ocurrir a pesar del uso constante de los métodos anticonceptivos de barrera, como los condones.

En un estudio de hombres atendidos en una clínica de enfermedades de transmisión sexual, la prevalencia después de muestrear la zona del glande, del surco balanoprepucial y la uretra fue de 28,2% (Baldwin et al., 2003), mientras que en un estudio donde se tomaron muestras de múltiples sitios genitales la infección por VPH estuvo presente en el 45% de los participantes (Weaver et al., 2004). Existen estudios donde se tomaron muestras en conjunto del pene y el escroto y arrojaron una prevalencia de VPH con una estimación de 46,4 % (Aguilar et al., 2006).

En un estudio realizado por Giuliano et al; donde analizan la presencia de VPH en varios sitios anatómicos del pene concluyen que como mínimo, el cuerpo del pene y el glande/surco coronal debe ser muestreados en hombres heterosexuales y que las muestras de escroto, zona perianal, o muestra anal también deben incluirse para la detección óptima de VPH (Giuliano et al., 2007).

Los primeros estudios realizados para la detección de lesiones sugestivas para VPH en hombres, fue la tinción con ácido acético al 5% la cual permitía la visualización de áreas acetoblancas y que fueron considerados como marcador de diagnóstico para la infección con VPH (Krebs & Schneider, 1987). Aunque la infección con VPH está significativamente asociado con lesiones acetoblancas del pene (Voog et al.,

1997), muchas otras condiciones también se asocian con estas lesiones genitales (Pinto & Mellinger, 1999), lo que resulta en poca especificidad para la detección del VPH. Para la precisión de la evaluación de la infección por VPH en los hombres, se deben utilizar técnicas moleculares. Estudios recientes han utilizado la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), como un método suficientemente sensible para detectar 10-100 copias de ADN viral, y se ha encontrado que la detección del VPH en los hombres es tan alta como en la población femenina.

El diagnóstico molecular de infección por VPH es fundamental para la detección de virus, principalmente por los siguientes métodos: PCR convencional y PCR cuantitativo los cuales se basan en la amplificación específica de ADN del virus y su gran sensibilidad y especificidad permite detectar niveles muy bajos de carga viral en diferentes tipos de células y tejidos, así mismo en infecciones no productivas.

Los protocolos más ampliamente utilizados emplean iniciadores consenso y degenerados complementarios a una región altamente conservada del gen L1 del virus y que son potencialmente capaces de discriminar los tipos de VPH que infectan mucosas. Entre estos están los primers GP05/GP06 y los iniciadores degenerados MY11/MY09. La sensibilidad analítica y la especificidad de los dos test varían ampliamente, dependiendo de las características del ensayo, la calidad de la muestra biológica y los tipos de calidad de los reactivos usados, incluyendo el uso de diferentes ADN polimerasas que afectan el desempeño del ensayo.

En este estudio se utilizó para la detección de ácidos nucleicos de VPH los cebadores MY09/MY11 los cuales permitieron detectar el 43,8% de las muestras analizadas lo que indica que estos primer son una excelente opción a la hora de realizar detección para VPH. Estos datos concuerdan con los resultados de un estudio realizado en Colombia en el 2011 donde se compararon dos set de primers GP5+/6+ y MY09/MY11 para la detección de VPH y pudieron demostrar que los primers MY09/MY11 detectan de manera más eficiente el ADN del virus, debido a que estos consisten en un sistema de primers degenerados que promueven la identificación de infecciones múltiples (Camargo et al., 2011).

Los resultados obtenidos en este estudio destacan la importancia de la infección de VPH en hombres ya que en los últimos años se ha demostrado que esta infección puede causar diversas patologías en esta población, así como también en sus parejas sexuales. Por ello este tipo de infecciones son consideradas como un problema de salud pública y deben ser abordadas con mayor preocupación.

CONCLUSIONES

La detección de los genotipos oncogénicos VPH16/18 fue de 17,35% y de 19% en la población masculina constituye un posible factor de riesgo para el desarrollo de lesiones neoplásicas en sus parejas sexuales.

La detección de VPH en la zona del escroto (30,58%) en población masculina sugiere que los preservativos como el condón no protegen esta zona de la infección.

Este estudio confirma que los posibles factores de riesgos asociados a la positividad de VPH son principalmente los comportamientos sexuales, el consumo de alcohol y tabaco.

PERSPECTIVAS

Realizar estudios de tipificación no solo de los genotipos más prevalentes sino de todos los tipos virales de alto y bajo riesgo oncogénico, ya que de esta forma se puede obtener un panorama más claro de los genotipos circulantes en el departamento, para que así las medidas de prevención y profilaxis sean más efectivas.

Realizar campañas de control y prevención de la infección por VPH con la finalidad de dar a conocer a la comunidad en general el riesgo de adquirir el virus incluso cuando se usa el preservativo.

BIBLIOGRAFIA

Abreu, A. L., Souza, R. P., Gimenes, F., & Consolaro, M. E. (2012). A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Virol J, 9*, 262. doi: 10.1186/1743-422X-9-262

Afonso, L. A., Rocha, W. M., Carestiato, F. N., Dobao, E. A., Pesca, L. F., Passos, M. R., & Cavalcanti, S. M. (2013). Human papillomavirus infection among sexual partners attending a Sexually Transmitted Disease Clinic in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Med Biol Res, 46*(6), 533-538. doi: 10.1590/1414-431X20132519

Aguilar, L. V., Lazcano-Ponce, E., Vaccarella, S., Cruz, A., Hernandez, P., Smith, J. S., . . . Franceschi, S. (2006). Human papillomavirus in men: comparison of different genital sites. *Sex Transm Infect, 82*(1), 31-33. doi: 10.1136/sti.2005.015131

Albero, G., Castellsague, X., Lin, H. Y., Fulp, W., Villa, L. L., Lazcano-Ponce, E., . . . Giuliano, A. R. (2014). Male circumcision and the incidence and clearance of genital human papillomavirus (HPV) infection in men: the HPV Infection in men (HIM) cohort study. *BMC Infect Dis, 14*, 75. doi: 10.1186/1471-2334-14-75

Alberts, C. J., Schim van der Loeff, M. F., Papenfuss, M. R., da Silva, R. J., Villa, L. L., Lazcano-Ponce, E., . . . Giuliano, A. R. (2013). Association of Chlamydia trachomatis infection and herpes simplex virus type 2 serostatus with genital human papillomavirus infection in men: the HPV in men study. *Sex Transm Dis, 40*(6), 508-515. doi: 10.1097/OLQ.0b013e318289c186

Anic, G. M., & Giuliano, A. R. (2011). Genital HPV infection and related lesions in men. *Prev Med, 53 Suppl 1*, S36-41. doi: 10.1016/j.ypmed.2011.08.002

Aynaud, O., Piron, D., Bijaoui, G., & Casanova, J. M. (1999). Developmental factors of urethral human papillomavirus lesions: correlation with circumcision. *BJU Int, 84*(1), 57-60.

Aynaud, O., Poveda, J. D., Huynh, B., Guillemotonia, A., & Barrasso, R. (2002). Frequency of herpes simplex virus, cytomegalovirus and human papillomavirus DNA in semen. *Int J STD AIDS, 13*(8), 547-550. doi: 10.1258/095646202760159666

Aznar, J., Ojeda, A., Torres, M. J., Palomares, J. C., & Rodriguez-Pichardo, A. (1993). Dual genitotropic human papillomavirus infections in genital warts. *Genitourin Med, 69*(1), 60-62.

Backes, D. M., Snijders, P. J., Hudgens, M. G., Bailey, R. C., Bogaarts, M., Agot, K., . . . Smith, J. S. (2013). Sexual behaviour and less frequent bathing are associated with higher human papillomavirus incidence in a cohort study of uncircumcised Kenyan men. *Sex Transm Infect, 89*(2), 148-155. doi: 10.1136/sextrans-2012-050532

Badaracco, G., Venuti, A., Di Lonardo, A., Scambia, G., Mozzetti, S., Benedetti Panici, P., . . . Marcante, M. L. (1998). Concurrent HPV infection in oral and genital mucosa. *J Oral Pathol Med, 27*(3), 130-134.

Baldwin, S. B., Wallace, D. R., Papenfuss, M. R., Abrahamsen, M., Vaught, L. C., & Giuliano, A. R. (2004). Condom use and other factors affecting penile human papillomavirus detection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *Sex Transm Dis, 31*(10), 601-607.

Baldwin, S. B., Wallace, D. R., Papenfuss, M. R., Abrahamsen, M., Vaught, L. C., Kornegay, J. R., . . . Giuliano, A. R. (2003). Human papillomavirus infection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *J Infect Dis, 187*(7), 1064-1070. doi: 10.1086/368220

Barton, S. E., Maddox, P. H., Jenkins, D., Edwards, R., Cuzick, J., & Singer, A. (1988). Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet, 2*(8612), 652-654.

Bernard, H. U. (2005). The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol, 32 Suppl 1*, S1-6. doi: 10.1016/j.jcv.2004.10.021

Beutner, K. R., & Ferenczy, A. (1997). Therapeutic approaches to genital warts. *Am J Med, 102*(5A), 28-37.

Bosch, F. X., Castellsague, X., Munoz, N., de Sanjose, S., Ghaffari, A. M., Gonzalez, L. C., . . . Shah, K. V. (1996). Male sexual behavior and human papillomavirus DNA: key risk factors for cervical cancer in Spain. *J Natl Cancer Inst, 88*(15), 1060-1067.

Bosch, F. X., Lorincz, A., Munoz, N., Meijer, C. J., & Shah, K. V. (2002). The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol, 55*(4), 244-265.

Bosch, F. X., Manos, M. M., Munoz, N., Sherman, M., Jansen, A. M., Peto, J., . . . Shah, K. V. (1995). Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst, 87*(11), 796-802.

Bosch, F. X., Munoz, N., Shah, K. V., & Meheus, A. (1992). Second International Workshop on the Epidemiology of Cervical Cancer and Human Papillomaviruses. *Int J Cancer, 52*(2), 171-173.

Brown, D. R., Schroeder, J. M., Bryan, J. T., Stoler, M. H., & Fife, K. H. (1999). Detection of multiple human papillomavirus types in Condylomata acuminata lesions from otherwise healthy and immunosuppressed patients. *J Clin Microbiol, 37*(10), 3316-3322.

Burk, R. D., Ho, G. Y., Beardsley, L., Lempa, M., Peters, M., & Bierman, R. (1996). Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis, 174*(4), 679-689.

Camargo, M., Soto-De Leon, S., Sanchez, R., Munoz, M., Vega, E., Beltran, M., . . . Patarroyo, M. A. (2011). Detection by PCR of human papillomavirus in Colombia: Comparison of GP5+/6+ and MY09/11 primer sets. *J Virol Methods, 178*(1-2), 68-74. doi: 10.1016/j.jviromet.2011.08.014

Castellsague, X., Bosch, F. X., & Munoz, N. (2003). The male role in cervical cancer. *Salud Publica Mex, 45 Suppl 3*, S345-353.

Castellsagué, X., Bosch, F. X., Munoz, N., Meijer, C. J., Shah, K. V., de Sanjosé, S., . . . Smith, J. S. (2002). Male circumcision, penile human

papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *New England journal of medicine, 346*(15), 1105-1112.

Cook, L. S., Koutsky, L. A., & Holmes, K. K. (1993). Clinical presentation of genital warts among circumcised and uncircumcised heterosexual men attending an urban STD clinic. *Genitourin Med, 69*(4), 262-264.

Cupp, M. R., Malek, R. S., Goellner, J. R., Smith, T. F., & Espy, M. J. (1995). The detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in intraepithelial, in situ, verrucous and invasive carcinoma of the penis. *J Urol, 154*(3), 1024-1029.

Daling, J. R., Madeleine, M. M., Johnson, L. G., Schwartz, S. M., Shera, K. A., Wurscher, M. A., . . . Krieger, J. N. (2005). Penile cancer: importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in in situ and invasive disease. *Int J Cancer, 116*(4), 606-616. doi: 10.1002/ijc.21009

de Lima Rocha, M. G., Faria, F. L., Goncalves, L., Souza Mdo, C., Fernandes, P. A., & Fernandes, A. P. (2012). Prevalence of DNA-HPV in male sexual partners of HPV-infected women and concordance of viral types in infected couples. *PLoS One, 7*(7), e40988. doi: 10.1371/journal.pone.0040988

Drew, W. L. (1998). Condoms and the transmission of cytomegalovirus. *Sex Transm Dis, 25*(9), 481-482.

Dunne, E. F., Nielson, C. M., Stone, K. M., Markowitz, L. E., & Giuliano, A. R. (2006). Prevalence of HPV infection among men: A systematic review of the literature. *J Infect Dis, 194*(8), 1044-1057. doi: 10.1086/507432

Durst, M., Gissmann, L., Ikenberg, H., & zur Hausen, H. (1983). A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci U S A, 80*(12), 3812-3815.

Fairley, C. K., Gay, N. J., Forbes, A., Abramson, M., & Garland, S. M. (1995). Hand-genital transmission of genital warts? An analysis of prevalence data. *Epidemiol Infect, 115*(1), 169-176.

Faridi, R., Zahra, A., Khan, K., & Idrees, M. (2011). Oncogenic potential of Human Papillomavirus (HPV) and its relation with cervical cancer. *Virol J, 8*, 269. doi: 10.1186/1743-422X-8-269

Feng, Z., Hu, W., Hu, Y., & Tang, M.-s. (2006). Acrolein is a major cigarette-related lung cancer agent: Preferential binding at p53 mutational hotspots and inhibition of DNA repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 103*(42), 15404-15409.

Ferenczy, A., Bergeron, C., & Richart, R. M. (1989). Human papillomavirus DNA in fomites on objects used for the management of patients with genital human papillomavirus infections. *Obstet Gynecol, 74*(6), 950-954.

Fierlbeck, G., Schiebel, U., & Muller, C. (1989). Immunohistology of genital warts in different stages of regression after therapy with interferon gamma. *Dermatologica, 179*(4), 191-195.

Fife, K. H., Coplan, P. M., Jansen, K. U., DiCello, A. C., Brown, D. R., Rojas, C., & Su, L. (2003). Poor sensitivity of polymerase chain reaction assays

of genital skin swabs and urine to detect HPV 6 and 11 DNA in men. *Sex Transm Dis, 30*(3), 246-248.

Finkelstein, E. I., Nardini, M., & van der Vliet, A. (2001). Inhibition of neutrophil apoptosis by acrolein: a mechanism of tobacco-related lung disease? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 281*(3), L732-739.

Franceschi, S., Castellsague, X., Dal Maso, L., Smith, J. S., Plummer, M., Ngelangel, C., . . . Munoz, N. (2002). Prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Br J Cancer, 86*(5), 705-711. doi: 10.1038/sj.bjc.6600194

Franco, E. L., Villa, L. L., Ruiz, A., & Costa, M. C. (1995). Transmission of cervical human papillomavirus infection by sexual activity: differences between low and high oncogenic risk types. *J Infect Dis, 172*(3), 756-763.

Freire, M. P., Pires, D., Forjaz, R., Sato, S., Cotrim, I., Stiepcich, M., . . . Truzzi, J. C. (2014). Genital prevalence of HPV types and co-infection in men. *Int Braz J Urol, 40*(1), 67-71. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.01.10

Frisch, M., Fenger, C., van den Brule, A. J., Sorensen, P., Meijer, C. J., Walboomers, J. M., . . . Glimelius, B. (1999). Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. *Cancer Res, 59*(3), 753-757.

Galloway, D. A. (2003). Papillomavirus vaccines in clinical trials. *Lancet Infect Dis, 3*(8), 469-475.

Galloway, D. A., & Laimins, L. A. (2015). Human papillomaviruses: shared and distinct pathways for pathogenesis. *Current Opinion in Virology, 14*, 87-92. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2015.09.001

Gilbert, P. A., Brewer, N. T., & Reiter, P. L. (2011). Association of human papillomavirus-related knowledge, attitudes, and beliefs with HIV status: a national study of gay men. *J Low Genit Tract Dis, 15*(2), 83-88. doi: 10.1097/LGT.0b013e3181f1a960

Giuliano, A. R., Nielson, C. M., Flores, R., Dunne, E. F., Abrahamsen, M., Papenfuss, M. R., . . . Harris, R. B. (2007). The optimal anatomic sites for sampling heterosexual men for human papillomavirus (HPV) detection: the HPV detection in men study. *J Infect Dis, 196*(8), 1146-1152. doi: 10.1086/521629

Green, J., Monteiro, E., Bolton, V. N., Sanders, P., & Gibson, P. E. (1991). Detection of human papillomavirus DNA by PCR in semen from patients with and without penile warts. *Genitourin Med, 67*(3), 207-210.

Griffiths, T. R., & Mellon, J. K. (1999). Human papillomavirus and urological tumours: I. Basic science and role in penile cancer. *BJU Int, 84*(5), 579-586.

Griffiths, T. R., & Mellon, J. K. (2000). Human papillomavirus and urological tumours: II. Role in bladder, prostate, renal and testicular cancer. *BJU Int, 85*(2), 211-217.

Guzmán, P., Ili, C., Rifo, P., Briceño, G., Araya, J., Villaseca, M., & Roa, J. C. (2008). Prevalencia de la infección genital por virus papiloma humano en hombres universitarios voluntarios de la IX Región, Chile. *Rev Med Chil, 136*(11), 1381-1389.

Handley, J., Hanks, E., Armstrong, K., Bingham, A., Dinsmore, W., Swann, A., . . . O'Leary, J. (1997). Common association of HPV 2 with anogenital warts in prepubertal children. *Pediatr Dermatol, 14*(5), 339-343.

Harris, T. G., Kulasingam, S. L., Kiviat, N. B., Mao, C., Agoff, S. N., Feng, Q., & Koutsky, L. A. (2004). Cigarette smoking, oncogenic human papillomavirus, Ki-67 antigen, and cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Epidemiol, 159*(9), 834-842.

Hart, K. W., Williams, O. M., Thelwell, N., Fiander, A. N., Brown, T., Borysiewicz, L. K., & Gelder, C. M. (2001). Novel method for detection, typing, and quantification of human papillomaviruses in clinical samples. *J Clin Microbiol, 39*(9), 3204-3212.

Hartwig, S., Syrjanen, S., Dominiak-Felden, G., Brotons, M., & Castellsague, X. (2012). Estimation of the epidemiological burden of human papillomavirus-related cancers and non-malignant diseases in men in Europe: a review. *BMC Cancer, 12*, 30. doi: 10.1186/1471-2407-12-30

He, Z., Liu, Y., Sun, Y., Xi, L. F., Chen, K., Zhao, Y., . . . Ke, Y. (2013). Human papillomavirus genital infections among men, China, 2007-2009. *Emerg Infect Dis, 19*(6), 992-995. doi: 10.3201/eid1906.111597

Hernandez, B. Y., McDuffie, K., Goodman, M. T., Wilkens, L. R., Thompson, P., Zhu, X., . . . Ning, L. (2006). Comparison of physician- and self-collected genital specimens for detection of human papillomavirus in men. *J Clin Microbiol, 44*(2), 513-517. doi: 10.1128/JCM.44.2.513-517.2006

Hernandez, B. Y., Wilkens, L. R., Zhu, X., McDuffie, K., Thompson, P., Shvetsov, Y. B., . . . Goodman, M. T. (2008). Circumcision and human papillomavirus infection in men: a site-specific comparison. *J Infect Dis, 197*(6), 787-794. doi: 10.1086/528379

Hernandez, B. Y., Wilkens, L. R., Zhu, X., Thompson, P., McDuffie, K., Shvetsov, Y. B., . . . Goodman, M. T. (2008). Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg Infect Dis, 14*(6), 888-894. doi: 10.3201/eid1406.070616

Holt, P. G. (1987). Immune and inflammatory function in cigarette smokers. *Thorax, 42*(4), 241-249.

Holt, P. G., & Keast, D. (1977). Environmentally induced changes in immunological function: acute and chronic effects of inhalation of tobacco smoke and other atmospheric contaminants in man and experimental animals. *Bacteriol Rev, 41*(1), 205-216.

Hughes, J. P., Garnett, G. P., & Koutsky, L. (2002). The theoretical population-level impact of a prophylactic human papilloma virus vaccine. *Epidemiology, 13*(6), 631-639. doi: 10.1097/01.EDE.0000023968.90894.82

Hussain, L. A., & Lehner, T. (1995). Comparative investigation of Langerhans' cells and potential receptors for HIV in oral, genitourinary and rectal epithelia. *Immunology, 85*(3), 475-484.

Inoue, M., Nakazawa, A., Fujita, M., & Tanizawa, O. (1992). Human papillomavirus (HPV) type 16 in semen of partners of women with HPV infection. *Lancet, 339*(8801), 1114-1115.

Jamison, J. H., Kaplan, D. W., Hamman, R., Eagar, R., Beach, R., & Douglas, J. M., Jr. (1995). Spectrum of genital human papillomavirus infection in a female adolescent population. *Sex Transm Dis, 22*(4), 236-243.

Katznelson, S., Drew, W. L., & Mintz, L. (1984). Efficacy of the condom as a barrier to the transmission of cytomegalovirus. *J Infect Dis, 150*(1), 155-157.

Khan, S., Jaffer, N. N., Khan, M. N., Rai, M. A., Shafiq, M., Ali, A., . . . Ali, S. H. (2007). Human papillomavirus subtype 16 is common in Pakistani women with cervical carcinoma. *Int J Infect Dis, 11*(4), 313-317. doi: 10.1016/j.ijid.2006.06.007

Kjaer, S. K., Breugelmans, G., Munk, C., Junge, J., Watson, M., & Iftner, T. (2008). Population-based prevalence, type- and age-specific distribution of HPV in women before introduction of an HPV-vaccination program in Denmark. *Int J Cancer, 123*(8), 1864-1870. doi: 10.1002/ijc.23712

Kjaer, S. K., Engholm, G., Teisen, C., Haugaard, B. J., Lynge, E., Christensen, R. B., . . . et al. (1990). Risk factors for cervical human papillomavirus and herpes simplex virus infections in Greenland and Denmark: a population-based study. *Am J Epidemiol, 131*(4), 669-682.

Koutsky, L. (1997). Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med, 102*(5A), 3-8.

Krebs, H. B., & Schneider, V. (1987). Human papillomavirus-associated lesions of the penis: colposcopy, cytology, and histology. *Obstet Gynecol, 70*(3 Pt 1), 299-304.

Lai, Y. M., Lee, J. F., Huang, H. Y., Soong, Y. K., Yang, F. P., & Pao, C. C. (1997). The effect of human papillomavirus infection on sperm cell motility. *Fertil Steril, 67*(6), 1152-1155.

Lajous, M., Mueller, N., Cruz-Valdez, A., Aguilar, L. V., Franceschi, S., Hernandez-Avila, M., & Lazcano-Ponce, E. (2005). Determinants of prevalence, acquisition, and persistence of human papillomavirus in healthy Mexican military men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 14*(7), 1710-1716. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-04-0926

Lazcano-Ponce, E., Herrero, R., Munoz, N., Hernandez-Avila, M., Salmeron, J., Leyva, A., . . . Walboomers, J. M. (2001). High prevalence of human papillomavirus infection in Mexican males: comparative study of penile-urethral swabs and urine samples. *Sex Transm Dis, 28*(5), 277-280.

Levine, R. U., Crum, C. P., Herman, E., Silvers, D., Ferenczy, A., & Richart, R. M. (1984). Cervical papillomavirus infection and intraepithelial neoplasia: a study of male sexual partners. *Obstet Gynecol, 64*(1), 16-20.

Longworth, M. S., & Laimins, L. A. (2004). Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev, 68*(2), 362-372. doi: 10.1128/MMBR.68.2.362-372.2004

Lytle, C. D., Routson, L. B., Seaborn, G. B., Dixon, L. G., Bushar, H. F., & Cyr, W. H. (1997). An in vitro evaluation of condoms as barriers to a small virus. *Sex Transm Dis, 24*(3), 161-164.

Manhart, L. E., & Koutsky, L. A. (2002). Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts, or cervical neoplasia? A meta-analysis. *Sex Transm Dis, 29*(11), 725-735.

McCance, D. J., Campion, M. J., Baram, A., & Singer, A. (1986). Risk of transmission of human papillomavirus by vaginal specula. *Lancet, 2*(8510), 816-817.

Middleton, K., Peh, W., Southern, S., Griffin, H., Sotlar, K., Nakahara, T., . . . Doorbar, J. (2003). Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. *J Virol, 77*(19), 10186-10201.

Mindel, A., & Tideman, R. (1999). HPV transmission--still feeling the way. *Lancet, 354*(9196), 2097-2098. doi: 10.1016/S0140-6736(99)00367-0

Moreira, E. D., Jr., Giuliano, A. R., Palefsky, J., Flores, C. A., Goldstone, S., Ferris, D., . . . Haupt, R. M. (2014). Incidence, Clearance, and Disease Progression of Genital Human Papillomavirus Infection in Heterosexual Men. *J Infect Dis*. doi: 10.1093/infdis/jiu077

Morgan, H. R., & Balduzzi, P. C. (1964). Propagation of an Intranuclear Inclusion-Forming Agent from Human Condyloma Acuminatum. *Proc Natl Acad Sci U S A, 52*, 1561-1564.

Munger, K., Baldwin, A., Edwards, K. M., Hayakawa, H., Nguyen, C. L., Owens, M., . . . Huh, K. (2004). Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *J Virol, 78*(21), 11451-11460. doi: 10.1128/JVI.78.21.11451-11460.2004

Munoz, N., Bosch, F. X., de Sanjose, S., Herrero, R., Castellsagué, X., Shah, K. V., . . . Meijer, C. J. (2003). Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *New England journal of medicine, 348*(6), 518-527.

Nielson, C. M., Flores, R., Harris, R. B., Abrahamsen, M., Papenfuss, M. R., Dunne, E. F., . . . Giuliano, A. R. (2007). Human papillomavirus prevalence and type distribution in male anogenital sites and semen. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 16*(6), 1107-1114. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0997

Oriel, J. D. (1971). Natural history of genital warts. *Br J Vener Dis, 47*(1), 1-13.

Pala, S., Poleva, I., & Vocatura, A. (2000). The presence of HPV types 6/11, 16/18, 31/33/51 in Bowenoid papulosis demonstrated by DNA in situ hybridization. *Int J STD AIDS, 11*(12), 823-824.

Partridge, J. M., Hughes, J. P., Feng, Q., Winer, R. L., Weaver, B. A., Xi, L. F., . . . Koutsky, L. A. (2007). Genital human papillomavirus infection in men: incidence and risk factors in a cohort of university students. *J Infect Dis, 196*(8), 1128-1136. doi: 10.1086/521192

Petersen, C. S., Larsen, J., & Albrectsen, J. M. (1991). [Human papillomavirus--(HPV)/balanoposthitis--a new disease?]. *Ugeskr Laeger, 153*(14), 1000-1001.

Pett, M. R., Herdman, M. T., Palmer, R. D., Yeo, G. S., Shivji, M. K., Stanley, M. A., & Coleman, N. (2006). Selection of cervical keratinocytes containing integrated HPV16 associates with episome loss and an endogenous

antiviral response. *Proc Natl Acad Sci U S A, 103*(10), 3822-3827. doi: 10.1073/pnas.0600078103

Pfister, H., Nurnberger, F., Gissmann, L., & zur Hausen, H. (1981). Characterization of a human papillomavirus from epidermodysplasia verruciformis lesions of a patient from Upper-volta. *Int J Cancer, 27*(5), 645-650.

Pinto, P. A., & Mellinger, B. C. (1999). HPV in the male patient. *Urol Clin North Am, 26*(4), 797-807, ix.

Resnick, R. M., Cornelissen, M. T., Wright, D. K., Eichinger, G. H., Fox, H. S., ter Schegget, J., & Manos, M. M. (1990). Detection and typing of human papillomavirus in archival cervical cancer specimens by DNA amplification with consensus primers. *J Natl Cancer Inst, 82*(18), 1477-1484.

Schabath, M. B., Villa, L. L., Lazcano-Ponce, E., Salmeron, J., Quiterio, M., Giuliano, A. R., & Study, H. I. M. (2012). Smoking and human papillomavirus (HPV) infection in the HPV in Men (HIM) study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 21*(1), 102-110. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0591

Schabath, M. B., Villa, L. L., Lin, H. Y., Fulp, W. J., Lazcano-Ponce, E., Salmeron, J., . . . Giuliano, A. R. (2014). A prospective analysis of smoking and human papillomavirus infection among men in the HPV in Men Study. *Int J Cancer, 134*(10), 2448-2457. doi: 10.1002/ijc.28567

Schneede, P., & Hofstetter, A. (2002). [Human papillomaviruses (HPV) in urology. II: 10 years evaluation of differential HPV therapy]. *Urologe A, 41*(1), 32-37.

Sheng, J., & Zhang, W. Y. (2010). [Identification biomarkers for cervical cancer in peripheral blood lymphocytes by oligonucleotide microarrays]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 90*(37), 2611-2615.

Shope, R. E., & Hurst, E. W. (1933). Infectious Papillomatosis of Rabbits : With a Note on the Histopathology. *J Exp Med, 58*(5), 607-624.

Stanley, M. A. (2001). Human papillomavirus and cervical carcinogenesis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 15*(5), 663-676. doi: 10.1053/beog.2001.0213

Stanley, M. A. (2012). Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus. *Clin Microbiol Rev, 25*(2), 215-222. doi: 10.1128/cmr.05028-11

Stone, K. M. (1995). Human papillomavirus infection and genital warts: update on epidemiology and treatment. *Clin Infect Dis, 20 Suppl 1*, S91-97.

Stone, R. S., Shope, R. E., & Moore, D. H. (1959). Electron microscope study of the development of the papilloma virus in the skin of the rabbit. *J Exp Med, 110*, 543-546.

Strand, A., Rylander, E., Evander, M., & Wadell, G. (1993). Genital human papillomavirus infection among patients attending an STD clinic. *Genitourin Med, 69*(6), 446-449.

Svare, E. I., Kjaer, S. K., Worm, A. M., Osterlind, A., Meijer, C. J., & van den Brule, A. J. (2002). Risk factors for genital HPV DNA in men resemble

those found in women: a study of male attendees at a Danish STD clinic. *Sex Transm Infect, 78*(3), 215-218.

Thierry, F. (2009). Transcriptional regulation of the papillomavirus oncogenes by cellular and viral transcription factors in cervical carcinoma. *Virology, 384*(2), 375-379. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2008.11.014

Thomas, D. B., Ray, R. M., Koetsawang, A., Kiviat, N., Kuypers, J., Qin, Q., . . . Koetsawang, S. (2001). Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. I. Risk factors for invasive cervical carcinomas with human papillomavirus types 16 and 18 DNA. *Am J Epidemiol, 153*(8), 723-731.

Thomas, D. B., Ray, R. M., Pardthaisong, T., Chutivongse, S., Koetsawang, S., Silpisornkosol, S., . . . Riotton, G. (1996). Prostitution, condom use, and invasive squamous cell cervical cancer in Thailand. *Am J Epidemiol, 143*(8), 779-786.

Torroella-Kouri, M., Morsberger, S., Carrillo, A., Mohar, A., Meneses, A., Ibarra, M., . . . Shah, K. V. (1998). HPV prevalence among Mexican women with neoplastic and normal cervixes. *Gynecol Oncol, 70*(1), 115-120.

Trofatter, K. F., Jr. (1997). Diagnosis of human papillomavirus genital tract infection. *Am J Med, 102*(5A), 21-27.

Trofatter, K. F., Jr. (1998). Imiqimod in clinical practice. *Eur J Dermatol, 8*(7 Suppl), 17-19; discussion 20-12.

Vaccarella, S., Lazcano-Ponce, E., Castro-Garduno, J. A., Cruz-Valdez, A., Diaz, V., Schiavon, R., . . . Franceschi, S. (2006). Prevalence and determinants of human papillomavirus infection in men attending vasectomy clinics in Mexico. *Int J Cancer, 119*(8), 1934-1939. doi: 10.1002/ijc.21992

Vera-Uehara, C., Sanchez-Aleman, M. A., Uribe-Salas, F. J., Ramos-Castaneda, J., Olamendi-Portugal, M. L., & Conde-Glez, C. J. (2014). HPV infection, risk factors and viral load among Mexican male college students. *Braz J Infect Dis, 18*(1), 71-76. doi: 10.1016/j.bjid.2013.05.006

Villa, L. L., & Lopes, A. (1986). Human papillomavirus DNA sequences in penile carcinomas in Brazil. *International journal of cancer, 37*(6), 853-855.

Voog, E., Ricksten, A., Olofsson, S., Ternesten, A., Ryd, W., Kjellstrom, C., . . . Lowhagen, G. B. (1997). Demonstration of Epstein-Barr virus DNA and human papillomavirus DNA in acetowhite lesions of the penile skin and the oral mucosa. *Int J STD AIDS, 8*(12), 772-775.

Wald, A., Langenberg, A. G., Link, K., Izu, A. E., Ashley, R., Warren, T., . . . Corey, L. (2001). Effect of condoms on reducing the transmission of herpes simplex virus type 2 from men to women. *JAMA, 285*(24), 3100-3106.

Weaver, B. A., Feng, Q., Holmes, K. K., Kiviat, N., Lee, S. K., Meyer, C., . . . Koutsky, L. A. (2004). Evaluation of genital sites and sampling techniques for detection of human papillomavirus DNA in men. *J Infect Dis, 189*(4), 677-685. doi: 10.1086/381395

Wiener, J. S., Liu, E. T., & Walther, P. J. (1992). Oncogenic human papillomavirus type 16 is associated with squamous cell cancer of the male urethra. *Cancer Res, 52*(18), 5018-5023.

Wikstrom, A., Hedblad, M. A., Johansson, B., Kalantari, M., Syrjanen, S., Lindberg, M., & von Krogh, G. (1992). The acetic acid test in evaluation of subclinical genital papillomavirus infection: a comparative study on penoscopy, histopathology, virology and scanning electron microscopy findings. *Genitourin Med, 68*(2), 90-99.

Wikstrom, A., Popescu, C., & Forslund, O. (2000). Asymptomatic penile HPV infection: a prospective study. *Int J STD AIDS, 11*(2), 80-84.

Wisniewski, P. M., Warhol, M. J., Rando, R. F., Sedlacek, T. V., Kemp, J. E., & Fisher, J. C. (1990). Studies on the transmission of viral disease via the CO2 laser plume and ejecta. *J Reprod Med, 35*(12), 1117-1123.

Wright, J. L., Lawson, L. M., Pare, P. D., Wiggs, B. J., Kennedy, S., & Hogg, J. C. (1983). Morphology of peripheral airways in current smokers and ex-smokers. *Am Rev Respir Dis, 127*(4), 474-477. doi: 10.1164/arrd.1983.127.4.474

Zunzunegui, M. V., King, M. C., Coria, C. F., & Charlet, J. (1986). Male influences on cervical cancer risk. *Am J Epidemiol, 123*(2), 302-307.

ANEXO 1

ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA

Proyecto: Papel epidemiológico del hombre como portador del Virus Papiloma Humano (VPH) en la Región Caribe (Código: 112954531580)

CÓDIGO DE LA ENCUESTA ☐ **LUGAR** ☐

Fecha de diligenciamiento: _____ / _____ / _____

INFORMACIÓN GENERAL	
Nombre y apellido (iniciales):	_____
Fecha y lugar de nacimiento:	_____
Dirección de residencia:	_____
Teléfono(s):	_____
Correo electrónico:	_____

ASPECTOS SOCIO-DEMOGRÁFICOS

Edad (Años cumplidos) _____

Estado civil
Soltero ___ Casado ___ Unión libre ___ Viudo ___ Separado ___

Ocupación _____

Nivel de escolaridad
Primaria ___ Secundaria ___ Técnico ___
Universitario ___ Posgrado ___ Ninguno ___

Estrato socioeconómico
1 ___ 2 ___ 3 ___ 4 ___ 5 ___ 6 ___

FACTORES DE RIESGO

Consumo de alcohol

¿Usted consume alcohol?
Si ___ No ___

¿Con qué frecuencia usted consume alcohol?
Cada día ___ Cada semana ___ Cada mes ___ Casi nunca/nunca ___

Tabaquismo

¿Es usted fumador?
Nunca he fumado ___ Ex-fumador ___ Fumo actualmente ___

¿Por cuánto tiempo ha sido fumador?
_____

Características y comportamientos sexuales
¿Está usted circuncidado?
Si ___ No ___

¿Padece o ha padecido alguna enfermedad de transmisión sexual?
Si ___ No ___

¿Cuál? _____

¿A qué edad tuvo su primera relación sexual? (años) _____

¿Cuántas compañeras sexuales ha tenido durante toda su vida? _____

¿Cuántas compañeras sexuales que ha tenido durante los últimos tres meses?
_____

¿Cuántas compañeras sexuales ha tenido en un mismo mes? _____

Comportamiento sexual con su pareja actual (estable)

¿Cuánto tiempo lleva con su pareja actual?
_____

¿Utiliza preservativo (condón)?
Nunca ___ Menos de la mitad de las veces ___
Más de la mitad de las veces ___ Siempre ___

Comportamiento sexual con parejas ocasionales

¿Tiene o ha tenido en algún momento relaciones sexuales con alguna persona fuera de su relación de pareja?
Si ___ No ___

¿Cuánto tiempo hace desde la última vez?
_____

¿Con cuántas personas distintas de su pareja habitual ha tenido relaciones sexuales?
_____

¿Ha utilizado siempre preservativo (condón)?
Si ___ No ___

Otros comportamientos sexuales

¿Alguna vez ha tenido relaciones sexuales homosexuales (con otro hombre)?
Si ___ No ___

¿Hace cuánto tiempo?
_____

¿Usó preservativo (condón)?
Si ___ No ___

¿Alguna vez ha tenido relaciones sexuales con prostitutas?
Si ___ No ___

¿Hace cuánto tiempo?
_____

¿Usó preservativo (condón)?
Si ___ No ___

<u>Hábito de aseo</u>

¿Asea usted sus genitales después de la relación sexual?
Siempre ___ Ocasional ___ Nunca ___

EXPLORACIÓN FÍSICA

Lesiones sugerentes de infección por VPH a la inspección ___

"Esta encuesta corresponde a un proyecto de investigación ejecutado por el grupo de investigaciones Biomédicas de la Universidad de Sucre y el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (COLCIENCIAS). Su participación en el estudio es voluntaria. Se garantiza la confidencialidad y anonimato de la información. Por favor, diligencie el siguiente documento de forma clara y sincera".

ANEXO 2

Universidad de Sucre

Grupo de Investigaciones Biomédicas

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto: Papel epidemiológico del hombre como portador del Virus Papiloma Humano (VPH) en la Región Caribe (Código: 112954531580)

Grupo de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Sucre. Sincelejo, Colombia. Carrera 14 Nº 16B-32, Barrio La Pajuela. Tel: 2820830.

Investigador Principal: **Pedro José Blanco Tuirán**

CÓDIGO DE LA ENCUESTA ☐ **LUGAR** ☐

Fecha de diligenciamiento: _____ / _____ / _____

Yo _____ de _____ años de edad, con documento de identidad Nº _____ manifiesto que he sido informado a mi entera satisfacción sobre los propósitos y procedimientos del estudio "**Papel epidemiológico del hombre como portador del Virus Papiloma Humano (VPH) en la Región Caribe**".

Declaro que se me ha informado y explicado de manera sencilla y detallada que mi participación consistirá en aceptar los siguientes apartes:

- Se me harán unas preguntas sobre aspectos personales (encuesta epidemiológica).
- Se me hará un reconocimiento general de los genitales por medio de lentes y a la simple inspección.
- Se me tomarán muestras de epitelio del área genital con una torunda a fin de detectar la presencia de ADN del Virus Papiloma humano (VPH).

Declaro que se me ha informado y explicado de manera sencilla y detallada que:

- Mi participación es voluntaria. Adicionalmente, yo tengo total libertad de retirarme del estudio en el momento que considere conveniente.
- Mi participación en el proyecto es sin fines terapéuticos.
- Todo el estudio será hecho en condiciones que garantizan la confidencialidad de los datos obtenidos acerca de mí, durante las entrevistas verbales, y las exploraciones y pruebas practicadas.
- Yo no tendré ninguna compensación económica por participar en esta investigación. Sin embargo, yo soy consciente que los resultados de la misma aportarán al mejor conocimiento de la infección por VPH, y sobre su comportamiento en nuestro medio.

- Todos los procedimientos son indoloros y carecen de efectos adversos para mi salud física y psicológica. El riesgo (peligro) que yo pudiera tener, no es mayor al que enfrentaría cualquier individuo que se somete a este tipo de procedimiento clínico. Si se presentara alguna molestia local, yo dispondré de las atenciones médicas y farmacéuticas necesarias.
- Yo autorizo que las muestras obtenidas y almacenadas sean usadas para futuras investigaciones encaminadas a aprender más sobre la infección por el virus Papiloma.
- El consentimiento no otorga ningún derecho legal, ni libera a los investigadores ni a las instituciones, de la obligación por negligencia o por cualquier acto mal realizado con la muestra y la información suministrada por mí.
- Si yo tengo alguna duda acerca del estudio o de mis derechos con respecto a la participar en el mismo, puedo pedir información al investigador principal, Dr. Pedro Blanco al 2820830; o comunicarme con alguno de los investigadores relacionados en la lista adjunta.
- Yo tengo derecho a conservar una copia del presente documento una vez firmado.

Después de conocer detalladamente el planteamiento y objeto de la investigación, y de haber resuelto satisfactoriamente todas mis preguntas:
¿OTORGO mi CONSENTIMIENTO a participar en el estudio "Papel epidemiológico del hombre como portador del Virus Papiloma Humano (VPH) en la Región Caribe"? SI __ NO__
¿Doy permiso para usar las muestras obtenidas para investigaciones del VPH en el futuro? **SI ___ NO ___**

_____
Nombre y firma del paciente ó Representante legal
C.C.

_____ _____
Nombre y firma del testigo 1 **Parentesco**
C.C.

_____ _____
Nombre y firma del testigo 2 **Parentesco**
C.C.

_____
Nombre y firma del investigador responsable
C.C.

¿Recibí una copia firmada de este formulario de consentimiento informado?
SI __ NO__

ANEXO 3

PROTOCOLO PARA EXTRACCION DE ADN DE HISOPOS BUCALES (QIAGEN)[1]

1. Adicionar 20 µl de solución Stock de Proteinasa K (QIAGEN) y 600 µl de buffer AL a la muestra. Agitar por vórtex por 15 segundos
2. Incubar a 56°C por 10 minutos.
3. Centrifugar brevemente el tubo para remover las gotas adheridas a las paredes.
3. Adicionar 600µl de etanol (96-100%) a la muestra y mezclar por vórtex. Centrifugar brevemente para remover las gotas adheridas a las paredes.
4. Colocar 700µl de la mezcla del paso 3 en la columna de QIAmp (en un tubo de colección de 2ml), sin mojar el borde, tapar y centrifugar a 6000 x g (8000rpm) por un minuto. Colocar la columna en un tubo colector nuevo y descartar el que contiene el filtrado
5. Repetir el paso 4 colocando 700 µl de la mezcla restante del paso 3 en la columna QIAmp.
6. Abrir cuidadosamente la columna QIAmp y adicionar 500µl de buffer AW1 sin mojar el borde. Tapar y centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 min. Colocar la columna en un tubo colector nuevo y descartar el que contiene el filtrado.
7. Abrir la columna QIAamp y adicionar 500 µl Buffer AW2 sin mojar el borde. Tapar y centrifugar a 20,000 x g (14,000 rpm) por 3 min. Colocar la columna en un tubo colector nuevo y descartar el anterior.
8. (Opcional) Para evitar posibles contaminaciones con el buffer AW2 centrifugar nuevamente a 13000 rpm durante 5 minutos.
9. Colocar la columna en un tubo Eppendorf de 1.5 ml Nuevo. Abrir la columna y adicionar 150 µl Buffer AE o agua destilada. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) por 1 minuto.

[1]QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook 06/2012

ANEXO 4

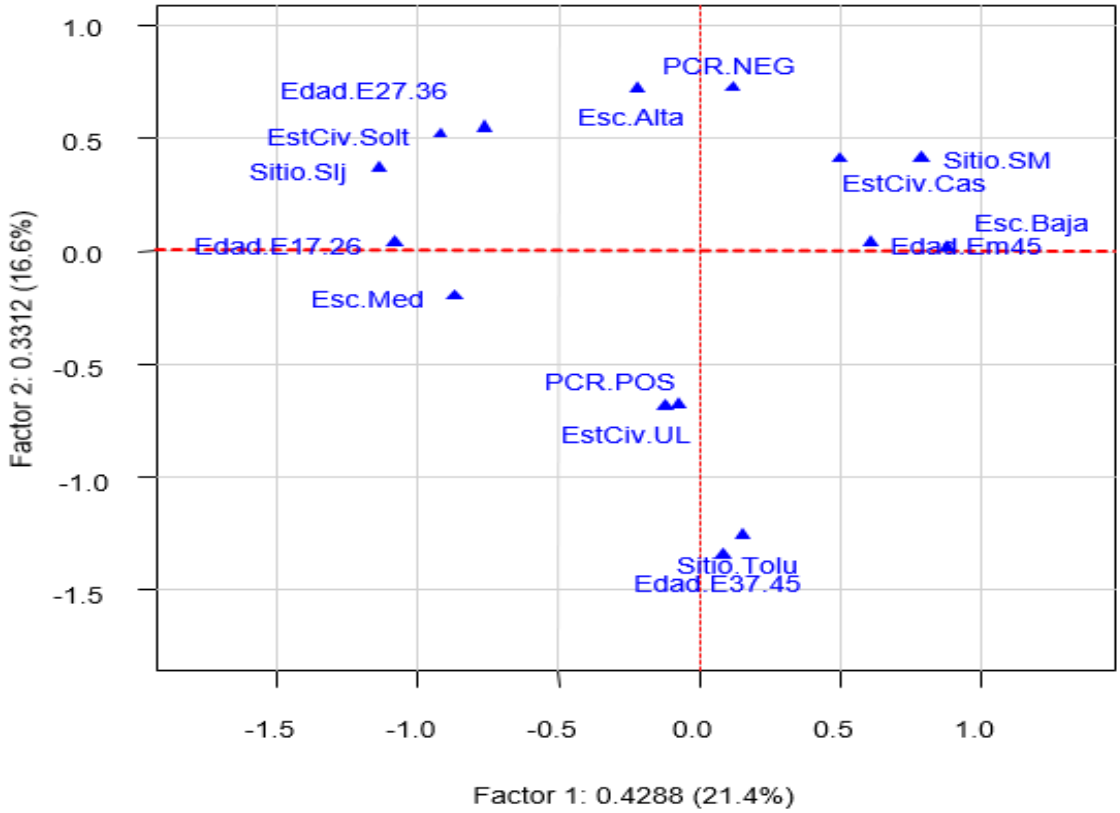


Gráfico de asociación estadística de aspectos sociodemográficos con la infección por VPH. En el análisis de correspondencia múltiple se observa que las variables como escolaridad media, estado civil (unión libre), las edad (37-45 años) y el sitio de muestreo (Tolú) están estadísticamente asociados a la positividad para VPH por PCR convencional.

ANEXO 5

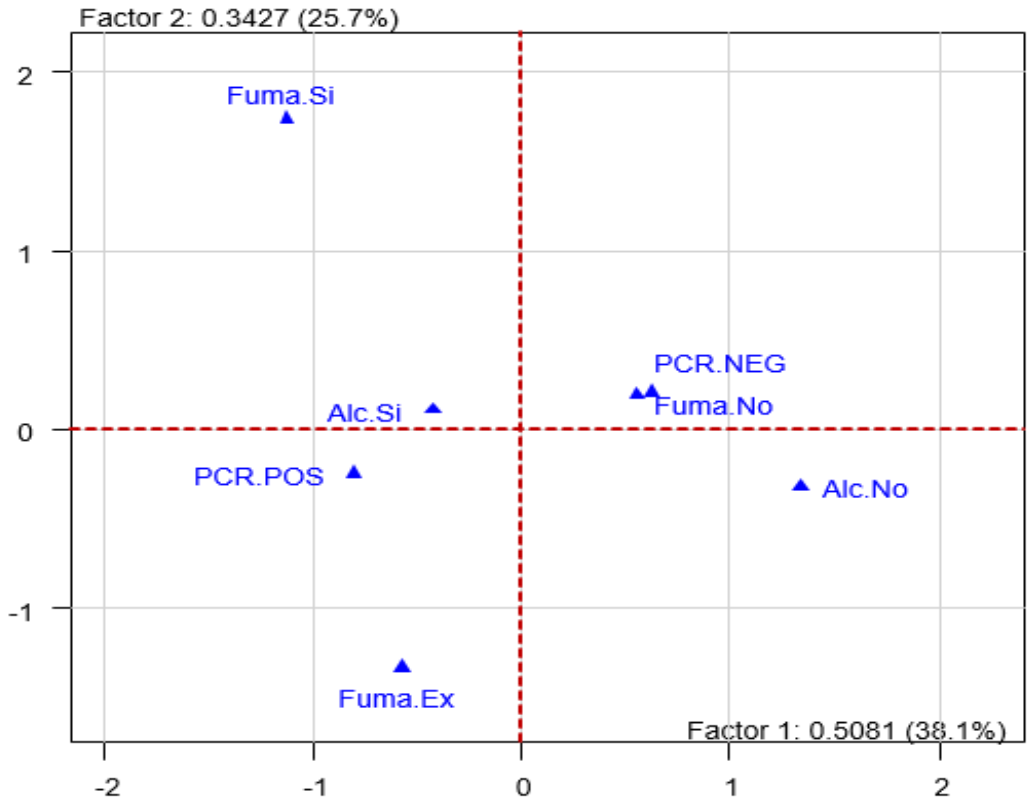
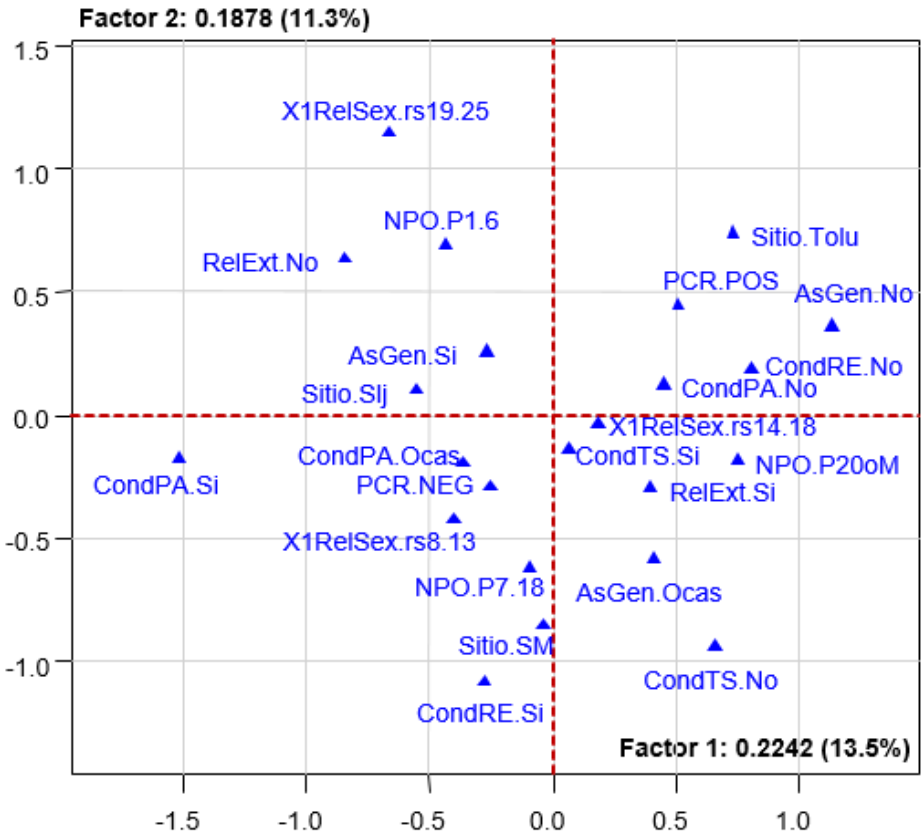


Gráfico de asociación estadística de hábitos tabáquicos y consumo de alcohol con la infección por VPH. En el análisis de correspondencia múltiple se observa que las variables como ingesta de alcohol y haber sido fumador están estadísticamente asociados a la positividad para VPH por PCR convencional.

ANEXO 6



Análisis de correspondencia múltiple para la asociación de variables de comportamiento sexual y detección positiva de VPH. En el análisis se observa que las variables como el no uso del condón, la edad de inicio de relaciones sexuales (14-18 años), el número de parejas sexuales y el sitio de muestreo (Tolú) están estadísticamente asociados a la positividad para VPH por PCR convencional.