

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



Facultat de Medicina i Odontologia
Departament de Medicina
Programa de Dermatologia

**ESTUDIO MOLECULAR DEL CONDILOMA ACUMINADO:
CORRELACIÓN CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA, GENOTIPO
DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y FACTORES DE
RIESGO ASOCIADOS.**

TESIS DOCTORAL

Pablo Hernández Bel

Valencia 2015

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



Facultat de Medicina i Odontologia
Departament de Medicina
Programa de Dermatologia

**ESTUDIO MOLECULAR DEL CONDILOMA ACUMINADO:
CORRELACIÓN CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA, GENOTIPO
DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y FACTORES DE
RIESGO ASOCIADOS.**

TESIS DOCTORAL presentada para la obtención del grado de
Doctor en Medicina y Cirugía por:

Pablo Hernández Bel

Dirigida por:

Prof. Dr. Juan José Vilata Corell.
Prof. Dr. Miguel Ángel Martorell Cebollada.
Dr. José Ángel García García.

Valencia 2015

Título de la publicación:

Estudio molecular del condiloma acuminado: correlación clínica e histopatológica, genotipo del virus del papiloma humano y factores de riesgo asociados.

Autor

Pablo Hernández Bel

Copyright

© **PABLO HERNANDEZ BEL** [2015] | *Estudio molecular del condiloma acuminado: correlación clínica e histopatológica, genotipo del virus del papiloma humano y factores de riesgo asociados.* | Doctoral tesis.

El texto y las imágenes de este sitio están protegidos por 'copyright' estricto, con todos los derechos reservados, sólo se permite la lectura, pero no su reproducción en otros formatos, ni tampoco reutilizar las obras en nuevas investigaciones.

No está permitida la reproducción total o parcial de este documento, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito del autor/editor

Contacto

pablohernandezbel@hotmail.com

Los directores:

Prof. Dr. **Juan José Vilata Corell**, Catedrático de Dermatología y Venereología de la Facultad de Medicina de la Universitat de València.

Prof. Dr. **Miguel Ángel Martorell Cebollada**, Profesor Titular del Departamento de Patología de la Universitat de València.

Dr. **José Ángel García García**, Adjunto de Patología Molecular del Servicio de Anatomía Patológica del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia.

Certifican que Don Pablo Hernández Bel, licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valencia, ha efectuado bajo nuestra dirección la presente Tesis Doctoral titulada, " **ESTUDIO MOLECULAR DEL CONDILOMA ACUMINADO: CORRELACIÓN CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA, GENOTIPO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS**", en el Departamento de Medicina de la Universitat de València.

Para que así conste y surta los efectos oportunos, firmamos la presente, en Valencia a veinte de Octubre del año dos mil quince.

Fdo.:

Prof. Dr. J. J Vilata Prof. Dr. M. A. Martorell Dr. J. A. García

AGRADECIMIENTOS

ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

AR: alto riesgo

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

BR: bajo riesgo

CDC: *Center of Diseases Control*

CHGUV: Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

EDO: enfermedad de declaración obligatoria

ETS: enfermedad de transmisión sexual

FDA: *Food and Drug Administration*

Fig.: figura

HC2: *Hybrid Capture II*

HIS: hibridación in situ

IC: intervalo de confianza

ICTV: *International Council on Taxonomy of Viruses*

ITS: infección de transmisión sexual

Kb: kilobases

kDa: kilodaltons

LCR: *Long Control Region*

OR: *odds ratio.*

ORF: *Open Reading Frame*

PCR: *Polimerase Chain Reaction*

PCR-RFLP: *Polimerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism*

pRb: proteína del gen del retinoblastoma

PV: papilomavirus

SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida

TSA: *Tyramide Signal Amplification*

VHB: virus de la hepatitis B

VHC: virus de la hepatitis C

VIH: virus de inmunodeficiencia humana

VPH: virus del papiloma humano

VPH-cut: virus del papiloma humano tipo cutáneo

VPH-ev: virus del papiloma humano tipo epidermodisplasia
verruciforme

VPH-m: virus del papiloma humano tipo mucosa

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Funciones de las proteínas “Early”.

Tabla 2. Pasos de fijación de la muestra.

Tabla 3. Características epidemiológicas y clínicas de los pacientes.

Tabla 4. Prevalencia de la infección del virus del papiloma humano (VPH) en las lesiones de condiloma acuminado, atendiendo a la clasificación de bajo riesgo y alto riesgo.

Tabla 5. Prevalencia del genotipo específico del virus del papiloma humano (VPH) en 170 lesiones de condiloma acuminado, en orden de frecuencia decreciente.

Tabla 6. Factores asociados a genotipos del VPH de BR.

Tabla 7. Factores asociados a genotipos del VPH de AR.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. “Tratado de las enfermedades venéreas y sifilíticas” de J. Giné y Partagás (1883).

Fuente; “*Tratado de las enfermedades venéreas y sifilíticas*” de J. Giné y Partagás (1883).

Figura 2. Microscopia electrónica del VPH.

Fuente; Buck CB, Day PM, Trus BL. *The papillomavirus major capsid protein L1. Virology. 2013;445:169-74*”.

Figura 3. Estructura del genoma del VPH.

Fuente; Buck CB, Day PM, Trus BL. *The papillomavirus major capsid protein L1. Virology. 2013;445:169-74*”.

Figura 4. Biología y ciclo de la vida del VPH.

Fuente; “Doorbar J, Quint W, Banks L, et al. *The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine. 2012; 30 Suppl 5:55-70*”.

Figura 5. Clasificación filogenética y epidemiológica de los tipos de VPH.

Fuente; “Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. *Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med. 2003; 348:518-27*”.

Figura 6. Múltiples condilomas acuminados en un varón.

Fuente; *Servicio de Dermatología CHGUV.*

Figura 7. Condilomas acuminados en la mujer.

Fuente; *Servicio de Dermatología CHGUV.*

Figura 8. Imagen histológica del condiloma acuminado.

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 9. Análisis por secuenciación directa.

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 10. Curvas de fusión LightCycle (Ratiofluorescencia versus temperatura con SYBR GREEN). (3= genotipo 56, 5= genotipo 33, 7= genotipo 16, 9= genotipo 18).

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 11. Curvas de amplificación PCR LightCycle (Ratiofluorescencia número de ciclos con SYBR GREEN). (3= genotipo 56, 5= genotipo 33, 7= genotipo 16, 9= genotipo 18).

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 12. Pápulas perladas en pene.

Fuente; *Servicio de Dermatología CHGUV.*

Figura 13. Molusco contagioso en pene.

Fuente; *Servicio de Dermatología CHGUV.*

Figura 14. Condilomas planos sífilíticos.

Fuente; *Servicio de Dermatología CHGUV.*

Figura 15. Carcinoma epidermoide de pene.

Fuente; *Servicio de Dermatología CHGUV.*

Figura 16. Material la para realización de la toma de muestras.

Fuente; *Servicio de Dermatología CHGUV.*

Figura 17. Procesador automático de tejidos, marca Myr.

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 18. Sistema de montaje para inclusión en parafina, modelo Oxford Trade.

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 19. Microtomo, modelo Amplia Scientific 0325.

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 20. Microscopio óptico Leica modelo DFC320 y sistema digital de captación de imágenes.

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 21. Secuenciador capilar 3130 Genetic Analyzer.

Fuente; *Servicio de Anatomía Patológica y Unidad de Patología Molecular CHGUV.*

Figura 22. Distribución de la muestra por edad.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 23. Distribución de la muestra por edades.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 24. Distribución de la muestra por sexo.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 25. Nacionalidad de los pacientes de la muestra.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 26. Distribución del nivel de estudios.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 27. Tabaquismo de los pacientes del estudio.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 28. Edad de inicio de las relaciones sexuales.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 29. Situación personal de los pacientes.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 30. Estado civil de los pacientes.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 31. Promiscuidad de los sujetos con condilomas.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 32. Distribución del número de parejas sexuales/año de todos los pacientes del estudio.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 33. Tipo de prácticas sexuales.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 34. Uso de anticonceptivos de forma habitual.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 35. Localización de las lesiones.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 36. Tipo de diagnóstico del condiloma (nuevo vs recurrente)

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 37. Tratamiento previo de las lesiones.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 38. Diagnóstico histológico de condiloma.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 39. Genotipos del VPH encontrados en nuestras lesiones de condilomas acuminados.

Fuente; *Elaboración propia.*

Figura 40. Árbol de decisión tras aplicar metodología CART.

Fuente; *Elaboración propia.*

ÍNDICE - CAPÍTULOS

1	INTRODUCCIÓN	1
2	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	63
3	MATERIAL Y MÉTODO	67
4	RESULTADOS	85
5	DISCUSIÓN	123
6	CONCLUSIONES	153
7	BIBLIOGRAFÍA	157

AGRADECIMIENTOS

ABREVIATURAS

INDICE DE TABLAS

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE CAPÍTULOS

1	INTRODUCCIÓN	01
1	INTERÉS ACTUAL Y RECUERDO HISTÓRICO	03
2	ETIOLOGÍA	07
3	EPIDEMIOLOGÍA	16
4	PATOGENIA	17
4.1.	Infección e internalización del virus	18
4.2.	Mantenimiento del genoma	19
4.3.	Fase de proliferación	19
4.4.	Amplificación del genoma	20
4.5.	Síntesis del virus	21
4.6.	Poder oncogénico	21
5	CLÍNICA	24
6	DIAGNÓSTICO	28
6.1.	Diagnóstico histológico del condiloma acuminado	29
6.2.	Diagnóstico molecular del condiloma acuminado	31
6.2.1.	Sistemas de amplificación de señal	31
6.2.2.	Sistemas de amplificación de ácidos nucleicos	32
6.2.3.	Estudios comparativos entre los métodos diagnósticos	39
7	DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	40
7.1.	Entidades anatómicas del área genital	41
7.2.	Tumores benignos	43
7.3.	Enfermedades infecciosas	44
7.4.	Lesiones premalignas y malignas	47
8	TRATAMIENTO	51
8.1.	Métodos quirúrgicos	54
8.1.1.	Criocirugía o crioterapia	54
8.1.2.	Laser vaporización	55

8.1.3.	Electrocoagulación	55
8.1.4.	Cirugía convencional	56
8.2.	Fármacos citotóxicos	56
8.2.1.	Podofilotoxina.	56
8.2.2.	Resina de podofilino, ácido tricloroacético, cantaridina	57
8.3.	Inmunomoduladores o modificadores de la respuesta inmune	57
8.3.1.	Imiquimod	57
8.3.2.	Sinecatequinas o polifenol E	58
9	VACUNAS FRENTE AL VIRUS DEL PAPILOMA	59
2	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	63
3	MATERIAL Y MÉTODO	67
1	ÁMBITO DEL ESTUDIO	69
2	DISEÑO DEL ESTUDIO	69
3	CRITERIOS DE INCLUSIÓN-EXCLUSIÓN	70
4	DESCRIPCIÓN DE LA TOMA DE MUESTRAS	71
5	VARIABLES DEL ESTUDIO	72
6	ESTUDIO HISTOLÓGICO MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA	76
7	ESTUDIO MOLECULAR DEL ADN DEL VPH	81
8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	82
8.1.	Estadística descriptiva	82
8.2.	Estadística analítica	83
4	RESULTADOS	85
1	POBLACIÓN DEL ESTUDIO	87
2	DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	87
2.1.	Características epidemiológicas	90
2.1.1.	Edad	90
2.1.2.	Sexo	91
2.1.3.	Nacionalidad	92
2.1.4.	Nivel de estudios	92

2.1.5.	Tabaco	93
2.2.	Características sobre hábitos y actitud de las prácticas	94
2.2.1.	Edad de inicio de las relaciones sexuales	94
2.2.2.	Situación personal y estado civil	95
2.2.3.	Promiscuidad y profesional del sexo	96
2.2.4.	Prácticas sexuales	98
2.2.5.	Uso de anticonceptivos	99
2.3.	Características clínicas específicas de las lesiones	100
2.3.1.	Localización de las lesiones	100
2.3.2.	Lesiones recurrentes y tratamientos previos	101
2.3.3.	Infecciones asociadas	103
2.3.4.	Diagnóstico histológico de las lesiones	104
3	DETECCIÓN MOLECULAR Y GENOTIPO DEL VPH	105
3.1.	Prevalencia del VPH	105
3.2.	Prevalencia de los genotipos específicos del VPH	109
4	RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ESTUDIADAS Y EL GENOTIPO DE ALTO Y BAJO RIESGO	112
5	DISCUSIÓN	123
1	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	126
1.1.	Tamaño muestral	127
1.2.	Recogida de datos de los pacientes (sesgo del observador)	127
1.3.	Reclutamiento de los pacientes (sesgo de selección)	127
1.4.	Sesgo de información	128
2	CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA	128
2.1.	Edad	128
2.2.	Sexo	129
2.3.	Nacionalidad	130
2.4.	Nivel de estudios	131
2.5.	Tabaco	132
2.6.	Edad de inicio de las relaciones sexuales y número de sexuales	133
2.7.	Situación personal y estado civil	135

2.8.	Prácticas sexuales	135
2.9.	Uso de métodos anticonceptivos	136
2.10.	Localización de las lesiones	138
2.11.	Lesiones recurrentes y tratamientos previos	138
2.12.	Infecciones de transmisión sexual asociadas	141
2.13.	Diagnóstico histológico	143
2.14.	Detección molecular del VPH y prevalencia específica del genotipo	144

6	CONCLUSIONES	153
----------	---------------------	------------

7	BIBLIOGRAFÍA	157
----------	---------------------	------------

1 **INTRODUCCIÓN**

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3 MATERIAL Y MÉTODO

4 RESULTADOS

5 DISCUSIÓN

6 CONCLUSIONES

7 BIBLIOGRAFÍA

1. INTERÉS ACTUAL Y RECUERDO HISTÓRICO

El condiloma acuminado es la enfermedad de transmisión sexual (ETS) más frecuente del mundo¹. Está causado por distintos genotipos del virus del papiloma humano (VPH) constituyendo un problema de salud de importancia creciente a nivel mundial. Gran parte de la población está en riesgo de infectarse y el control de su manifestación clínica constituye uno de los temas de mayor interés en el ámbito de la venereología².

Uno de los diagnósticos más frecuentes en la consulta de dermatología lo constituyen las verrugas víricas. Es tal vez esta vulgaridad, la evidencia de su diagnóstico, lo que ha hecho que pase desapercibida en muchos textos históricos y en tratados médicos, relegadas al conocimiento popular y al tratamiento con remedios caseros y de curanderos. Los condilomas acuminados aparecieron descritos en los antiguos escritos egipcios. Posiblemente, al afectar las zonas pudendas, fueran considerados más propios de ser tratados médicamente que por el simple consejo del vulgo³.

Los médicos romanos solían denominar a los condilomas como *crista galli*.⁴ Este gráfico y acertado nombre describe muy bien su aspecto clínico, en especial en las zonas en las que por efecto de la compresión de las partes adyacentes pueden crecer como masas carnosas aplanadas, rojizas y rugosas. Sin embargo, el nombre más popular fue el de *ficus*, por su similitud con los higos⁵. Este término, originado en la apariencia granujienta de las lesiones, semejante a un higo cortado por la mitad fue muy común entre el vulgo, que lo

usó en muchas ocasiones con un sentido obsceno⁶. La palabra “*condyloma*”, que etimológicamente significa “un bulto redondo perianal”, apareció también precozmente y su uso ha llegado hasta nuestros días⁷.

El autor romano *Aulus Cornelio Celso* denominaba a los condilomas como *Thymia* (tomillos), probablemente por la apariencia arracimada de las hojas y flores de esta planta. En su libro “De medicina”⁸, nos describe unas vegetaciones esponjosas, rojas, en los márgenes del ano, que sangran con facilidad y que adquieren el tamaño de un guisante. Las numerosas alusiones jocosas de los *ficós* en los escritos populares de la época, hace pensar que los condilomas eran una afección muy frecuente, bien conocida por el pueblo, que era el público a quien iban dirigidas las sátiras citadas⁹.

En la Edad Media, las referencias a las ETS, a excepción de la gonorrea, escasean. Sin embargo, ocasionalmente también hallamos textos que atestiguan el conocimiento clínico de los condilomas e incluso el mecanismo de contagio que parecía bien conocido. “*El higo es una excrecencia que aparece en el prepucio, y a veces en el glande, tras el contacto con una mujer impura; si llega a corromperse degenera en cáncer*”¹⁰.

Como consecuencia de la epidemia de sífilis que se extendió por Europa desde finales del siglo XV, en los tratados de médicos se hace referencia a las *crestas de gallo* como uno de los síntomas de la lúes¹¹. Sin embargo a ciertos clínicos observadores no se les escapa el posible parentesco entre los condilomas y las verrugas comunes¹². En esta época

la mayoría de los médicos eran partidarios de la teoría unicista, que defendía la unidad del mal venéreo considerando que todas las ETS eran manifestaciones diferentes de la sífilis. Hasta finales del siglo XVIII nadie puso en duda la etiología luética de los condilomas. Fue Benjamin Bell (1793)¹³ el primero en defender la teoría dualista, que creía en la diversa etiología de las diferentes ETS. Aunque no estaba muy seguro de su origen, describió claramente la clínica de los condilomas.



Figura 1. “Tratado de las enfermedades venéreas y sífilíticas” de J. Giné y Partagás (1883).

En el siglo XIX se usaron muchos vocablos para denominar las vegetaciones venéreas, muchas veces alusivas a su aspecto. Además de las ya conocidas de higo o cresta de gallo, hay que añadir muchas otras, como puerros, moras,

frambuesas, mariscos, fungosidades, coliflores... (Fig.1). También en esta época aparece la denominación de *condilomas acuminados*, para diferenciarlos de los *condilomas planos* de la sífilis, ya que se empieza a admitir que no siempre los condilomas acompañan a la sífilis. En la obra del venereólogo madrileño Díaz de Benito (1863)¹⁴ sostenía rotundamente: *“No podemos en manera alguna considerar esta clase de padecimientos como de naturaleza sífilítica, la observación diaria y atenta nos tiene demostrado lo contrario”*.

Los condilomas acuminados y las verrugas se consideraban en la aún naciente Dermatología de mediados del siglo XIX como de causa desconocida, aunque pronto hubo autores que sostuvieron su contagiosidad e incluso su autocontagiosidad por la sangre. Como corresponde a la época, en la que se pensaba llegar a encontrar un microbio para cada enfermedad, no faltan autores que creen en una etiología microbiana para los condilomas. El término “verrugas blenorragicas” fue ampliamente usado hasta la mitad del siglo XX, como relacionado con una de las manifestaciones de la gonorrea o al menos, que el pus blenorragico actuaba como un irritante que propiciaba la aparición de las vegetaciones¹⁵.

La histopatología de los condilomas era ya bien conocida desde hacía años. Diversos autores destacan las similitudes histológicas entre las verrugas genitales y las verrugas plantares, y sugerían claramente que estaban relacionadas. En los comienzos del siglo XX, mediante inoculaciones consiguen demostrar un hecho sorprendente: con extractos de condilomas inoculados en la piel del antebrazo, se producen verrugas vulgares, mientras que con extractos de verrugas inoculadas en

el área genital se reproducen condilomas. Al conseguirse la inoculación en ausencia de una flora visible o cultivable, se empieza a relacionar la etiología de verrugas y condilomas con los entonces nacientes virus filtrables, entes submicroscópicos con capacidad patógena¹⁶. Esta experimentación, llevó a los investigadores de la época ya partidarios decididos del origen vírico de condilomas y verrugas, a admitir que todos los cuadros clínicos del grupo están causados por un único virus, y que su variada expresión clínica venía dada sólo por la localización. Esta idea unitaria, de un virus único, se mantendrá en los textos de Dermatología incluso hasta la segunda mitad del siglo XX.

Strauss *et al* (1949)¹⁷, pudo demostrar al microscopio electrónico la presencia de partículas víricas en extractos de verrugas vulgares. El virus fue llamado inicialmente *Molitor verrucae*, nombre que no tuvo éxito. En posteriores modificaciones taxonómicas y criterios para la clasificación y nomenclatura de los virus lo clasificaron en el grupo del *virus del papiloma humano*.

2. ETIOLOGÍA

El VPH humano pertenece a la familia de virus recientemente reconocida como *Papillomaviridae*¹⁸. Su nombre deriva del latín *papilla*, que significa “pezón o pústula” y del sufijo griego *-oma*, que significa “tumor”. Anteriormente, compartían familia los papilomavirus y los poliomavirus formando la familia *Papovaviridae* debido a que comparten las características de poseer un genoma circular de ADN de doble cadena y tener una cápside icosaédrica sin envoltura. Sin

embargo, con las nuevas técnicas de secuenciación del genoma, se ha demostrado que estas similitudes son muy superficiales y que existen diferencias suficientes para considerarlos dos familias de virus diferentes. Sus genomas tienen un tamaño distinto; 5 Kb el poliomavirus y 8 Kb el papilomavirus, y lo más importante es que no comparten secuencias nucleótidas ni aminoácidas de importancia¹⁹. Así pues, la familia *Papillomaviridae* está oficialmente reconocida por la *International Council on Taxonomy of Viruses* (ICTV) desde 2004.

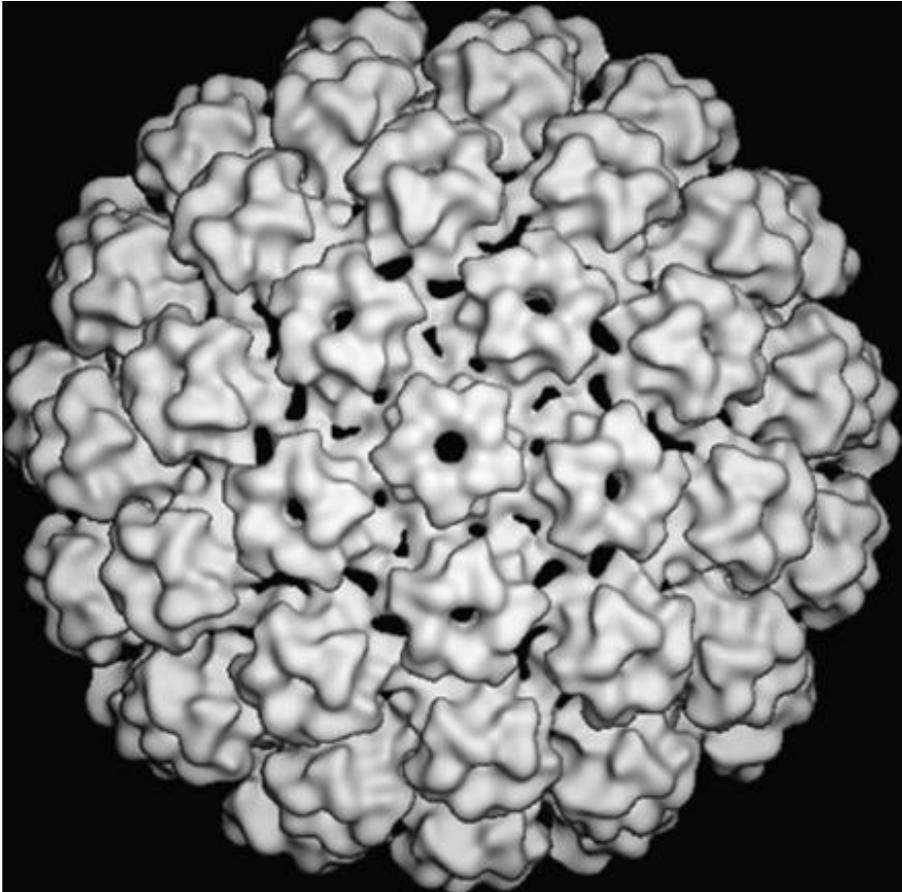


Figura 2. Microscopía electrónica del VPH.

Los papilomavirus son virus cuyo genoma es un ADN de doble cadena circular con morfología semejante a la cromatina (Fig.2). Este ADN está encerrado en una cubierta proteica o cápside de estructura icosaédrica compuesta por 72 capsómeros y carece de envoltura lipoproteica, lo que lo hace muy estable con capacidad de infección duradera y resistencia a numerosos agentes terapéuticos¹⁹. Su tamaño es de 55-60 nm de diámetro. Cada capsómero es un pentámero de la proteína L1 y cada cápside contiene varias copias (en torno a 12) de la proteína L2²⁰.

El modelo de genoma del VPH ha sido tomado del VPH tipo 16, que es el más estudiado debido a su demostrado poder oncogénico en el cáncer de cuello de útero. Este genoma contiene entre 6800 y 8000 pares de bases asociado con histonas y se divide en tres regiones funcionales (Fig.3).

La primera es una región no codificadora de 0,4 a 1 Kb de longitud y ocupa un 5% del genoma. Esta región está situada entre L1 y E6 y se trata de la región llamada "*Upstream Regulatory Region*" o "*Long Control Region*" (LCR). Esta región contiene el origen de la replicación del ADN viral, se trata de una zona rica en secuencias AT y un sitio de unión a E2. Incluye también la mayoría de los promotores y elementos "*-cis*" implicados en la replicación y en la transcripción del ADN viral. Es una región poco conservada, de hecho es la que presenta mayor variabilidad de secuencia entre los diferentes tipos²¹.

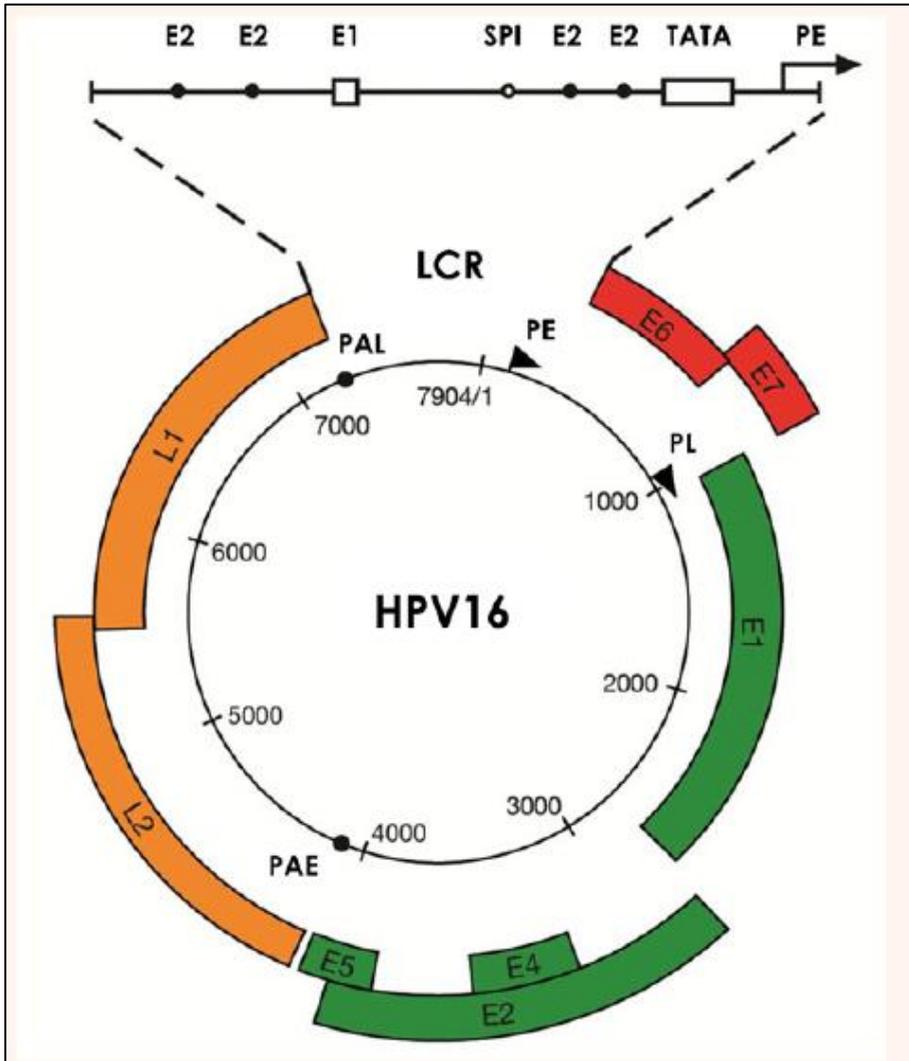


Figura 3. Estructura del genoma del VPH.

Las otras dos regiones funcionales o codificadoras son dos secuencias de lectura abierta *“Open Reading Frame”* (ORF). Una de estas dos regiones se denomina E por *“early”* ya que contiene seis genes que se expresan en la primera fase

(“temprana”) del ciclo del virus. Ocupa el 45% del genoma viral. Los genes que contiene son E1, E2, E4, E5, E6, E7 (aunque E4 podría considerarse un gen “tardío” como veremos más adelante). E1 y E2 modulan la transcripción y la replicación del virus y E5, E6 y E7 son oncogenes que modulan el proceso de transformación celular. Tabla 1.

E1	Helicasa ATP dependiente (desenrollamiento ADN y factor elongación en la replicación ADN; mantiene estado episómico)
E2	Complejo iniciación con E1 en <i>ori</i> ; dos formas (completa-activador transcripcional y trunca (2 isoformas), con función inhibidora
E4	Asociada con citoesqueleto citoqueratina de células epiteliales y permite salida viriones; transformación células hospedadoras
E5	Inhibe mecanismos supresión crecimiento celular (inactiva p21)
E6	Induce transformación celular por unión (mediada por E6AP) e inducción de la degradación de p53 (proteólisis mediada por ubiquitina) en HPVs de alto riesgo
E7	Unión a pRB y liberación de factor ELF2 e inducción de síntesis de ADN en células quiescentes con mantenimiento de número elevado de copias de ADN; coopera con oncogen <i>ras</i>

Tabla 1: Funciones de las proteínas “Early”.

La otra región se conoce como L por “late” y contiene dos genes que se expresan en la fase más tardía del ciclo del

virus. Son los genes L1 y L2 que codifican las proteínas estructurales que formarán la cápside viral²². Forma aproximadamente el 40% del genoma viral.

El gen E1 codifica una fosfoproteína de 70-80 kDa. Esta proteína tiene una actividad ADN helicasa y una actividad ATPasa dependiente de ADN.

El gen E2 codifica una fosfoproteína reguladora de la transcripción. Tiene un tamaño de 48 kDa. Contiene tres dominios funcionales. El dominio N-terminal contiene unos 220 aminoácidos y actúa como transactivador, el dominio C-terminal con unos 90 aminoácidos, es un sitio de unión al ADN y el tercer dominio actúa como bisagra entre los otros dos. La unión de E2 a una zona de la LCR cercana a la caja TATA del promotor principal de E6 y E7 provoca un impedimento estérico, es decir, un problema de falta de espacio, para la unión del factor de transcripción IID o la polimerasa II a esa caja TATA de modo que se reprime la expresión de E6 y E7. Este podría ser el punto de cambio de los ARNm *“early”* a los ARNm *“late”*, y por tanto de la fabricación de grandes cantidades de proteínas de la cápside²³. También se ha demostrado que actúa en la síntesis de la proteína p53 lo que produce detención del ciclo celular en G1 y la apoptosis²⁴.

El gen E4 se expresa más tarde en el ciclo de replicación del virus y por ello podría considerarse un gen *“tardío”*. Se ha visto que la proteína E4 se fusiona con regiones génicas de E1 y forma la proteína mixta E1-E4 de 10-44 kDa. Esta proteína es capaz de unirse a la red de citoqueratina de la célula produciendo su desestabilidad. Se cree que su función

es la de facilitar el ensamblaje y la maduración de los viriones²⁵.

Los genes E5, E6 y E7 son oncogenes, codifican proteínas que intervienen en los procesos de transformación celular. Se ha comprobado que E6 y E7 se expresan en todos los cánceres asociados al VPH. Los productos de los genes E6 y E7 modifican la regulación del ciclo celular de la célula hospedadora al unirse e inactivar algunas proteínas supresoras de tumores, ciclinas y quinasas dependientes de las ciclinas²⁶.

El gen E5 codifica una proteína de 14 kDa. Se localiza en la membrana plasmática celular y estimula la proliferación y diferenciación celular e inhibe la apoptosis.

La proteína del gen E6 tiene un tamaño de 16-18 kDa. Induce la síntesis de ADN e interactúa con diferentes proteínas celulares, la principal es la p53 en los VPH de alto riesgo, inhibiendo la apoptosis.

La proteína que codifica el gen E7 tiene un tamaño de 10 kDa. Induce la proliferación celular no programada. La principal interacción es con la proteína pRb²⁶.

Los genes tardíos L1 y L2 codifican las proteínas mayor y menor de la cápside respectivamente, como ya se mencionó anteriormente.

Los papilomavirus se identifican por la abreviatura PV y delante una o dos letras indicando la especie donde se hospedan. Así, el virus del papiloma humano se conoce

internacionalmente como HPV, aunque en castellano se emplea la abreviatura VPH respetando la gramática de nuestro idioma. Los datos actuales muestran la existencia de más de 200 tipos, pero sólo el genoma de unos 100 de ellos ha sido aislado y secuenciado por completo. Toda la información sobre los nuevos tipos de VPH está disponible en Internet (<http://hvp-eb.lanl.gov/stdgen/virus/hpv/compendium/htdocs/>)^{19,27}.

El hecho de que exista un gran número de diferentes tipos de VPH no significa que sea un virus con alta tasa de mutación. Hay evidencias claras de que los genomas de los VPH y de los papilomavirus en general son muy estáticos y los cambios en las secuencias por mutación o por recombinación son hechos infrecuentes. La tasa de mutaciones no parece que tenga una frecuencia diferente de la del genoma del organismo infectado.

Los diferentes papilomavirus se han descrito tradicionalmente como tipos, no se trata de serotipos sino de genotipos ya que la clasificación se basa en el grado de homología de secuencia del ADN del virus. Los genes mejor conservados del genoma son E1, E2, L1 y L2. Los tipos se identifican por números siguiendo el orden histórico de su descripción. Actualmente un nuevo tipo de VPH es registrado en el Centro de Investigación Alemán del cáncer en Heidelberg únicamente cuando se demuestra que se ha aislado el genoma por completo¹⁹. Cada tipo de papilomavirus viene definido por el grado de homología de secuencia del gen L1 y el punto de corte que diferencia los diferentes tipos virales es el de un 90% de homología de secuencia en ese gen.

De acuerdo con la clasificación taxonómica¹⁸, la familia Papillomaviridae está compuesta por 16 géneros, que se identifican con las letras griegas. Cada género incluye una o varias especies, que van numeradas, y dentro de las especies encontramos los tipos, subtipos y variantes (Fig.4). El género engloba las especies con una homología de secuencia del gen L1 superior a un 60%. La especie incluye los tipos que comparten más de un 70% de secuencia en la región L1. Dentro de cada especie se incluyen los tipos virales. Los diferentes tipos virales de una misma especie comparten entre un 71-89% de secuencia en la ORF de L1. Un grado de homología de un 90% hasta un 98% define un subtipo de un tipo viral y una homología superior a un 98% define las variantes de un tipo²⁸.

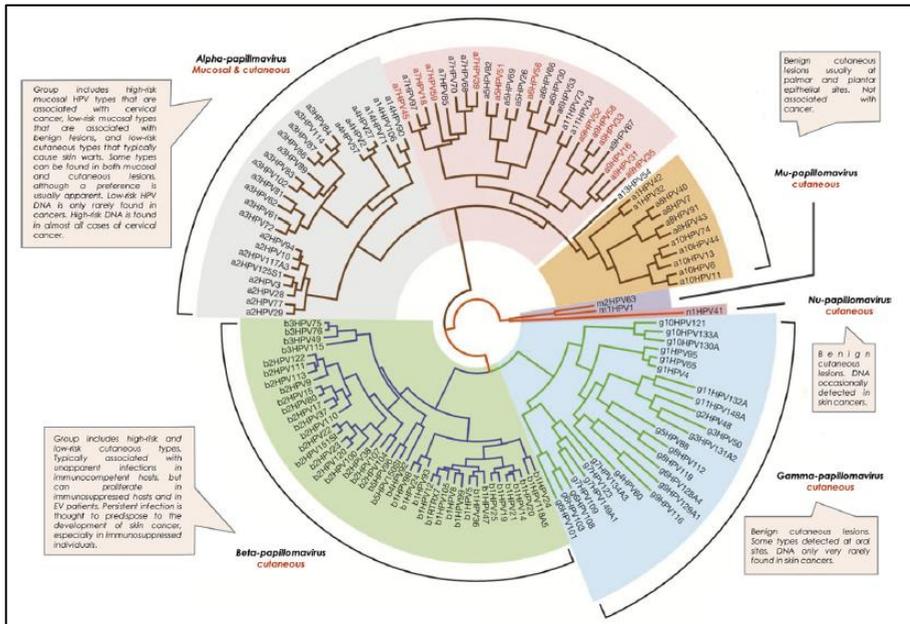


Figura 4. Biología y ciclo de la vida del VPH.

3. EPIDEMIOLOGÍA

La asociación entre la presencia de verrugas en la región genital y la infección por el VPH es conocida desde el siglo XX¹⁷. Las lesiones externas producidas por el VPH denominadas condilomas acuminados o verrugas genitales en el 90-95% de los casos es el resultado de la transformación celular generada por los genotipos 6 y 11 del VPH, siendo el 5-10% restante producidas por otros genotipos de este virus, incluidos algunos que tienen riesgo de transformación neoplásica como los genotipos 16 y 18, que pueden ser responsables de la presencia de displasias graves en pene, vulva o ano²⁹.

Los condilomas acuminados son en general de transmisión sexual, de posible larga incubación, evolución crónica, escasa sintomatología subjetiva pero con potencial riesgo oncogénico. Los nuevos avances en las técnicas de biología molecular nos han permitido un mayor conocimiento de los genotipos del VPH implicados, lo que ha motivado en estos últimos años, una particular inquietud epidemiológica ante el cáncer producido por las ETS³⁰. Sin embargo, uno de los grandes problemas epidemiológicos de los condilomas es que sigue sin ser tratada como una enfermedad de declaración obligatoria (EDO) a pesar de ser la ETS más frecuentemente diagnosticada en todos los niveles de la salud³¹.

La prevalencia de los condilomas acuminados es muy variable según la población estudiada, Vilata *et al* (2008)³² afirmaban que en España afectaba a cerca del 1% de la población sexualmente activa. En otros estudios el rango de

prevalencia estimado oscila entre el 0,3 y el 15%. Estos datos varían según se describa a la población general, que está cercana al 1% o a los pacientes de las clínicas de ETS (10-15%). Se estima que la incidencia va aumentando progresivamente, observándose un pico de incidencia mayor en el grupo etario de 20-24 años de edad. En los Estados Unidos, la incidencia anual del condiloma genital aumentó desde 107 casos por 100,000 personas-año en riesgo en el año 2000, hasta 229 casos por 100,000 personas-año en la actualidad³³.

Diferentes autores estiman que la prevalencia está en fase de crecimiento en diferentes países³⁰. No obstante los sistemas de información sanitaria con relación a los condilomas genitales no son lo suficientemente completos como para confirmar esta hipótesis. En nuestro país, la ausencia de sistemas de registro de estos procesos hace imposible analizar la situación del problema³².

4. PATOGENIA

El virus que más se ha estudiado es el del VPH-16 por su repercusión clínica, ya que es la principal causa de cáncer de cuello de útero. De estos estudios junto con los de otros VPH del mismo género α (VPH-18, 11 y 6), se ha establecido un modelo general que se puede aplicar a los VPH de otros géneros. El ciclo vital del virus permite comprender su poder oncogénico²⁴.

Este ciclo se divide en las siguientes fases:

- Infección e internalización del virus
- Mantenimiento del genoma
- Fase proliferativa
- Amplificación del genoma
- Síntesis del virus

4.1. Infección e internalización del virus.

El VPH es exclusivamente epiteliotropo, y la infección inicial requiere de una microabrasión o microtraumatismo que permita el acceso del virus a la capa basal del epitelio. Una vez en la capa basal, para que la infección se mantenga es preciso que afecte a una célula madre epitelial. En el caso de la piel, las células madre son abundantes en el folículo piloso, una importante puerta de entrada para la infección de los β -papilomavirus³⁴.

El mecanismo de adhesión del virus a la célula no es del todo conocido, pero existen evidencias sobre la implicación de receptores de la familia de las α_6 -integrinas y la presencia del heparán sulfato de la superficie celular³⁵. La internalización del virus, que dura horas, se produce mediante la endocitosis de los virus en vesículas cubiertas de clatrina³⁶. La replicación y el ensamblaje del VPH se realizan exclusivamente en el núcleo celular. Para que el ADN viral sea transportado al núcleo, se produce la rotura de la cápside icosaédrica por sus puentes disulfuro³⁷.

4.2. Mantenimiento del genoma.

Una vez el ADN del virus está dentro del núcleo de la célula basal del epitelio, y bajo el control de las proteínas virales E1 y E2, se mantiene en su forma episómica, es decir, como un plásmido, no integrado en el genoma celular. Así, utiliza la maquinaria celular para hacer una réplica viral por cada ciclo, de modo que mantiene un bajo número de copias por célula³⁸.

4.3. Fase de proliferación.

En el epitelio sano, las células basales salen del ciclo celular en las capas suprabasales para seguir su ascenso por el epitelio a la vez que maduran hasta llegar a la capa córnea donde descaman al llegar a su diferenciación final²⁶.

Cuando se produce la infección por el VPH no se produce esta salida del ciclo celular, sino que en las células suprabasales que inician la maduración existen unos cambios en el entorno celular que favorecen la replicación viral y la expresión de proteínas virales que provocan una estimulación de la proliferación celular y una interferencia en la maduración del queratinocito. Ésto se refleja en la histología de las verrugas que muestra una hiperplasia de la capa espinosa con acantosis, papilomatosis, hiper y paraqueratosis y el efecto citopático característico de los coilocitos³⁹.

En esta fase de proliferación se expresan los genes virales E6 y E7, que impiden la maduración del queratinocito. La asociación de E7 con pRB (proteína reguladora del ciclo celular, que mientras se mantiene unida al factor de transcripción E2F, evita la entrada a la fase S del ciclo

celular) desplaza a E2F lo que conduce a la expresión de proteínas necesarias para la replicación celular, como la ciclina E²⁶. Por otro lado, E7 también se puede asociar a otras proteínas involucradas en la proliferación celular como las histonas deacetilasas y los inhibidores ciclasa dependientes de quinasa p21 y p27. A pesar de esta capacidad de estimular la proliferación celular, en las capas suprabasales sólo un subgrupo pequeño de células tiene actividad mitótica y niveles bajos de p21 y p27. Será en estas células infectadas donde E7 puede superar el bloqueo para entrar en la fase S del ciclo celular y aprovecharlo el virus para replicarse también³⁹.

La proteína viral E6, complementa el papel de E7. E6 evita la apoptosis de las células con ADN alterado como consecuencia de la proliferación descontrolada provocada por E7. Para ello, E6 se une a la proteína celular p53 inhibiendo su acción proapoptótica. Además, también se puede unir a las proteínas proapoptóticas Bak y Bax³⁹.

Además de las proteínas E6 y E7, en esta fase de proliferación celular, se expresan también otras proteínas tempranas, E1, E2, E4 y E5, que mantienen el ADN viral en su forma episómica y con un número bajo de copias³⁹.

4.4. Amplificación del genoma.

Para la producción de viriones con capacidad de infección, los papilomavirus han de replicar su genoma y ensamblarse en partículas virales. La replicación se produce en las células que han entrado en la fase S, y requiere la expresión de E4 y E5. Por otro lado, es necesario que E1 y E2 se unan al

ADN viral para iniciar su replicación en ausencia del inicio de la replicación del ADN de la célula donde se hospeda. Así, niveles altos de E1 y E2 permitirán que haya un número elevado de copias de ADN viral en las capas altas del epitelio³⁹.

4.5. Síntesis del virus.

Esta fase se desarrolla en las capas altas del epitelio, y sólo en las células que expresen la proteína E4. Estas células codifican las proteínas L1 y L2 que corresponden a las proteínas de la cápside. Una vez ensambladas, el virus ya ha completado su ciclo y es capaz de infectar una vez se libera de la célula donde se hospeda, y esto ocurre tras la descamación celular, ya que no es un virus lítico. La proteína E4 contribuye a esta liberación del virus gracias a su capacidad de unirse a la queratina y alterar su integridad, afectando a la resistencia de la capa córnea²⁵.

4.6. Poder oncogénico.

La clasificación filogenética de los tipos del VPH, comentada previamente y basada en el estudio del gen L1, se correlaciona con la distinción epidemiológica encontrada entre los genotipos de alto y bajo riesgo⁴⁰.

Las evidencias epidemiológicas a nivel molecular indican claramente que ciertos tipos del VPH son la principal causa del cáncer de cérvix. Más de 150 genotipos han sido identificados, y aproximadamente unos 40 pueden provocar infección a nivel del tracto genital. Tradicionalmente los

genotipos genitales se han subdividido en función de su potencial capacidad de malignizar en tipos de bajo riesgo oncogénico, que se encuentran fundamentalmente en las verrugas genitales y los tipos de alto riesgo que frecuentemente se asocian a carcinoma cervical invasor y a otros tumores malignos del área genital y orofaríngea²⁶.

De esta forma 18 tipos del VPH han sido clasificados como genotipos de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, y 82) y 16 fueron clasificados como genotipos de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 84 y 89). Aquellos que no pertenecen a ninguno de estos 2 grupos se han considerado como de riesgo indeterminado⁴⁰ (Fig.5).

Phylogenetic Classification	Epidemiologic Classification	
	High risk	Low risk
High risk	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82, 26,* 53,* 66*	70
Low risk	73	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81, CP6108

Figura 5. Clasificación filogenética y epidemiológica de los tipos de VPH.

En el caso de los α -VPH de mucosas de alto de riesgo, una vez producida la infección puede ocurrir que la infección regrese y el virus se encuentre en forma latente o que exista una transformación tumoral. Si el sistema inmunitario del hospedador es capaz de reconocer el virus, será capaz de eliminarlo, pero si por el contrario lo evade y la infección persiste es cuando se produce la transformación tumoral después de un largo período de latencia²⁶. Estos virus con capacidad de transformación maligna sólo son capaces de provocarla cuando su ciclo vital productivo no se ha podido completar. El ciclo vital se ve alterado en su fase de proliferación, donde E6 y E7 están implicadas. En esta fase se produce una proliferación celular descontrolada, debido a la acción de E7, con mutaciones en el ADN celular que la propia célula no puede reparar debido a la acción de E6. Por otro lado, E2 y E4, los genes que tienen un control negativo sobre el crecimiento celular están disminuidos. Estos genes E2, E4, y también E5 y parte de L2 dejan de expresarse debido a la integración del ADN viral al ADN de la célula, ya que esta se produce justo donde este gen se une a la ORF rompiendo la continuidad de estos genes y perdiéndose después de la integración. Los VPH de alto riesgo se pueden diferenciar de los otros tipos de VPH principalmente por la estructura y función de los productos de E6 y E7³⁴.

En las lesiones benignas causadas por el VPH, el ADN viral se encuentra generalmente en forma episómica, en el núcleo, no integrado en el genoma de la célula hospedadora. En el cáncer, el ADN viral se encuentra integrado en el genoma celular^{26,38}.

En los tipos virales de alto riesgo las proteínas E6 y E7 tienen mayor afinidad por la p53 y pRB respectivamente que en los otros tipos. La inactivación o la disminución de la actividad de la p53 y la pRB inducen la proliferación e inestabilidad genómica en el hospedador, como consecuencia de ello se producirá una acumulación de daños en el ADN que no son reparados. La inmortalización eficiente de los queratinocitos precisa de la acción conjunta y en cooperación de E6 y E7, aunque se ha comprobado que E7 en solitario es capaz de inmortalizar las células del hospedador⁴¹.

La inmunosupresión crónica representa un factor de riesgo para la persistencia del ADN viral y la progresión tumoral de la infección, pero los factores que determinan la persistencia viral en otros pacientes no están bien definidos. Los factores de riesgo no relacionados con el tipo de virus hasta ahora conocidos se engloban en tres grupos, los relacionados con los factores genéticos del hospedador, con su respuesta inmunitaria y los factores ambientales que favorecen la infección y la transformación maligna^{26,42}.

5. CLÍNICA

Los condilomas acuminados clínicamente pueden manifestarse de forma muy diversa, pudiendo ser filiformes, pediculados, masas carnosas, exofíticas, vegetantes con digitaciones, polipoides, sonrosadas, de superficie irregular, en forma de cresta de gallo, ramificadas, y que por confluencia pueden adquirir forma de coliflor más o menos grande⁴³ (Fig.6).



Figura 6. Múltiples condilomas acuminados en un varón.

En las zonas no mucosas, las lesiones pueden ser más queratósicas, blanco nacarado y menos papilíferas y la queratinización que presentan en superficie hace difícil ver vascularización alguna adquiriendo una apariencia similar a las típicas verrugas vulgares de las manos⁴⁴. En ocasiones las lesiones son únicas y se presentan aisladamente, otras en pequeños grupos y en algunos casos un número muy elevado de lesiones pueden acuminarse como barreras de coral o fundirse conformando placas, por lo que su tamaño puede variar desde escasos milímetros, a más de 50-100 centímetros cúbicos en masas verrucosas de gran volumen³⁰.

El tiempo de incubación de los condilomas es variable, pero se ha calculado que oscila entre 3 semanas y 8 meses, con un promedio de 2-3 meses. La más alta concentración de virus se localiza alrededor de los 6 meses, momento de máxima contagiosidad. La regresión espontánea se produce en aproximadamente un tercio de las lesiones primarias dentro de los 6 meses de evolución probablemente en relación con la respuesta inmunológica del huésped⁴⁵.

Los condilomas acuminados pueden aparecer en diversas zonas de la anatomía genital presentando distintas características tanto clínicas como de comportamiento al tratamiento, así como en sus posibilidades de malignización. Las lesiones se localizan preferentemente en las zonas húmedas, y más traumatizadas en el coito, como el surco balano-prepucial, frenillo, glande, introito o meato, labios menores, así como el vestíbulo y cualquier parte de la piel vulvar, pliegues genito-crurales, pubis, periné y área anorrectal en función del tipo de práctica sexual⁴⁶⁻⁷.

Desde el punto de vista de la sintomatología que producen las verrugas genitales podrían ser bien toleradas, pero los desagradables cambios estéticos que produce y, especialmente, la presión emocional que suele producir en el paciente la presencia evidente de una infección de transmisión sexual, que está relacionada con la etiología de una neoplasia y su capacidad de transmisión a sus parejas sexuales, puede dar lugar a un cuadro de ansiedad o de sentimientos de culpa que llevan al paciente a consulta, en cuanto es consciente de tener estas lesiones³².



Figura 7. Condilomas acuminados en la mujer.

La infección del tracto genital femenino por el VPH (Fig.7) tiene una naturaleza multicéntrica, es decir la presencia de condilomas debe alertarnos sobre la posibilidad de que esté

afectada cualquier localización. Se ha descrito que aproximadamente casi la mitad de las mujeres con condilomas vulvares tienen anomalías citológicas y/o colposcópicas⁴⁸. La relación de la infección por el VPH y el cáncer del canal anal han sido también demostradas. Inicialmente la sintomatología en esta localización es prácticamente nula y solamente cuando la proliferación es muy intensa y se forman grandes lesiones papilomatosas, pueden producir mal olor, prurito, escozor e incluso dolor con hemorragia por infecciones sobreañadidas, estreñimiento y dolor a la defecación⁴⁹. Se ha estimado que el 30% de los homosexuales con condilomas en el ano tienen afectación rectal, por lo que es aconsejable realizar sistemáticamente una rectoscopia a todo homosexual pasivo con lesiones anales y a todo paciente, hombre o mujer que precise tratamiento por lesiones que asienten en esta zona⁴⁹⁻⁵⁰.

6. DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico del condiloma acuminado es fundamental realizar una historia clínica correcta y completa que contemple el motivo de consulta, actitud sexual según la orientación y los hábitos, utilización de métodos anticonceptivos y métodos barrera, ETS previas del paciente e investigar sobre sus parejas sexuales. La transmisión del VPH es mayoritariamente por vía sexual, aunque también puede producirse por fomites, autoinoculación o infección de otras localizaciones. El 65% de las parejas de los pacientes con condilomas serán infectadas por el VPH desarrollando la enfermedad en un período medio de 3 meses⁵¹.

Los pacientes con condilomas frecuentemente padecen otras infecciones genitales como candidiasis, tricomoniasis, gonococia o sífilis. Debe hacerse una exploración clínica completa de la piel y mucosa del área genital puesto que las lesiones habitualmente no provocan gran sintomatología y muy frecuentemente son multifocales⁵².

El paciente habitualmente detecta la presencia de estas lesiones producidas por el VPH cuando las visualiza o las toca durante su aseo. El diagnóstico de los condilomas es generalmente clínico ya que las lesiones son habitualmente asintomáticas. Cuando el tamaño de las lesiones es considerable o cuando se sitúan en localizaciones que se rozan o agreden más fácilmente, como la región anal o el meato urinario, pueden producir irritación, escozor o leve dolor. Algunos pacientes refieren prurito cuando las lesiones están comenzando o creciendo⁵³.

6.1. Diagnóstico histológico del condiloma acuminado.

El estudio histológico muestra alteraciones perceptibles en el examen al microscopio óptico producidas por el VPH sobre el epitelio. Puede observarse una marcada acantosis epidérmica con papilomatosis e hiperqueratosis así como presencia de hipergranulosis marcada y muy especialmente la conjunción de un área clara perinuclear con alteraciones nucleares, fenómeno al que se denominó “atipia coilocítica” o coilocitosis y que es el criterio más fiable para establecer el diagnóstico histológico de infección tisular por el VPH⁵⁴ (Fig.8).

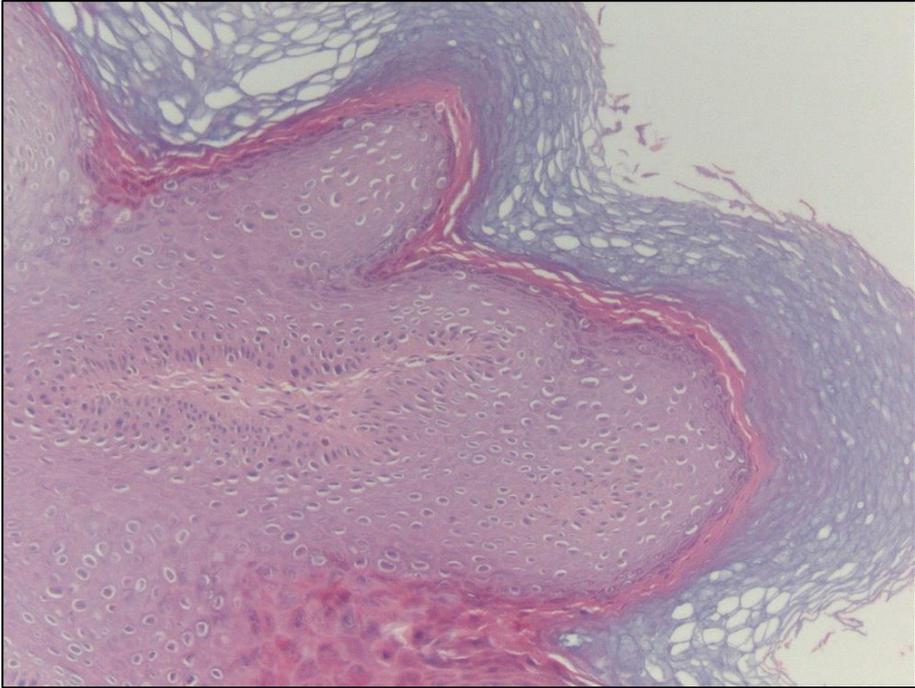


Figura 8. Imagen histológica del condiloma acuminado.

Existe la posibilidad de un falso negativo, la falta de sensibilidad del examen histológico puede ser debido a la extrema pequeñez de la muestra, de manera que no se recoja en el corte histológico por mal procesamiento de la muestra, que la infección sea precoz o que los cambios de atipia coilocítica no estén plenamente establecidos⁵⁵. Otra posibilidad a valorar es que la lesión haya sido mal valorada por el patólogo. En este sentido conviene recordar las diferencias inter e intraobservador del examen histológico de las lesiones del VPH, siendo una de las fuentes de confusión más frecuentes los halos perinucleares. Es importante destacar del estudio histopatológico que aproximadamente un tercio de las lesiones muestran unas imágenes muy discretas y por lo tanto poco

sensibles⁵⁶. Las técnicas histológicas pueden ser útiles para establecer el grado de atipia celular en casos de posibilidad de transformación neoplásica y las de biología molecular para la detección del ADN del VPH y su posterior genotipado⁵⁷.

6.2. Diagnóstico molecular del condiloma acuminado.

De acuerdo a la definición actual de los tipos como genotipos, sólo los métodos moleculares son utilizables para la tipificación. Estas técnicas consisten en un análisis cualitativo del ADN, presentado entre ellas diferencias en cuanto a su sensibilidad, complejidad, y reproductibilidad⁵⁸. Las dos tecnologías más utilizadas para la detección del VPH son:

Sistemas de amplificación de la señal, donde se emplean sondas que se unen específicamente a fragmentos predeterminados del ADN del virus. Estas sondas poseen una “señal” (fluorescente o colorimétrica) que es intensificada para su posterior detección⁵⁹.

Sistemas amplificación del ácido nucleico (ADN viral), donde un fragmento del ADN viral es copiado de manera exponencial para su detección (producto de PCR o amplicón) y posterior análisis (genotipado o tipaje), mediante enzimas de restricción, hibridación con sondas específicas o secuenciación directa⁶⁰.

6.2.1. Sistemas de amplificación de señal.

Existen dos tipos disponibles comercialmente:

TSA (Tyramide Signal Amplification). Es una Hibridación In Situ (ISH) que usa amplificación de señal con tiramida⁸⁷. El umbral de detección del virus es muy bajo y por ello ha tenido poco éxito en su implantación. Presenta la ventaja que permite conocer el tipo celular en que aparece al observar microscópicamente el marcaje sobre el tejido⁵⁹.

Hybrid Capture II (HC2). Es un método de amplificación de señal no radiactivo basado en la hibridación del ADN del HPV diana a sondas de ácido ribonucleico (ARN). Los híbridos de ADN/ARN son capturados en pocillos de micro-placa, y cubiertos por un anticuerpo específico monoclonal y un sustrato quimioluminiscente que proporciona una medida del ADN del virus de forma semicuantitativa⁶¹.

Se usan dos cócteles de sonda diferentes, el de los genotipos de bajo riesgo (tipo 6, 11, 42, 43 y 44) y el de los genotipos de alto riesgo (tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68). Este ensayo se ha estandarizado en muchos países, y tiene la aprobación FDA (Food and Drug Administration) de los EE.UU⁶². Aunque este sistema tiene algunas limitaciones puesto que distingue entre alto y bajo riesgo, pero no permite a la identificación del genotipo específico del VPH. Además el límite de detección es de aproximadamente 5.000 equivalentes de genoma, por lo que es menos sensible que la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)⁶³⁻⁵.

6.2.2. Sistemas de amplificación de ácidos nucleicos.

La PCR (Polimerase Chain Reaction o reacción en cadena de la polimerasa) es el método de amplificación más usado. Se basa en un proceso de termociclado y el empleo de cebadores oligonucleotídicos (primers) que flanquean la región nucleica de interés del virus, para amplificarla en presencia de una polimerasa termoestable de ADN (copiado exponencial), obteniéndose el producto de PCR o amplicón.

l) Tipos de primers.

- Primers tipo-específicos: diseñados para amplificar un único genotipo, por lo que se han de realizar tantas amplificaciones como tipos diferentes queramos detectar. Obviamente, el método es muy caro, laborioso y no se utiliza.

- Primers de amplio espectro o generales o de consenso: comunes a todos los VPH, lo que permite la amplificación del ADN de todos los genotipos. Éstos flanquean una región conservada del virus en todas sus variedades. Como se ha mencionado anteriormente, la región elegida como diana fue L1, la parte más conservada del genoma⁶⁶.

Existen varios tipos de parejas de primers de amplio espectro diseñados para la detección del ADN del virus del papiloma, cuya diana es la región L1. Entre ellos las parejas de primers GP5+/GP6+, MY11/09, PGMY y SPF10 son las más utilizadas en la actualidad.

Primers GP5+/GP6+: diseñados para amplificar una región muy conservada del ADN del virus. En principio, sólo permitirían la amplificación de unos pocos genotipos. Para

compensar esto y poder aplicarse a la totalidad de los genotipos, la PCR se realiza en condiciones poco astringentes (temperaturas de unión de primers bajas).

Primers MY11/09: (también denominados primers degenerados), ya que contienen una mezcla compleja de muchos oligonucleótidos diferentes, diseñados para compensar la variación de secuencia, entre los diferentes genotipos de VPH y permitir con ello la detección de todos los tipos de virus. La síntesis de estos oligonucleótidos se realiza "in vitro" variando en cada lote el contenido y grado de "degeneración", lo que disminuye su reproductibilidad, pues existe cierta variabilidad en la síntesis de lote a lote. Por ello, se debe evaluar la eficacia de amplificación de cada lote, lo cual, por otro lado, es un procedimiento habitual y de rutina en los laboratorios de patología molecular⁶⁷. La PCR se realiza en condiciones de temperaturas óptimas (astringentes), siendo el producto de PCR muy específico.

PGMY y SPF10 son primers de última generación para amplificar una región específica del fragmento L1 del virus. En este sentido, actúan igual que GP5+/GP6+ pero su diferencia radica en que estos primers contienen inosina, que se complementa con cualquier nucleótido. No utiliza primers degenerados, con lo que la síntesis de estos es homogénea, con alta reproductibilidad. La PCR se realiza en condiciones óptimas (astringentes) que incrementan la especificidad⁶⁸. En general, la eficacia de la PCR es inversamente proporcional al tamaño del producto obtenido (amplicón). Es por ello, que en el caso de usar muestras citológicas o biopsias sometidas a fijación con formalina u otros fijadores que fragmentan el ADN,

se utiliza parejas de primers que generen un amplicón pequeño para aumentar la eficacia⁶⁹.

II) Análisis de los productos de PCR.

En el caso de la PCR convencional, el primer paso en la detección del ADN del virus y el análisis de amplicones es la realización de una simple electrofóresis en gel de agarosa, que permite establecer la negatividad o positividad de la presencia de ADN viral en la muestra analizada. En los casos positivos, los métodos utilizados para el genotipado (tipaje) de estos productos de PCR, son:

- Análisis del producto de PCR por PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Tras la amplificación, el producto de PCR se analiza por el uso de enzimas de restricción. La digestión del amplicón con enzimas de restricción o “rotura” genera un número de fragmentos de ADN de diferentes tamaños que son analizados en gel de electrofóresis. Es un método muy laborioso y limitado a la detección de unos pocos genotipos, e imposible de interpretar en infecciones mixtas⁷⁰.

- Análisis por hibridación del producto de PCR con una o varias sondas oligonucleotídicas. El método original es el Southern Blotting (ADN), donde el amplicón es transferido a una membrana (previa electroforesis) y posteriormente hibridado con una sonda marcada. Es muy laborioso, complejo e inadecuado para su uso en un laboratorio de rutina. Este método ha sido desarrollado y adaptado para paliar sus

inconvenientes y algunas casas comerciales han conseguido adaptar la filosofía de esta tecnología a la práctica hospitalaria.

- Análisis por secuenciación directa de los productos de PCR. Consiste en determinar la composición nucleotídica del producto de PCR. Los métodos rápidos de secuenciación de alto rendimiento están permitiendo su uso en el análisis rutinario clínico⁵⁹. Evidentemente, este método de tipaje es el más cercano a la excelencia (*gold standard*) para el diagnóstico de la infección por el VPH y el genotipado, sin restricciones de búsqueda y abiertos a la detección de tipos de virus no descritos previamente⁷¹ (Fig. 9).

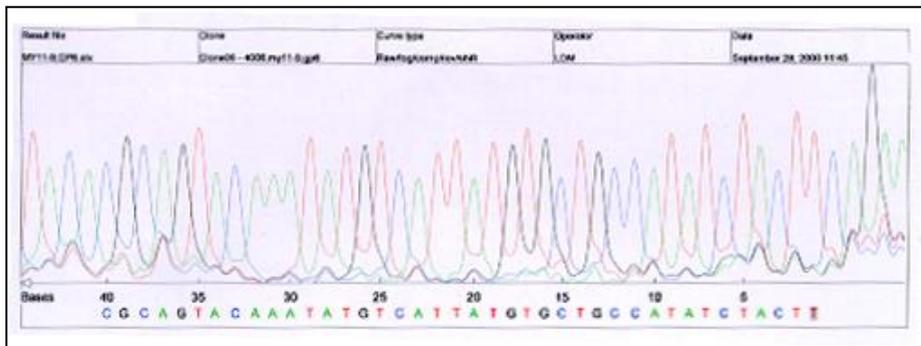


Figura 9. Análisis por secuenciación directa.

El genotipo de un VPH puede ser deducido de manera muy sencilla, enfrentando la secuencia obtenida, con las bases de datos de búsqueda de homología de secuencias que existen. La más completa y actualizada se encuentra en el GenBank del NCBI (National Center of Biotechnology Information) en EE.UU⁶⁰.

En un principio, la tecnología de secuenciación directa presentó el inconveniente de no detectar los diferentes tipos de virus presentes, lo cual se solucionó con el desarrollo de software, capaz de detectar los diferentes genotipos del VPH presentes en estas coinfecciones⁷¹.

III) Real Time PCR.

La aparición de la tecnología de PCR en tiempo real (*real time PCR*) supone una importante mejora en los tiempos de respuesta de resultados y en el manejo de los productos de amplificación (amplicones o amplímeros), pues en una única plataforma cerrada pueden realizarse los procesos de amplificación y detección, eliminando uno de las desventajas más importantes de los sistemas basados en amplificación nucleica: los resultados falso-positivos, bien por la generación de productos inespecíficos tras la amplificación (dependerá del método de detección), o bien por la contaminación con amplicones de reacciones previas⁶⁰.

Además de usar los juegos de cebadores para la ocasión, la reacción de amplificación puede contener sondas internas fluorescentes que incrementan la especificidad y reduce la manipulación de amplificados. El problema para el diagnóstico del VPH y su genotipado en este tipo de PCR es su difícil estandarización debido a las diferentes características de hibridación de la mezcla de sondas que puede llegar a utilizarse¹⁰¹. En cambio, se trata de una tecnología que se está demostrando muy útil en el análisis de la expresión génica y de la carga viral, que en breve estará estandarizada para su uso en el diagnóstico de rutina⁷¹.

Las plataformas más importantes y utilizadas son:

- Sistema fase Real-Time PCR (APPLIED BIOSYSTEMS)
- Sistema LightCycler (Roche) (Fig.10 y Fig.11).

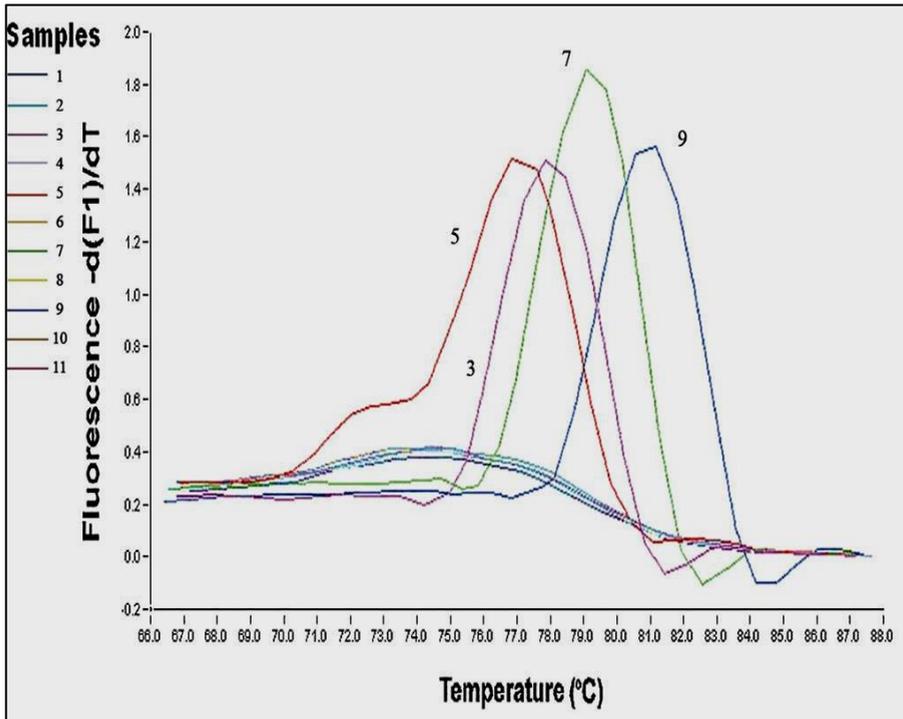


Figura 10. Curvas de fusión LightCycle (Ratiofluorescencia versus temperatura con SYBR GREEN). (3= genotipo 56, 5= genotipo 33, 7= genotipo 16, 9= genotipo 18).

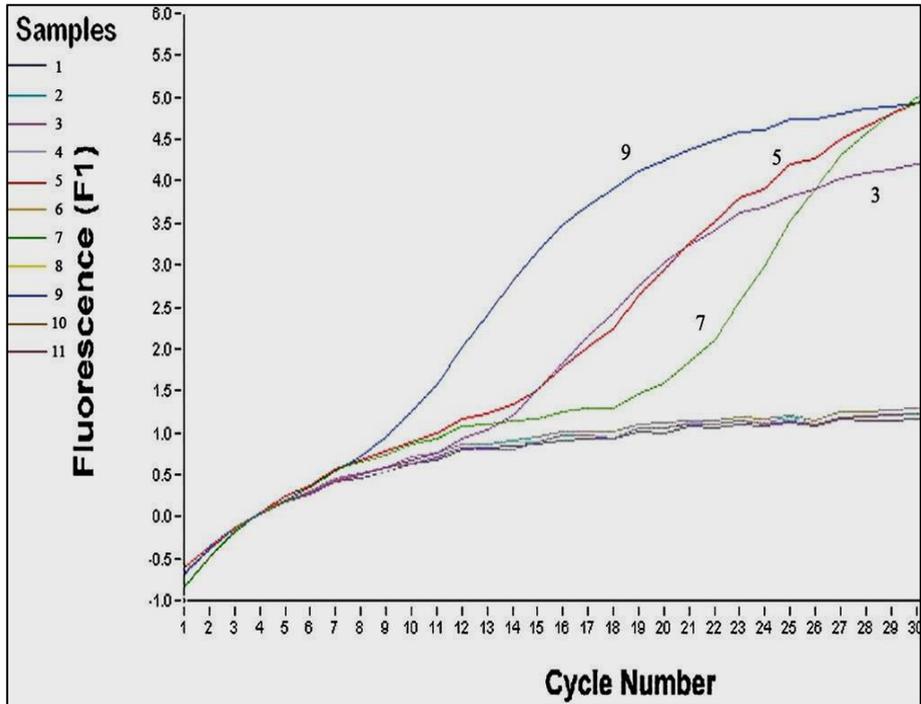


Figura 11. Curvas de amplificación PCR LightCycle (Ratiofluorescencia versus número de ciclos con SYBR GREEN). (3= genotipo 56, 5= genotipo 33, 7= genotipo 16, 9= genotipo 18).

6.2.3. Estudios comparativos entre los métodos diagnósticos.

Los distintos estudios en los que se comparan la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de las distintas técnicas son bastante heterogéneos.

En general, los mejor valorados de entre los de amplificación de señal es *HC2*, y entre los de amplificación a ADN, los

basados en PCR que utilizan *primers* de amplio espectro (tanto los analizados por hibridación como por secuenciación directa)⁷².

En una primera aproximación, a la comparación entre ambos métodos, cabe destacar que los métodos basados en amplificación de señal tienen el inconveniente de ceñirse a los genotipos para los que utilizan sondas (*“sólo encuentran lo que buscar”*), pudiendo llegar a introducir un importante sesgo, tanto en el incremento de los falsos negativos como en los estudios epidemiológicos. Otras características de estos sistemas son su alta reproductibilidad, que no requieren un técnico de laboratorio especialmente cualificado. Existen reacciones cruzadas entre genotipos de alto o bajo grado, y la muestra clínica debe ser obtenida, transportada y utilizada, en un medio y condiciones establecidas por el proveedor⁷³.

En el caso de los métodos basados en PCR con secuenciación directa, permite la detección de todos los tipos del VPH existentes. La reproductibilidad es menor y depende del laboratorio, requieren un técnico de laboratorio cualificado, pero la detección del VPH se puede realizar sobre muestras frescas, fijadas (formol u otros), parafinadas, citologías de archivo, escobillones secos o con medio de transporte⁷⁴.

7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La manifestación clínica más frecuente de los condilomas acuminados localizados generalmente en la mucosa del área genital es la de presentarse con un aspecto exofítico, papilomatoso y pediculado, no teniendo el médico prácticamente ninguna dificultad en su reconocimiento y diagnóstico. No

obstante, en otras ocasiones y en la zona de la mucosa genital se pueden presentar con cierta frecuencia como pápulas, siendo de base sésil, e incluso como lesiones más aplanadas observándose con dificultad su elevación⁷⁵. En la piel del área genital el aspecto clínico será más hiperqueratósico, de coloración pardusca o grisácea y las dificultades diagnósticas aumentarán, debiendo plantearse un diagnóstico diferencial clínico más exigente y cuidadoso por cuanto que la patología que puede asentar en la región genital puede tener múltiples orígenes, como tumoral, de comportamiento benigno o maligno, dermatosis inflamatorias, degenerativas, o incluso entidades anatómicas normales (Fig.11).

7.1. Entidades anatómicas del área genital.

a. Las pápulas perladas del pene son estructuras anatómicas normales situadas en la porción proximal del glande rodeando la corona. Suelen aparecer entre el 8-25 % de los hombres. Las pápulas son del color de la piel, blancoamarillento y en ocasiones rosado de 1 a 2 mm de diámetro. Adoptan una distribución uniforme formando una circunferencia alrededor de la corona del glande con un patrón en “empedrado”. Suelen aparecer en la pubertad y no tienen ningún significado patológico⁷⁶. (Fig.12).



Figura 12. Pápulas perladas en pene.

b. Las pápulas hirsutoides de la vulva se observan como lesiones papulosas que en muchas ocasiones adoptan una morfología más filiforme (vellosa o hirsutoide) agrupándose de forma independiente en la cara interna de los labios de la vulva, siendo simétricas y asintomáticas. Equivalen a las pápulas perladas del glande en el hombre y como estructura anatómica normal no precisa tratamiento⁷⁷.

c. Las glándulas sebáceas ectópicas consisten en una manifestación relativamente frecuente en la que las glándulas sebáceas se encuentran en un área no habitual generalmente en la mucosa genital. Clínicamente se observan como pequeñas pápulas de 1 a 3 mm de diámetro de coloración blanco-amarillento pudiendo presentarse en pequeño o gran

número. En el hombre pueden aparecer en la mucosa del glande y en ocasiones agrupadas en la parte más distal de la piel del prepucio. En la mujer, suelen presentar una coloración amarillenta y localizarse en los labios menores y en la superficie interna de los labios mayores. Representan el equivalente de los gránulos de Fordyce localizados en la mucosa oral. Aunque pueden originar en ambos sexos preocupaciones infundadas, son asintomáticas y no precisan tratamiento⁷⁷.

7.2. Tumores benignos.

a. Los angioqueratomas del escroto y de la vulva son tumores vasculares adquiridos que se presentan como pequeñas pápulas múltiples en la zona del escroto fundamentalmente, aunque los podemos observar en la piel del pene. Son muy comunes y su incidencia se incrementa con la edad. Los angioqueratomas se caracterizan por estar constituidos por ectasias de los vasos sanguíneos dérmicos superficiales, siendo su tamaño de 1 a 5 mm de diámetro, de color rojo o rojo-azulado, cuyo número crece lentamente con un componente verrucoso o hiperqueratósico variable. Son asintomáticos, pero por la delgadez de su pared vascular pueden sangrar ante cualquier traumatismo mínimo, incluso durante el acto sexual. Rara vez sangran espontáneamente. El tratamiento va encaminado a las lesiones que sangran o que molestan⁷⁸.

b. El acrocordón o fibroma péndulo es el tumor benigno más frecuente del área genital. Consiste en una o varias tumoraciones, la mayoría pediculadas del color de la piel o pigmentada, de tacto blando y superficie lisa, rugosa o

cerebriforme. Su tamaño es diminuto, de algunos milímetros, pero pueden alcanzar hasta algunos centímetros de diámetro. Suelen asentar en la zona inguinal y proximidades. Son más frecuentes en personas obesas y de edad madura. En los mismos pacientes es frecuente que presenten estas mismas lesiones en otras localizaciones como cuello y axilas. Son asintomáticos, pero en ocasiones pueden presentar signos de inflamación cuando la piel de alrededor está irritada. El tratamiento consiste en la eliminación de la lesión⁷⁹.

c. Las queratosis seborreicas o verrugas seborreicas seniles se presentan inicialmente como pequeñas pápulas parduscas, bien circunscrita, que llaman la atención por el aspecto verrucoso de su superficie. Con el tiempo presentan un aspecto papilomatoso y fisurado de coloración pardusca, grisácea o negra. Su localización en los pliegues inguinales, pubis o vulva puede en muchas ocasiones llevar a confusión en el diagnóstico diferencial de los condilomas acuminados cuando se sitúan en la piel de esta área⁷⁹.

7.3. Enfermedades infecciosas.

a. El molusco contagioso está producido por un virus perteneciente al grupo poxvirus. Clínicamente se manifiestan como un número variable de pápulas cupuliformes, lisas, brillantes, habitualmente de pequeño tamaño, de color perlado o rosado y frecuentemente umbilicadas asentándose sobre piel sana y adoptando a menudo una disposición lineal (fenómeno isomórfico). En el hombre adulto el pene es probablemente la localización más común de la infección, siendo frecuente también en ambos sexos la afectación perigenital y perianal,

debiendo sospecharse las relaciones sexuales como origen del contagio. Al exprimir lateralmente la lesión sale una masa blanca y grasosa que observada al microscopio óptico permite objetivar unas estructuras ovoides, homogéneas y anucleares que son los cuerpos de *molluscum* o cuerpos de Henderson-Paterson⁸⁰. (Fig.13).



Figura 13. Molusco contagioso en pene.

b. Los condilomas planos sifilíticos es un cuadro clínico muy característico que corresponde a una de las manifestaciones del período secundario clínico de la sífilis. Las lesiones elementales son pápulas que en ocasiones son erosivas y reciben el nombre de sifilides papuloerosivas. Estas sifilides, cuando se presentan en la región anogenital y los pliegues, debido a que son áreas de roce y maceración adoptan una morfología

hipertrófica y vegetante, por lo que se les ha denominado placas mucosas hipertróficas. En otras ocasiones adoptan la morfología aplanada y se les denomina *condiloma lata* o condilomas planos, constituyéndose como placas extensas, elevadas, rojizas y de superficie plana. Las lesiones son vegetantes, húmedas, exudativas, maceradas y suelen acompañarse de secreciones malolientes. La localización de los condilomas planos en la zona perianal, las ingles y otras regiones genitales junto a la morfología anteriormente descrita, hace en ocasiones difícil el diagnóstico clínico diferencial con el condiloma acuminado. Para el diagnóstico definitivo resulta útil el estudio histológico de las lesiones y la serología luética que es fuertemente reactiva en este periodo de la sífilis⁸¹. (Fig.14).



Figura 14. Condilomas planos sífilíticos.

7.4. Lesiones premalignas y malignas.

a. La leucoplasia se define como una placa blanca sobre mucosa que no puede ser eliminada por frotación, adherida a la mucosa subyacente. La leucoplasia en el área genital es más frecuente en la vulva, preferentemente en mujeres después de la menopausia, y se presenta como placas engrosadas, blancogrisáceas y pruriginosas, a veces fisuradas y edematosas por causa del roce o del rascado⁸².

En el hombre puede hallarse en la mucosa del glande con el mismo aspecto de placa blanquecina e incluso también con aspecto erosivo. El diagnóstico diferencial clínico con el condiloma acuminado es relativamente fácil por ser la leucoplasia una placa única, generalmente blanca, con cierta induración de la base y bien delimitada. Por ello, tiene una gran trascendencia en cuanto a su evolución y comportamiento biológico el realizar una biopsia para estudio histológico. Respecto a su evolución y pronóstico, el curso de una leucoplasia es crónico, pero en su evolución clínica puede estar presente un carcinoma espinocelular si existe una infiltración de la base claramente palpable⁸².

b. La eritroplasia de Queyrat, fue descrita en 1911 como la presencia de un carcinoma espinocelular *in situ* (enfermedad de Bowen) o intraepidérmico del glande⁸³. Clínicamente se manifiesta como una lesión única en la mayoría de casos, de tamaño variable, de forma redonda o irregular pero con bordes nítidos. La superficie es muy eritematosa, lisa, brillante y algo granulada. Podemos observar o palpar una base elevada o infiltrada que conduce a sospechar la existencia de un auténtico carcinoma espinocelular. La eritroplasia del pene se

ha descrito en varones no circuncidados en la edad comprendida entre los 20 y los 60 años de vida. Estos pacientes refieren en su evolución la aparición de costras, prurito, dolor y sangrado. El diagnóstico diferencial clínico con los condilomas acuminados suele ser sencillo. Sin embargo, siempre estará indicada la biopsia no sólo para el diagnóstico diferencial del condiloma acuminado sino para conocer el grado de invasión neoplásica de la lesión. La eritroplasia también ha sido descrita en otras mucosas como la vulvar. No obstante, ante la existencia de ésta se tiende a preferir el término de enfermedad de Bowen más que el de eritroplasia. Es muy característica la enfermedad de Bowen en la vulva presentándose con un prurito severo. Suele iniciarse en personas adultas de más de 50 años⁸³.

c. La papulosis bowenoide de los genitales se presenta como lesiones papulosas con cambios histológicos similares a los de un carcinoma *in situ*. Suele presentarse en pacientes jóvenes y su etiología está asociada a la infección por el VPH 16 y VPH 18. Clínicamente pueden ser lesiones únicas o múltiples de aspecto verrucoso, coloración marronácea o muy pigmentadas y su localización en el hombre suele ser en la mucosa del glande o la piel del prepucio, siendo en las mujeres la localización más frecuente la vulva. El diagnóstico diferencial clínico con los condilomas en ocasiones es complicado, sobre todo los que asientan en zona de piel, pero el diagnóstico histopatológico permite distinguirlos sin problemas⁸⁴.

d. La enfermedad de Paget extramamaria es más frecuente en la mujer que en el hombre, iniciándose generalmente después

de los 50 años. En aproximadamente un 20% de los casos existe un carcinoma primario subyacente en otros órganos. Actualmente, se considera un carcinoma de los ductos de las glándulas sudoríparas apocrinas, con invasión de las células del carcinoma (células de Paget) a la epidermis y a la porción secretora de la glándula sudorípara. Clínicamente se muestra como una lesión redonda u oval de aspecto eccematoso y unilateral. Es discretamente pruriginosa y de crecimiento lento con bordes claramente delimitados. En ocasiones por su localización en la región inguinal o perianal, si es algo sobre-elevada y discretamente infiltrada puede llevar a confusión con condilomas acuminados cuando asientan en la piel. El diagnóstico histológico será siempre necesario para el diagnóstico definitivo⁸⁵.

e. El carcinoma espinocelular en el pene se desarrolla generalmente entre los 40 y 70 años, con una preferencia por la cara dorsal del glande, del surco balanoprepucial y del prepucio. Respecto a su etiopatogenia se han considerado varios factores como la falta de higiene e irritación crónica, quizás por la permanencia del esmegma, ya que el cáncer de pene es muy raro en hombres circuncidados⁸⁶. Los cuadros preneoplásicos o precancerosos más frecuentes inductores de cáncer genital en el hombre son la eritroplasia, la enfermedad de Bowen y el liquen escleroso y atrófico. Actualmente, está reconocido como un factor muy evidente el origen del cáncer genital debido a determinados genotipos del VPH⁸⁷. (Fig. 15).



Figura 15. Carcinoma epidermoide de pene.

La manifestación clínica de un carcinoma espinocelular en pene se presenta como una lesión exofítica, tumoral o placa muy infiltrada que a la palpación es de dureza pétrea⁸⁸. En otras ocasiones se presenta como una ulceración sangrante de bordes carnosos, siendo la base siempre infiltrada al tacto. El diagnóstico diferencial con el condiloma acuminado suele ser sencillo ya que independiente de que éste se presenta generalmente pediculado, su superficie es lisa, papilomatosa, húmeda pero no sangrante, ni ulcerada y a la palpación es blando. Además el carcinoma suele ser único y los condilomas

múltiples. En ocasiones podemos encontrarnos en una superficie que previamente tuvo condilomas o fueron tratados, alguna zona de transformación carcinomatosa, debiendo considerar que no es una casual asociación sino que el VPH infectante era un genotipo oncógeno⁸⁹. La biopsia para estudio histológico es imprescindible ante la sospecha de un carcinoma espinocelular⁵⁶.

El carcinoma espinocelular en la vulva se presenta generalmente en mujeres muy mayores, en la cara interna de los labios mayores, labios menores y clítoris, pudiendo haber tenido de base una eritroplasia, un carcinoma de Bowen, una enfermedad de Paget extramamaria, una historia antigua de condilomas acuminados o en menor proporción la existencia de un liquen escleroso y atrófico (craurosis vulvar). El diagnóstico diferencial clínico no suele presentar dudas con los condilomas acuminados. La edad avanzada de la mujer y el cuadro clínico con su lesión característica, la infiltración de la base, ulcerada, exofítica y sangrante, constituye una sospecha de carcinoma epidermoide que es ineludible biopsiar inmediatamente ya que el pronóstico puede ser muy desfavorable por su gran capacidad de metastatizar⁹⁰.

8. TRATAMIENTO

El tratamiento de las verrugas genitales sigue siendo un talón de Aquiles de nuestra especialidad, dado que nos enfrentamos a un proceso de carácter crónico y recidivante, y la eficacia de los métodos disponibles puede ser tan sólo parcial. Las lesiones externas producidas por el VPH pueden ser autolimitadas en el tiempo, si bien no sabemos cuánto

tiempo y en qué pacientes pueden regresar espontáneamente las lesiones. Hasta el 30% de los condilomas pueden resolverse en los primeros 4 meses tras su aparición⁹¹.

El sistema inmune celular va capacitándose frente al VPH hasta conseguir reducir su replicación viral a niveles indetectables, su aclaramiento, y por tanto su capacidad de producir transformación celular. Sólo un porcentaje muy bajo, y más frecuentemente en pacientes con déficits inmunes como los pacientes con SIDA o transplantados, presentan niveles de ADN del VPH detectables más allá de 18-24 meses que permiten persistir y/o aumentar las lesiones, e incluso en algunos casos producir transformación maligna⁹².

Las verrugas anogenitales deben tratarse, ya que pueden aumentar su tamaño, persistir durante meses o años, alterar la vida sexual del paciente, generar ansiedad y/o producir transformación neoplásica. Otra característica de las lesiones producidas por el VPH es su capacidad para reaparecer, tras periodos en los que no era constatable su presencia, bien porque el sistema inmune había controlado la replicación del VPH, bien porque habían recibido un tratamiento que tuvo éxito. Estas recurrencias de las verrugas anogenitales suelen asociarse a caídas en el sistema inmune, naturales como el embarazo, originadas por una patología como la infección por el VIH, o iatrogénicas como los tratamientos sistémicos con corticoides o inmunosupresores. Sin embargo, la situación en la que más frecuentemente se produce la recurrencia o recidiva de las lesiones es en las primeras semanas o meses tras el tratamiento, por persistencia en la actividad del VPH en niveles de carga viral elevada⁹³.

El objetivo de cualquier tratamiento es conseguir que la persona recobre la salud inicial antes de que apareciera la patología a tratar. En el caso de las lesiones producidas por el virus del papiloma, podemos cerciorarnos de la desaparición de las mismas. Sin embargo no podemos saber si la desaparición de las lesiones conlleva el cese de la replicación del VPH, de hecho es frecuente que persista actividad viral y por tanto el riesgo de que se sigan generando nuevas lesiones. Por tanto, el objetivo debe ser la erradicación de todas las verrugas anogenitales e intentar reducir la aparición de recurrencias al mínimo posible⁹⁴. Habitualmente, la decisión de tratar con una u otra terapia se basa en los siguientes parámetros:

- Número y extensión de las lesiones
- Localización anatómica
- Medios disponibles
- Características del paciente
- Actividad viral

Recientemente se ha incorporado un nuevo parámetro denominado “actividad viral” que nos ayuda a decidir una determinada pauta terapéutica. Cuando el paciente acude a consulta refiriendo que tiene unas verrugas anogenitales que aparecieron hace poco tiempo, que están aumentando en su tamaño y/o número o que son una recidiva de un episodio en el que se destruyeron todas las lesiones, la probabilidad de que exista gran actividad del VPH en esa zona es muy alta, por lo que no debemos quedarnos sólo en la destrucción de las lesiones, ya que seguramente seguirán saliendo tras un

tratamiento que no contemple actuar sobre el VPH. En este tipo de pacientes es primordial instaurar el tratamiento con el objetivo de reducir la probabilidad de recurrencias⁹⁴.

En la actualidad, disponemos de distintos recursos para el abordaje terapéutico de los condilomas acuminados, que organismos como los *Centers Diseases Control* (CDC)⁹⁵ clasifican en relación con la disponibilidad en su aplicación en dos grupos, aplicables por el paciente en su domicilio o en la consulta por los profesionales médicos. Sin embargo, esta clasificación no atiende a características de los tratamientos, como su modo de acción, respuesta producida o perfil de seguridad. Atendiendo a estos parámetros el arsenal terapéutico podría dividirse en los siguientes grupos:

- Ablación quirúrgica
- Fármacos citotóxicos
- Fármacos inmunomoduladores

8.1. Métodos quirúrgicos.

8.1.1. Criocirugía o crioterapia.

Es un procedimiento que se basa en la destrucción de tejidos, mediante necrosis producida por el frío. Para conseguir que el descenso térmico sea suficiente es preferible aplicar nitrógeno líquido (-196°C). Como cualquier técnica quirúrgica la eficacia en la eliminación de lesiones es muy alta, pero no tiene actividad sobre la replicación del virus y por tanto, no actúa frente a las recurrencias, habiéndose publicado tasas entre el 21-40%. Es una técnica bien tolerada aunque produce

dolor y escozor al aplicarla y durante algunos minutos después. Puede generar una ampolla que se torna en herida superficial a los 2-3 días siguientes. Suele reepitelizar sin dejar cicatriz, aunque es frecuente que aparezcan cambios en la coloración de la zona tratada, que tienden a desaparecer con el tiempo. Debe ser aplicada en consulta, la periodicidad está marcada por el área a tratar, la capacidad de regenerar tejidos al paciente y las posibles recidivas⁹⁶.

8.1.2. Laser vaporización.

Es otro procedimiento quirúrgico que produce destrucción de las verrugas. Suele emplearse el láser de CO₂, pero no está a disposición en muchos centros médicos. Elimina selectivamente las lesiones por el aumento de la temperatura. Permite tratar grandes áreas y lesiones de gran tamaño en una sola sesión. Esta técnica precisa anestesia local o locorregional y suele realizarse en quirófano. La eficacia debe ser máxima, sin embargo no afecta a las recurrencias, las tasas referidas pueden llegar hasta el 77%. Esta técnica debe realizarse con mascarilla ya que se ha demostrado que se vaporizan partículas de ADN del VPH con capacidad infectiva⁹⁷.

8.1.3. Electrocoagulación

Método quirúrgico basado en la eliminación de las lesiones mediante quemadura eléctrica. También precisa anestesia local o locorregional. La herida superficial producida necesita cuidados locales, a realizar por el propio paciente. Su eficacia también es muy alta y tampoco afecta a las recurrencias, recidivando las lesiones entre el 15-77% de los pacientes. Esta

técnica también ha de realizarse con mascarilla ya que también se ha probado que se vaporizan partículas de ADN del VPH con capacidad infectiva⁹⁸.

8.1.4. Cirugía convencional.

Debe ser reservada para grandes masas, amplia extensión de lesiones o cuando se sospeche que puede haber una lesión neoplásica o una displasia grave que simula una verruga. Precisa anestesia. Se realiza en quirófano y aunque su eficacia debe ser muy alta, tampoco afecta a la tasa de recurrencias, 8-65%, en función del tipo de lesiones tratadas⁹⁸.

8.2. Fármacos citotóxicos.

8.2.1. Podofilotoxina.

Es una sustancia tóxica encontrada en la resina podofilino procedente de la raíz de la planta de *podophyllum*. Destruye las verrugas al actuar sobre la mitosis celular. Tiene una eficacia irregular del 36-83%, y no afecta a la aparición de recurrencias, por lo que su tasa es alta. Se aplica por el propio paciente dos veces al día durante tres días consecutivos y se descansa cuatro días. Puede repetirse el ciclo un máximo de cuatro semanas debido a su posibilidad de producir toxicidad general. Produce irritación e incluso heridas en el área tratada. No puede emplearse en gestantes⁹⁹.

8.2.2. Resina de podofilino, ácido tricloroacético, cantaridina.

Otros citotóxicos y abrasivos han sido utilizados a través de la historia. Suelen ser muy irritantes y deben ser aplicados en consulta para evitar importantes complicaciones. Su eficacia es menor a lo anteriormente expuesto y tampoco actúan frente a las recurrencias¹⁰⁰.

8.3. Inmunomoduladores o modificadores de la respuesta inmune.

Actualmente disponemos de dos fármacos dentro de este grupo terapéutico, ambos deben ser aplicados directamente sobre el área a tratar¹⁰¹. La característica que define a este grupo es que contempla la posibilidad de ir más allá de la eliminación de las lesiones, pensando también en disminuir o evitar las recurrencias¹⁰².

8.3.1. Imiquimod.

Fue el primer inmunomodulador y una innovación total en el tratamiento de las verrugas genitales. Tiene una eficacia alta entre el 50-60% y reduce las recidivas a sólo un 13-19%. Se aplica tres veces por semana a días alternos durante un periodo de tiempo entre 8 y 16 semanas. Es un tratamiento seguro si bien puede producir reacciones no locales infrecuentemente, y aunque puede producir irritación e incluso heridas en la zona aplicada, es una situación más improbable si la dosis se ajusta a la superficie a tratar.

8.3.2. Sinecatequinas o polifenol E.

Es un nuevo modificador de la respuesta inmune, un producto natural que se obtiene de extractos de la planta del té. Tiene una eficacia alta 52-65% en la erradicación de todas las lesiones, llegando hasta un 74-78% el número de pacientes que muestran una reducción mayor del 50% tanto de las lesiones iniciales como de las de nueva aparición. Es actualmente la terapia que más reduce las recidivas, en torno a un 6%. Se comercializa en forma de pomada al 10%. Es un tratamiento seguro, se aplica 3 veces al día durante 8-16 semanas. En algunos casos puede producir irritación, casi exclusivamente entre la 2ª-4ª semana de aplicación, fenómeno que disminuye con el tiempo o empleando antihistamínicos¹⁰².

Ambos fármacos inmunomoduladores puede aplicarlos el propio paciente, sin precisar acudir a consulta más allá de las citas para revisión estimadas por el médico⁹⁷.

Teniendo en cuenta lo anteriormente referido, ante un paciente que presenta verrugas genitales, se propone en la actualidad un esquema de tratamiento que consistiría en:

- Pautar inmunomoduladores a pacientes que presenten nuevas lesiones y/o que estén aumentando en número, extensión o tamaño. Los inmunomoduladores rinden un mayor y más rápido beneficio en áreas con menor queratinización como mucosas y semimucosas (vulva, glande, cara interna de prepucio). Para evaluar adecuadamente los resultados obtenidos con inmunomoduladores hay que finalizar las 16 semanas de tratamiento^{97,101,102}.

- Emplear ablación quirúrgica en pacientes que presenten lesiones externas por el VPH en las que no se aprecian cambios en las últimas semanas o meses. Crioterapia con

nitrógeno líquido en lesiones de pequeño o mediano volumen. La servaporización, electrocoagulación o cirugía convencional en lesiones de gran tamaño y extensión. Los resultados se han de evaluar a las 2-3 semanas tras la aplicación del tratamiento, para cerciorarnos de la completa eliminación de las lesiones y especialmente para saber si se están desarrollando nuevas lesiones^{96,98}.

En aquellos pacientes en los que al completar la pauta terapéutica queda alguna lesión de las iniciales, lo más adecuado es que sean eliminadas mediante ablación quirúrgica. Instando al paciente a acudir a consulta si reaparecieran nuevamente. Si no queda ninguna lesión inicial, pero se siguen generando otras nuevas, se debe plantear tratamiento con inmunomoduladores⁹⁷.

9. VACUNAS FRENTE AL VIRUS DEL PAPILOMA

En los últimos años ha adquirido gran relevancia en el tema la administración de vacunas como una importante medida profiláctica para evitar la infección por el VPH, y de esta forma evitar y prevenir la aparición de lesiones precancerosas¹⁰³.

Gross (2014)⁴⁰, afirmaba que la prevención primaria de las manifestaciones clínicas genitoanales asociadas a diversos genotipos del VPH, incluyendo las lesiones precursoras del cáncer genital, se había convertido en realidad gracias a la aparición de estas vacunas frente al VPH.

Existen dos vacunas autorizadas en España frente al VPH, una tetravalente que protege frente a cuatro tipos del VPH (6, 11, 16, 18). Estos dos primeros tipos fundamentalmente están implicados en la aparición de verrugas genitales benignas y los otros dos, actuarían frente a los genotipos más frecuentemente implicados en el cáncer genital¹⁰⁴. Estos genotipos del VPH aparecen en casi el 90% de los tumores anales y de pene, en el 100% de los casos de cáncer de cérvix y también están relacionados con tumores en la vulva y la vagina. La otra vacuna, la bivalente, cubre solamente frente a los tipos del VPH 16 y 18¹⁰⁵. La FDA ha aprobado una nueva inmunización contra el papilomavirus, y que amplía a nueve los subtipos contra los que protege (los clásicos 6, 11, 16, 18 y otros cinco nuevos 31, 33, 45, 52, 58) y se prevé que a principios del próximo año 2016, Europa contará con una nueva vacuna, aún más eficaz que la actual.

De esta forma, tiene el potencial de prevenir hasta el 90% de los cánceres de cuello de cérvix, vulva, vagina, ano y pene. En EEUU en 2020, el cáncer orofaríngeo relacionado con el VPH superará al de cérvix, hoy el más frecuente por el VPH. Al igual que los tumores orofaríngeos, el anal también ha aumentado en los últimos años, aunque su incidencia es baja, casi el 90% de estos casos se presenta en pacientes con infección anal por el VPH. Lo mismo ocurre con los tumores de pene, son infrecuentes, pero están producidos, casi en su totalidad, por el papilomavirus¹⁰⁶.

Estas vacunas inducen altas concentraciones de anticuerpos neutralizantes anti-L1 en suero. Dermatólogos y venereólogos, médicos generales, pediatras y ginecólogos deberían cooperar

para vacunar a las mujeres y los hombres jóvenes con el fin de aumentar las tasas de vacunación⁴⁰. Harald zur Hausen, descubridor del VPH en los años 60, afirma que “no se logrará erradicar el papilomavirus si no se incluye a los varones, que son los portadores y transmisores del virus”²⁶.

En Australia y Escocia, ya se ha observado una elevada eficacia respecto a la prevención de verrugas genitales benignas y precursores de cáncer causados por los tipos del VPH de la vacuna. Una condición *sine qua non* del éxito de la prevención frente a las neoplasias asociadas al VPH es la administración de la vacuna antes del primer contacto sexual⁴⁰.

1 INTRODUCCIÓN

2 **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

3 MATERIAL Y MÉTODO

4 RESULTADOS

5 DISCUSIÓN

6 CONCLUSIONES

7 BIBLIOGRAFÍA

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los condilomas acuminados son muy frecuentes en nuestro medio y en la actualidad se considera que es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente, siendo incluso más que el resto de ETS juntas.

Tradicionalmente se han relacionado en más del 90% de los casos con los genotipos 6 y 11 del VPH, que son de bajo riesgo y solamente el 5 - 10% de los condilomas se han asociado a genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico, fundamentalmente el 16 y 18.

Existen pocos estudios publicados que concluyen sobre la prevalencia específica del genotipo del VPH y que estudian las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con condilomas acuminados. La introducción en los últimos años de una vacuna profiláctica frente a cuatro genotipos del VPH podría modificar la incidencia y prevalencia específica de los genotipos del VPH en las lesiones de condiloma acuminado en nuestra población.

Desde un punto de vista teórico, no están bien establecidos los diversos factores epidemiológicos y clínicos (edad, sexo, promiscuidad, tabaco, edad de inicio de las relaciones sexuales, infecciones asociadas, localización de las lesiones...) que pueden relacionarse con la presencia de lesiones genitales clínicamente compatibles con condilomas acuminados y la infección por diferentes genotipos del VPH en estos pacientes.

Por lo expuesto anteriormente nos hemos propuesto los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

1. Conocer las características epidemiológicas y clínicas de pacientes con diagnóstico de condilomas acuminados en nuestro medio sanitario.
2. Determinar los distintos genotipos del VPH presentes en las lesiones genitales mediante técnicas de biología molecular.
3. Hallar los posibles factores de riesgo asociados a la presencia de infecciones del VPH de alto y bajo riesgo.
4. Analizar la correlación entre el diagnóstico clínico, histopatológico y molecular de las lesiones.
5. Estimar el impacto potencial que supondría en nuestra población la vacunación profiláctica frente a diversos genotipos del VPH que hayamos aislado.

1 INTRODUCCIÓN

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3 MATERIAL Y MÉTODO

4 RESULTADOS

5 DISCUSIÓN

6 CONCLUSIONES

7 BIBLIOGRAFÍA

1. ÁMBITO DEL ESTUDIO

El estudio se ha realizado en el Departamento de Salud de Valencia-Hospital General, centralizado en la Unidad de Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS) del Servicio de Dermatología del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia (CHGUV), en colaboración con la Unidad de Patología Molecular y Genética de Tumores del Servicio de Anatomía Patológica del mismo hospital. El Departamento de Salud atiende las necesidades de asistencia sanitaria pública especializada hospitalaria de un área metropolitana de 372.138 habitantes.

El Servicio de Dermatología y Venereología es el Centro de referencia de Dermatología de la Comunidad Valenciana y el único que ha contado con dermatólogo de guardia de presencia física todos los días del año, motivo por el que se nos derivaron de urgencia a pacientes con esta patología procedentes de otras áreas sanitarias.

El Servicio de Dermatología y la Unidad de Patología Molecular y Genética de Tumores del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General de Valencia tienen amplia experiencia tanto en el estudio de las ETS como en el de factores genéticos en otras patologías cutáneas.

2. DISEÑO DEL ESTUDIO

Para evaluar los objetivos propuestos en el estudio de esta tesis doctoral se diseñó un estudio observacional retrospectivo

de casos-casos, con pacientes diagnosticados de condilomas acuminados.

El estudio fue supervisado y aprobado por el Comité de Ética de la Institución y por el Comité de Ensayos Clínicos e Investigación Clínica.

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN-EXCLUSIÓN

Se seleccionaron, de forma consecutiva, 181 pacientes remitidos a nuestra Unidad de ETS con el diagnóstico clínico de condilomas acuminados entre marzo del año 2007 y julio del 2008. Es relevante mencionar que durante este período de tiempo todavía no estaba disponible en la Comunidad Valenciana ningún tipo de vacuna frente a la infección por el VPH.

Todos los pacientes incluidos en el estudio cumplían los siguientes requisitos:

- a.- Pacientes de ambos sexos mayores de edad, o con una edad comprendida entre 14 - 18 años y con autorización paterna.
- b.- Pacientes que habían sido diagnosticados clínicamente por un dermatólogo de condilomas acuminados genitales.
- c.- Pacientes colaboradores con capacidad de responder al cuestionario.

d.- Pacientes que habían firmado el consentimiento informado para la realización de toma de muestras.

e.- Pacientes que habían dado su autorización por escrito para ser incluidos en el estudio.

Se excluyeron del estudio aquellos pacientes que tuvieran alguna de las siguientes características:

a.- Pacientes menores de 14 años.

b.- Pacientes con diagnóstico de condiloma acuminado de localización extragenital.

c.- Pacientes que finalmente no colaboraron en la recogida de datos clínicos y/o rechazaron que se les realizase la toma de muestras.

4. DESCRIPCIÓN DE LA TOMA DE MUESTRAS

Todos los pacientes que se incluyeron en el estudio cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión y fueron informados del estudio, accediendo voluntariamente a éste con la firma de los consentimientos mencionados previamente.

Todas las muestras de condilomas fueron obtenidas en las máximas condiciones de esterilidad mediante biopsia en sacabocados de 3 mm, bajo anestesia local con mepivacaína al 3% y antisepsia con povidona yodada (Fig.16).

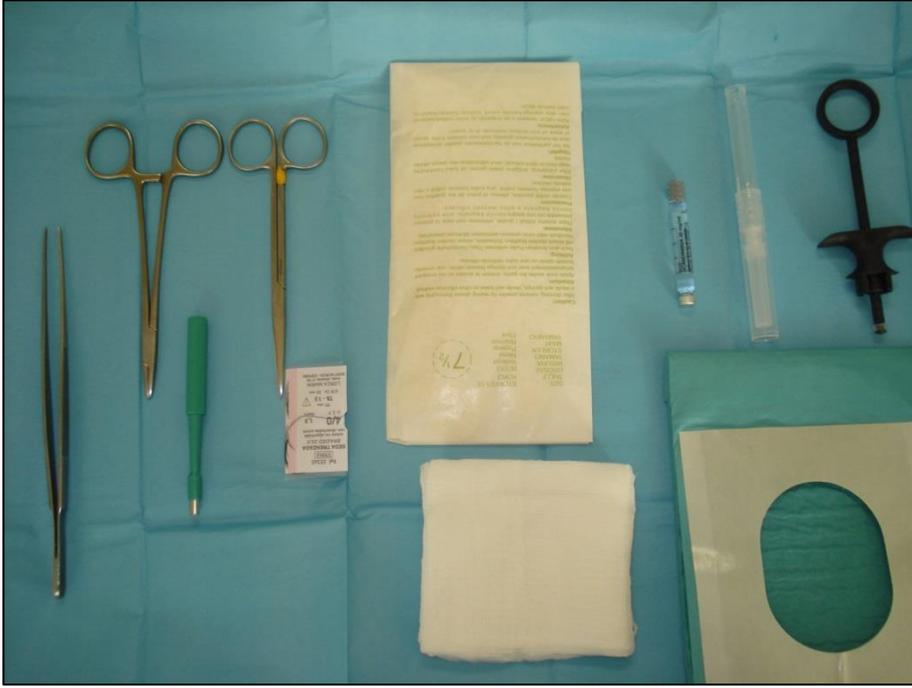


Figura 16. Material para la realización de la toma de muestras.

Cada biopsia se seccionó en tres fragmentos; uno se incluyó en formol para estudio histológico con hematoxilina-eosina, otro en parafina para tipaje del VPH mediante técnicas de biología molecular para la detección de secuencias genómicas del ADN por medio de protocolos estándar y el tercero se encuentra criopreservado en nitrógeno líquido a -196° C para posibles aplicaciones futuras.

5. VARIABLES DEL ESTUDIO

Para el estudio, se recogieron diferentes características de cada uno de los pacientes. Se incluyeron datos epidemiológicos de

interés, además de los siguientes datos clínicos y de laboratorio (Anexo I).

- Número de historia clínica
- Edad y sexo
- Nacionalidad
- Nivel de estudios
- Tabaquismo
- Localización de las lesiones
- Tratamiento previo de las mismas
- Edad de inicio de las prácticas sexuales
- Estado civil, situación personal y tipo de prácticas sexuales
- Número de parejas sexuales al año y promiscuidad
- Uso de métodos anticonceptivos y/o barrera
- Infecciones asociadas y presencia de otras ETS previas
- Diagnóstico histopatológico de las lesiones
- Detección del ADN del VPH en las lesiones y genotipo.

1. N^o HISTORIA CLINICA

N^o BIOPSIA - AP.....

N^o DNA.....

2. EDAD años

3. SEXO VARON MUJER

4. NACIONALIDAD española otras.....

5. NIVEL ESTUDIOS:

Sin estudios Graduado escolar (primarios)
 Bachiller (medios) Título universitario (superiores)

6. LOCALIZACIÓN

VARON

PENE ESCROTO
 PERINÉ ANAL

MUJER

VULVA REGION INGUINAL
 PERINÉ ANAL

7. TRATAMIENTO PREVIO

NO SI.....

8. PROMISCUIDAD (N^o PAREJAS SEXUALES/AÑO)

9. SITUACION PERSONAL

Pareja fija Pareja fija + contactos fuera Contactos esporádicos

10. PRACTICAS SEXUALES

HOMOSEXUAL Activo HETEROSEXUAL BISEXUAL
 Pasivo

11. TABACO

NO SICigarrillos/día

12. EDAD INICIO RELACIONES SEXUALES

< 18 años 18 - 26 años
 27 - 32 años > 33 años

13. ESTADO CIVIL

Soltero/a Casado/a
 Separado/a Viudo/a

14. USO ANTICONCEPTIVOS

NO SI ¿Cuál?

Preservativo Píldora D.I.U Diafragma

Espermicida Ligadura Vasectomía

15. INFECCIONES ASOCIADAS

•VHB •LUES
 •VHC •VIH •OTRAS.....

Anexo I. Cuaderno de recogida de datos.

A todos los pacientes se les solicitó una serología de rutina que incluía VHB, VHC, VIH y lúes. Debido a que es mandatorio realizar un despistaje de otra ETS asociada a todo enfermo diagnosticado de condilomas acuminados.

Para clasificar a un paciente como promiscuo se siguió la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹⁰⁷, que considera a la persona que tiene más de 2 parejas sexuales en menos de 6 meses o más de 4 en un año como promiscua.

Los datos clínicos se obtuvieron mediante una recogida prospectiva estandarizada de cada paciente a partir de una entrevista estructurada realizada en la consulta y se incluyeron en una base de datos específicamente diseñada para los objetivos del estudio. Empleamos para ello el programa Microsoft Access 97.

6. ESTUDIO HISTOLÓGICO MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA

Las muestras han sido procesadas en el Departamento de Anatomía Patológica y en el Laboratorio de Patología Molecular del Hospital General Universitario de Valencia. Todas las muestras se han estudiado con microscopia óptica y con técnicas de biología molecular.

Para proceder al estudio microscópico de la muestra, se realizó previamente la fijación, procesado, tinción y montaje en el porta-objetos. La fijación de la misma fue mediante formol durante 12-24 horas. (Tabla 2).

N. FRASCO	SUSTANCIA	TIEMPO (h)
1	FORMOL	2
2	ALCOHOL70	1 ½
3	ALCOHOL70	½
4	ALCOHOL 96	1
5	ALCOHOL 96	1 ½
6	ALCOHOL 100	1 ½
7	ALCOHOL 100	2
8	XIOL	½
9	XIOL	1
10	XIOL	1 ½
11	PARAFINA	2
12	PARAFINA	2

Tabla 2. Pasos de fijación de la muestra.

Para el proceso de inclusión de la pieza (deshidratación, aclaración e inhibición), utilizamos un procesador automático de tejidos con el siguiente programa estándar (Fig.17).



Figura 17. Procesador automático de tejidos, marca Myr.



Figura 18. Sistema de montaje para inclusión en parafina, modelo Oxford Trade.

Posteriormente, las piezas fueron introducidas en moldes de plástico (cassettes), y se mantuvieron en un baño de parafina hasta que se pasaron por el dispensador de parafina (*Oxford Trade*) (Fig.18). Seguidamente se realizó el bloque de inclusión que solidificamos en la placa de congelación (*Oxford Trade*). Tras la solidificación completa, el molde de parafina fue retirado y se realizaron cortes de 2-5 micras con el microtomo (Fig.19), introduciéndose éstos en una bañera con agua y alcohol. Al retirar los cortes de la bañera, éstos se montaron directamente en un porta-objetos y depositaron en la estufa a 60° C durante 30 minutos, para el secado.

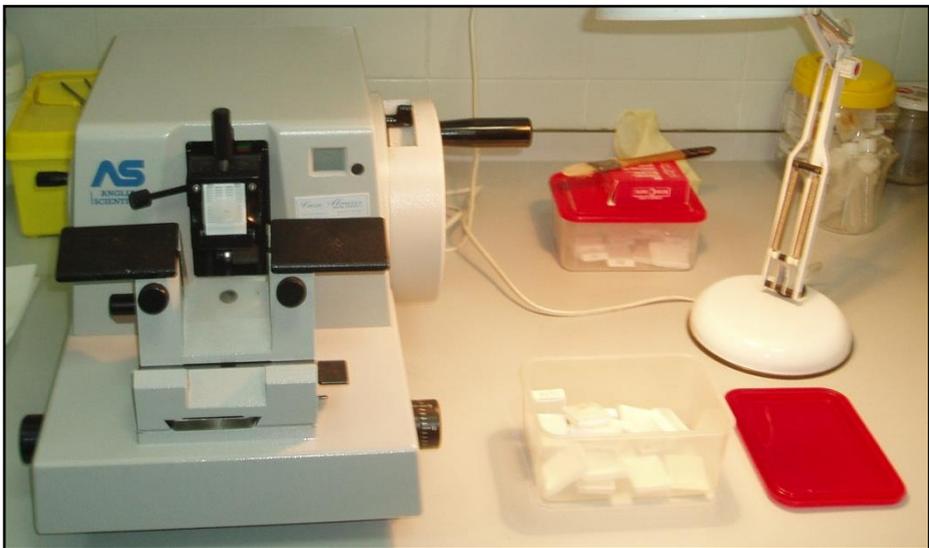


Figura 19. Microtomo, modelo Amplia Scientific 0325.

Para la desparafinización, se introdujo el portaobjetos en cubetas de xilol 100% I-II-III-IV-V durante 5-7 minutos en cada una de ellas. Eliminamos el xilol mediante lavados en cubetas con el alcohol de 100°, 96° y 70° durante 3-4 minutos, y rehidratamos posteriormente la pieza, enjuagando con agua

corriente para facilitar la actuación de los colorantes que son hidrosolubles.

Las preparaciones se tiñeron con la técnica estándar de hematoxilina-eosina:

- 1- Teñir 5-10 minutos en la solución que obtenemos al diluir ácido acético glacial al 4% en hematoxilina de Harris.
- 2- Lavar con agua durante 2-5 minutos.
- 3- Introducir en carbonato de litio durante un minuto.
- 4- Coloración con solución de eosina al 1% durante 2-5 min.
- 5- Lavar con agua durante 1 minuto.
- 6- Deshidratación con alcoholes crecientes a 70°, 95° y 100° durante 5-10 minutos cada uno de ellos.



Figura 20. Microscopio óptico Leica modelo DFC320 y sistema digital de captación de imágenes.

Por último, se montó el cubre evitando que quedaran burbujas de aire entre el porta y el cubreobjetos. Posteriormente, las muestras se visualizaron con microscopio óptico modelo Leica DMFC320 (Fig.20).

7. ESTUDIO MOLECULAR DEL ADN DEL HPV

El ADN del VPH fue detectado por amplificación de un fragmento del gen L1, utilizando cebadores consensuados MY11/09 y GP5+/GP6⁶⁷. Se valoró el ADN adecuado con cebadores de β -globina. Después de la extracción del ADN a partir de biopsias fijadas en parafina, se utilizó 100ng de ADN de un volumen total de 20 μ l para la primera vuelta de la reacción, mediante un termociclador convencional⁶⁷. Éste, comprendía 20 ciclos de desnaturalización; 0.5 μ l de este producto se utilizó para una segunda vuelta de 30 ciclos de amplificación con *Real Time PCR* (LightCycler-LC) para obtener las temperaturas de fusión de cada amplificado, y con ello obtener los perfiles de las curvas de fusión⁶⁰, generadas por el análisis del software LC. Se utilizó el colorante fluorescente SYBR Green, específico para ADN de doble cadena, en la mezcla de la segunda reacción de PCR.

Para tipificar y confirmar la especificidad de los productos de PCR, se realizó una secuenciación directa de los productos amplificados resultantes. Todo el proceso tuvo lugar con grandes precauciones para evitar contaminaciones de productos de reacciones previas. Todos los análisis de PCR se hicieron por duplicado y los resultados positivos fueron confirmados independientemente (Fig.21).



Figura 21. Secuenciador capilar 3130 Genetic Analyzer.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se han analizado utilizando el paquete informático IBM SPSS versión 20.0 (SPSS Inc, Chicago, Ill USA).

8.1. Estadística descriptiva.

Se realizó un estudio descriptivo de cada una de las variables incluidas en el estudio:

- Para las variables cuantitativas o numéricas se calcularon los estadísticos básicos; la media y la desviación estándar, la mediana y el intervalo.
- Para las variables cualitativas o categóricas, se describieron sus valores absolutos y sus porcentajes.

8.2. Estadística analítica.

La distribución de las variables cualitativas se comparó entre los grupos estudiados (genotipos del VPH de bajo riesgo y de alto riesgo) mediante tablas de contingencia, y como contraste estadístico se utilizó la prueba de la Ji cuadrado de Pearson o la prueba de la F de Fisher para aquellas tablas en las que al menos una casilla presentaba una frecuencia esperada <5%. Se realizó un análisis de regresión logística tanto uni- como multivariada, esta última para conocer los factores de riesgo independientes. La comparación de las variables continuas se realizó mediante la prueba de Anova de un factor. El nivel de significación empleado en todos los análisis fue del 5% ($\alpha=0,05$).

La cuantificación de las asociaciones estadísticamente significativas se realizó mediante regresión logística binaria, con la que se calculó la odds ratio (OR) y su correspondiente Intervalo de confianza (IC) al 95%.

Para el estudio multivariado, para evaluar la jerarquización de las variables se utilizó también la metodología CART¹⁰⁸ (*Classification and regression trees*) con análisis de sensibilidad basado en el método de Gini¹⁰⁹ y sistema de validación cruzada.

La metodología CART es un sistema de organización de variables que permite analizar qué variables pueden servir como predictoras, sus interacciones y si el modelo resultante puede ser útil en la práctica asistencial.

Esta metodología permite construir árboles de decisión mediante una serie de reglas sobre las decisiones tomadas para asignar un valor de salida a una determinada entrada, mediante divisiones binarias sucesivas. Esto es, se divide cada nodo madre en dos nodos hijos homogéneos mediante la aplicación de respuestas sí/no en cada nodo de decisión. Las etapas para la generación del modelo son: a) Construcción del árbol; b) Parada del proceso de crecimiento del árbol (se construye un árbol máximo que sobreajusta la información contenida en la base de datos); c) Podado del árbol haciéndolo más sencillo y dejando sólo los nodos más importantes y, por último; d) Selección del árbol óptimo con capacidad de generalización¹⁰⁹.

1 INTRODUCCIÓN

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3 MATERIAL Y MÉTODO

4 **RESULTADOS**

5 DISCUSIÓN

6 CONCLUSIONES

7 BIBLIOGRAFÍA

1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Durante el periodo comprendido entre marzo de 2007 y julio de 2008, un total de 181 pacientes fueron remitidos a la Unidad de ETS del CHGUV con el diagnóstico clínico de condilomas acuminados genitales.

De los 181 pacientes remitidos para el estudio de las lesiones genitales, se excluyeron de los análisis finales del estudio a once pacientes. Cuatro de ellos niños, en concreto tres niños varones de 2, 5 y 11 años y una niña de 11 años de edad (casos 73, 101, 138, 175). Tres casos en los que a pesar de ser derivados con el diagnóstico clínico de condilomas acuminados, las lesiones estaban localizadas en la mucosa oral y fueron desestimadas (casos 40, 83 y 150). Así mismo se han detectado cuatro casos en los que no había información acerca de los datos clínicos o no permitieron que se les realizase la toma de muestras, motivo por el que al no aportar información al análisis también se han dejado fuera (casos 59, 74, 107 y 128). En consecuencia, aunque se han analizado de forma prospectiva las muestras obtenidas de las lesiones diagnosticadas clínicamente como condilomas de 181 enfermos, un total de 170 pacientes constituyen nuestro grupo de estudio.

2. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Todos los datos obtenidos del cuestionario y los hallazgos clínicos, histológicos y moleculares están recogidos en documentación propia. Las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes se describen en la Tabla 3.

Características	N	%
Sexo		
Hombre	77	45.3
Mujer	93	54.7
Edad		
Mediana en años	27,5	
Rango	17-71	
Edad por grupos de años		
16-23	46	27.1
24-30	64	37.6
31-40	38	22.4
41-50	14	8.2
≥ 51	8	4.7
Nacionalidad		
Española	137	80.6
Extranjera	33	19.4
Nivel de estudios		
Sin estudios	17	10.1
Primarios	58	34.5
Secundarios	60	35.7
Superiores	33	19.6
Tabaquismo		
Sí	104	62.3
No	63	37.7
Edad de inicio de las relaciones sexuales		
< 18 años	110	65.9
18-24 años	57	34.1
Estado civil		
Soltero	123	73.2
Casado	24	14.3
Separado	18	10.7
Viudo	3	1.8
Situación personal		
Pareja fija	99	58.9
Contactos esporádicos	61	36.3
Pareja fija y contactos esporádicos	8	4.80

Características	N	%
Promiscuidad (≥ 5 parejas sexuales/año)		
No	122	73.90
Sí	43	26.10
Tipo de prácticas sexuales		
Heterosexual	149	88.20
Homosexual activo y/o pasivo	15	8.90
Bisexual	5	3.00
Uso de anticonceptivos de forma habitual		
No	113	66.90
Sí	56	33.10
Localización de las lesiones		
Vulva	60	35.30
Anal	48	28.20
Pene	44	25.90
Periné	14	8.20
Otras	4	2.40
Tipo de diagnóstico de condiloma		
Nuevo diagnóstico	122	72.20
Lesión recurrente	47	27.80
Tratamiento previo de las lesiones		
No	122	72.20
Nitrógeno líquido	17	10.10
Imiquimod	15	8.90
Podofilino	14	8.30
Múltiples tratamientos	1	0.60
Infección VIH asociada		
No	143	92.30
Sí	12	7.70
Diagnóstico histológico de condiloma		
No	136	82.90
Sí	28	17.10

Tabla 3. Características epidemiológicas y clínicas de los pacientes.

2.1. Características epidemiológicas.

2.1.1 Edad.

La mediana de edad de los pacientes con diagnóstico clínico de condilomas acuminados fue de 27,5 años, con una media de edad de 29,7 años, y una desviación típica de 9,2 años (edad mínima 17, edad máxima de 71 años). (Fig.22 y 23).

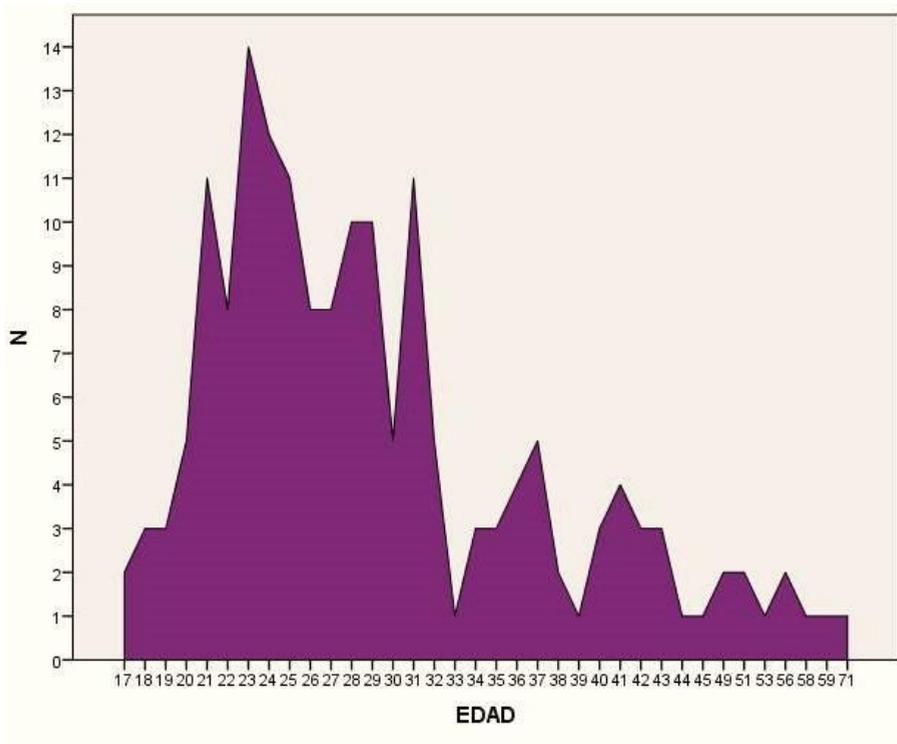


Figura 22. Distribución de la muestra por edad.

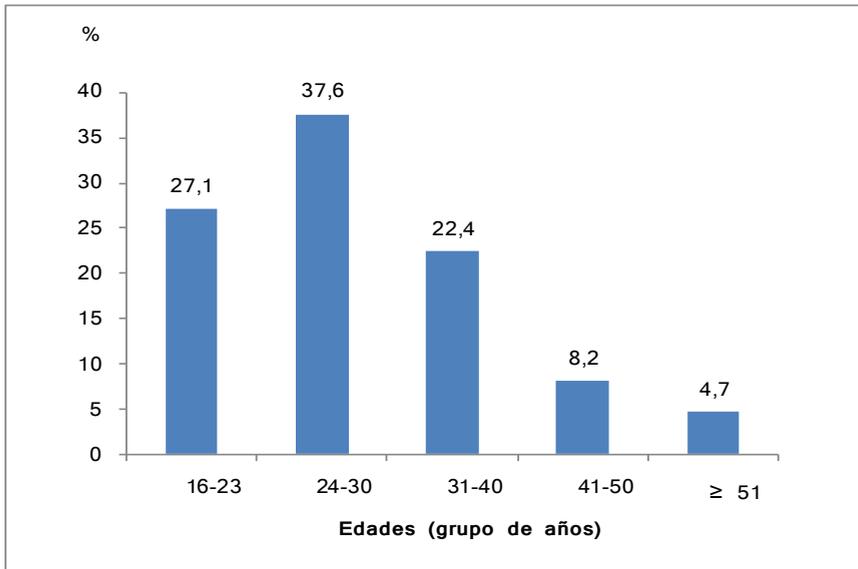


Figura 23. Distribución de la muestra por edades.

2.1.2 Sexo.

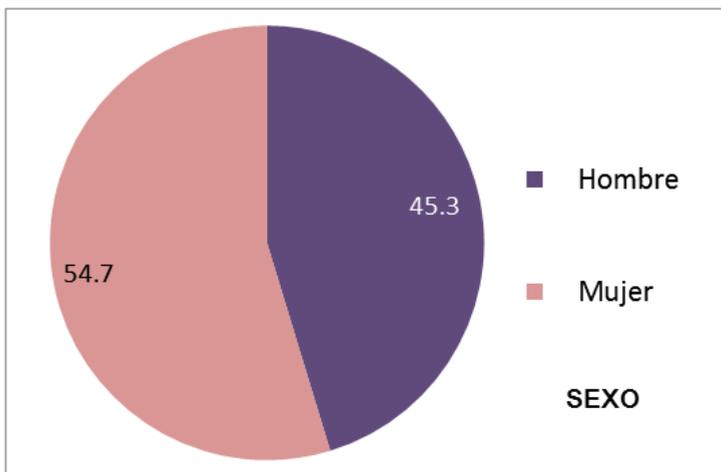


Figura 24. Distribución de la muestra por sexo.

De los 170 pacientes con diagnóstico clínico de condilomas acuminados, 93 (54,7%) pacientes eran mujeres y 77 (45,3%) pacientes eran hombres. (Fig.24).

2.1.3 Nacionalidad.

Respecto a la nacionalidad de los pacientes del estudio, 137 casos (80,6%) eran de nacionalidad española mientras que los 33 casos restantes (19,4%) correspondían a pacientes de distintas nacionalidades diferentes a la española. (Fig.25).

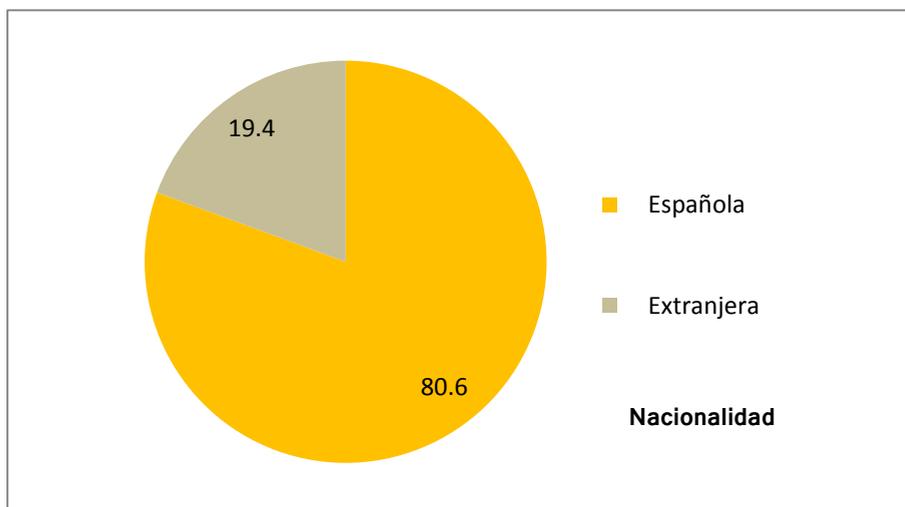


Figura 25. Nacionalidad de los pacientes de la muestra.

2.1.4 Nivel de estudios.

El nivel de estudios se codificó en las siguientes categorías: “sin estudios”, “primaria”, “secundaria” y “superiores”. A este respecto, el mayor número de pacientes declaró tener estudios secundarios 60 (35,7%), seguido de estudios de primaria 58 casos (34,5%). Los pacientes con estudios

superiores se encuentran en menor medida 33 casos (19,6%), y en último lugar se han encontrado 17 pacientes (10,1%) que han declarado no tener estudios. En dos encuestas los pacientes rehusaron contestar esta pregunta. (Fig.26).

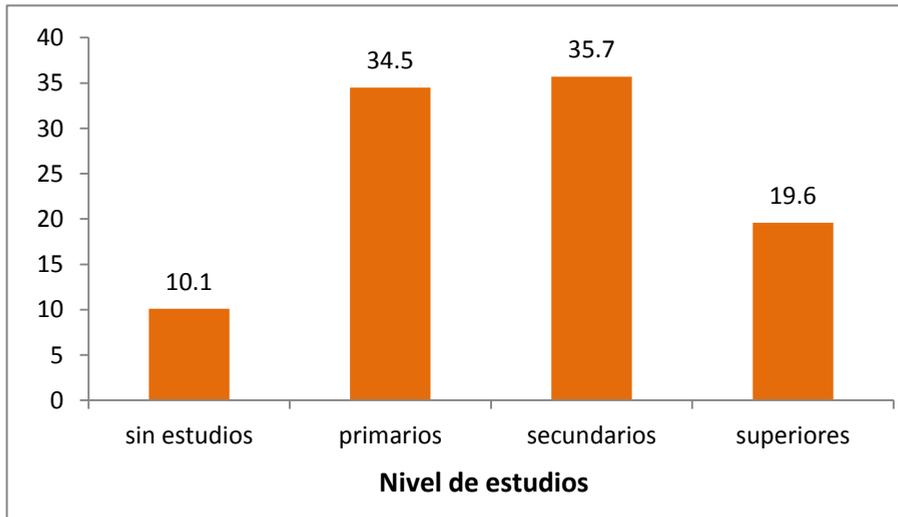


Figura 26. Distribución del nivel de estudios.

2.1.5 Tabaco.

En la muestra estudiada, 104 pacientes (62,3%) se declararon fumadores activos, mientras que 63 (37,7%) se declararon como no fumadores. Tres pacientes no contestaron a esta pregunta.

Dentro del grupo de los 104 pacientes fumadores, 58 personas (55,8% del total de fumadores) declaran fumar 20 o más cigarrillos/día, mientras que 46 pacientes (44,2%) declara fumar menos de 20 cigarrillos día. (Fig.27).

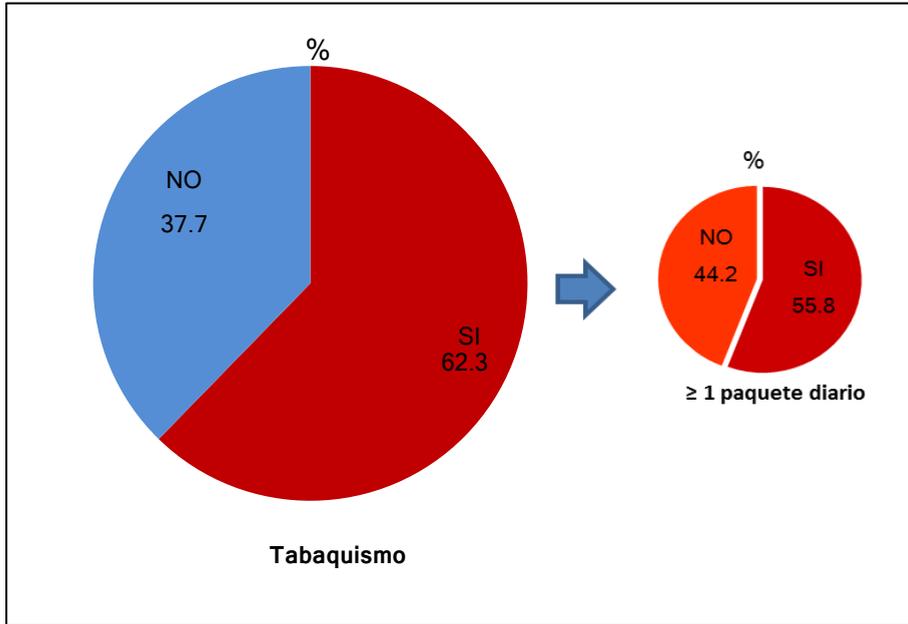


Figura 27. Tabaquismo de los pacientes del estudio.

2.2. Características sobre hábitos y actitud de las prácticas sexuales.

2.2.1. Edad de inicio de las relaciones sexuales.

A la hora de determinar la edad de inicio de las relaciones sexuales, los pacientes se clasificaron inicialmente en 4 grupos de edades “< 18 años”, “18-26 años”, “27-32 años”, “> 33 años”.

Un total de 110 pacientes (65,9%) eran menores de 18 años cuando tuvieron su primera relación sexual; 57 sujetos (34,1%) tenían una edad comprendida entre 18 y 26 años. En 3 casos no contestaron a esta pregunta. (Fig.28).

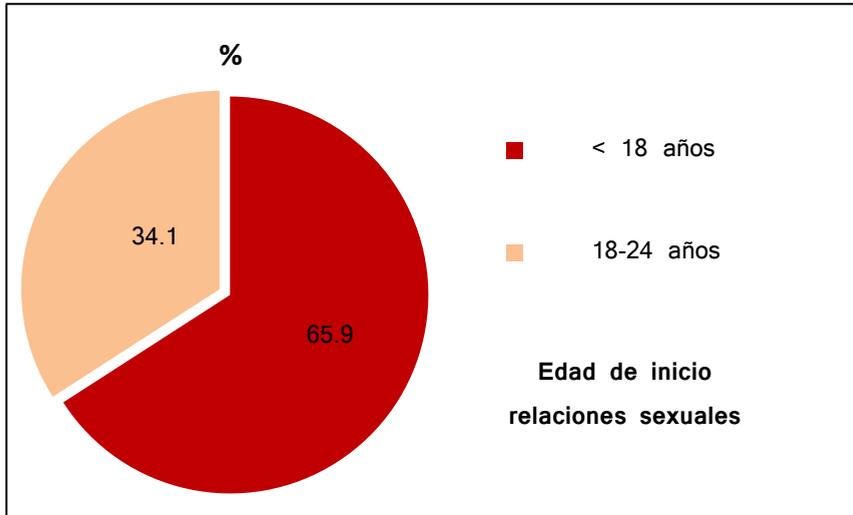


Figura 28. Edad de inicio de las relaciones sexuales.

2.2.2. Situación personal y estado civil.

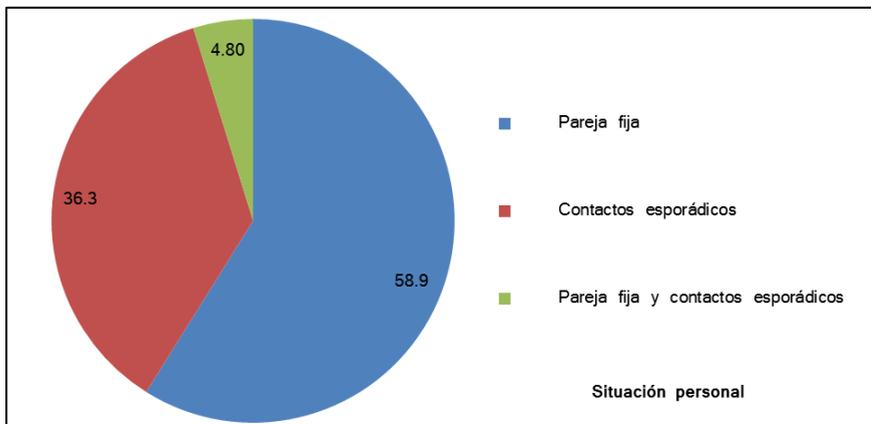


Figura 29. Situación personal de los pacientes.

Un total de 99 pacientes (58,9%) declaró tener una pareja fija. 61 casos (36,3%) indicaron no tener pareja fija sino

contactos sexuales esporádicos y 8 pacientes (4,8%) indicaron tener pareja fija además de mantener contactos sexuales fuera de su relación de pareja. Dos pacientes no contestaron a esta pregunta. (Fig.29).

Respecto a la información relativa del estado civil, los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes: 123 pacientes (73,2%) estaban solteros, 24 (14,3%) casados, seguido de 18 (10,7%) separados y finalmente 3 viudos (1,8%). Dos pacientes no contestaron esta pregunta. (Fig.30).

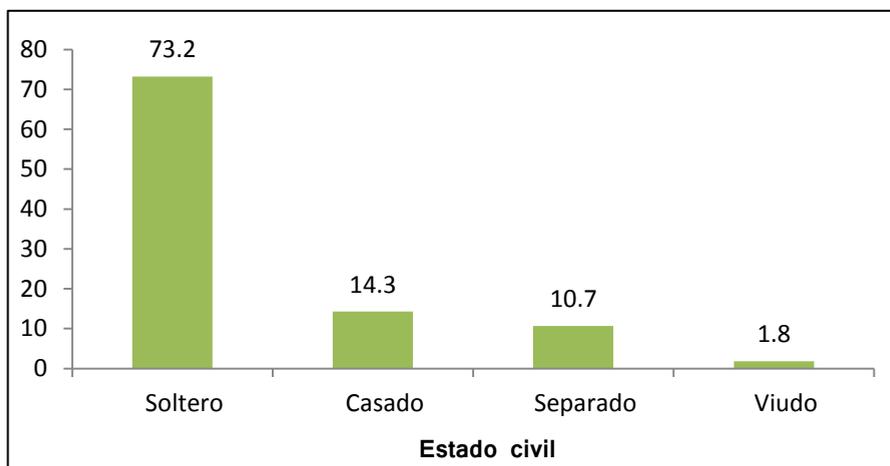


Figura 30. Estado civil de los pacientes.

2.2.3. Promiscuidad y profesional del sexo.

En nuestro estudio, en el último año 64 pacientes (38,8%) declaraban tener una única pareja sexual, frente a 97 pacientes (58,8%) que declaraban haber tenido más de una. Cuatro pacientes (2,4%) declararon no haber mantenido

relaciones sexuales durante el último año, y un total de 5 sujetos no contestaron a esta pregunta.

Un total de 43 pacientes (26,1%) afirmaban haber tenido 5 o más parejas sexuales durante el último año y podrían considerarse como promiscuos según la definición de promiscuidad de la OMS. Tres de estos pacientes (1,8%) ejercían la prostitución y se declaraban profesionales del sexo. 122 pacientes (73,9%) afirmaron que durante el último año habían mantenido relaciones sexuales con menos de 5 parejas diferentes. Cinco pacientes no contestaron a esta pregunta. (Fig.31 y 32).

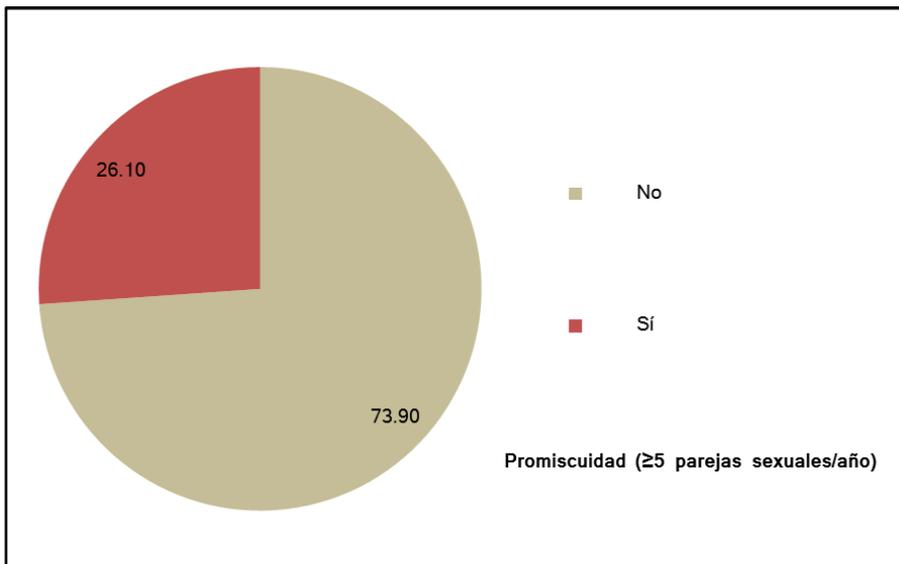


Figura 31. Promiscuidad de los sujetos con condilomas.

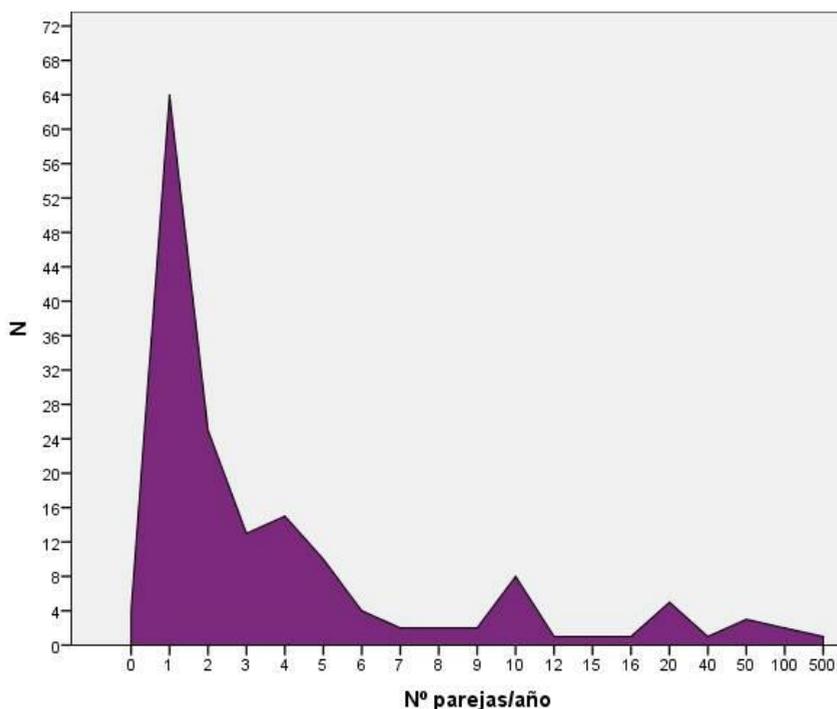


Figura 32. Distribución del número de parejas sexuales/año de todos los pacientes del estudio.

2.2.4. Prácticas sexuales.

En nuestro estudio un total de 149 pacientes (88,2%) afirmaron tener relaciones heterosexuales, 15 pacientes (8,9%) afirmaron tener relaciones homosexuales; de los cuales 13 (7,7%) referían ser homosexuales pasivos y 2 (1,2%) ser homosexuales activos. Cinco pacientes (3,0%) declararon tener relaciones bisexuales. Un paciente no contestó a esta pregunta. (Fig.33).

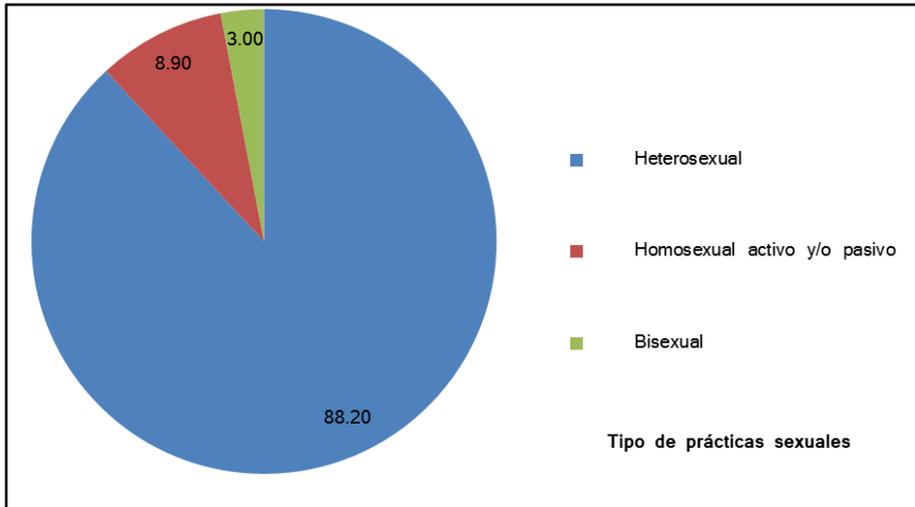


Figura 33. Tipo de prácticas sexuales.

2.2.5. Uso de anticonceptivos.

En los pacientes del estudio destaca que 113 (66,9%) de los 170 casos no utilizan de forma habitual ningún método anticonceptivo, frente a los 56 casos (33,1%) que sí que reconocen tomar medidas anticonceptivas en sus relaciones sexuales. Por orden decreciente de frecuencia destacaban: píldora 28 casos (16,5%), preservativo 21 casos (12,4%), anillo vaginal, 4 casos (2,4%), vasectomía 2 casos (1,2%) y DIU 1 caso (0,6%). En un caso no disponemos información sobre el uso de medidas anticonceptivas.

En el grupo de mujeres, 50 pacientes (53,8%) no usaban ningún método anticonceptivo, siendo la píldora el anticonceptivo más utilizado por 28 usuarias (30,1%), seguido del preservativo en 10 casos (10,8%), el anillo vaginal 4 casos (4,3%) y un caso era usuaria de DIU (1,1%).

En el grupo de hombres, un total de 63 varones (82,9%) reconocían no usar de forma habitual ningún método anticonceptivo, siendo el preservativo el método más usado en 11 casos (14,5%), 2 casos tenían realizada una vasectomía (2,6%). (Fig.34).

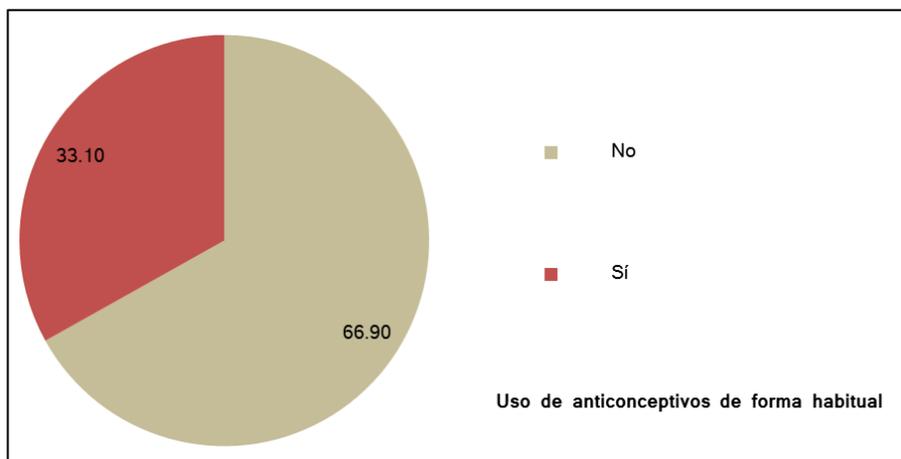


Figura 34. Uso de anticonceptivos de forma habitual.

2.3. Características clínicas específicas de las lesiones.

2.3.1. Localización de las lesiones.

En nuestro estudio de 170 pacientes, los condilomas acuminados presentaban por orden decreciente las siguientes localizaciones: en la vulva en 60 casos (35,3%), seguido de 48 lesiones anales (28,2%), en el pene en 44 pacientes (25,9%), periné en 14 (8,2%) ocasiones y escroto e ingle en 2 (1,2%) situaciones en cada una de ellas. (Fig.35).

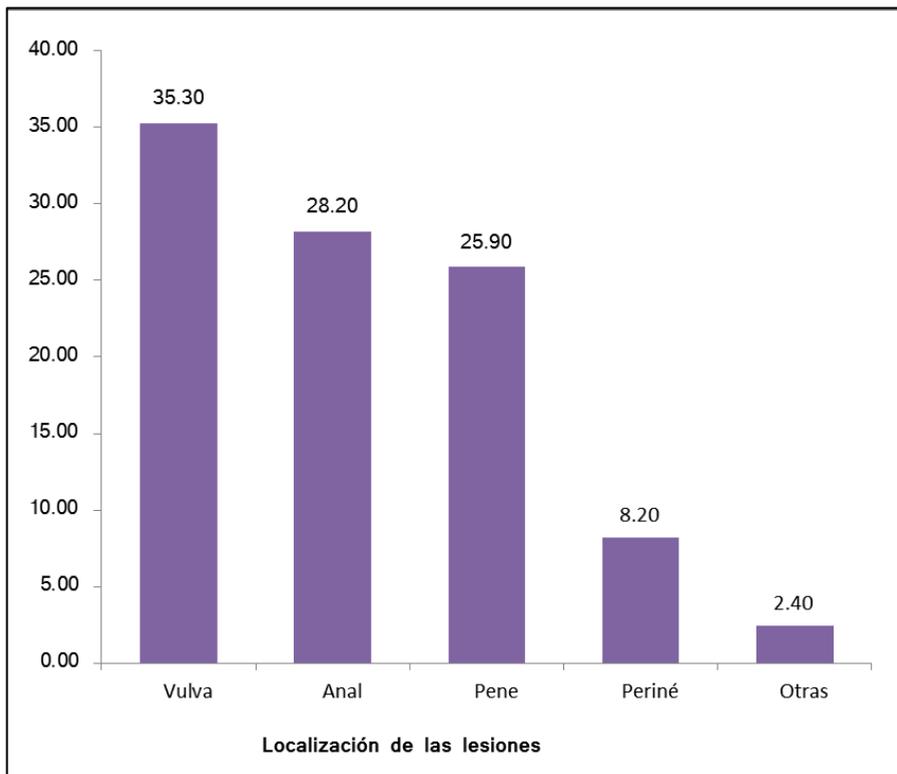


Figura 35. Localización de las lesiones.

2.3.2. Lesiones recurrentes y tratamientos previos

De los 170 pacientes estudiados 122 casos (72,2%) eran nuevas lesiones de condilomas sin haber recibido ningún tratamiento previo. En 47 casos (27,8%) se trataban de lesiones recurrentes y los pacientes habían recibido diversos tratamientos. Del total de los 47 casos que correspondían a pacientes con lesiones recurrentes y previamente tratadas 17 casos (36,2%) habían sido tratados con nitrógeno líquido, 15 casos (31,9%) con imiquimod tópico, 14 casos (29,8%) con podofilino y un paciente (2,1%) había recibido previamente

múltiples terapias. En un caso no disponemos información sobre si se trataba de una nueva lesión o recurrente o si había recibido algún tratamiento previo. (Fig.36 y 37).

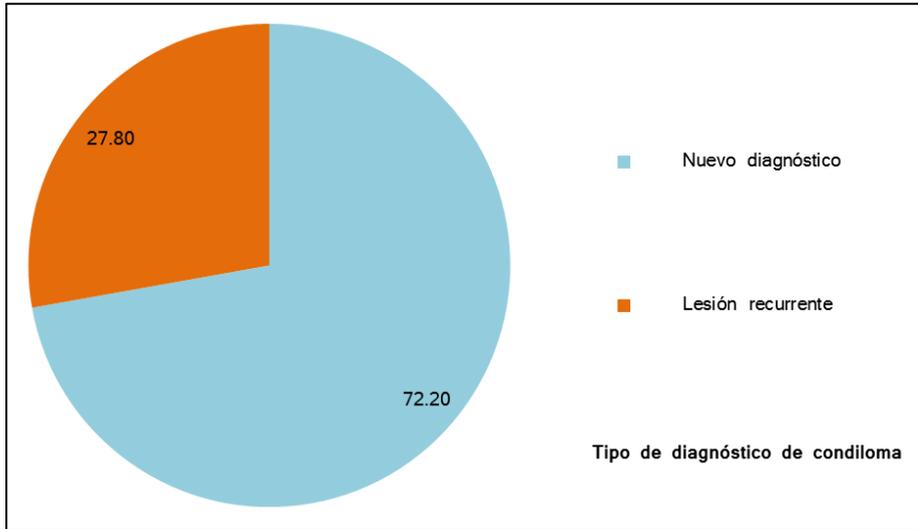


Figura 36. Tipo de diagnóstico del condiloma (nuevo vs recurrente)

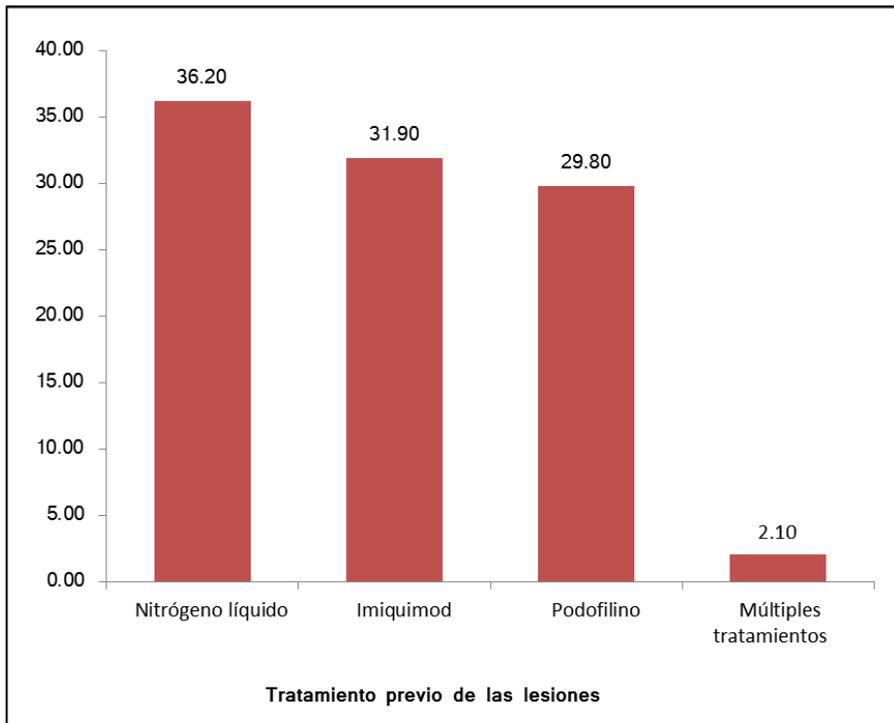


Figura 37. Tratamiento previo de las lesiones.

2.3.3. Infecciones asociadas

Los resultados del cribado analítico de rutina que se deben realizar a todos los pacientes diagnosticados de condilomas acuminados mostraron los siguientes resultados: un total de 15 casos (8,8%) mostraban positividad para la infección por el virus de la hepatitis B, 12 casos (7,1%) mostraron una serología positiva para la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), 10 casos (5,9%) presentaron infección por el virus de la hepatitis C y 6 pacientes (3,5%) presentaron una serología luética positiva, destacando que en 3 casos se les diagnóstico de una sífilis que era clínicamente

activa gracias al examen analítico rutinario realizado. Al revisar los resultados analíticos se observó que 15 pacientes no se realizaron el cribado solicitado.

Además, un total de 14 pacientes reconocieron que previamente se les había diagnosticado de otras infecciones de transmisión sexual que no eran causadas por el VPH. Destacaban 5 casos (2,9%) de VIH, 3 casos (1,8%) de sífilis, 3 gonorreas (1,8%), 2 herpes genitales (1,2%) y 1 uretritis no gonocócica (0,6%). Si añadimos los otros 3 casos de sífilis que se diagnosticaron mediante el cribado, un total de 17 casos (10%) de la muestra presentaron una infección asociada a la infección por el VPH.

2.3.4. Diagnóstico histológico de las lesiones.

De las 170 biopsias realizadas, en 136 casos (82,9%) el diagnóstico histopatológico fue de condiloma acuminado al encontrarse hallazgos histológicos típicos de esta lesión como la coilocitosis. En 28 casos (17,1%) el informe anatomopatológico ofrecía un resultado distinto a éste. De los 28 casos en los que no se realizó un diagnóstico histológico de condiloma destacan 16 biopsias (57,1%) que fueron informadas con otros diagnósticos como nevus o pólipo fibroepitelial y 12 biopsias (42,9%) informadas como normales por no identificarse alteraciones patológicas. En 6 de los sujetos no se pudo realizar estudio anatomopatológico de las lesiones por problemas en el procesado o mala calidad de las muestras debido al pequeño tamaño de las mismas. (Fig.38).

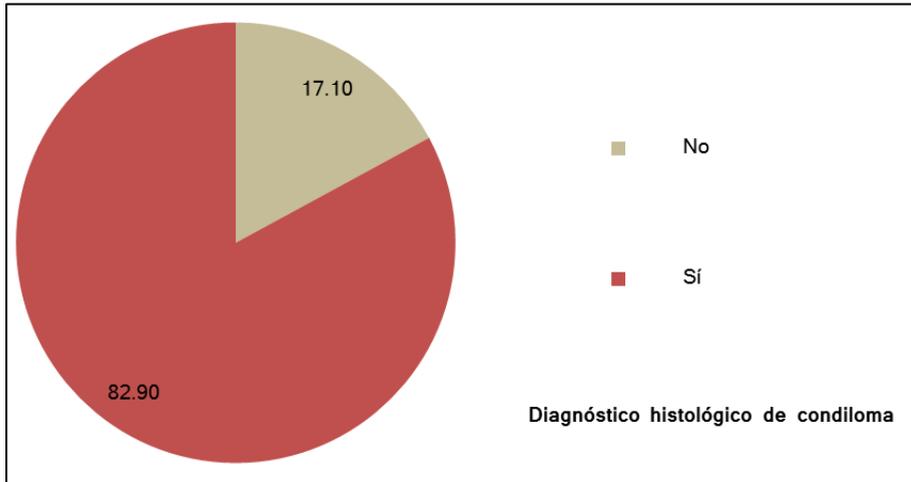


Figura 38. Diagnóstico histológico de condiloma.

3. DETECCIÓN MOLECULAR Y GENOTIPO DEL VPH

3.1. Prevalencia del VPH.

El ADN del VPH fue detectado en 169 de las 170 muestras pertenecientes a los casos de condiloma acuminado, obteniendo una prevalencia media del 99,4%. La presencia de un sólo genotipo fue observada en 145 (85,8%) de los 170 casos, mientras que en 24 casos (14,2%) se determinó infección por 2 genotipos. No se encontró ningún caso con más de 2 genotipos distintos.

Los genotipos del VPH se clasifican en función del riesgo que presentan de provocar lesiones neoplásicas malignas. De esta forma 18 tipos de VPH han sido clasificados como genotipos de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, y 82) y 16 fueron clasificados

como genotipos de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 84 y 89) para el análisis en nuestro estudio. El resto de genotipos del VPH encontrados se consideraron de riesgo indeterminado.

En base a la clasificación del genotipo bajo riesgo/alto riesgo, los resultados obtenidos en nuestro estudio se muestran en la tabla 4.

Variables	Nº. (%) de casos			P
	Hombres	Mujeres	Total	
	(n=77)	(n=92)	(n=169)	
≥ 1 genotipos de BR (sin genotipos de AR)	64 (83,1)	69 (75,0)	133 (78,7)	0,199
≥ 1 genotipos de AR (sin genotipos de BR)	5 (6,5)	12 (13,0)	17 (10,1)	0,159
Genotipos de AR y BR	7 (9,1)	8 (8,7)	15 (8,9)	0,928
Indeterminados	2 (2,6)	3 (3,3)	5 (3)	1,0
HPV negativos	0 (0)	1 (1,1)	1 (0,6)	1,0
Muestras con ≥ 1 genotipos de BR (infección por VPH simple o múltiple)	71 (92,2)	77 (83,7)	148 (87,6)	0,095
Muestras con ≥ 1 genotipos de AR asociado con cualquier VPH)	12 (15,6)	20 (21,7)	32 (18,9)	0,309

Tabla 4. Prevalencia de la infección del virus del papiloma humano (VPH) en las lesiones de condiloma acuminado, atendiendo a la clasificación de bajo riesgo y alto riesgo.

La presencia de ≥ 1 genotipos de bajo riesgo de VPH fue encontrada en 148 (87,6%) de los 170 casos, y la presencia de ≥ 1 genotipos de alto riesgo se determinó en 32 casos (18,9%). Esta proporción variaba con el sexo de los pacientes;

la presencia de ≥ 1 genotipos de bajo riesgo fue más común en los hombres que en las mujeres (92,2% vs 83,7%; $p = 0.095$). Estos datos contrastan con la presencia de ≥ 1 genotipos de alto riesgo que eran más frecuentes en las mujeres que en los hombres (21,7% vs 15,6%; $p = 0.309$).

Un total de 133 lesiones (78,7%) de las 170 muestras de los condilomas presentaron infección con ≥ 1 genotipos de bajo riesgo (sin genotipos de alto riesgo); 17 (10,1%) presentaron infección con ≥ 1 genotipos de alto riesgo (sin genotipos de bajo riesgo), mientras que 15 (8,9%) presentaban coinfección con genotipos de alto y bajo riesgo.

En nuestro estudio la presencia de ≥ 1 genotipos de alto riesgo ocurrió más frecuentemente en los casos recurrentes 13 (28,3%) de un total de 46 pacientes que ya habían recibido tratamiento previo, que en los nuevos casos, 19 (15,6%) de los 122 casos sin tratamiento previo; ($p=0.062$).

Por el contrario la presencia de ≥ 1 genotipos de bajo riesgo ocurrió más frecuentemente en los casos no tratados previamente 111 (91%) de los 122 casos frente a 36 (78,3%) de los 46 casos recidivados y con tratamiento previo; ($p=0.026$) encontrándose diferencias estadísticamente significativas.

Al analizar los casos recurrentes por sexos, se observó que en las mujeres la prevalencia de lesiones recidivadas era mayor que en hombres, encontrando 34 casos frente a 13 respectivamente (36,6% vs 17,1%; $p=0.005$) con diferencias estadísticamente significativas.

3.2. Prevalencia de los genotipos específicos del VPH

De los 169 pacientes con tipaje positivo, los genotipos del VPH encontrados por orden de frecuencia decreciente fueron los siguientes: el VPH-6 con 93 casos (55%); el VPH-11 con 49 casos (29%); el VPH-16 con 20 casos (11,8%); el VPH-18 con 7 casos (4,1%); el VPH-81 con 5 casos (3%); en dos ocasiones (1,2%) se ha detectado cada uno de los siguientes genotipos de VPH: 31, 40, 43, 54, 57. Y finalmente se ha detectado un caso (0,6%) de cada uno de los siguientes genotipos de VPH: 2, 32, 33, 51, 55, 66, 82, 84, 89. (Tabla 5).

El ADN del VPH-6 y/o VPH-11 (sólo o en asociación con el otro tipo) se encontró en el 71,6% de los casos. El ADN de estos 2 genotipos en combinación con ADN de otros genotipos del VPH fue detectado en el 11,2% de los casos de condiloma acuminado, obteniendo una prevalencia total de la infección por el VPH-6 y/o VPH-11 del 82,8%.

De forma análoga, en el 9,5% de las muestras (16 casos) sólo se detectó ADN del VPH-16 y/o VPH-18 (sólo o en asociación con el otro tipo). El ADN del VPH-16 y/o VPH-18 fue además detectado en combinación con el ADN de otros genotipos del VPH en el 5,9% de los casos, obteniéndose una prevalencia total de la infección por el VPH-16 y/o VPH-18 del 15,4%.

Genotipo del VPH	Nº. (%) de casos	
	Casos de infección simple	Todas las infecciones (simples o múltiples)
	(n=145)	(n=169)
VPH-6	83 (49,1)	93 (55)
VPH-11	36 (21,3)	49 (29)
VPH-16	12 (7,1)	20 (11,8)
VPH-18	3 (1,8)	7 (4,1)
VPH-81	2 (1,2)	5 (3,0)
VPH-31	...	2 (1,2)
VPH-40	2 (1,2)	2 (1,2)
VPH-43	1 (0,6)	2 (1,2)
VPH-54	...	2 (1,2)
VPH-57	2 (1,2)	2 (1,2)
VPH-2	1 (0,6)	1 (0,6)
VPH-32	...	1 (0,6)
VPH-33	1 (0,6)	1 (0,6)
VPH-51	1 (0,6)	1 (0,6)
VPH-55	1 (0,6)	1 (0,6)
VPH-66	...	1 (0,6)
VPH-82	...	1 (0,6)
VPH-84	1 (0,6)	1 (0,6)
VPH-89	...	1 (0,6)
Indeterminados	4 (2,4)	5 (3,0)
VPH negativo	1 (0,6)	1 (0,6)

Tabla 5. Prevalencia del genotipo específico del virus del papiloma humano (VPH) en 170 lesiones de condiloma acuminado, en orden de frecuencia decreciente.

En el 87% de todos los casos de condilomas acuminados estaban implicados solamente los genotipos de VPH-6, VPH-11, VPH-16 y/o VPH-18. Finalmente, por lo menos 1 de estos 4 genotipos (solo o en combinación con otros genotipos) fue encontrado en el 92,3% de los casos.

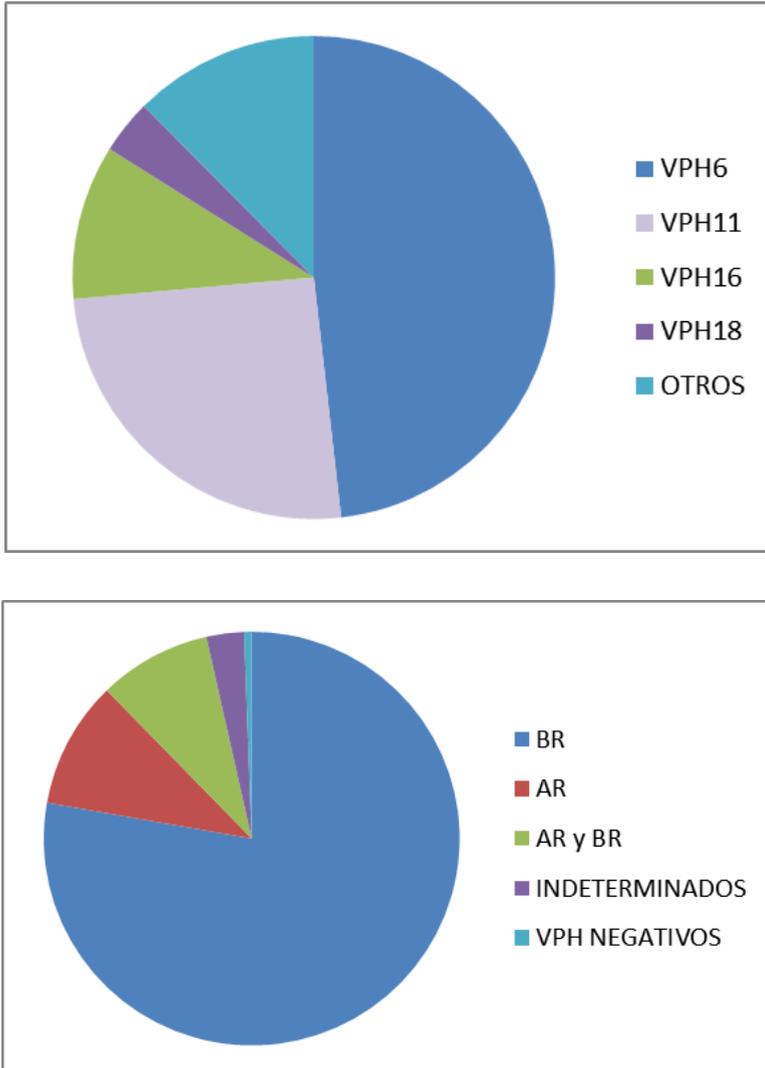


Figura 39. Genotipos del VPH encontrados en nuestras lesiones de condilomas acuminados.

4. RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ESTUDIADAS Y EL GENOTIPO DE ALTO Y BAJO RIESGO.

A continuación exponemos los resultados tras analizar las diferentes variables recogidas en nuestro estudio y determinar su relación con la presencia o ausencia de un genotipo del VPH de alto riesgo y/o bajo riesgo en las lesiones que clínicamente fueron diagnosticadas de condiloma acuminado. Los resultados de este análisis se encuentran detallados en las tablas 6 y 7.

Al analizar las diferentes variables se observó que los pacientes con un diagnóstico nuevo de condiloma acuminado presentaron con más frecuencia genotipos del VPH de bajo riesgo oncogénico frente a los pacientes que ya se les había realizado previamente este diagnóstico con unas diferencias estadísticamente significativas (91% vs 78,3%; $p=0,026$). Al cuantificar estas diferencias mediante regresión logística se observó que el diagnóstico de un primer episodio clínico de condiloma acuminado se asociaba a la presencia de genotipos de VPH de BR con un riesgo 2,8 veces mayor frente a una lesión ya tratada previamente (OR=2,8; IC 95% OR:1,1-7,1; $p=0,031$).

Al evaluar los casos recurrentes por sexos, se observó que en las mujeres la prevalencia de lesiones recidivadas era mayor que en hombres, encontrando 34 casos frente a 13 respectivamente (36,6% vs 17,1%; $p=0,005$) con diferencias estadísticamente significativas. El riesgo de presentar lesiones

recurrentes era 2,8 veces mayor en las mujeres que en los hombres (OR=2,8; IC 95% OR:1,3-5,8; $p=0,006$).

Al evaluar la influencia de cada uno de los tratamientos por separado se observó que los pacientes no tratados previamente también se asociaban con genotipos del VPH de BR frente a los tratados con imiquimod (91% vs 66,7%; $p=0,051$) con una diferencia próxima a la significación estadística. Al cuantificar mediante regresión logística se observó que el riesgo de presentar un VPH de BR era 5,1 veces mayor en los pacientes no tratados respecto a los tratados con imiquimod (OR=5,1; IC 95% OR:1,5-17,4; $p=0,010$).

No se encontraron diferencias en cuanto a la distribución por edad, nacionalidad, nivel de estudios, tabaquismo, edad de inicio de las relaciones sexuales, situación personal, estado civil, número de parejas sexuales, tipo de prácticas sexuales, uso de anticonceptivos, localización de las lesiones, infecciones asociadas y diagnóstico histológico con respecto a la presencia de genotipos del VPH de bajo riesgo.

	BR-SI		BR-NO		P
	N	%	N	%	
Edad (V.P.=0)					0,793
≤ 27 años	73	86,9	11	13,1	
> 27 años	75	88,2	10	11,8	
Nacionalidad (V.P.=0)					0,769
Española	118	86,8	18	13,2	
Extranjera	30	90,9	3	9,1	
Nivel de estudios (V.P.=2)					0,918
Sin estudios	15	88,2	2	11,8	
Primarios	50	86,2	8	13,8	
Secundarios	51	86,4	8	13,6	
Superiores	30	90,9	3	9,1	
Inicio relación sexual (V.P.=3)					0,552
Antes de los 18 años	94	86,2	15	13,8	
Entre 18-26 años	51	89,5	6	10,5	
Situación personal (V.P.=2)					0,481
Pareja fija	89	89,9	10	10,1	
Contactos esporádicos	50	83,3	10	16,7	
Pareja y contactos	7	87,5	1	12,5	
Estado civil (V.P.=2)					0,840
Soltero	107	87,7	15	12,3	
Casado	20	83,3	4	16,7	
Separado	16	88,9	2	11,1	
Viudo	3	100	0	0	
Promiscuidad (V.P.=5)					0,185
No	108	89,3	13	10,7	
Sí	35	81,4	8	18,6	
Tabaquismo (V.P.=3)					0,406
Sí	89	85,6	15	14,4	
No	57	90,5	6	9,5	

	BR-SI		BR-NO		P
	N	%	N	%	
Prácticas sexuales (V.P.=1)					0,842
Heterosexual	129	87,2	19	12,8	
Homosexual pasivo	12	92,3	1	7,7	
Homosexual activo	2	100	0	0	
Bisexual	4	80	1	20	
Uso de anticonceptivos (V.P.=1)					0,140
No	94	83,9	18	16,1	
Si	53	94,6	3	5,4	
Preservativo o método barrera	20	95,2	1	4,8	
Otros métodos no barrera	33	94,3	2	5,7	
Localización (V.P.=0)					0,587
Vulva	53	88,3	7	11,7	
Anal	39	81,2	9	18,8	
Pene	41	93,2	3	6,8	
Periné	11	84,6	2	15,4	
Escroto	2	100	0	0	
Inguinal	2	100	0	0	
Naturaleza de las lesiones (V.P.=1)					0,026
Nuevas lesiones	111	91,0	11	9,0	
Lesiones recurrentes	36	78,3	10	21,7	
Tratamientos previos (V.P.=1)					0,051
No	111	91,0	11	9,0	
Nitrógeno	14	82,4	3	17,6	
Imiquimod	10	66,7	5	33,3	
Podofilino	12	85,7	2	14,3	

	BR-SI		BR-NO		P
	N	%	N	%	
Diagnóstico histológico (V.P.=7)					1,0
Condiloma acuminado	120	88,2	16	11,8	
Otros diagnósticos	24	88,9	3	11,1	
Infecciones asociadas					
VIH (+)	9	75,0	3	25,0	
VIH (-)	128	90,1	14	9,9	0,131
VHB (+)	13	86,7	2	13,3	
VHB (-)	123	89,1	15	10,9	0,674
VHC (+)	7	70	3	30	
VHC (-)	131	90,3	14	9,7	0,081
LUES (+)	5	83,3	1	16,7	
LUES (-)	132	89,2	16	10,8	0,510

Tabla 6. Factores asociados a genotipos del VPH de BR.

En relación con las características asociadas a los genotipos del VPH de alto riesgo, se observó que eran los pacientes con un nivel de estudios secundarios los que presentaban más frecuentemente los VPH de AR en comparación a los pacientes con estudios superiores con unas diferencias estadísticamente significativas (32,2% vs 6,1%; $p=0,010$). Al cuantificar estas diferencias mediante regresión logística se observó que los pacientes con un nivel de estudios secundarios asociaban la presencia de genotipos de VPH de AR con un riesgo 7,4 veces mayor frente a los pacientes con estudios superiores (OR=7,4; IC 95% OR:1,6-34,0; $p=0,011$).

También se observó una asociación entre los pacientes con lesiones recurrentes frente a las no recurrentes y la presencia

de genotipos del VPH de alto riesgo, pero sin alcanzar la significación estadística (28,3% vs 15,6%; $p=0,062$). El riesgo de presentar genotipos de VPH de AR era 2,1 veces mayor en las lesiones que habían sido tratadas previamente. (OR=2,1; IC 95% OR: 1,0-4,8; $p=0,065$).

El resto de las variables estudiadas no mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia de genotipos del VPH de alto riesgo.

	AR-SI		AR-NO		P
	N	%	N	%	
Edad (V.P.=0)					0,224
≤ 27 años	19	22,6	65	77,4	
> 27 años	13	15,3	72	84,7	
Nacionalidad (V.P.=0)					0,536
Española	27	19,9	109	80,1	
Extranjera	5	15,2	28	84,8	
Nivel de estudios (V.P.=2)					0,010
Sin estudios	3	17,6	14	84,2	
Primarios	8	13,8	50	86,2	
Secundarios	19	32,2	40	67,8	
Superiores	2	6,1	31	93,9	
Inicio relación sexual (V.P.=3)					0,682
Antes de los 18 años	22	20,2	87	79,8	
Entre 18-26 años	10	17,5	47	82,5	
Situación personal (V.P.=2)					0,561
Pareja fija	17	17,2	82	82,8	
Contactos esporádicos	14	23,3	46	76,7	
Pareja y contactos	1	12,5	7	87,5	
Estado civil (V.P.=2)					0,832
Soltero	23	18,9	99	81,1	
Casado	5	20,8	19	79,2	
Separado	4	22,2	14	77,8	
Viudo	0	0	3	100	
Promiscuidad (V.P.=5)					0,785
No	23	19,0	98	81,0	
Sí	9	20,9	34	79,1	
Tabaquismo (V.P.=3)					0,738
Sí	21	20,2	83	79,8	
No	11	17,5	52	82,5	

	AR-SI		AR-NO		P
	N	%	N	%	
Prácticas sexuales (V.P.=1)					0,275
Heterosexual	31	20,9	117	79,1	
Homosexual pasivo	0	0	13	100	
Homosexual activo	0	0	2	100	
Bisexual	1	20,0	4	80	
Uso de anticonceptivos (V.P.=1)					0,492
No	23	20,5	89	79,5	
Si	9	16,1	47	83,9	
Preservativo o método barrera	2	9,5	19	90,5	
Otros métodos no barrera	7	20,0	28	80,0	
Localización (V.P.=0)					0,715
Vulva	9	15,0	51	85,0	
Anal	10	20,8	38	79,2	
Pene	9	20,5	35	79,5	
Periné	4	30,8	9	69,2	
Escroto	0	0	2	100	
Inguinal	0	0	2	100	
Naturaleza de las lesiones (V.P.=1)					0,062
Nuevas lesiones	19	15,6	103	84,4	
Lesiones recurrentes	13	28,3	33	71,7	
Tratamientos previos (V.P.=1)					0,108
No	19	15,6	103	84,4	
Nitrógeno	3	17,6	14	82,4	
Imiquimod	6	40,0	9	60,0	
Podofilino	4	28,6	10	71,4	

	AR-SI		AR-NO		P
	N	%	N	%	
Diagnóstico histológico (V.P.=7)					0,270
Condiloma acuminado	22	16,2	114	83,8	
Otros diagnósticos	7	25,9	20	74,1	
Infecciones asociadas					
VIH (+)	4	33,3	8	66,7	
VIH (-)	23	16,2	119	83,8	0,226
VHB (+)	2	13,3	13	86,7	
VHB (-)	25	18,1	113	81,9	1,0
VHC (+)	4	40	6	60	
VHC (-)	24	16,6	121	83,4	0,082
LUES (+)	0	0	6	100	
LUES (-)	27	18,2	121	81,8	0,591

Tabla 7. Factores asociados a genotipos de VPH de AR.

El análisis de la relación entre las diferentes variables y el genotipo del VPH de alto riesgo y/o bajo riesgo mediante metodología CART nos permitió construir un árbol de decisión con aquellos resultados estadísticamente significativos (Fig.40).

Al evaluar los resultados mediante esta metodología se pusieron de manifiesto relaciones que no se encontraron mediante el análisis de las tablas de contingencia. Así, se observaba que el parámetro que más se asociaba con genotipos del VPH de AR era el tratamiento previo de los condilomas con podofilino y/o imiquimod frente a no haberlos tratado o haberlos tratado previamente sólo con nitrógeno líquido (34,5% vs 15,7%).

Dentro de este segundo grupo de pacientes (no tratados o tratados sólo con nitrógeno) se estableció en un segundo nodo que la edad ($\leq 23,5$ ó $> 23,5$ años) era el factor que mejor discriminaba la asociación con un genotipo del VPH de alto riesgo (26,3% vs 11,8%).

A su vez, dentro del grupo de pacientes de $> 23,5$ años, se estableció en un tercer nodo que la localización de las lesiones en pene o periné se asociaban con una mayor presencia de genotipos del VPH de alto riesgo frente a otras localizaciones (21,2% vs 7,2%).

Y finalmente, el árbol de decisión concluía en un último nodo que dicotomizaba el grupo de pacientes con condilomas localizados fuera del pene y del periné y asociándolos con los genotipos del VPH de alto riesgo en función de que fumasen o no los pacientes (11,4% vs 0%).

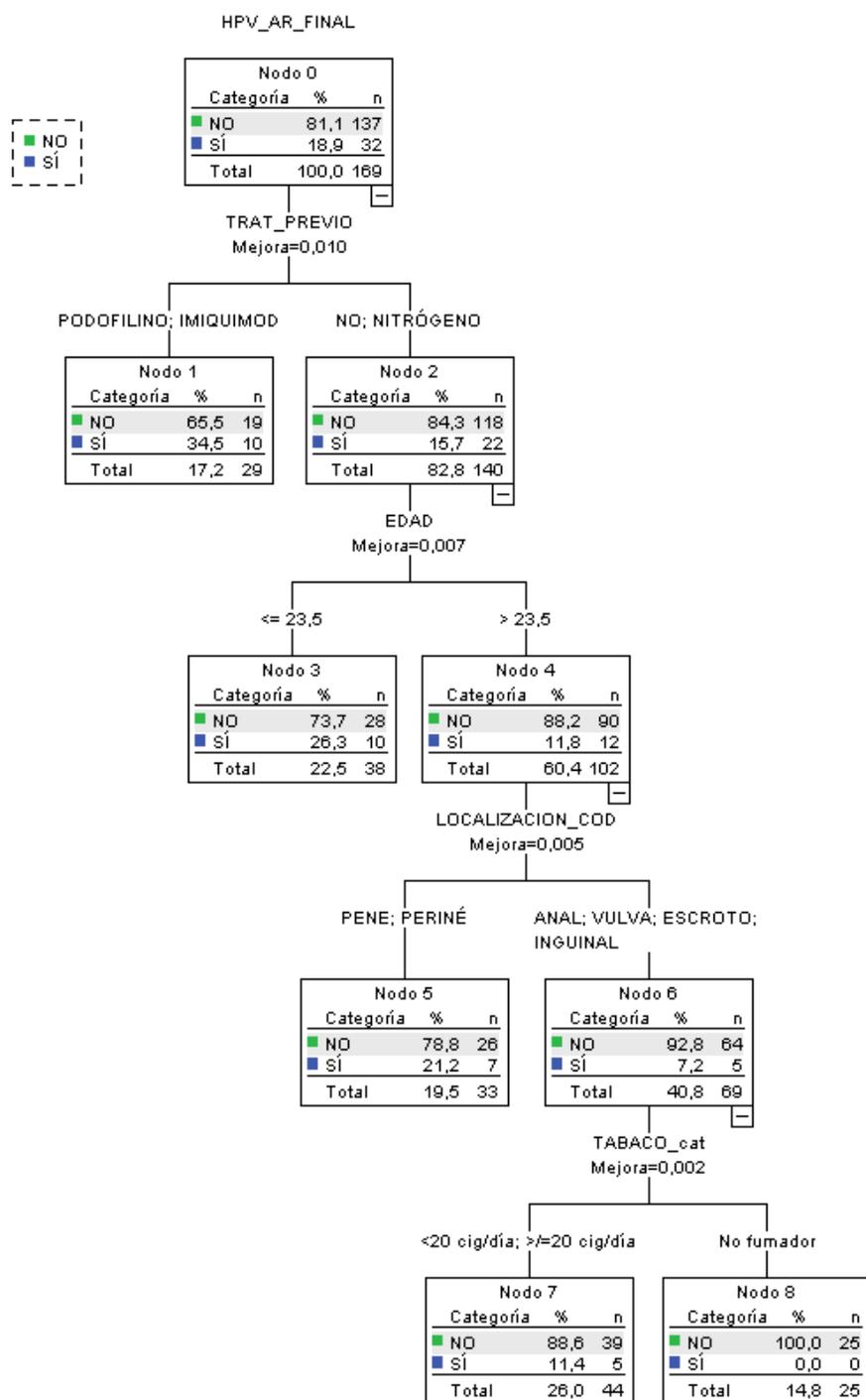


Figura 40. Árbol de decisión tras aplicar metodología CART.

1 INTRODUCCIÓN

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3 MATERIAL Y MÉTODO

4 RESULTADOS

5 **DISCUSIÓN**

6 CONCLUSIONES

7 BIBLIOGRAFÍA

En esta tesis doctoral presentamos un estudio realizado a nivel local y en un único centro hospitalario analizando las características de 170 pacientes con el diagnóstico clínico de condiloma acuminado. Debido al número de pacientes estudiados y a que se reclutan de distintas áreas sanitarias por ser nuestro centro, centro de referencia, este estudio proporciona una representación razonable de los pacientes afectos de condilomas acuminados en Valencia previamente a la instauración de la vacuna del VPH. Hasta nuestro conocimiento, se trata de una de las series españolas con mayor número de casos de condilomas acuminados que ha estudiado el genotipo del VPH.

En nuestro estudio hemos analizado la influencia de diversos factores epidemiológicos y clínicos que pueden estar relacionados con la adquisición de la infección de determinados genotipos del VPH, y su posterior manifestación clínica en forma de condilomas acuminados. Entre los factores estudiados se encuentran la edad, el sexo, la nacionalidad, el nivel de estudios, el tabaco, la edad de inicio de las prácticas sexuales, la situación personal y el estado civil, el tipo de prácticas sexuales, número de parejas sexuales, uso de métodos anticonceptivos, la localización de las lesiones y el tratamiento previo de las mismas, así como las infecciones de transmisión sexual asociadas.

Al analizar las diferentes variables se observó que los pacientes con un primer diagnóstico clínico de condiloma acuminado presentaban con más frecuencia genotipos de VPH de bajo riesgo oncogénico frente a los pacientes que presentaban lesiones recurrentes. Estas lesiones recurrentes

eran más frecuentes en las mujeres que en los hombres. Los pacientes no tratados previamente, se asociaban con genotipos del VPH de BR más frecuentemente que los tratados con imiquimod.

Al analizar las características asociadas a los genotipos del VPH de alto riesgo, se observó una importante asociación con aquellos pacientes que presentaban lesiones recurrentes. El parámetro que mejor discriminaba era el tratamiento previo de los condilomas con imiquimod y/o podofilino. En el grupo de pacientes con condilomas no tratados o tratados solamente con nitrógeno líquido, la edad era el factor que mejor discriminaba la asociación con un genotipo del VPH de alto riesgo. Siendo los pacientes $\leq 23,5$ años, los que asociaban más frecuentemente la presencia de estos genotipos. Dentro del grupo de pacientes de $> 23,5$ años, se evidenció que la localización de las lesiones en pene o periné eran las que presentaban con mayor frecuencia genotipos del VPH de AR frente a otras localizaciones. En el grupo de pacientes con condilomas localizados fuera del pene y del periné, los fumadores eran los que se asociaban a los genotipos del VPH de alto riesgo. En general, se observó, que los pacientes con un nivel de estudios secundarios eran los que presentaban más frecuentemente los VPH de AR en comparación a los pacientes con estudios superiores.

1. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

A la hora de interpretar nuestros resultados hay que considerar que nuestros hallazgos están sujetos a la influencia de una serie de limitaciones inherentes al diseño del estudio.

1.1. Tamaño muestral.

Una de las limitaciones del estudio ha sido el tamaño muestral, a pesar de tratarse de una de las series nacionales con mayor número de casos de condilomas acuminados que ha estudiado el genotipo del VPH. Un mayor tamaño muestral podría haber evitado que algunas asociaciones en las que se observó una tendencia no significativa, sí que fueran relevantes. Por tanto, los datos obtenidos en nuestro estudio deben ser considerados como una tendencia, que deberían ser confirmadas con series más largas.

1.2. Recogida de datos de los pacientes (sesgo del observador).

La recogida de datos ideal es la que es realizada por un único observador. En nuestro estudio, tanto la recogida de datos clínicos, como la realización y obtención de las muestras mediante biopsias de las lesiones de los pacientes para su posterior procesado con técnicas de histología y de biología molecular, han sido realizadas por un único observador.

1.3. Reclutamiento de los pacientes (sesgo de selección).

De acuerdo con nuestros criterios, los pacientes incluidos en el estudio dado que fueron todos los elegibles, no incurren en ningún sesgo de selección para los objetivos del estudio. Sin embargo, al tratarse de una población seleccionada de pacientes que acudieron a una consulta médica, no se puede asumir que los resultados sean extrapolables a toda la población de pacientes que padecen condilomas acuminados.

1.4. Sesgo de información.

Los resultados de algunas de las variables estudiadas dependen de la información facilitada por el propio paciente en la recogida de datos. Estos hallazgos pueden estar condicionados por una parte, por la falta de memoria del enfermo al no recordar ciertos datos (sesgo de memoria), pero por otro lado pueden influir otros factores intrínsecos al paciente como la voluntad de no querer aportar determinados datos concernientes a la esfera sexual, una de las más íntimas del sujeto.

2. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

2.1. Edad.

Según diversos estudios, la edad de mayor prevalencia de los condilomas acuminados es en las edades más jóvenes de la vida a partir de avanzada la adolescencia y disminuye en las edades más adultas, reflejando el carácter de ETS de la infección por el VPH.

Gross (2014)²⁹ describió un pico de incidencia de condilomas entre los 16 y los 24 años de edad, afirmando que la aparición de esta enfermedad en las edades tempranas de la vida se justifica por ser los años siguientes al inicio de las relaciones sexuales.

En nuestro estudio, la mediana de edad observada es de 27,5 años, algo mayor que la expresada en un reciente estudio del Reino Unido, donde el primer episodio de verrugas

anogenitales lo observaron más frecuentemente en personas algo más jóvenes.³² Este hecho puede ser explicado porque en nuestro estudio se han incluido tanto a pacientes que presentaban su primer episodio de condilomas, como a pacientes con lesiones recurrentes. Nuestros resultados están en consonancia con los publicados previamente por Lukaszewicz *et al* (2002)⁹³ donde recogen datos de incidencia de nuevas lesiones y lesiones recurrentes en toda Francia.

Un tema controvertido y poco estudiado es la relación existente entre la edad del paciente con condiloma acuminado y el genotipo responsable de dicha lesión. Aubin *et al* (2008)² en su serie de 423 pacientes no encontraron ninguna asociación entre los genotipos del VPH implicados y la edad de los pacientes. Sin embargo en nuestro estudio, la edad era el factor que mejor discriminaba la asociación con un genotipo del VPH de alto riesgo en el grupo de pacientes con condilomas no tratados o tratados solamente con nitrógeno líquido. Siendo los pacientes $\leq 23,5$ años, los que asociaban más frecuentemente la presencia de estos genotipos de AR. Otros trabajos¹⁸⁻²⁰, postulaban que la infección por el VPH, es normalmente un fenómeno pasajero en los pacientes jóvenes. Pero que probablemente, hay un incremento de su persistencia en los sujetos de mayor edad, siendo los pacientes infectados por el VPH de alto riesgo, los que tienen una mayor tendencia a tener una infección persistente²⁰.

2.2. Sexo.

En nuestro estudio las lesiones de condilomas acuminados son padecidas por ambos sexos, siendo algo mayor el

porcentaje de mujeres (54,7% vs 45,3%), este hecho puede estar en parte explicado por un mayor control y seguimiento médico en las mujeres tras el inicio de su actividad sexual por parte de otros especialistas como los ginecólogos, y la utilización rutinaria de técnicas citológicas y de cribado frente al cáncer de cérvix lo que puede generar que el sexo femenino esté más sensibilizado y consulte a su médico más frecuentemente ante la presencia de cualquier lesión genital a pesar de su escasa sintomatología y así explicar que los casos de condilomas acuminados sean detectados más tempranamente que en los hombres.

Giraldi *et al* (2010)⁴⁴, en consonancia con nuestros resultados, afirmaban una menor preocupación y desconocimiento por parte de los varones en relación a la infección por el VPH y el posible riesgo de provocar cáncer de pene, ano u orofaringe.

2.3. Nacionalidad.

Aunque en nuestro estudio la mayoría de pacientes con condilomas son de nacionalidad española, cerca del 20% de los sujetos son extranjeros. En prácticamente la totalidad de artículos revisados^{2,29,32} no hacen distinción a la nacionalidad de los pacientes, sino al país donde se realiza el estudio. Tal vez el elevado porcentaje de pacientes extranjeros que encontramos en nuestro estudio pueda deberse a los años de bonanza económica que atravesó España y al flujo migratorio que conllevaba, mayoritariamente de gente joven laboralmente activa. La elevada repercusión que tiene esta patología en la calidad de vida de los enfermos, tal y como publicaron Vilata

et al (2008)³², también podría explicar en parte que la población extranjera con menos recursos económicos consultara mayoritariamente de urgencias y fuera derivada a nuestro hospital por ser el único centro con dermatólogo de guardia todos los días del año y ser centro de referencia, además de atender derivación de pacientes procedentes de la sección de enfermedades tropicales del Servicio de Medicina Interna.

2.4. Nivel de estudios.

La asociación de la infección por el HPV con un bajo nivel de estudios ha sido referida en numerosas publicaciones, donde se hace alusión a que la condición socio-económica, cultural y educativa escasa, implica mayor exposición al VPH¹¹⁰. Diversos estudios explicarían que los pacientes con un nivel socio-económico bajo presentarían mayores limitaciones para acceder a programas adecuados de detección de cáncer, una nutrición deficiente, escasa concienciación acerca de los temas de salud y de una conducta preventiva. A pesar de lo descrito previamente, hay otros estudios¹¹¹, como el de Franceschi *et al* (2009)¹¹², donde se ha restado importancia al nivel educacional, afirmando que cuando se tienen en cuenta otros factores como la conducta sexual, el nivel socio-económico, pierde importancia.

En nuestro estudio el 70,2% de los pacientes con condilomas acuminados referían poseer estudios primarios o secundarios. Vilata *et al* (2008)³², en una de las mayores series españolas donde se recogieron datos epidemiológicos de pacientes con condilomas de todo el territorio nacional, publicaron unos resultados plenamente coincidentes.

En nuestra serie, un 90% de las lesiones que aparecían en sujetos con estudios superiores eran de bajo riesgo, mientras que los genotipos del VPH de alto riesgo aparecían más frecuentemente en el grupo de pacientes con estudios secundarios (32,2%). En nuestra serie, se estableció una relación estadísticamente significativa entre la detección de genotipos del VPH de alto riesgo y un nivel de estudios secundarios de los pacientes ($p=0,010$).

2.5. Tabaco.

En múltiples estudios de casos y controles se ha observado claramente la asociación entre el hábito de fumar y la progresión de la infección genital, inducida por el VPH¹¹³. Igualmente, sugirieron una relación entre el riesgo de cáncer cervical y la duración e intensidad del hábito¹¹⁴.

Varios autores han invocado el tabaquismo como un importante factor de riesgo para el desarrollo de neoplasia genital¹¹⁵⁻⁶. Productos del cigarrillo, como la nicotina y otros mutágenos, pueden ser hallados en muestras tisulares del área genital en altas cantidades¹¹⁷ y pueden dañar el ADN del tejido e inhibir la presencia de antígenos por parte de las células de Langerhans, evitando posiblemente, el reconocimiento del VPH por el sistema inmune local¹¹⁸⁻⁹.

En nuestro estudio, el 62,3% de los pacientes eran fumadores. Pulido *et al* (2011)³¹ publicaron unas cifras de tabaquismo muy inferiores a las nuestras en su serie sin

observar diferencias estadísticamente significativas entre el tabaquismo y la presencia de genotipos de alto y bajo riesgo.

Sin embargo, en nuestra serie dentro del grupo de pacientes con condilomas acuminados localizados fuera del pene y del periné (vulva, ano, escroto e ingle) los fumadores eran los que se asociaban a los genotipos del VPH de alto riesgo.

2.6. Edad de inicio de las relaciones sexuales y número de parejas sexuales.

Las infecciones por el VPH son extremadamente frecuentes en los años que siguen al inicio de las relaciones sexuales y en relación directa al número de compañeros sexuales. Diversos estudios epidemiológicos realizados en los últimos tres decenios, postulaban que el riesgo de cáncer en el área genital, así como ciertas lesiones que lo pueden preceder como los condilomas acuminados, están fuertemente influenciados por factores relacionados con la conducta sexual. Su aparición es excepcional en mujeres vírgenes y máxima en prostitutas¹²⁰.

En nuestro estudio, el porcentaje de pacientes que presentaban un genotipo del VPH de AR era mayor entre los pacientes que manifestaban un inicio más precoz en sus relaciones sexuales. Así, como en aquellos pacientes que no tenían una pareja sexual fija y referían tener contactos esporádicos, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas posiblemente debido al tamaño muestral.

Winer *et al* (2003)¹²¹, en su estudio de cohortes publicaron que el inicio precoz de las relaciones sexuales y la presencia de múltiples compañeros sexuales se relacionaban con la presencia de genotipos del VPH de AR, y por tanto serían factores de riesgo del cáncer genital¹²². La causa de esta relación podría deberse a la inmadurez del epitelio genital que incrementa su susceptibilidad y vulnerabilidad a los agentes oncogénicos, así como a la mayor facilidad de adquisición de otras ITS como los condilomas acuminados.

Existen diversos estudios¹²³, como el de Frías *et al* (2000)¹²⁴, que destacaban la presencia de múltiples parejas sexuales como un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer genital. Richardson *et al* (2000)¹²⁵, observaron la importancia que tiene la conducta sexual con la infección por tipajes del VPH de AR, mientras que los VPH de BR permanecían invariables respecto a los marcadores de actividad sexual. Sin embargo, algunos estudios han demostrado lo contrario, es decir, no encontraron asociación con múltiples parejas¹²⁶.

En nuestro estudio, no hemos observado diferencias estadísticamente significativas al relacionar las lesiones con genotipos del VPH de AR y un elevado número de parejas sexuales del paciente. Imai *et al* (2015)¹²⁷, destacaban en su trabajo como factores asociados a la infección del VPH de AR, además del número de parejas sexuales recientes, el número de parejas totales. La información epidemiológica obtenida en nuestro estudio pueda estar parcialmente sesgada al no valorarse el total de parejas sexuales a lo largo de la vida y valorar solamente el comportamiento sexual reciente, que según

Anic *et al* (2012)³³, era un factor de riesgo para la adquisición de infecciones por el VPH y la aparición de condilomas pero habitualmente con genotipos de BR.

2.7. Situación personal y estado civil.

Los datos epidemiológicos relativos al estado civil de los pacientes y a su situación personal (pareja fija, contactos esporádicos,...) por diversos motivos culturales y tradicionales, pueden ser muy variables entre las distintas áreas geográficas mundiales. En nuestro estudio casi el 75% de los pacientes estaban solteros, seguido de un 14% de casados. Ingles *et al* (2015)⁵¹, publicaron un estudio similar al nuestro en Brasil donde el 50% de los pacientes estaban casados.

En nuestro trabajo, un 60% de los sujetos afirmaron que sólo mantenían relaciones sexuales con una pareja fija, pero tal y como argumentó Imai *et al* (2015)¹²⁷, respecto a los datos obtenidos sobre cuestionarios de la vida sexual pueden existir importantes variaciones, sesgos y falsas respuestas. En nuestro estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la situación personal, el estado civil y la presencia de genotipos de AR y/o BR. Estos hallazgos concuerdan con lo publicado en la literatura.

2.8. Prácticas sexuales.

Las diferentes prácticas o comportamientos sexuales de los pacientes de nuestro estudio son muy similares a las publicadas previamente por Vilata *et al* (2008)³², entre el 10-15% de los sujetos estudiados con condilomas referían tener

prácticas homosexuales y/o bisexuales. En nuestro estudio no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre la condición sexual y la presencia de genotipos de AR y/o BR. Estos hallazgos concuerdan con lo publicado en la literatura donde no hemos encontrado distinción entre la condición sexual de los pacientes y los genotipos de los VPH obtenidos.

Existen múltiples publicaciones sobre otras ITS, como la sífilis, donde a las prácticas homosexuales en hombres se les considera un importante factor de riesgo independiente para su adquisición. En nuestra opinión, posiblemente sea debido a que en términos generales estos pacientes presentan un mayor número de parejas sexuales a lo largo de su vida, y según Golstone *et al* (2011)¹²⁸, éste último es el factor de riesgo modificable más importante para la infección anogenital del VPH.

2.9. Uso de métodos anticonceptivos.

El papel del preservativo o condón como profiláctico de la transmisión del HPV es controvertido¹²⁹. Winer *et al* (2006)¹³⁰, evaluaron la eficacia del uso del preservativo en relación a la adquisición de la infección genital por el VPH, que fue de 37,8 por 100 mujeres / año si se había utilizado correctamente el preservativo durante los 8 meses anteriores al estudio, en comparación con la cifra de 89,3 por 100 mujeres / año si la pareja lo había utilizado de forma ocasional. Algunos estudios consideraban que el uso correcto del preservativo durante el contacto sexual es una barrera que disminuye el contagio, aunque no elimina el riesgo de contagio. Otros estudios por el contrario, hacen referencia a un aumento de la infección por el

VPH entre las personas que usan preservativo¹³¹, pero quizás esto sea el resultado de una mayor probabilidad de infección de la pareja con la cual se utiliza este método barrera. Se suele utilizar preservativo con parejas sexuales que consideras de mayor riesgo (prostitutas, parejas esporádicas) mientras que con las parejas que considerarías como sanas o con bajo riesgo de adquirir una infección sexual no se usaría este método barrera¹³².

Manhart *et al* (2002)¹³³, realizaron un metanálisis de 20 estudios publicados donde concluyeron que el condón no protege frente a la adquisición del VPH, pero podría ofrecer cierta protección frente a las verrugas genitales. Estos resultados estarían en consonancia con el trabajo de Wen *et al* (1999)¹³⁴, quienes ratificaban el efecto protector del condón al reducir el riesgo de adquirir verrugas genitales frente a estudios previos.

Respecto a la utilización de otros métodos barrera y la infección por el VPH, Rousseau *et al* (2000)¹³⁵, en su trabajo mostraron que el uso de anticonceptivos hormonales orales estaba estrechamente y exclusivamente asociado al VPH de alto riesgo, especialmente al tipo 16.

En nuestro estudio, el uso de métodos anticonceptivos no mostró una dependencia significativa respecto a la existencia de genotipos del VPH de AR y/o BR en las lesiones analizadas. Sin embargo, nuestros resultados desde el punto de vista epidemiológico, sí que mostraban de forma sorprendente una elevada población expuesta al riesgo de contagio no sólo de los condilomas acuminados sino también de otras ITS.

Anic *et al* (2012)³³, en su trabajo mostraron un aumento de la incidencia del condiloma acuminado en la última década, y destacaban la importancia de modificar hábitos sexuales entre los que promovían una mayor utilización del condón. Afirmando, en consonancia con los resultados de nuestro trabajo, que existía una gran población potencialmente expuesta al contagio.

2.10. Localización de las lesiones.

Las localizaciones más frecuentes de los condilomas acuminados son aquellas zonas de mayor fricción durante el acto sexual (vulva, ano, pene, periné,...).

Pulido *et al* (2011)³¹ y otros muchos autores no han observado asociación entre la localización de la lesión y el genotipo del VPH. Sin embargo en nuestra serie, dentro del grupo de pacientes de > 23,5 años, se observó que la localización de las lesiones en el pene o en el periné eran las que asociaban con mayor frecuencia genotipos del VPH de AR frente a otras localizaciones. En nuestra serie también encontramos que en el grupo de pacientes con lesiones localizadas fuera del pene y del periné (vulva, ano, escroto e ingle) los fumadores eran los que asociaban los genotipos del VPH de alto riesgo. Todos nuestros resultados mostraban diferencias estadísticamente significativas.

2.11. Lesiones recurrentes y tratamientos previos.

En nuestro estudio la mayoría de los pacientes (72,2%) no referían un diagnóstico previo de condilomas acuminados,

aunque existía un porcentaje elevado (27,8%) de pacientes que presentaban lesiones recurrentes. Al estudiar la relación entre la naturaleza de la lesión (nuevos diagnósticos o lesiones recurrentes) y el genotipo de AR y/o BR del VPH se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

En el caso de tratarse de nuevas lesiones, éstas se asociaban con un genotipo de BR del VPH con una diferenciación estadísticamente significativa ($p=0,026$). En el caso de las lesiones recurrentes, éstas lesiones se asociaban con un genotipo de AR del VPH, y aunque la diferencia no alcanzaba la significación estadística ($p=0,062$) si se puede observar una importante tendencia. Posiblemente, en nuestra opinión, la significación estadística se alcanzaría al aumentar el tamaño muestral.

Woodman *et al* (2001)⁵⁵, observaron en su trabajo una mayor persistencia de los VPH de AR, en particular del VPH 16, frente a otros genotipos de BR y esto podría explicar en parte una mayor posibilidad de recurrencia de las lesiones de AR, como la observada en las lesiones de nuestro estudio.

Estos resultados coincidirían con otros trabajos publicados en la literatura, como el de Pulido *et al* (2011)³¹, donde aconsejaban biopsiar los condilomas acuminados persistentes o resistentes al tratamiento, por presentar un mayor riesgo de desarrollar lesiones malignas. Algunos autores advierten de la idoneidad de estudiar mediante técnicas moleculares, incluso en la práctica clínica diaria, aquellas lesiones recurrentes que presenten una mala respuesta terapéutica por su elevada asociación con genotipos del VPH de AR.

Al estudiar en nuestro trabajo la relación entre los genotipos del VPH de AR y los tratamientos previos se observó que existía una asociación estadísticamente significativa con el uso previo del imiquimod y el podofilino, frente a los pacientes no tratados o tratados previamente sólo con nitrógeno líquido.

Dede *et al* (2007)¹⁰¹, estudiaron la respuesta clínica al tratamiento de los condilomas, y observaron una buena respuesta terapéutica frente al imiquimod en genotipos del VPH de BR. Afirmando que los genotipos del VPH predecían la evolución clínica de la terapia con imiquimod en pacientes con condilomas acuminados vulvares.

Goon *et al* (2008)³⁰, en su trabajo describían una menor tasa de recurrencia del imiquimod frente a otros tratamientos que no serían capaces de activar la respuesta inmune en el sujeto y por tanto de aclarar la infección.

Ferenczy *et al* (1985)⁵², describieron en el 45% de los sujetos con condilomas la presencia del VPH en la piel sana perilesional y lo relacionaron con una mayor tasa de recurrencia tras el tratamiento, sobre todo en aquellas lesiones más extensas.

Estos trabajos justificarían en parte los hallazgos obtenidos en nuestra serie. Desde nuestro punto de vista, las lesiones que el clínico habría sospechado como más extensas, más agresivas, con posibilidad de mayor carga viral y con un mayor riesgo de recurrencia habrían sido tratadas con imiquimod.

Gross (2014)²⁹, publican recientemente la posibilidad de disminuir la enfermedad recurrente con los nuevos fármacos inmunomoduladores. Algunas de las características mencionadas, como la persistencia, se asociarían a genotipos del VPH de AR. Serán necesarios más estudios como el de Dede *et al* (2007)¹⁰¹, para evaluar la respuesta terapéutica de estos tratamientos en las lesiones que presenten genotipos del VPH de AR.

2.12. Infecciones de transmisión sexual asociadas.

Las infecciones de transmisión sexual pueden aumentar la susceptibilidad para la infección por el VPH genital¹³⁶. A su vez, estudios previos reflejan la supresión inmunológica en el epitelio genital que parece ser inducida por el VPH¹³⁷. La coexistencia de otras infecciones de transmisión sexual puede ser facilitada por la erosión epitelial, causada por la infección por el VPH¹³⁸. Es evidente que los pacientes con múltiples compañeros sexuales tienen un aumento de riesgo a la exposición de otras infecciones asociadas. El papel que juegan otras infecciones de transmisión sexual en la etiología del cáncer de la región genital, no está todavía claro¹³⁹.

En nuestro estudio un total de 17 pacientes (10%) había sido diagnosticado de otra ITS diferente a la transmitida por el VPH. Nuestros resultados son coincidentes con otros trabajos publicados, como el de Palacio *et al* (2000)¹⁴⁰, donde encuentran el mismo porcentaje de ITS asociada en pacientes con condilomas acuminados. Vilata *et al* (2008)³², mostraron sin embargo en su trabajo un mayor porcentaje que el nuestro,

cercano al 20% de ITS diagnosticadas en pacientes afectados con condilomas.

Imai *et al* (2015)¹²⁷, publicaron recientemente respecto a este tema, que las diferencias observadas en múltiples estudios se justificarían por la imposibilidad de eliminar parcialmente el sesgo de memoria y las falsas respuestas de los pacientes a los cuestionarios sobre la vida sexual.

Una de las infecciones de transmisión sexual que puede aparecer en los pacientes con condilomas y que ha sido ampliamente estudiada en la literatura es la infección por el VIH. En nuestro trabajo el 7,7% de los pacientes presentaba esta infección asociada. En los pacientes de nuestro estudio la presencia de genotipos del VPH de AR era mayor en aquellos sujetos VIH en comparación con el resto de pacientes (33,3% vs 16,2%), y aunque se pueda observar en estos resultados una tendencia, no se observaron diferencias estadísticamente significativas posiblemente porque solamente representaban un total de 12 casos. Blanco-González *et al* (2011)⁴⁹, analizaron en su trabajo un mayor número de pacientes VIH con condilomas, y encontraron asociación estadística entre la presencia de genotipos del VPH de AR y un bajo recuento linfocitario de CD4.

Firnhaber *et al* (2011)⁸⁸, estudiaron en pacientes VIH la prevalencia de genotipos del VPH en condilomas acuminados del pene. Y postulaban en base a sus resultados la conveniencia de vacunar frente al VPH a los sujetos VIH sexualmente activos por la elevada prevalencia observada de genotipos susceptibles a la vacuna. Múltiples estudios previos

coincidirían en la asociación que presentan los pacientes VIH con los subtipos del VPH de AR, que son los que tradicionalmente se han vinculado con la aparición y progresión de las lesiones genitales hacia cáncer invasivo.

2.13. Diagnóstico histológico.

En nuestro estudio, el 82,9% de las lesiones analizadas fueron diagnosticadas histológicamente como condilomas. Hernández-Suarez *et al* (2013)⁴³, mostraron unos hallazgos superponibles a los nuestros con el 81% de las lesiones con histología de condiloma. En la literatura este porcentaje es variable y puede alcanzar niveles más bajos. Kluzak *et al* (1987)⁵⁶, publicaron en su serie que hasta un tercio de las lesiones mostraron unas imágenes muy discretas y por lo tanto poco sensibles para el diagnóstico de condiloma.

Baydar *et al* (2013)⁴⁶, publicaron que el estudio histológico es en la actualidad la mejor herramienta para evaluar el grado de atipia celular y establecer el diagnóstico definitivo en aquellas lesiones con infección por el VPH que evolucionan a cáncer genital. Estos autores observaron que un 50% de las lesiones con displasia histológica presentaban genotipos del VPH de AR. Sin embargo, Ingles *et al* (2015)⁵¹, publicaron recientemente la limitación potencial del estudio histológico en un elevado número de casos debido al pequeño tamaño de la muestra analizada, motivo por el que coincidiendo con múltiples estudios previos afirmaban que la correlación con el diagnóstico clínico no es buena.

2.1.4 Detección molecular del VPH y prevalencia específica del genotipo.

Potocnik *et al* (2007)⁵³, publicaron en su trabajo el conocimiento limitado que existía en la actualidad sobre la prevalencia específica de los genotipos del VPH en los pacientes con condilomas acuminados. Sin embargo, afirmaban rotundamente la posibilidad de poder aislar el VPH en todas las lesiones de condiloma acuminado.

Los pacientes de nuestro estudio con diagnóstico clínico de condiloma acuminado presentaban una prevalencia media del 99,4% para la infección por el VPH. En otros estudios que han usado la misma metodología y método de análisis del genotipo del VPH los resultados son superponibles. Blanco-González *et al* (2011)⁴⁹, demuestran la presencia del VPH en el 100% de los sujetos con condilomas. Este hecho sugiere que dicha patología nunca ocurre en ausencia de infección por el VPH.

En ocasiones se pueden determinar varios genotipos en una misma lesión, aunque el porcentaje de coinfecciones es variable. Muñoz *et al* (2003)⁴⁰, mostraron en sus resultados un 8,1% de lesiones con presencia de varios genotipos del VPH. Mientras que Hernández-Suarez *et al* (2013)⁴³ alcanzaron un 26%. En nuestra serie, en el 14,2% de los casos se detectó la presencia de coinfección por varios genotipos del VPH.

El análisis de la prevalencia de los genotipos específicos del VPH proporciona datos sólidos respecto a la distribución de los diferentes genotipos implicados en los condilomas acuminados.

Los genotipos del VPH más frecuentemente encontrados en nuestra serie, por orden de frecuencia decreciente fueron: el VPH-6 con 93 casos (55%); el VPH-11 con 49 casos (29%); el VPH-16 con 20 casos (11,8%), el VPH-18 con 7 casos (4,1%) y el VPH-81 con 5 casos (3%). Estos resultados son muy similares a los publicados por Hernández-Suarez *et al* (2013)⁴³ y Chang⁴⁵ *et al* (2013), estos autores también argumentaban la existencia limitada de trabajos que describan la prevalencia específica del genotipo del VPH en pacientes con condilomas. En sus trabajos destacaban un notable aumento de la prevalencia del VPH-11, encontrando este último genotipo en casi el 40% de las lesiones estudiadas, aunque en nuestra serie se determinó en un porcentaje algo inferior (29%).

En nuestra serie, la presencia de ≥ 1 genotipos de bajo riesgo del VPH fue encontrada en el 87,6% de los condilomas (148 casos). Encontrándose en el 78,7% del total de las lesiones (133 casos) sólo la presencia de genotipos de bajo riesgo. Prácticamente, se podría afirmar que 4 de cada 5 condilomas sólo presentarían genotipos del VPH de bajo riesgo. Ingles *et al* (2015)⁵¹, en su trabajo exponían que tradicionalmente se había considerado una prevalencia de genotipos del VPH de BR en el 90% de casos. Sin embargo, estos autores argumentaban que existirían importantes diferencias entre los genotipos del VPH circulantes atribuibles a factores culturales, al sexo, al país de estudio, etc.

En el 82,8% de los condilomas de nuestra serie se pudo detectar la presencia del ADN del VPH-6 y/o VPH-11, en ocasiones, asociados a otros genotipos diferentes. En el 71,6%

de las lesiones de nuestra serie sólo se encontró el ADN de estos 2 genotipos. Estos resultados coinciden con lo publicado previamente por múltiples autores como Ingles *et al* (2015)⁵¹ quienes destacaban el papel relevante de estos dos genotipos en las lesiones de condiloma acuminado. Potocnik *et al* (2007)⁵³ en su trabajo sobre varones en Eslovenia detectaron estos genotipos en el 96% de pacientes. Se ha sugerido que las lesiones de bajo grado debidas a los VPH-6 y VPH-11 presentan muy bajo riesgo de progresión hacia la malignidad, esto es debido a que el virus no integraría su ADN en el cromosoma de las células infectadas.

La presencia de ≥ 1 genotipos de alto riesgo se determinó en el 18,9% de los condilomas (32 casos). Estos resultados indican que casi el 20% de todos los pacientes con condilomas ocultan ADN del VPH de alto riesgo oncogénico. Prácticamente, se podría afirmar que en 1 de cada 5 lesiones de nuestra serie existían genotipos de alto riesgo oncogénico.

Estos datos de prevalencia de genotipos del VPH de alto riesgo son superiores a los publicados tradicionalmente en la literatura, que como se ha comentado oscilan en torno al 5-10% de las lesiones⁵¹. Sin embargo, nuestros resultados están en consonancia con otros estudios más recientes como el de Aubin *et al* (2008)², en el que afirman que el porcentaje de lesiones con genotipos del VPH de alto riesgo es muy superior a lo que está aceptado tradicionalmente. Incluso en su estudio demuestran cifras superiores a nuestros resultados, aumentando la prevalencia de genotipos de alto riesgo al 33% de todos los pacientes con condilomas acuminados.

Goon *et al* (2008)³⁰ publican que a diferencia de lo que ocurriría con los genotipos del VPH de BR, los tipos de AR causarían generalmente infecciones subclínicas o infecciones latentes. Estos pacientes presentan lesiones donde el ADN del VPH de alto riesgo permanece en un estado o forma episómica. Esto permite una regulación cuidadosa de ciertos genes virales (en particular, los oncogenes E6 y E7 que están reprimidos) induciendo la producción de viriones en las capas del epitelio más diferenciadas. La mayoría de estas infecciones serán controladas por una respuesta inmune efectiva, lográndose la eliminación del virus. En algunos casos, sin embargo, el ADN del VPH se integrará en los cromosomas de las células infectadas, obteniéndose “células inmortales” que escapan del proceso de muerte celular programada. Las posteriores transformaciones celulares originadas tras la activación y expresión de los oncogenes E6 y E7 pueden conducir hacia la malignidad de las lesiones. Sin embargo, otros autores como Ingles *et al* (2015)⁵¹, al estudiar lesiones genitales precancerosas de alto grado, encontraron mayoritariamente genotipos del VPH de alto riesgo, pero en algunas lesiones sólo detectaron genotipos del VPH de BR.

En nuestra serie, en el 9,5% de las lesiones (16 casos) sólo se encontró ADN del VPH-16 y/o VPH-18. La prevalencia total de la infección por el VPH-16 y/o VPH-18 fue del 15,4%. Jaberipour *et al* (2011)⁴⁷, presentaron una prevalencia del 16,5% en su trabajo realizado en Irán, aunque en su serie era el VPH-18 el genotipo más prevalente. Estos datos son similares a los publicados por el grupo francés de Aubin *et al* (2008)², donde ambos genotipos se determinaron en el 12% de los condilomas. Sin embargo, en su trabajo, tal y como hemos

comentado previamente, el porcentaje de genotipos del VPH de AR era muy superior al de nuestra serie, fundamentalmente debido a la presencia de otros genotipos del VPH de AR que clásicamente no se habían tenido en cuenta en este tipo de lesiones.

En nuestro estudio, el porcentaje de pacientes con condilomas acuminados que presentaban ADN del VPH de alto riesgo fue superior en mujeres que en hombres (21,7% vs 15,6%), mientras que el porcentaje de pacientes que presentaban genotipos de bajo riesgo del VPH fue superior en hombres que en mujeres (92,2% vs 83,7%) aunque nuestros resultados no fueron estadísticamente significativos. Existen varios trabajos publicados, multicéntricos con un mayor número de pacientes, como el del grupo francés de Aubin², que también encuentran estas diferencias entre sexo y genotipos del VPH de alto y bajo riesgo con resultados estadísticamente significativos.

Los genotipos del VPH de alto y bajo riesgo comparten una vía de transmisión común. Cremin *et al* (2012)⁴⁸ demostraron la presencia de genotipos del VPH de AR en muestras de cérvix de casi el 80% de las mujeres que habían padecido condilomas acuminados. De esta forma, la presencia de condilomas acuminados indicaría una exposición al VPH, y también un riesgo de estar expuesto a genotipos del VPH de alto riesgo.

Gross (2014)²⁹ afirmaba que diversos tipos de cáncer como el de cérvix, pene, ano y vulva comparten causas comunes y estaba demostrado que se relacionaban con las verrugas

genitales. Lebelo *et al* (2014)⁵⁰, estudiaron la prevalencia de los genotipos del VPH en múltiples lesiones preneoplásicas y neoplásicas del pene detectando en un elevado porcentaje de casos genotipos de bajo y alto riesgo. La detección de los genotipos de BR en ocasiones estaba asociada a otros genotipos de AR, fundamentalmente el VPH-16, pero en numerosas lesiones estos autores sólo encontraron genotipos de BR, fundamentalmente el VPH-11, otorgando una mayor relevancia a este genotipo tal y como se ha comentado previamente en otros trabajos. En otro estudio similar sobre neoplasias de pene, Senba *et al* (2006)⁸⁹ detectaron el VPH-6 en casi la mitad de las lesiones, pero en 1 de cada 4 tumores de pene sólo encontraron este genotipo. Daling *et al* (1987)⁵⁷ publicaron que los hombres que tenían sexo con otros hombres y presentaban condilomas anales tenían 50 veces más de riesgo que la población general de desarrollar cáncer anal.

La tasa de incidencia del cáncer genital es más baja en edades jóvenes y creciente a partir de los 30-35 años de edad¹⁴¹. Este patrón de prevalencia del VPH e incidencia de cáncer genital sugiere que, a nivel poblacional, el periodo de inducción entre la exposición al VPH y el cáncer genital es de aproximadamente unos 10 ó 15 años¹⁴², y que son los pacientes portadores crónicos de una infección por el VPH adquirida probablemente en la juventud, los que constituyen el grupo de alto riesgo para desarrollar cáncer¹⁴³.

Los condilomas acuminados se han considerado frecuentemente en la literatura médica como lesiones completamente benignas con un bajo riesgo de progresión a cáncer invasivo, sin embargo, representan un claro marcador

de riesgo de desarrollar una lesión maligna en relación a un genotipo del VPH de alto riesgo². La elevada incidencia de los condilomas acuminados en España³² y el elevado coste que supone su tratamiento, Anic *et al* (2011)¹⁴⁴ estimaron que se gastarían unos 200 millones de dólares anuales en Estados Unidos, justificarían que la prevención de estas lesiones sea esencial.

Las vacunas han adquirido una especial relevancia para este papel mostrando una eficacia del 99% para la prevención de los condilomas acuminados. Gross (2014)²⁹, publicaba recientemente que la prevención primaria de las manifestaciones clínicas genitoanales asociadas con diversos genotipos del VPH (6, 11, 16 y 18) era una realidad gracias a la aparición de la vacuna profiláctica tetravalente. Esta vacuna induce altas concentraciones de anticuerpos neutralizantes en el suero frente a la estructura L1 del VPH. En Australia y Escocia, ya se ha observado una elevada eficacia en la prevención de los condilomas acuminados causados por los tipos del VPH de la vacuna.

Moreira *et al* en el mismo año 2014⁵⁴, en consonancia con lo que afirmaba Gross, publicaron un estudio sobre prevalencia de genotipos del VPH en varones jóvenes heterosexuales y encontraron unas elevadas tasas de detección del VPH muy similares a lo encontrado y publicado previamente en mujeres. Y afirmaban en este sentido, que las vacunas podrían reducir la carga general de la enfermedad asociada al VPH en una determinada comunidad.

En nuestra serie, en el 87% de todos los casos de condilomas acuminados estaban implicados solamente los genotipos del VPH (6,11, 16 y 18). Finalmente, por lo menos 1 de estos 4 genotipos (solos o en combinación con otros genotipos) aparecían en el 92,3% de los casos. Si en los próximos años se lograra una vacunación masiva frente al VPH en nuestro medio sanitario, alrededor del 90% de los condilomas analizados podrían evitarse con la administración de la vacuna tetravalente. Estos resultados serían muy similares a los publicados previamente en la literatura, entre ellos destacar el trabajo del grupo americano de Ingles *et al* (2015)⁵¹.

No podemos dar por cerrada la historia de los condilomas acuminados. Esta entidad nosológica se nos presenta con un porvenir inmediato sorprendente. De un lado la posible aparición y progresión de nuevos genotipos, algunos de ellos con potencial oncogénico, abriendo un camino para el conocimiento de la oncología vírica en parte gracias a las nuevas tecnologías. Por otro lado, el enorme auge epidemiológico que ha hecho que actualmente sea la ETS más frecuente a nivel mundial¹.

1 INTRODUCCIÓN

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3 MATERIAL Y MÉTODO

4 RESULTADOS

5 DISCUSIÓN

6 **CONCLUSIONES**

7 BIBLIOGRAFÍA

1. El perfil epidemiológico del paciente con condiloma acuminado en nuestro medio sanitario es un adulto joven (16-40 años), con un ligero predominio de mujeres. Más frecuente en sujetos heterosexuales, que inician sus relaciones sexuales antes de los 18 años, solteros, fumadores, no promiscuos y no utilizan métodos de barrera para evitar la infección por VPH.
2. Los 5 genotipos del VPH más prevalentes en nuestro medio han sido por orden de frecuencia decreciente los genotipos VPH 6, 11, 16, 18 y 81. En la mayoría de las lesiones han estado implicados los genotipos de bajo riesgo, pero cerca del 20% de condilomas acuminados se han identificado genotipos de alto riesgo oncogénico.
3. El presentar un primer episodio clínico de condiloma acuminado es un factor de riesgo asociado a la infección por el VPH de bajo riesgo oncogénico, frente a los pacientes que presentan lesiones recurrentes. En nuestra serie, los hombres presentan menos frecuentemente lesiones recurrentes que las mujeres.
4. El nivel de estudios, el tratamiento previo de las lesiones, la edad, la localización y el tabaquismo son variables que se asocian a la infección por el VPH de alto riesgo.
5. Existe una elevada correlación entre el diagnóstico clínico de condiloma acuminado y la detección molecular del VPH (99,4%) y la correlación clínico-patológica (82,9%) fue inferior a la molecular.

6. Aproximadamente en el 90% de las lesiones de nuestros pacientes estaban implicados los cuatro genotipos de VPH más prevalentes (6, 11, 16 y 18), y dado que estos genotipos pueden prevenirse mediante una inmunización con vacunación profiláctica tetravalente en edad temprana, sería previsible que la incidencia del condiloma acuminado y el cáncer genital disminuyese considerablemente en los próximos años.

1 INTRODUCCIÓN

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3 MATERIAL Y MÉTODO

4 RESULTADOS

5 DISCUSIÓN

6 CONCLUSIONES

7 **BIBLIOGRAFÍA**

1. <http://www.granma.cu/consulta-medica/2015-01-11/condiloma-acuminado>.
2. Aubin F, Pretet JL, Jacquard AC, et al. Human Papillomavirus Genotype Distribution in External Acuminata Condylomata: A Large French National Study (EDiTH IV). Clin Infect Dis 2008; 47:610-5.
3. Bardiner P. Les papyrus médicaux de l'Égypte pharaonique. Fayard, Paris, 1995.
4. Belhome L, Martin A. Tratado práctico y elemental de patología sifilítica y venérea (trad. Esp. E. Simancas) 2ª Ed. Carlos Bailly-Baillière. Madrid, 1878.
5. Bäfverstedt B. Condylomata acuminata - past and present. Acta Dermato-Vener 1967; 47:667 - 734.
6. Oriel JD. Natural history of genital warts. Brit J Vener Dis 1971; 47:1-13.
7. Oriel JD. Anal warts and anal coitus. Brit J Vener Dis 1971; 47:373-6.
8. Celso AC. Los ocho libros de la medicina. Lib. VI,17. Ed. Iberia. Barcelona, 1966.
9. Juvenal. Sátiras completas. (2,11) Ed. Iberia. Barcelona, 1959.

10. Lanfranc. Practica seu Ars completa chirurgiae. Tract. 3, doct. 2, cap. 11.
11. Goens J. De la syphilis au sida: Cinq siècles des mémoires littéraires de Vénus. Presses Interuniversitaires européennes. Bruselas, 1995.
12. Astruc J. De morbis veneréis (Trad. esp). Lib. II, cap. VIII. 1736.
13. Bell B. Tratado de la blenorragia y de la lue venérea (Trad. S. Garcia). Madrid, 1799.
14. Díaz de Benito J. Atlas de enfermedades venéreas y sifilíticas. C. Bailly-Baillière. Madrid, 1863.
15. Hebra F, Kaposi M. Verrues. En: Traité des maladies de la peau. Versión francesa, anotada por A. Doyon. G. Masson Ed., París, 1878; Vol. II: 41-52.
16. Dubreuilh W. Végétations genitales.- En: E. Besnier, L. Brocq, L. Jacquet: La Practique Dermatologique. Masson et Cie, París 1902; Vol. III: 637-643.
17. Strauss MJ, Shaw EW, Bunting H, Melnick JL. "Crystalline" virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies. Proc Soc Expl Biol Med 1949; 72:46-50.
18. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses. Virology 2004; 324:17-27.

19. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005; 32 Suppl 1: S1-6.
20. Sapp M, Volpers C, Muller M, et al. Organization of the major and minor capsid proteins in human papillomaviruses type 33 virus-like particles. *J Gen Virol* 1995; 76:2407-12.
21. Apt D, Watts RM, Suske G, et al. High Sp1/Sp3 ratios in epithelial cells during epithelial differentiation and cellular transformation correlate with the activation of the HPV-16 promoter. *Virology* 1996; 224:281-91.
22. Doorbar J, Gallimore PH. Identification of proteins encoded by the L1 and L2 open reading frames of human papillomavirus 1a. *J Virol* 1987; 61: 2793-9.
23. Mohr IJ, Clark R, Sun S, et al. Targeting the E1 replication protein to the papillomavirus origin of replication by complex formation with the E2 transactivator. *Science* 1990; 250:1964-9.
24. Webster K, Parish J, Pandya M, et al. The human papillomavirus (HPV) 16 E2 protein induces apoptosis in the absence of other HPV proteins and via a p53-dependent pathway. *J Biol Chem* 2000; 275:87-94.
25. Shirasawa H, Tomita Y, Sekiya S, et al. Integration and transcription of human papillomavirus type 16 and 18

sequences in cell lines derived from cervical carcinomas. *J Gen Virol* 1987; 68: 583-91.

26. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 342-50.

27. Farmer AD, Calef CE, Millman K, et al. The Human Papillomavirus Database. *J Biomed Sci* 1995;2: 90-104.

28. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324:17-27.

29. Gross G. Genitoanal human papillomavirus infection and associated neoplasias. *Curr Probl Dermatol* 2014; 45:98-122.

30. Goon P, Sonnex C. Frequently asked questions about genital warts in the genitourinary medicine clinic: an update and review of recent literature. *Sex Transm Infect.* 2008; 84:3-7.

31. Pulido AM, Angulo AG, Ávila M, et al. Infección por el virus del papiloma humano (VPH) en mujeres: características epidemiológicas, clínicas y patológicas. *Dermatol Venez.* 2011; 49: 25-32.

32. Vilata JJ, Varela JA, Olmos L, et al. Validation and Clinical Use of the CECA, a Disease-specific Quality of Life Questionnaire for Patients with Anogenital Condylomata Acuminata. *Acta Derm Venereol.* 2008; 88:257-62.

33. Anic GM, Lee JH, Villa LL, et al. Risk factors for incident condyloma in a multinational cohort of men: the HIM study. *J Infect Dis.* 2012; 205:789-93.
34. Evander M, Frazer IH, Payne E, et al. Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. *J Virol* 1997; 71: 2449-56.
35. Giroglou T, Florin L, Schafer F, et al. Human papillomavirus infection requires cell surface heparin sulfate. *J Virol* 2001; 75:1565-70.
36. Culp TD, Christensen ND. Kinetics of in vitro adsorption and entry of papillomavirus virions. *Virology* 2004; 319: 152-61.
37. Li M, Beard P, Estes PA, et al. Intercapsomeric disulfide bonds in papillomavirus assembly and disassembly. *J Virol* 1998; 72: 2160-7.
38. Flores ER, Lambert PF. Evidence for a switch in the mode of human papillomavirus type 16 DNA replication during the viral life cycle. *J Virol* 1997; 71: 7167-79.
39. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005; 32 Suppl 1: S7-15.
40. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cáncer. *N Engl J Med.* 2003; 348:518-27.

41. Halbert CL, Demers GW, Galloway DA. The E7 gene of human papillomavirus type 16 is sufficient for immortalization of human epithelial cells. *J Virol* 1991; 65: 473-8.
42. Madkan VK, Cook-Norris RH, Steadman MC, et al. The oncogenic potential of human papillomaviruses: a review on the role of host genetics and environmental cofactors. *Br J Dermatol* 2007; 157:228-41.
43. Hernandez-Suarez G, Pineros M, Vargas JC, et al. Human papillomavirus genotypes in genital warts in Latin America: a cross-sectional study in Bogota, Colombia. *Int J STD AIDS*. 2013; 24: 567-72.
44. Giraldi G, De Luca d'Alessandro E. The HPV infection in males: an update. *Ann Ig*. 2012; 24:497-506.
45. Chang L, Ci P, Shi J, et al. Distribution of genital wart human papillomavirus genotypes in China: a multi-center study. *J Med Virol*. 2013; 85:1765-74.
46. Baydar DE, Kulac I, Ozagari A, et al. Occurrence of dysplasia and human papilloma virus typing in penile condylomas. *Urology*. 2013; 81: 211e9-15.
47. Jaberipour M, Momtahan M, Najib F, et al. Detection of high-risk human papillomavirus types 16 and 18 but no 33 and 52 in external genital warts from Iranian females. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011; 12: 771-4.

48. Cremin S, Menton JF, Canier L, et al. The prevalence and genotype of human papillomavirus on cervical samples from an Irish female population with external genital warts. *Hum Vaccin Immunother.* 2012; 8:916-20.
49. Blanco-González OA, Soto-Brito Y, Blanco-González B, et al. Detección y tipificación de papilomavirus humano en lesiones condilomatosas anogenitales de hombres cubanos seropositivos al VIH-1. *Rev Biomed.* 2011; 22: 21-30.
50. Lebelo RL, Boulet G, Nkosi CM, et al. Diversity of HPV types in cancerous and pre-cancerous penile lesions of South African men: implications for future HPV vaccination strategies. *J Med Virol.* 2014; 86:257-65.
51. Ingles DJ, Pierce Campbell CM, Messina JA, et al. Human papillomavirus Virus (HPV) genotype- and age- specific analyses of external genital lesions among men in the HPV Infection in Men (HIM) Study. *J Infect Dis.* 2015; 211:1060-7.
52. Ferenczy A, Mitao M, Nagai N, et al. Latent papillomavirus and recurring genital warts. *N Eng J Med.* 1985; 313:784-8.
53. Potocnik M, Kocjan B, Seme K, et al. Distribution of human papillomavirus (HPV) genotypes in genital warts from males in Slovenia. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2007; 16:91-6.
54. Moreira ED Jr, Giuliano AR, Palefsky J, et al. Incidence, clearance, and disease progression of genital human

papillomavirus infection in heterosexual men. *J Infect Dis.* 2014; 210:192-9.

55. Woodman CB, Collins S, Winter H, et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet.* 2001; 357:1831-6.

56. Kluzak TR, Kraus FT. Condilomata, papillomas and verrucous carcinoma of the vulva and vagina. In: Edward J. Wilkinson ED. *Pathology of the vulva and vagina.* Churchill Livingstone. 1987.

57. Daling JR, Weiss NS, Hislop TG, et al. Sexual practices, sexually transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. *N Eng J Med.* 1987; 317:973-7.

58. Bozzetti M, Nonnenmacher B, Mielzinska I, et al. Comparison between hybrid capture II and polymerase chain reaction results among women at low risk for cervical cancer. *Ann Epidemiol.* 2000; 10:466.

59. Arens M. Clinically relevant sequence-based genotyping of HBV, HCV, CMV, and HIV. *J Clin Virol.* 2001; 22:11-29.

60. Hart KW, Williams OM, Thelwell N, et al. Novel method for detection, typing , and quantification of human papillomavirus in clinical samples. *J Clin Microbiol* 2001; 39:3204-12.

61. Lorincz AT. Hybrid Capture method for detection of human papillomavirus DNA in clinical specimens: a tool for clinical

management of equivocal Pap smears and for population screening. *J Obstet Gynaecol Res.* 1996; 22:629-36.

62. Cope JU, Hildesheim A, Schiffman MH, et al. Comparison of the hybrid capture tube test and PCR for detection of human papillomavirus DNA in cervical specimens. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2262-5.

63. Smits HL, Bollen LJ, Tjong-A-Hung SP, et al. Intermethod variation in detection of human papillomavirus DNA in cervical smears. *J Clin Microbiol.* 1995; 33:2631-6.

64. Castle PE, Schiffman M, Burk RD, et al. Restricted cross-reactivity of hybrid capture 2 with nononcogenic human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11:1394-9.

65. Poljak M, Marin IJ, Seme K, et al. Hybrid Capture II HPV Test detects at least 15 human papillomavirus genotypes not included in its current high-risk probe cocktail. *J Clin Virol.* 2002; 25 Suppl 3:S89-97.

66. Skiba D, Mehlhorn G, Fasching PA, et al. Prognostic significance of serum antibodies to HPV-16 L1 virus-like particles in patients with invasive cervical cancer. *Anticancer Res.* 2006; 26:4921-6.

67. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:357-61.

68. Kleter B, van Doorn LJ, ter Schegget J, et al. Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *Am J Pathol.* 1998; 153:1731-9.
69. Park TC, Kim CJ, Koh YM, et al. Human papillomavirus genotyping by the DNA chip in the cervical neoplasia. *DNA Cell Biol.* 2004; 23:119-25.
70. Grce M, Husnjak K, Skerlev M, et al. Detection and typing of human papillomaviruses by means of polymerase chain reaction and fragment length polymorphism in male genital lesions. *Anticancer Res.* 2000; 20:2097-102.
71. Quint WG, Scholte G, van Doorn LJ, et al. Comparative analysis of human papillomavirus infections in cervical scrapes and biopsy specimens by general SPF(10) PCR and HPV genotyping. *J Pathol.* 2001; 194:51-8.
72. Giovannelli L, Lama A, Capra G, et al. Detection of human papillomavirus DNA in cervical samples: analysis of the new PGMY-PCR compared to the hybrid capture II and MY-PCR assays and a two-step nested PCR assay. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:3861-4.
73. Soderlund-Strand A, Rymark P, Andersson P, et al. Comparison between the Hybrid Capture II test and a PCR-based human papillomavirus detection method for diagnosis and posttreatment follow-up of cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Microbiol.* 2005; 43:3260-6.

74. Martorell M, Gil-Salom M, Perez-Valles A, et al. Presence of human papillomavirus DNA in testicular biopsies from nonobstructive azoospermic men. Arch Pathol Lab Med. 2005; 129:1132-6.
75. Vilata JJ, Nogueira JM. Condiloma acuminado. En: Enfermedades de Transmisión Sexual producida por virus. 1988; 105-111, 14 Ed. Emisa, Madrid.
76. Ackerman AB, Kornberg R. Pearly penile papules. Arch Dermatol 1973; 108:673-5.
77. Vilata JJ. Pápulas hirsutoides de la vulva. En: Dermatitis de la region genital. Cap. 35. Jiménez Cruz JF y Rioja Sanz LA, eds. Tratado de Urología. 1993;1:555-6. Ed. JR Prous S.A. Barcelona. España.
78. Fordyce JA. Angiokeratoma of the scrotum. J Cutan Dis 1896; 14:81-9.
79. Vilata JJ. Acrocordón (Molluscum pendulum). En: Dermatitis de la region genital. Cap. 35. Jiménez Cruz JF y Rioja Sanz LA, eds. Tratado de Urología. 1993;1:555-6. Ed. JR Prous S.A. Barcelona. España.
80. Braun-Falco O, Plewing G, Wolff HH, Winkelmann RK, Eds. Molluscum contagiosum 1995; 2:21-3, Ed. SpringerVerlag Ibérica, S.A. Barcelona. Spain.

81. Vilata JJ. Sífilis. En: Medicina Interna. Farreras P y Rozman C, Eds. 1995; Vol. 11: 2376-2382. XIII ed. Mosby-Doyma libros S.A. Madrid. España.
82. Schwartz RA y Stoll HL. Leucoplasia. En: Lesiones precancerosas epiteliales Cap. 73. Fitzpatrick TB, et al, Eds. Dermatología en Medicina General. IV ed. 1997; 1:856-7. Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina.
83. Queyrat M. Erythroplasie du gland. Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr 1911; 22:378-382.
84. Wade TR, Kopf AW, Ackerman AB. Bowenoid papulosis of the genitalia. Arch Dermatol 1979; 115: 306-8.
85. Merot Y, Mazoujian G, Pinkus G. Extramammary Paget's disease of perianal and perineal regions. Evidence of apocrine derivation. Arch Dermatol 1985; 121:750-2.
86. Melmed EP, Payne JR. Carcinoma of the penis in a jew circumcised in infancy. Br J Surg 1967; 54:729-731.
87. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. Lancet. 2005; 366:991-8.
88. Firnhaber C, Sello M, Maskew M, et al. Human papillomavirus types in HIV seropositive men with penile warts

in Johannesburg, South Africa. *Int J STD AIDS*. 2011; 22:107-9.

89. Senba M, Kumatori A, Fujita S, et al. The prevalence of human papillomavirus genotypes in penile cancers from northern Thailand. *J Med Virol*. 2006; 78:1341-6.

90. Way S, ed. *Malignant disease of the vulva*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1982.

91. Lawson MA. Human Papillomavirus Infection in Adolescent and Young Women. *Missouri Medicine* 2008; 105:42-6.

92. Trends in anogenital warts and anogenital herpes simplex virus infection in the United Kingdom:1996 to 2005. *CDR Wkly* 2006; 16:1-4.

93. Lukasiewicz E, Aractingi S, Flahault A. Incidence and management of condylomata acuminata by French general physicians. *Ann Dermatol Venereol* 2002; 129:991-6.

94. Lacey CJN, Woodhall SC, Wikstrom A, and Ross J. 2012 European guideline for the management of anogenital warts. *JEADV* 2013; 27:263-70.

95. Centers for Disease Control and Prevention. Genital Warts. *MMWR* 2010; 59:70-4.

96. Ting PT, Dytoc MT. Therapy of external anogenital warts and molluscum contagiosum: a literature review. *Dermatol Ther* 2004; 17:68e101.

97. Forcier M, Musacchio N: An overview of human papillomavirus infection for the dermatologist: disease, diagnosis, management, and prevention. *Dermatol Ther* 2010; 23:458-76.
98. Stone KM, Becker TM, Hagdu A, et al. Treatment of external genital warts: a randomized clinical trial comparing podophyllin, cryotherapy and electrodesiccation. *Genitourin Med* 1990; 66:16-19.
99. Tyring S, Edwards L, Cherry LK, et al. Safety and efficacy of 0,5% podofilox gel in the treatment of anogenital warts. *Arch Dermatol*. 1998; 134:33-8.
100. Bonnez W, Elswick RK, Bailey-Farchione A, et al. Efficacy and safety of 0,5% podofilox solution in the treatment and suppression of anogenital warts. *Am J Med* 1994; 96:420-5.
101. Dede M, Kubar A, Yenen MC, et al. Human papillomavirus-type predict the clinical outcome of imiquimod therapy for women with vulvar condylomata acuminata. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2007; 86:968-72.
102. Tatti SI, Stockfleth E, Beutner KR et al. Polyphenon E: a new treatment for external anogenital warts. *Br J Dermatol*. 2010;162:176-84.
103. Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, et al. A 9-Valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N Engl J Med*. 2015; 372:711-22.

104. Stanley MA. Progress in prophylactic and therapeutic vaccines for human papillomavirus infection. *Expert Rev Vaccines*. 2003; 2:381-9.
105. Harper DM, Franco EL, Wheeler C, et al. Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2004; 364:1757-65.
106. Villa LL, Costa RL, Petta CA, et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol*. 2005; 6:256-7.
107. <http://www.definicion.de/promiscuidad/oms>
108. Crichton NJ, Hinde JP, Marchini J. Models for diagnosing chest pain: is CART helpful? *Stat Med* 1997; 16: 717-27.
109. Trujillano J, Sarria-Santamera A, Esquerda A et al. Approach to the methodology of classification and regression trees. *Gac Sanit* 2008; 22: 65-72.
110. Richardson H, Abrahamowicz M, Tellier PP, et al. Modifiable risk factors associated with clearance of type-specific cervical human papillomavirus infections in a cohort of university students. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14:1149-56.
111. Giuliano AR, Siegel EM, Roe DJ, et al. Dietary intake and risk of persistent human papillomavirus (HPV) infection: the

Ludwig-McGill HPV Natural History Study. *J Infect Dis.* 2003; 188:1508-16.

112. Franceschi S, Plummer M, Clifford G, et al. Differences in the risk of cervical cancer and human papillomavirus infection by education level. *Br J Cancer.* 2009; 101:865-70.

113. Plummer M, Herrero R, Franceschi S, et al. Smoking and cervical cancer: pooled analysis of the IARC multi-centric case-control study. *Cancer Causes Control.* 2003; 14(9):805-14.

114. Greenberg ER, Vessey M, McPherson K, et al. Cigarette smoking and cancer of the uterine cervix. *Br J Cancer.* 1985; 51:139-41.

115. Winkelstein W Jr. Smoking and cervical cancer-current status: a review. *Am J Epidemiol.* 1999; 131:945-57.

116. Coker AL, Bond SM, Williams A, et al. Active and passive smoking, high-risk human papillomaviruses and cervical neoplasia. *Cancer Detect Prev.* 2002; 26:121-8.

117. Hakama M, Luostarinen T, Hallmans G, et al. Joint effect of HPV16 with Chlamydia trachomatis and smoking on risk of cervical cancer: antagonism or misclassification (Nordic countries). *Cancer Causes Control.* 2000; 11:783-90.

118. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, et al. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer.* 2000; 82:1332-8.

119. Ruland R, Prugger C, Schiffer R, et al. Prevalence of human papilloma virus infection in women in rural Ethiopia. *Eur J Epidemiol.* 2006; 21:727-9.
120. Buckley JD, Harris RW, Doll R, et al. Case-control study of the husbands of women with dysplasia or carcinoma of the cervix uterin. *Lancet.* 1981; 2:1010-5.
121. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol.* 2003; 157:218-26.
122. Bosch FX, Castellsague X, Muñoz N, et al. Male sexual behavior and human papillomavirus DNA: key risk factors for cervical cancer in Spain. *J Natl Cancer Inst.* 1996; 88:1060-7.
123. Coombs NJ, Gough AC, Primrose JN. Optimisation of DNA and RNA extraction from archival formalin-fixed tissue. *Nucleic Acids Res.*1999; 27:12.
124. Frias MM, Mohad BA, Suchil BL. Factores de riesgo asociados a cáncer cervicouterino: un estudio de casos y controles. *Oncología.* 2000; 45:209-16.
125. Richardson H, Franco E, Pintos J, et al. Determinants of low-risk and high-risk cervical human papillomavirus infections in Montreal University students. *Sex Transm Dis.* 2000; 27:79-86.

126. Peters RK, Thomas D, Hagan DG, et al. Risk factors for invasive cervical cancer among Latinas and non-Latinas in Los Angeles County. *J Natl Cancer Inst.* 1986; 77:1063-77.

127. Imai H, Nakao H, Shinohara H, et al. Prevalence, potential predictors, and genotype-specific prevalence of human papillomavirus infection among sexually active students in Japan. *PLoS One.* 2015; 10:e0132462.

128. Goldstone S, Palefsky JM, Giuliano AR, et al. Prevalence of and risk factors for human papillomavirus (HPV) infection among HIV-seronegative men who have sex with men. *J Infect Dis.* 2011; 203:66-74.

129. Warner L, Newman DR, Austin HD, et al. Condom effectiveness for reducing transmission of gonorrhea and chlamydia: the importance of assessing partner infection status. *Am J Epidemiol.* 2004; 159:242-51.

130. Winer RL, Hughes JP, Feng Q, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 2006; 354:2645-54.

131. Agurto I, Arrossi S, White S, et al. Involving the community in cervical cancer prevention programs. *Int J Gynaecol Obstet.* 2005; 89:S38-45.

132. Macaluso M, Demand MJ, Artz LM, et al. Partner type and condom use. *AIDS.* 2000; 14:537-46.

133. Manhart LE, Koutsky LA. Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts or cervical neoplasia? A meta-analysis. *Sex Transm Dis.* 2002; 29:725-35.
134. Wen LM, Estcourt CS, Simpson JM, et al. Risk factors for the acquisition of genital warts: are condoms protective? *Sex Transm Infect.* 1999; 75:312-6.
135. Rousseau MC, Franco EL, Villa LL, et al. Acumulative case-control study of risk factor profiles for oncogenic and nononcogenic cervical human papillomavirus infections. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000; 9:469-76.
136. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N, et al. High prevalence of human papillomavirus infection in Mexican males: comparative study of penile-urethral swabs and urine samples. *Sex Transm Dis.* 2001; 28:277-80.
137. Viikki M, Pukkala E, Nieminen P, et al. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol.* 2000; 39:71-5.
138. Nuñez JT, Delgado M, Giron H, et al. Prostitution and other cofactors in preinvasive and invasive lesions of the cervix. *Aust NZJ Obstet Gynaecol.* 2004; 44:239-43.
139. Da Silva CS, Adad SJ, Hazarabedian de Souza MA, et al. Increased frequency of bacterial vaginosis and Chlamydia trachomatis in pregnant women with human papillomavirus infection. *Gynecol Obstet Invest.* 2004; 58:189-93.

140. Palacio V. Infección VPH en el área genital. Clínica, diagnóstico y tratamiento. Eds. 2000; 3M. Madrid. España.
141. Biswas LN, Manna B, Maiti PK, et al. Sexual risk factors for cervical cancer among rural Indian women: a case-control study. *Int J Epidemiol.* 1997; 26:491-5.
142. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer.* 2006; 118:3030-44.
143. Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, et al. Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet.* 2003; 362:1871-6.
144. Anic GM, Lee JH, Stockwell H, et al. Incidence and human papillomavirus (HPV) type distribution of genital warts in a multinational cohort of men: the HPV in men study. *J Infect Dis.* 2011; 204:1886-92.

