



Genotipificación de VPH en papilomas orales de pacientes con infección por VIH del Hospital San Juan de Dios

Francisca Donoso-Hofer^{1,2} y Sandra Ampuero Llanos³

HPV genotypes in oral papilloma in Hospital San Juan de Dios HIV (+) patients

Background: HIV (+) patients have a higher risk of oral infections with high oncogenic risk HPV (HPV-HR). **Aim:** To determine the HPV genotypes in oral papillomatous lesions in HIV (+) patients and describe the associated factors. **Methods:** Eight adults HIV (+) subjects with papillomatous HPV lesions were studied. The lesions DNA was extracted and HPV genome and genotypes were detected by PCR and the commercial kit HPV 3.5 LCD-Array Kit (Chipron[®]) and associated factors were described. **Results:** 63% of patients exhibited more than one HPV genotype and 75% of them exhibited at least 1 HPV-HR genotype. The most frequent genotype was HPV 52 (27%), followed by HPV 16 and 56 (18%). The mean CD4 T lymphocyte count in patients with at least one HPV-HR genotype was 330.6 cells/mm³. **Conclusions:** A higher frequency of multiple HPV infections was detected, including at least one high-risk genotype. The genotype HPV-AR 52 was the most frequent. The mean CD4 T lymphocyte count in patients with at least one HPV-HR genotype indicates moderate immunosuppression. It is required to increase the number of patients.

Key words: VPH; genotype; oral papilloma; human immunodeficiency virus

Palabras clave: virus papiloma humano; genotipo; papiloma oral; virus de inmunodeficiencia humana.

¹Departamento de Cirugía Máxilofacial, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

²Servicio de Cirugía Máxilofacial, Hospital San Juan de Dios.

³Programa de Virología, ICBM. Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Declaración de conflictos de interés: Ninguno
Este trabajo se realizó en el contexto de una tesis de magister y contó con el financiamiento parcial de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile en la compra de insumos.

Recibido: 15 de julio de 2018

Aceptado: 1 de febrero de 2019

Correspondencia a:

Francisca Donoso-Hofer
frandonoso@u.uchile.cl

Introducción

Las infecciones del virus del papiloma humano (VPH) pueden aparecer en una variedad de formas en la mucosa oral, desde lesiones benignas con características hiperplásicas, papilomatosas o verrugosas hasta lesiones de apariencia carcinomatosa¹. En 1983, se publicó la primera evidencia de que el VPH podría estar implicado en la etiología del carcinoma intraoral de células escamosas² y desde entonces, las investigaciones en ese campo se han desarrollado de manera tal que, durante los últimos años, la presencia de VPH en la cavidad oral ha comenzado a considerarse un nuevo factor de riesgo en la etiología del cáncer oral, junto con el consumo de tabaco y alcohol^{3,4}.

En relación a las características de una infección en la cavidad oral por VPH en pacientes inmunocompetentes, existe detección del genoma en 6,9 a 30,1% de los pacientes dependiendo del tipo de estudio^{5,6}. Se han detectado genotipos de alto y bajo riesgo oncogénico en infecciones únicas, así como infecciones con múltiples genotipos. La prevalencia de la infección es mayor en hombres que en mujeres; estas últimas presentan mayor frecuencia de genotipos VPH de bajo riesgo oncogénico (VPH-BR). En ambos géneros, la infección por VPH16, genotipo de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) es la más común^{5,6}. Dentro de los factores que contribuyen a la persistencia

de la infección en estos sujetos se considera el número reciente de parejas con que se practique sexo oral⁷.

Por otro lado, en pacientes inmunocomprometidos por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) existe el doble de riesgo de contraer una infección por VPH que en un sujeto sin dicha infección [8]. El aumento del riesgo de infección por VPH se asocia con una menor respuesta frente a la infección por VPH, tratamiento anti-retroviral para VIH, el aumento de la sobrevida en los pacientes y una interacción directa entre ambos virus. Además, presentan un mayor riesgo de desarrollar carcinoma escamoso oral o genital, así como también, de presentar un aumento en el riesgo de infecciones genitales y anales con genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico (VPH-AR)⁸⁻¹⁰.

En sujetos infectados con VIH, se ha detectado el genoma de VPH en la cavidad oral en 7 a 45% de los casos, considerando todos los genotipos y, más específicamente, una prevalencia de 12 a 26% si sólo se consideran genotipos de VPH-AR. En muchos casos, se detecta genotipos de VPH-AR infrecuentes en otras poblaciones^{10,11}. Los factores que contribuyen a la persistencia de la infección por VPH incluyen sexo masculino, edad avanzada (más de 55 años), consumo de tabaco, un mayor número de parejas sexuales y un recuento de linfocitos T CD4 + bajo debajo de 200 céls/mm³^{7,12,13}.

Las particularidades epidemiológicas de cada pobla-



ción, así como la falta de una comprensión de la historia natural de la infección por VPH, hace que las investigaciones en este campo, desde un punto de vista oral y maxilo-facial, sean de gran interés para la comunidad científica. Hasta la fecha, no hay publicaciones en Chile sobre genotipos de VPH en pacientes con infección por VIH con lesiones papilomatosas intraorales.

El objetivo de este estudio fue determinar los genotipos de VPH en pacientes infectados por VIH en lesiones papilomatosas orales y describir las características clínicas e histopatológicas de las lesiones encontradas, el recuento de LT CD4 + y la carga viral del VIH.

Pacientes y Método

Población de estudio

Se estudiaron ocho pacientes adultos (≥ 18 años) VIH (+) en terapia anti-retroviral (TARV) tratados por el Servicio de Infectología del Hospital San Juan de Dios, Santiago-Chile y remitidos al Servicio de Cirugía Maxilo-facial del mismo hospital por presentar lesiones intraorales clínicamente compatibles con papiloma oral, condiloma acuminado o verrugas orales entre junio de 2012 y diciembre de 2015. Los pacientes no recibieron inmunización alguna para VPH previo ingreso al estudio.

Tras completar la ficha clínica de ingreso para cada paciente, se realizó una exploración física intraoral para diagnosticar clínicamente las lesiones papilomatosas. La información recopilada durante el proceso incluyó edad, sexo, recuento de LT CD4 + actualizados y carga viral de VIH (ensayo Abbott Real Time HIV-1). A cada paciente se le asignó un código para resguardar su identidad. Los pacientes aceptaron participar en el estudio a través de la firma de un formulario de consentimiento informado previamente aprobado por Comité de Ética de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Diagnóstico clínico

Se incorporaron al estudio las muestras de aquellos pacientes con sospecha clínica de lesiones papilomatosas por VPH. Las características de estas lesiones correspondían a un crecimiento localizado y asintomático en la cavidad oral, con una superficie irregular de proyecciones digitiformes, de color rosado o blanco y con una base sésil o pedunculada. Las biopsias excisionales se llevaron a cabo posteriormente para realizar un estudio histopatológico.

Genotipificación del VPH

Con el fin de genotipificar las lesiones papilomatosas, se obtuvieron muestras directas utilizando un cepillo de citología sobre las lesiones. Se extrajo el ácido nucleico (ADN) de las muestras utilizando el *kit* comercial High pure viral nucleic acid kit (Roche®) siguiendo las instruc-

ciones del fabricante. La detección del genoma de VPH y los genotipos presentes se realizó con el *kit* comercial HPV 3.5 LCD-Array Kit (Chipron®). Este sistema de detección acopla la amplificación mediante la técnica de reacción de polimerasa en cadena (RPC) utilizando los partidores universales VPH (MY11 y MY09) y una mezcla de partidores para subtipos no frecuentes (Mix 215) y la hibridación con sondas específicas. Los productos amplificados se hibridaron en el LCD-Chip (HPV 3.5 LCD-Array, Chipron®) que contiene 32 sondas de captura específicas para la identificación de 32 genotipos de VPH: (a) Tipos de alto riesgo: VPH16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68 y 73; (b) Tipos de bajo riesgo: VPH 6, 11, 42, 44, 54, 61, 62, 66, 67, 70, 72, 81, 82, 83, 84, 90 y 91.

Las señales se leyeron en el sistema de escáner CHIP-Scanner utilizando el software SlideReader V9 (Chipron®).

Estudio histopatológico

Se realizó una biopsia excisional de la lesión utilizando anestesia local en cada paciente que ingresó al estudio. Todas las biopsias fueron realizadas por el mismo cirujano. Se realizaron escisiones elípticas de espesor completo. Las lesiones se trataron con cuidado para no modificar el resultado del estudio histopatológico. El diagnóstico histopatológico se basó en la detección de las características histopatológicas preservadas en las lesiones causadas por el VPH¹⁴.

Todos los pacientes incluidos en este estudio presentaron lesiones clínicas, e histopatológicas causadas por el VPH y detección molecular positiva para VPH.

Resultados

Caracterización de la muestra

Ocho pacientes, 87,5% de ellos de sexo masculino, fueron reclutados para el estudio. Su edad promedio fue de 43,7 años (entre 21 y 57 años). Las lesiones clínicas se localizaron en la lengua, mucosa interna de los labios, mucosa bucal y encías. La mayoría de las lesiones se localizaron en la mucosa bucal (38%). El tamaño de la lesión se determinó midiéndolos en su diámetro más ancho en milímetros (mm). Su tamaño promedio fue de 6,75 mm (4-10 mm). El diagnóstico histológico de cada paciente fue consistente con el papiloma escamoso (Tabla 1).

Genotipos de VPH detectados

Cinco de los pacientes (63%) presentaron más de un genotipo de VPH y 75% de ellos presentó al menos un genotipo VPH-AR. El genotipo VPH-AR más frecuentemente encontrado fue VPH52 (27%), seguido de VPH16 y VPH56 (18%). Otros genotipos de alto riesgo oncogénico aparecieron simultáneamente. Sólo dos pa-


Tabla 1. Características de los pacientes y lesiones orales por VPH

Paciente	Género	Edad (años)	Localización lesión	Tamaño (mm)	Diagnóstico histológico
026-2013	Masculino	54	Encía maxilar	4	Papiloma escamoso
070-2014	Masculino	50	Lengua	10	Papiloma escamoso
061-2013	Masculino	45	Mucosa mejilla	10	Papiloma escamoso
046-2013	Femenino	57	Lengua	5	Papiloma escamoso
059-2013	Masculino	41	Mucosa mejilla	5	Papiloma escamoso
088-2015	Masculino	21	Cara interna labio	6	Papiloma escamoso
014-2012	Masculino	45	Cara interna labio	4	Papiloma escamoso
012-2012	Masculino	37	Mucosa mejilla	10	Papiloma escamoso
Promedio		43,7		6,75	
Mediana		45,0		5,50	
DS*		11,3		2,76	

*Desviación standard. Se muestran las características de los pacientes y sus respectivas lesiones orales por VPH. Se menciona el género y la edad de los pacientes y se describe la localización, el tamaño y el diagnóstico histológico de las lesiones clínicas. Promedio, mediana y DS fueron calculadas.

Tabla 2. Genotipos de VPH detectados, recuento de linfocitos TCD4 y carga viral de VIH de los pacientes

Pacientes	Genotipos VPH-AR*	Genotipos VPH-BR**	Recuento Linfocitos TCD4 (cél/s/mm ³)	Carga viral VIH (copias ARN/ml)
026-2013	16,56,59	67	483	I
070-2014	16, 18, 58		455	I
061-2013	39, 56	83,72	144	I
046-2013	52	11	203	I
059-2013	52		172	I
088-2015	52		527	I
014-2012		6, 61	380	I
012-2012		72	983	I
Promedio			418,3	
Promedio VPH-AR*			330,6	

*Genotipos de alto riesgo oncogénico. **Genotipos de bajo riesgo oncogénico. I: Carga viral indetectable o < 500 copias ARN/ml. Genotipos de VPH, recuento de linfocitos TCD4 y carga viral de VIH para cada paciente. Se calcula el promedio de linfocitos TCD4 de todos los pacientes y de aquellos que presentan al menos un genotipo de alto riesgo oncogénico.

cientes mostraron genotipos de VPH-BR: VPH6 y VPH11 (20%) (Tabla 2).

CD4+ en pacientes que presentaron al menos un genotipo VPH-AR fue de 330,6 células/mm³ (Tabla 2).

Recuento de linfocitos T CD4, carga viral de VIH y genotipos de VPH

El promedio de recuentos de LT CD4+ de los pacientes que participaron en el estudio fue de 418,3 células/mm³. La carga viral de VIH en todos ellos fue indetectable. Al agrupar según los genotipos de VPH y el recuento linfocitario encontramos que el recuento medio de LT

Discusión

El rol específico de VPH en el desarrollo de carcinoma escamoso oral y también de lesiones pre-malignas es aún un tema que se debate en la literatura científica actual, a pesar de la asociación etiológica indiscutible entre carcinoma cérvico uterino y VPH^{10,15}.



En Chile, no hay publicaciones previas sobre los genotipos de VPH en lesiones papilomatosas intraorales ni factores de riesgo que favorezcan la aparición de estas lesiones en pacientes inmunosuprimidos por VIH y que puedan predisponer al desarrollo de una patología maligna.

En este estudio determinamos los genotipos presentes en lesiones papilomatosas de ocho pacientes con infección por VIH atendidos en el Hospital San Juan de Dios. La mayoría de los pacientes estudiados eran hombres (87%) concordante con la literatura médica publicada. Un estudio reciente de 5.579 pacientes no infectados por VIH (entre 14 y 69 años) reveló que los hombres tenían más probabilidades que las mujeres de presentar infecciones por VPH en la cavidad oral, independientemente de los factores de riesgo asociados como número de parejas sexuales y consumo de tabaco⁵. Informes similares con pacientes con infección por VIH han mostrado una mayor prevalencia de VPH intraoral en pacientes masculinos⁸. La mayor persistencia de la infección de VPH en hombres es especialmente interesante debido a la asociación actual del VPH en el desarrollo del cáncer orofaríngeo y las altas tasas de cáncer de orofaringe VPH (+) en varones (72,6%) frente a una tasa de desarrollo mucho menor en mujeres (27,4%)¹⁶.

Se ha sugerido que esta diferencia en la persistencia del virus podría ser consistente con una mejor respuesta inmune de las mujeres frente a los agentes infecciosos, probablemente debido a factores hormonales¹⁷.

La edad promedio de los pacientes en nuestro estudio fue discretamente menor a la descrita en la literatura médica donde se reporta una mayor frecuencia de lesiones papilomatosas en pacientes mayores de 50 años^{12,13,18}.

Al considerar las características de las lesiones, se conoce que la localización anatómica desempeña un papel clave en la prevalencia del VPH en estas lesiones orales e incluso puede considerarse una infección multifocal. Los lugares más frecuentes para las lesiones por VPH son: borde del bermellón del labio, paladar duro, mucosa labial y comisura labial. Una explicación para este fenómeno podría ser que los microtraumas tienden a desarrollarse en estos lugares facilitando el ingreso de VPH durante la infección¹⁸. Por otro lado, en una serie de nueve casos de pacientes con infección por VIH con lesiones orales por VPH, 67% de las lesiones papilomatosas se localizaron en las encías y 2% en el labio inferior¹⁰. En nuestra investigación, la mayoría de las lesiones se localizaron en la mucosa bucal de la cara interna de la mejilla (38%) que es una región anatómica susceptible de sufrir traumas masticatorios.

Todos los pacientes fueron diagnosticados con papiloma de células escamosas, independientemente de la localización anatómica. En un estudio de 2013 realizado por Anaya-Saavedra y cols., de 55 lesiones biopsiadas

de pacientes infectados con VIH, 40% fueron papilomas de células escamosas¹⁹. Las lesiones restantes fueron consistentes con hiperplasia epitelial focal, verruga vulgar o verrugas orales. Estas diferencias pueden surgir de las distintas técnicas de diagnóstico utilizadas, ya que todas las lesiones papilomatosas comparten características histológicas y, por lo tanto, son indistinguibles entre sí; se puede realizar un diagnóstico diferencial evaluando los genotipos del VPH de los sujetos involucrados.

Los pacientes con infección por VIH/SIDA tienen una mayor predisposición a la infección con más de un genotipo de VPH, así como con genotipos VPH-AR²⁰, lo que concuerda con los resultados obtenidos.

Al considerar los diferentes genotipos encontrados en la cavidad oral, es importante discriminar entre los estudios que realizan análisis de genotipificación a partir de muestras de colutorio y saliva, y aquellos que evalúan estos genotipos directamente a partir de las lesiones intra-orales. La genotipificación de VPH en muestras de colutorio o saliva presenta algunas desventajas respecto a las muestras tomadas directamente de las lesiones; en estas muestras, no es posible determinar el sitio anatómico de origen de la muestra como tampoco si es de la cavidad oral u orofaringe. Tampoco se puede evaluar si la infección todavía está activa, ya que estas pruebas normalmente se realizan en poblaciones que no presentan lesiones orales (infecciones subclínicas) y al detectar sólo el genoma de VPH cualitativamente no se puede correlacionar con una replicación activa del virus. Al tomar las muestras mediante cepillo, directamente de la lesión, se puede establecer el lugar anatómico y, aunque se haga un diagnóstico cualitativo del genoma viral, al existir la lesión se puede asociar a una replicación activa.

En la mayoría de los estudios que realizan genotipificación con muestras de colutorio, el genotipo prevalente es el VPH16²¹⁻²³. Un estudio que comparó la frecuencia de diferentes tipos de VPH en pacientes con infección por VIH y 128 sin infección por VIH usando muestras de colutorio de la cavidad oral, concluyó que 32% de los pacientes infectados con VIH presentaron VPH en la muestra de la cavidad oral. Al mismo tiempo, 6% de los pacientes con infección por VIH mostraron lesiones clínicas para VPH. Los genotipos de VPH más frecuentes encontrados en presencia de VIH fueron VPH16, seguidos por VPH35, VPH32, VPH72, VPH 6-11 y VPH18¹⁸.

Existen pocos estudios que realicen genotipos directamente de las lesiones encontradas en pacientes con infección por VIH, lo que dificulta el contraste con los resultados obtenidos. Uno de los primeros trabajos publicados sobre el tema fue un estudio de Völter y cols., quienes, a partir de biopsias en bloques parafinados de lesiones papilomatosas intraorales de pacientes con infección por VIH, detectaron VPH en 67% de los casos (45 pacientes)²⁴. Los genotipos más frecuentes fueron VPH



32 (28%) y VPH7 (19%). También se detectaron VPH18, 6 y 16, pero en una proporción menor. En un artículo de Syrjänen, se incluyeron nueve pacientes infectados por VIH con lesiones compatibles con papilomatosis, sin diagnóstico histopatológico¹⁰. En ese estudio, el tipo más frecuente encontrado fue VPH32 (40%), seguido de VPH6 (30%) y VPH16 (20%). En nuestro estudio, los genotipos más frecuentes encontrados fueron VPH 52, con tres casos (27%), y VPH16 y 56, con dos casos (18%). El *kit* para genotipificación de VPH utilizado en este estudio no incluye VPH32 por lo que no es posible atribuir estas diferencias a factores epidemiológicos exclusivamente.

Aunque el mecanismo que permite la reactivación de una infección latente o la adquisición de una nueva infección por VPH no es claro, la inmunosupresión asociada al VIH podría ser un factor de riesgo importante para la incidencia o persistencia del VPH en la cavidad oral¹³. Las etapas avanzadas de inmunosupresión del SIDA caracterizadas por bajos recuentos de linfocitos T CD4 (menos de 200 céls/mm³) también se asocian a un aumento en la prevalencia del VPH en la cavidad oral, lo que refleja un control virológico deficiente en aquellos pacientes con un sistema inmunológico comprometido²⁵. En nuestro estudio, el recuento de linfocitos LT CD4+ promedio en pacientes con al menos un genotipo VPH-AR es consistente con los datos de Anaya-Saavedra y Syrjänen, donde el recuento de linfocitos LT CD4+ fue de 282 céls/mm³ y 330,1 céls/mm³, respectivamente^{10,19}.

El aumento en la carga viral del VIH resultaría en una atenuación de la inmunidad local. Como consecuencia, las lesiones papilomatosas aumentarían en número según reportes anteriores¹⁹. En nuestro estudio, la carga viral del VIH en cada paciente fue inferior a 500 copias/ml. A diferencia de lo esperado, en nuestro caso aún con baja carga viral de VIH, hubo expresión clínica de infección por VPH. Se necesita un mayor número de pacientes para establecer una correlación entre los factores mencionados.

Un recurso interesante por considerar en investigaciones futuras es el uso de la inmunización profiláctica para VPH a través de tres vacunas disponibles actualmente: bivalente, tetravalente y noavalente las que son efectivas para la mayoría de los VPH comúnmente encontrados con relación al cáncer cervico-uterino y otros cánceres anogenitales. No hay evidencia a la fecha que respalde el uso de estas vacunas para prevenir infecciones por VPH en el territorio de cabeza y cuello, sólo se ha demostrado la presencia aumentada de anticuerpos específicos para VPH en saliva tras la inmunización^{8,26}.

Como la población inmunosuprimida tiene mayor riesgo de desarrollar cáncer asociado a VPH, su incorporación a este grupo podría tener impacto en la disminución de los cánceres ano-genitales, como posiblemente también

orales. Más estudios son necesarios para determinar si efectivamente la vacuna disminuye la infección por VPH en la cavidad oral.

A pesar del reducido tamaño de la muestra de nuestro estudio, detectamos pacientes con VPH-AR, lo cual implica un riesgo para el desarrollo de neoplasias asociadas a VPH y justifica la necesidad de diagnosticar la infección por VPH y el o los genotipos VPH e incorporarla en protocolos de tratamiento de lesiones papilomatosas en la cavidad oral.

Conclusiones

Las lesiones papilomatosas detectadas en pacientes con infección por VIH del Hospital San Juan de Dios fueron del tipo de papiloma escamoso. En seis de los ocho pacientes presentaron genotipos VPH-AR. Hubo una mayor frecuencia de infecciones múltiples por VPH, incluido al menos un tipo de VPH de alto riesgo oncogénico. El tipo de alto riesgo más frecuente fue el VPH52, seguido del VPH16 y 56.

Resumen

Introducción: Pacientes con infección por VIH presentan mayor riesgo de infecciones orales con genotipos de virus papiloma humano (VPH) de alto riesgo oncogénico (VPH-AR). **Objetivo:** Determinar los genotipos de VPH en lesiones papilomatosas orales de pacientes con infección por VIH y describir los factores clínicos, histopatológicos y recuento de linfocitos T CD4+ y carga viral asociados. **Métodos:** Se estudiaron ocho sujetos adultos con infección por VIH y lesiones papilomatosas por VPH. Se extrajo el ADN de la lesión y se detectó el genoma y los genotipos de VPH mediante reacción de polimerasa en cadena e hibridación con el *kit* comercial HPV 3.5 LCD-Array (Chipron®) y se describieron factores asociados. **Resultados:** El 63% de los pacientes exhibió más de un genotipo de VPH y 75% de ellos exhibió al menos un genotipo VPH-AR. El genotipo más frecuente fue el VPH 52 (27%), seguido del VPH16 y 56 (18%). El recuento medio de linfocitos T CD4+ en pacientes con al menos un genotipo VPH-AR fue de 330,6 céls/mm³. **Conclusiones:** Se detectó una mayor frecuencia de infecciones múltiples por VPH, incluido al menos un genotipo de alto riesgo. El genotipo VPH-AR 52 fue el más frecuente. El recuento medio de LT CD4+ en pacientes que presentan al menos un genotipo VPH-AR indica una inmunosupresión moderada. Se requiere aumentar el número de pacientes.



Referencias bibliográficas

- 1.- Kumaraswamy K L. Human papilloma virus and oral infections: An update. *J Cancer Rese Therap* 2011; 7 (2): 120-7. doi: 10.4103/0973-1482.82915.
- 2.- Syrjänen K J, Pyyrönen S, Syrjänen S, Lamberg, M. Immunohistochemical demonstration of human papillomavirus antigens in oral squamous cell lesions. *Br J Oral Surg* 1983; 21:147-53. PMID: 6307342.
- 3.- Krüger M, Pabst A M, Walter C, Sagheb K, Günther C, Blatt S, et al. The prevalence of human papilloma virus (HPV) infections in oral squamous cell carcinomas: A retrospective analysis of 88 patients and literature overview. *J Cranio-Maxillo-Facial Surg* 2014; 42: 1506-14. doi: 10.1016/j.jcms.2014.04.022.
- 4.- Ajila V, Shetty S, Babu S, Shetty V, Hegde S. Human papilloma virus associated squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Sex Transm Dis* 2015; 5: article 791024. doi: 10.1155/2015/791024.
- 5.- Gillison M L, Broutian T, Pickard R K, Tong Z Y, Xiao W, Kahle L, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA*. 2012; 307(7): 693-703. doi: 10.1001/jama.2012.101.
- 6.- Kero K, Rautava J, Syrjänen K, Grenman S, Syrjänen S. Oral mucosa as a reservoir of human papillomavirus: point prevalence, genotype distribution, and incident infections among males in a 7-year prospective study. *Eur Urol* 2012; 62 (6): 1063-70. doi: 10.1016/j.eururo.2012.06.045.
- 7.- Beachler D, Weber K, Margolick J, Strickler H, Cranston R, Burk R, et al. Risk factors for oral HPV infection among a high prevalence population of HIV-positive and at-risk HIV-negative adults. *Biomarkers Prev*. 2012; 21: 122-33. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0734.
- 8.- Syrjänen S. Oral manifestations of human papillomavirus infections. *Eur J Oral Sci* 2018; 126 (Suppl. 1): 49-66. doi: 10.1111/eos.12538.
- 9.- Rautava J, Syrjänen S. Human papillomavirus infection in the oral mucosa. *J Am Dent Assoc* 2011; 142 (8): 905-14. PMID: 21804057.
- 10.- Syrjänen S. Human papillomavirus infection and its association with HIV. *Adv Dent Res* 2011; 23 (1): 84-9. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.870.9946&rep=rep1&type=pdf>.
- 11.- Syrjänen S. Human papillomavirus infections and oral tumors. *Med Microbiol Immunol*, 2003; 192: 123-8. doi: 10.1007/s00430-002-0173-7.
- 12.- Beachler D, Sugar E, Margolick J, Weber K, Strickler H, Wiley D, et al. Risk factors for acquisition and clearance of oral human papillomavirus infection among HIV-infected and HIV-uninfected adults. *Am J Epidemiol* 2015; 181 (1): 40-53. doi: 10.1093/aje/kwu247.
- 13.- Fatahzadeh M, Schlecht N F, Chen Z, Botalico D, McKinney S, Ostolozza J, et al. Oral human papillomavirus detection in older adults who have human immunodeficiency virus infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013; 115 (4): 505-14. doi: 10.1016/j.oooo.2012.11.004.
- 14.- Pringle G. The role of human papillomavirus in oral disease. *Dent Clin North Am* 2014; 58 (2): 385-99. doi: 10.1016/j.cden.2013.12.008.
- 15.- Zur Hausen, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 342-50. doi:10.1038/nrc798
- 16.- Chaturvedi A K, Engels E A, Anderson W F. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol*.2008; 26 (4): 612-9. doi: 10.1200/JCO.2007.14.1713
- 17.- Klein S L. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24 (6): 627-38. PMID: 10940438.
- 18.- Mravak-Stipetić M, Sabol I, Kranjčić I, Knežević M, Grace Mm. Human papillomavirus in the lesions of the oral mucosa according to topography. *PLoSOne* 2013; 29; 8 (7): e69736. doi: 10.1371/journal.pone.0069736.
- 19.- Anaya-Saavedra G, Flores-Moreno B, García-Carrancá A, Irigoyen-Camacho E, Guido-Jimenez M, Ramírez-Amador V. HPV oral lesions in HIV-infected patients: The impact of long term HAART. *J Oral Pathol Med*.2013; 42: 443-9. doi: 10.1111/jop.12032.
- 20.- Kreuter A, Wieland U. Human papillomavirus-associated diseases in HIV-infected men who have sex with men. *Curr Opin Infect Dis* 2009; 22 (2): 109-14. doi: 10.1097/QCO.0b013e3283229fc8.
- 21.- D'Souza G, Fakhry C, Sugar E S, Seaberg E C, Weber K, Minkoff H L, et al. Six-month natural history of oral versus cervical human papillomavirus infection. *Int J Cancer*. 2007; 121 (1): 143-50. doi: 10.1002/ijc.22667.
- 22.- Fakhry C, Gillison M L. Clinical implications of human papillomavirus in head and neck cancers. *J Clin Oncol* 2006; 10; 24 (17): 2606-11. doi: 10.1200/JCO.2006.06.1291.
- 23.- Kreimer A R. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 467-75. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-04-0551.
- 24.- Völter C, He Y, Delius H, Roy-Burman A, Greenspan J S, Greenspan D, et al. Novel HPV types present in oral papillomatous lesions from patients with HIV infection. *Int J Cancer* 1996; 16; 66 (4): 453-6. doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(19960516)66:4<453::AID-IJC7>3.0.CO;2-V.
- 25.- Beachler D C, D'Souza G, Sugar E A, Xiao W, Gillison M L. Natural history of anal vs oral HPV infection in HIV-infected men and women. *J Infect Dis* 2013; 15; 208 (2): 330-9. doi: 10.1093/infdis/jit170.
- 26.- Pinto L, Kemp T, Torres B, Isaacs-Soriano K, Ingles D, Abrahamsen M, et al. Quadrivalent human papillomavirus (HPV) vaccine induces HPV-specific antibodies in the oral cavity: results from the mid-adult male vaccine trial. *J Infect Dis* 2016; 214: 1276-83. doi: 10.1093/infdis/jiw359.