



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGIA**



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

**ESTUDIO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS PAPILOMA HUMANO EN LA
CAVIDAD BUCAL DE UN GRUPO DE INDIVIDUOS VIH+**

Br. Victor Briceño

Tutor (a):

**Lic. Maira Ávila,
Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Oncología y Hematología,
MPPS, Venezuela.**

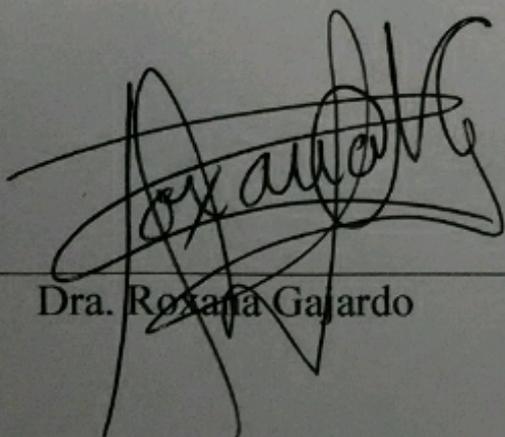
Caracas, Venezuela

Enero, 2018

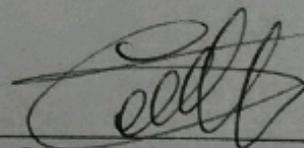
**DEL EXAMEN PÚBLICO Y SOLEMNE DEL TRABAJO ESPECIAL
DE GRADO DEL Br. VICTOR BRICEÑO**

Quienes suscribimos, miembros del jurado evaluador designado por el Consejo de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela para examinar el Trabajo Especial de Grado del Br. Victor Briceño, C.I: 19.764.323, titulado “**Estudio de la infección por el Virus Papiloma Humano en la cavidad bucal de un grupo de individuos VIH+**”, para optar al título de Licenciado en Biología, considerando que dicho trabajo cumple con los requisitos exigidos en los reglamentos respectivos lo consideramos **APROBADO** con **20 PUNTOS** y se sugirió otorgar Mención Honorífica.

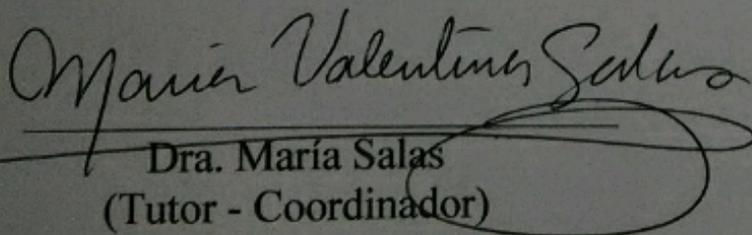
Para dar fe de ello se levanta la presente acta en Caracas, a los 5 días del mes de febrero del año 2018, dejando constar que la Prof. María Salas actuó como coordinadora del jurado examinador.



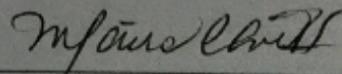
Dra. Roxana Gajardo



Dra. María Correnti



Dra. María Salas
(Tutor - Coordinador)



Lic. Maira Ávila
(Tutor)

AGRADECIMIENTOS

A Dios ante todo por llenar mi vida de buenas oportunidades, conducirme en el camino correcto y convertir mi vida en lo que deseo.

A la Facultad de Ciencias; de ella me llevo los conocimientos, amistades y recuerdos que forman gran parte de quién soy hoy día.

Al laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Hematología y Oncología MPPS por brindarme el espacio, equipos y reactivos necesarios.

Por su dedicación, empatía, paciencia y esfuerzo agradezco a mi tutora Lic. Maira Ávila que me acepto y guio en cada paso de este proyecto de grado, brindándome la seguridad y confianza necesarias para mi crecimiento profesional.

A la Lic. Dayahindara Veitía y Lic. Andreína Fernandes, por su constante ayuda, apoyo, consejos e interés brindado desde el primer día que llegué al laboratorio y hacerme sentir parte del equipo; gran parte de la finalización de este proyecto se los debo a ellas.

Indudablemente son excelentes profesionales y seres humanos, me siento muy afortunado de haber sido pasante en el laboratorio de Genética Molecular.

A la Dra. María Correnti por abrirme las puertas y permitirme encontrar un espacio para culminar mi carrera.

A mis tías Elsi Natalí Briceño y Rita Briceño, por ayudarme y apoyarme durante toda la carrera, sin ellas hubiese sido imposible comenzar y finalizar la misma.

A mi familia y amigos por su presencia en todo momento, apoyo incondicional e interés en mi formación como profesional, en especial a mi mamá y papá por hacer de mí una persona con carácter y valores, además, por todas las tazas de café que me prepararon durante la realización de la TESIS.

A mis hermanos por ayudarme a ser quien soy hoy en día.

A Katherine Silva, que desde el primer día creyó y confió en mí para culminar la carrera, gracias por ayudarme a ser una mejor persona y acompañarme en cada paso de la carrera y de mi vida, sin duda todo esto se lo debo a ella.

A todos, gracias.

INDICE

I.	RESUMEN	11
II.	INTRODUCCIÓN	13
1.	VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)	13
1.1.	Epidemiología.....	14
1.2.	Estructura del VIH.	15
1.3.	Genoma del VIH.....	16
1.4.	Replicación del VIH.....	18
1.5.	Vías de transmisión.....	22
1.6.	Historia natural de la infección.....	23
1.7.	Herramientas de diagnóstico y control para pacientes VIH+.....	26
1.8.	Manifestaciones bucales en pacientes VIH+.....	27
2.	VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (VPH)	29
2.1.	Epidemiología.....	29
2.2.	Estructura y Genoma de VPH.....	30
2.3.	Interacción de los genes E6 y E7 de VPH con proteínas del ciclo celular del hospedador.....	31
2.4.	Clasificación de VPH.....	32
2.5.	Vías de transmisión.....	33
2.6.	Ciclo de replicación.....	33
2.7.	Historia Natural de la Infección por VPH.....	35
2.8.	Manifestaciones bucales por VPH.....	37
2.9.	Factores de riesgo asociados a la infección con el VPH.	39

2.10.	Detección de VPH mediante ensayos moleculares.....	41
III.	ANTECEDENTES.....	42
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	48
V.	OBJETIVOS.....	49
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
1.	Grupo de estudio.....	50
2.	Grupo Control.....	50
3.	Metodología.....	51
3.1.	Recolección de las muestras de hisopados bucales.....	51
3.2.	Procesamiento de las muestras.....	51
3.3.	Interpretación de los Resultados.....	55
3.4.	Análisis estadístico.....	56
VII.	RESULTADOS.....	57
1.	Descripción de la muestra de estudio.....	57
1.1.	Características demográficas de la muestra de estudio.....	57
1.2.	Marcadores inmunitarios de la evolución de la enfermedad en la muestra de estudio.....	59
1.3.	Frecuencia y tipo de manifestaciones bucales presentes en la muestra de estudio.....	61
1.4.	Frecuencia de pacientes con antecedentes de ITS e infecciones oportunistas en la muestra de estudio.....	62
2.	Detección de la infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+....	64
2.1.	Frecuencia de la infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.....	64

2.2.	Frecuencia de Genotipos de VPH presentes en la cavidad bucal de paciente VIH+.....	65
2.3.	Frecuencia de infecciones simples y múltiples de VPH presentes en la cavidad bucal de pacientes VIH+.	67
3.	Correlación entre el contaje de linfocitos T CD4+ e infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.....	68
4.	Correlación entre la carga viral e infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.....	71
VIII.	DISCUSIÓN.....	72
IX.	CONCLUSIONES.....	86
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	88
XI.	ANEXOS.....	110

ÍNDICE DE TABLAS

- **Tabla 1.** Clasificación de la infección por el VIH de acuerdo a la edad y el contaje o porcentaje total de linfocitos T CD4+.....23
- **Tabla 2.** Reactivos para la preparación de la mezcla de PCR.....53
- **Tabla 3.** Condiciones de amplificación de la PCR.....53
- **Tabla 4.** Características demográficas de la muestra de estudio.....59
- **Tabla 5.** Marcadores inmunitarios de la muestra de estudio.....61
- **Tabla 6.** Frecuencia de infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.....65
- **Tabla 7.** Frecuencia de la infección por VPH de bajo y alto riesgo oncogénico en la cavidad bucal de pacientes VIH+.....66
- **Tabla 8.** Frecuencia de la infección por VPH de acuerdo a las categorías de linfocitos T CD4+ (CDC) en la cavidad bucal de pacientes VIH+.....71
- **Tabla 9.** Frecuencia de infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+ en relación a los valores de carga viral plasmática.....71

INDICE DE FIGURAS

- **Figura 1.** *Distribución Mundial del VIH*.....15
- **Figura 2.** *Esquema de la estructura del VIH*.....16
- **Figura 3.** *Genoma de VIH*.....17
- **Figura 4.** *Ciclo de replicación del VIH*.....21
- **Figura 5.** *Regulación de la expresión génica del VHI-1 desde el provirus integrado al genoma celular*.....22
- **Figura 6.** *Curso de la infección con VIH-1*.....25
- **Figura 7.** *Mapa genético de VPH tipo 16*.....30
- **Figura 8.** *Replicación de las partículas del virus del papiloma humano (VPH)*.....35
- **Figura 9.** *Historia natural de la infección con el VPH*.....37
- **Figura 10.** *Pacientes VIH+ con y sin manifestaciones bucales*.....62
- **Figura 11.** *Frecuencia de pacientes VIH+ con antecedentes de infecciones de transmisión sexual (ITS)*.....63
- **Figura 12.** *Frecuencia de pacientes VIH+ con antecedentes de infecciones oportunistas*..64
- **Figura 13.** *Frecuencia de infecciones simples y múltiples de VPH presentes en la cavidad bucal de pacientes VIH+*.....67
- **Figura 14.** *Frecuencia de infecciones simples y múltiples de VPH presentes en la cavidad bucal de pacientes VIH+*.....68
- **Figura 15.** *Promedio de linfocitos T CD4+ en pacientes VIH+ con y sin infección por VPH en la cavidad bucal*.....69
- **Figura 16.** *Promedio de linfocitos T CD4+ en pacientes VIH+ con y sin infección por VPH en la cavidad bucal*.....70

- **LISTA DE ABREVIATURAS**

- ADN: Ácido desoxirribonucleico.
- ARN: Ácido ribonucleico.
- ARNcs: Ácido ribonucleico de cadena sencilla.
- ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.
- CAPEI: Centro de Atención de Personas con Enfermedades Infectocontagiosas.
- CDC: Acrónimo del inglés; Centers for Disease Control and Prevention
- CMV: Citomegalovirus.
- CVM: Carga Viral Plasmática.
- ELISA: Acrónimo del inglés; Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
- HAART: Acrónimo del inglés, Highly Active Antiretroviral Therapy, Terapia Antirretroviral Altamente Activa.
- HSH: Hombres que tienen sexo con hombres.
- INNTR: Inhibidores de transcriptasa reversa no análogos de nucleósidos.
- INTR: Inhibidores de transcriptasa reversa análogos de nucleósidos y nucleótidos.
- IP: Inhibidores de proteasa.
- ITS: Infección de transmisión sexual.
- LCR: Acrónimo del inglés; Long Control Region, región larga de control.
- LTR: Acrónimo del inglés; Long Terminal Repetition, repeticiones terminales largas.
- MC: Molusco contagioso.
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- ONUSIDA

- PCR: Acrónimo del inglés; Polymerase Chain Reaction, Reacción en Cadena de la Polimerasa.
- SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida.
- TBC: Tuberculosis.
- TJ: Acrónimo del inglés; Tight Junctions, uniones estrechas.
- VEB: Virus Epstein Barr.
- VHB: Virus de Hepatitis B.
- VHC: Virus de Hepatitis C.
- VHS: Virus Herpes Simple.
- VHS: Virus Herpes Simple.
- VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana.
- VIH+: VIH positivo.
- VIH-: VIH negativo.
- VPH: Virus de Papiloma Humano.
- VPH-AR: VPH de alto riesgo oncogénico
- VPH-BR: VPH de bajo riesgo oncogénico.
- VZV: Virus Varicela Zóster.

I. RESUMEN

La infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se han convertido en un problema de salud mundial sin precedentes en la historia contemporánea. En pacientes VIH positivos (VIH+), se ha descrito que durante el curso de la enfermedad presentarán alguna manifestación bucal, debido a infecciones bacterianas, micóticas o virales, y que las mismas pueden representar el primer signo de la enfermedad, por lo que tienen un importante valor pronóstico. Entre las infecciones virales, se ha reportado que el Virus papiloma humano (VPH) en estos pacientes, tiene la capacidad de inducir papilomas, condilomas acuminados, verrugas vulgares, entre otras lesiones en la cavidad bucal. A pesar, que la prevalencia global de las manifestaciones bucales de la enfermedad por VIH ha cambiado desde que se utiliza la Terapia Antirretroviral Altamente Activa (HAART; acrónimo del inglés Highly Active Antiretroviral Therapy), algunos estudios muestran un incremento de la incidencia de papilomas, condilomas e hiperplasia epitelial focal, en pacientes con HAART. Por esta razón, el presente estudio tuvo como objetivo realizar la detección y tipificación de VPH en la cavidad bucal, de un grupo de pacientes VIH+ atendidos en el Centro de Atención de Pacientes con Enfermedades Infecciosas (CAPEI) de la Facultad de Odontología-UCV, mediante el empleo de la Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR; acrónimo del inglés Polymerase Chain Reaction) y el empleo del Sistema de Hibridación Reversa de INNO-LiPA, que detecta simultáneamente hasta 28 genotipos de VPH de alto y bajo riesgo oncogénico. En Este estudio, los resultados muestran que la infección por VPH se detectó en el 61,3%, encontrándose mayor frecuencia de infección con genotipos de VPH de bajo riesgo oncogénico (84,2%), seguida de un 68,4% de infección con genotipos de alto riesgo

oncogénico. Los genotipos más frecuentes fueron el VPH-6 y VPH-18, detectados en el 73,7% y 57,9% de las infecciones, respectivamente. Así mismo, el 74% de los pacientes que presentaron infección por VPH en la cavidad bucal con VPH, presentaron infecciones múltiples genotipos. A pesar de que en esta investigación no se observó una relación estadísticamente significativa entre el conteo de linfocitos T CD4+ y la infección por VPH, se pudo observar una mayor frecuencia de infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes con menor conteo de linfocitos T CD4+. Así mismo, tampoco se observó relación entre la carga viral en sangre y la infección por VPH en cavidad bucal. Es importante mencionar que los resultados de esta investigación coinciden con diferentes trabajos, que reportan una alta frecuencia de detección de VPH en cavidad bucal en pacientes VIH+, además de la presencia de infecciones con múltiples genotipos de VPH en pacientes VIH+ bajo HAART.

II. INTRODUCCIÓN

1. VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)

El virus de Inmunodeficiencia humana (VIH), es el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). En la actualidad, la infección por este virus es una pandemia generalizada que abarca a todos los países y está caracterizada por una alteración del sistema inmunitario con una progresiva disminución de los linfocitos T CD4+, que origina una profunda inmunosupresión con diversas particularidades clínicas, incluidas las infecciones oportunistas, las neoplasias malignas y la degeneración del sistema nervioso central (Greenspan y col., 1990; Kabbas y col., 1995; Ceballos y col., 2000; Grandó y col., 2003).

Hasta el momento, se han registrado más de 40 manifestaciones bucales asociadas con la infección por VIH, que pueden agruparse según su origen en: micóticas, bacterianas y virales, las cuales han sido consideradas como un indicador de inmunosupresión temprana y de progresión de la enfermedad (Arendorf y col., 1998; Díaz y col., 2000). El espectro de las manifestaciones bucales de la infección por VIH depende del estado de inmunosupresión, la vía de contagio y de algunos factores étnicos, geográficos, sociales y demográficos (Boraks, 2004). Sin embargo, en las últimas décadas con la introducción de la Terapia Antiretroviral Altamente Activa (HAART), se ha modificado la incidencia de lesiones oportunistas y se ha provisto de una alternativa que ha permitido alargar y mejorar la calidad de vida de los pacientes y llevar esta enfermedad infecciosa a un estado de cronicidad (Boraks, 2004).

1.1. Epidemiología.

Desde el comienzo de la epidemia en 1981, se estima que 78 millones de personas han contraído la infección por VIH, y han fallecido alrededor de 35 millones a causa de enfermedades relacionadas con el SIDA, hasta finales del año 2015. Para finales de este mismo año, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el programa conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) estimaron que alrededor de 36,7 millones de personas estaban contagiadas con VIH a nivel mundial, de las cuales 2 de millones de estas personas vivían en América Latina y El Caribe (Figura 1). Así mismo, África Oriental y Meridional constituyen la región con la mayor población de personas infectadas con VIH (19 millones de personas), seguido por África Occidental y Central, con 6,5 millones de personas infectadas con el VIH (ONUSIDA, 2017).

Se estima que desde el año 2010 no ha habido reducciones en nuevas infecciones por el VIH en adultos y 2,1 millones de personas contrajeron la infección por el VIH para finales del año 2015. En cuanto a las muertes relacionadas con el SIDA, para este mismo año se estimó que habían disminuido en un 45% desde las máximas registradas en el año 2005 (alrededor de 2 millones). Más recientemente, en junio de 2016, se estimó que menos de la mitad de las personas infectadas con el VIH (18,2 millones; aprox. 46%) tuvieron acceso a HAART (ONUSIDA, 2017).

En Venezuela, ONUSIDA estimó que para finales del año 2015 cerca de 110 mil personas vivían con VIH. La prevalencia en adultos entre 15 y 49 años es de 0,5 %, y se producen alrededor de 3.300 muertes debidas al VIH/SIDA.



Figura 1. *Distribución Mundial del VIH*. Tomada de http://www.who.int/gho/hiv/epidemic/hiv_001.jpg (Consulta: 09 de marzo de 2017).

1.2. Estructura del VIH.

El VIH pertenece al género *Lentivirus*, de la familia *Retroviridae*. Se han identificado 2 virus capaces de producir SIDA, genética y antigénicamente diferentes: VIH-1 y VIH-2 cuyos genomas tienen una similitud entre 40-50%, siendo el VIH-1 el tipo más común y de mayor distribución mundial, mientras que VIH-2 es endémico en África occidental y central, y ahora se está diseminando en India (Dimmok y col., 2007). Diferentes autores, han descrito que el VIH-1 es más virulento (Dimmok y col., 2007; Murphy y col., 2008) y que además existen diferentes grupos o clados relacionados evolutivamente. La clasificación de clados (A, B, C, D, F, G, H, J y K) se basa únicamente en la secuencia y difieren enormemente en su distribución geográfica. La mayoría del VIH-1 en el mundo desarrollado es clado B, el virus en África es clado A, C, D, y en la India es clado C (Dimmok y col., 2007).

Los viriones del VIH son partículas esféricas con un diámetro de 80-100 nm. Está constituido por tres capas (Figura 2). La exterior es una bicapa lipídica, formada por las

glicoproteínas Gp120 y Gp41, las cuales actúan en el momento de la unión del virus a la célula hospedadora. La capa intermedia está constituida por la nucleocápside icosaédrica y la capa interior está constituida por dos copias de un genoma de ARN de cadena simple (ARNcs) (Levy, 2007). Además, contiene numerosas copias de enzimas que son necesarias en los pasos iniciales de la infección y la replicación del genoma, antes de que se produzcan nuevas proteínas víricas (Murphy y col., 2008).

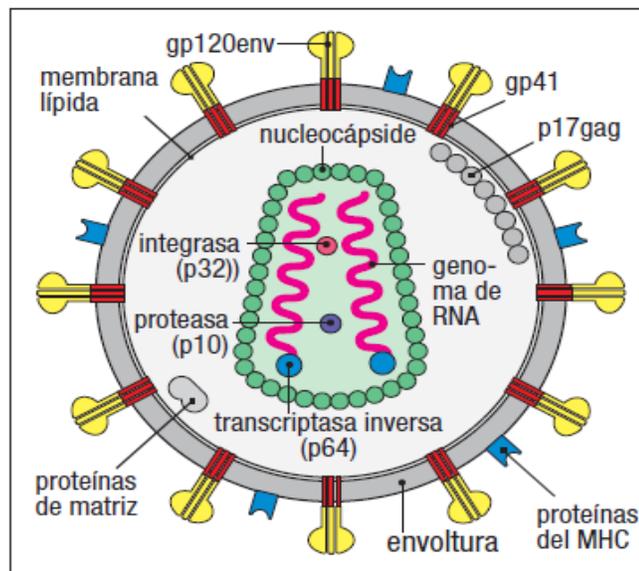


Figura 2. Esquema de la estructura del VIH. Tomado de Murphy y col., 2008

1.3. Genoma del VIH.

El genoma del VIH es un ácido ribonucleico de cadena sencilla (ARNcs) de polaridad positiva, donde cada virión tiene dos hebras idénticas, asociadas por uniones no covalentes. El genoma consta de nueve genes flanqueados por secuencias de repetición terminales largas (LTR; acrónimo del inglés *Long Terminal Repetition*). Estas últimas son necesarias para la integración del provirus al ADN de la célula hospedadora, y contienen sitios de unión para proteínas reguladoras que controlan la expresión de los genes víricos

(Murphy y col., 2008). Las proteínas estructurales son codificadas por los genes *gag*, *pol* y *env* (Figura 3), cuyas secuencias ocupan la mayor parte del genoma viral, quedando sólo una parte menor para el resto de los genes (Dimmok y col., 2007). El gen *gag*, codifica las proteínas estructurales del centro vírico; *pol*, las enzimas que participan en la replicación e integración vírica, y *env*, las glucoproteínas de la cubierta vírica (Dimmok y col., 2007; Murphy y col., 2008). El VIH tiene otros seis genes de menor tamaño, que codifican para las proteínas involucradas en la replicación y la infectividad vírica con actividad reguladora positiva o negativa. Dos de estas proteínas, Tat y Rev, efectúan funciones reguladoras esenciales para la replicación, Tat es un regulador positivo de transcripción y Rev induce la exportación de transcritos de ARN mensajero (ARNm) sin procesar y parcialmente procesados desde el núcleo. Los cuatro genes restantes, *nef*, *vif*, *vpr* y *vpu*, son esenciales para la reproducción eficiente del virus *in vivo* (Figura 3) (Murphy y col., 2008).

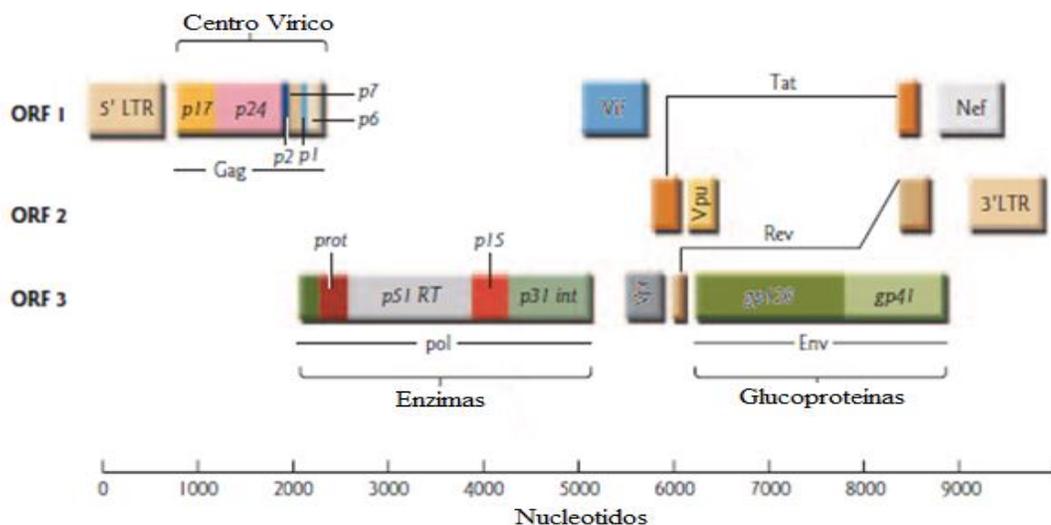


Figura 3. Genoma de VIH. La escala indica el tamaño del genoma en nucleótidos. Se muestra los marcos de lectura abierta (ORFs; Open Reading Frames), los genes *gag*, *pol* y *env*, y el producto de la transcripción de los mismos. Tomado de Dimmok y col., 2007.

1.4. Replicación del VIH.

1.4.1. Adsorción y penetración.

El tropismo celular del VIH está determinado por la expresión de receptores específicos para el virus sobre la superficie celular y la mayoría de las infecciones tienen lugar a través de la superficie mucosa del tracto genital (Dimmok y col 2007). El virus se une a las proteínas de membrana CD4 del linfocito T mediante Gp120 y Gp41, que sufre un cambio conformacional. Esta unión causa la fusión de la cubierta vírica con la membrana celular y la liberación del centro vírico hacia el citoplasma (Murphy y col., 2008). El éxito de la infección por VIH también requiere la presencia de los receptores de quimioquinas, CCR5 o CXCR4 (Dimmok y col., 2007), que se expresan de modo predominante sobre células dendríticas, macrófagos y linfocitos T CD4+ (Murphy y col., 2008). Luego de ingresar a la célula las dos moléculas de ARN son transcritas en forma reversa en una molécula lineal de ADN de doble cadena, mediante la transcriptasa inversa. La transcriptasa inversa es una enzima de tipo ADN-polimerasa, que tiene como función sintetizar ADN de doble cadena utilizando como molde ARNcs. También ayuda en la formación de una doble hélice de ADN una vez que el ARN ha experimentado una transcripción inversa. El proceso de transcripción inversa es muy propenso a errores y es durante este paso que las mutaciones pueden ocurrir. Luego de la síntesis en el citoplasma, el ADN viral o provirus es transportado al núcleo y se integra a la cedula hospedadora, esta reacción es mediada por una integrasa (Figura 4) (Dimmok y col 2007).

1.4.2. Transcripción.

Los ARN mensajeros virales pueden agruparse en tres poblaciones: ARNm no procesados, ARNm parcialmente procesados y ARNm procesados (Figura 5). Al igual que los ARNm celulares, todos los ARNm virales poseen estructura Cap (mGpppG) en su extremo 5' y una cola poli (A) en su extremo 3'. La activación de células T CD4+ induce la expresión de los factores de transcripción NFκB y NFAT, que se unen a la región LTR e inician la transcripción del genoma del virus. Los transcritos completamente procesados son exportados al citoplasma utilizando la maquinaria de exporte celular, donde son traducidas las proteínas reguladoras Tat y Rev. Tat aumenta la transcripción desde el provirus y se une a los ARNm, estabilizándolo en forma que pueden traducirse, Rev se une al ARNm induciendo su translocación hacia el citoplasma. A medida que se incrementan las concentraciones de Rev, el ARN se exporta desde el núcleo con mayor rapidez, antes de que pueda procesarse, los transcritos parcialmente procesados y no procesados son exportados desde el núcleo con la asistencia de la proteína viral Rev, de modo que se pueden producir las proteínas estructurales y el genoma. Los transcritos parcialmente procesados dan origen a las proteínas Env, Vpu, Vif, y Vpr. El transcrito no procesado o completo codifica para las poliproteínas virales gag y gag-pol (Figura 5), de esta manera se producen los componentes estructurales del centro y la cubierta viral, junto con la transcriptasa inversa, la integrasa y la proteasa vírica, todas las cuales se necesitan para formar nuevas partículas de virus. Las transcripciones completas son los nuevos genomas víricos, los cuales se empaquetan con estas proteínas para formar numerosas partículas víricas nuevas (Figura 4) (Dimmok y col 2007; Murphy y col., 2008).

1.4.3. Ensamblaje.

Una vez sintetizadas las proteínas virales, deben ser procesadas de forma post-traducciona antes de ensamblarse en partículas virales maduras. En este proceso participan las proteínas virales Vif, Vpu; una proteasa celular que lleva a cabo el procesamiento de la proteína Gp160 en Gp41 y Gp120; y la proteasa viral, que procesa la poliproteína precursora gag-pol. El procesamiento por la proteasa viral es esencial en la maduración del VIH, por lo que supone una diana importante en el desarrollo de fármacos (Figura 4) (Murphy y col., 2008).

1.4.4. Liberación.

Finalmente, una vez que han madurado los viriones y se han ensamblado correctamente las proteínas virales, el ensamble se desplaza a la membrana celular donde se recubre de la membrana lipídica y de las glicoproteínas de superficie Gp41 y Gp120 adheridas a ella y los nuevos virus son liberados por gemación (Figura 4) (Murphy y col., 2008).

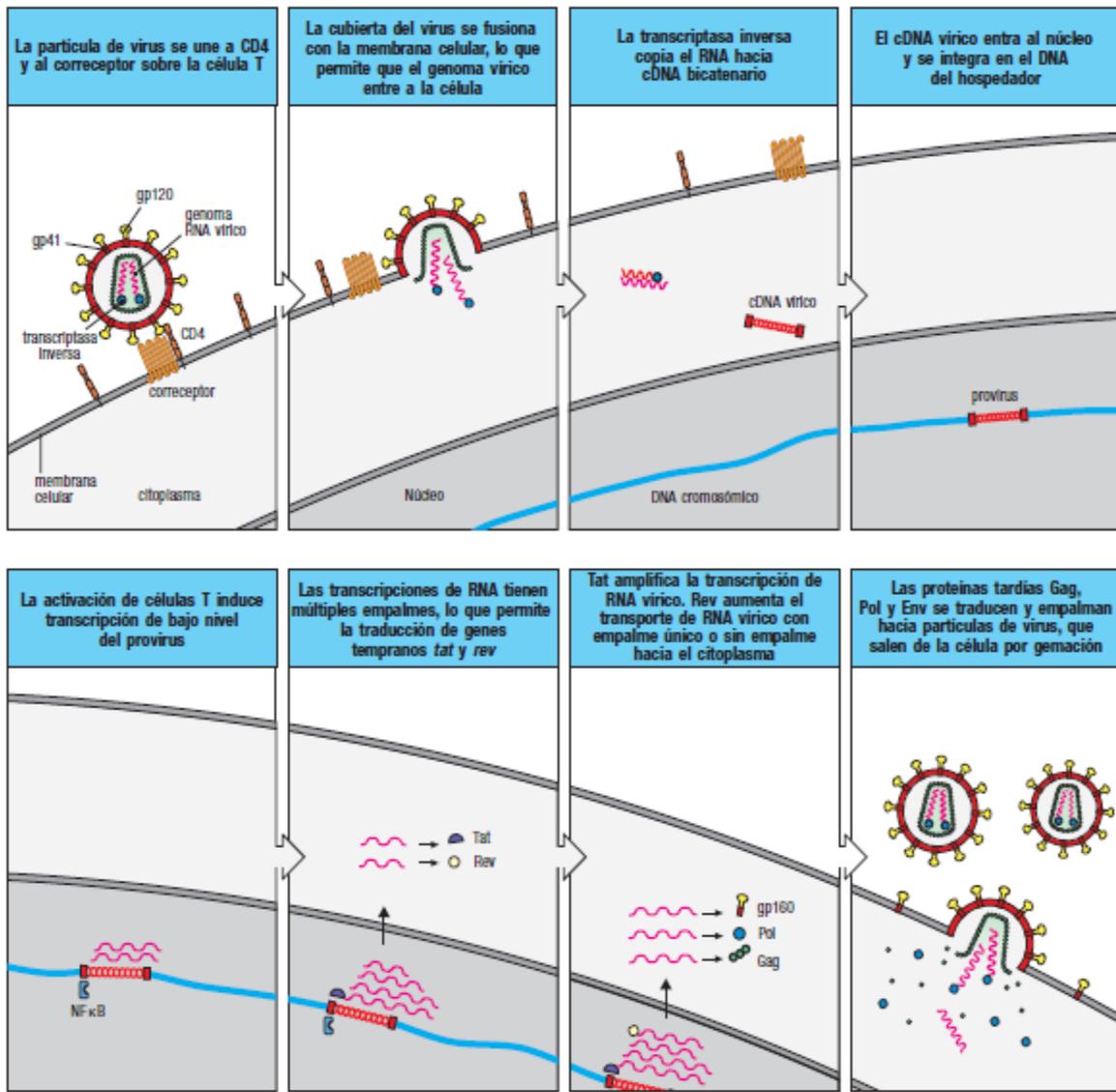


Figura 4. Ciclo de replicación del VIH. Tomado de Murphy y col., 2008

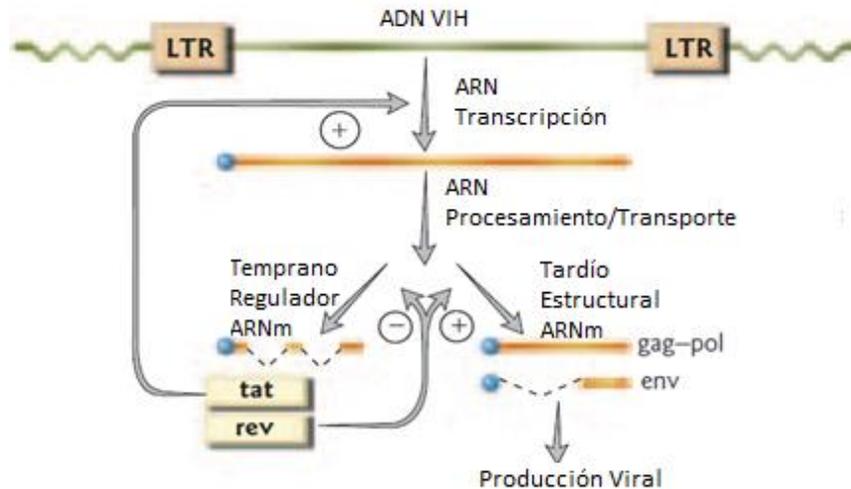


Figura 5. Regulación de la expresión génica del VIH-1 desde el provirus integrado al genoma celular. Ocurre en dos fases: expresión temprana de los genes reguladores *tat* y *rev* y la expresión tardía de los genes estructurales. Tomado de Dimmok y col., 2007.

1.5. Vías de transmisión.

La infección se transmite por diversas vías, siendo la sexual la más frecuente por lo que la mucosa genital es el sitio predominante para la infección primaria (Murphy y col., 2008). El virus es portado principalmente en células infectadas que expresan la proteína de membrana CD4, o como un virus libre en la sangre, semen, líquido vaginal o leche materna. La vía de transmisión sanguínea, puede corresponder a transfusiones de sangre, derivados sanguíneos contaminados, uso de drogas intravenosas con agujas contaminadas entre los consumidores de drogas (Murphy y col., 2008), y existe un riesgo similar con los profesionales clínicos que no disponen de esterilización efectiva para las jeringas y agujas hipodérmicas (Dimmok y col., 2007). La transmisión vertical ocurre fundamentalmente durante el parto, o por medio de la leche materna. Los índices de transmisión desde una madre infectada hacia un niño varían desde 11% hasta 60% dependiendo de la gravedad de la infección y la frecuencia del amamantamiento (Murphy y col., 2008).

1.6. Historia natural de la infección.

Se caracteriza por la secuencia de eventos especialmente celulares, representada por la destrucción de los linfocitos T CD4+. Clínicamente la secuencia de estados corresponde a las fases de: infección primaria, infección asintomática o período de latencia clínica, infección sintomática precoz, y etapa de manifestaciones clínicas o SIDA. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC; acrónimo del inglés Centers for Disease Control and Prevention) del Departamento de Salud y Servicios Humanos de EEUU, ha categorizado la infección en 5 etapas (0, 1, 2, 3 y desconocida) según el recuento o porcentajes de linfocitos T CD4+ en el momento del diagnóstico, debido a que el conteo de T CD4+ es útil en el monitoreo de la progresión de la enfermedad (Tabla 1) (Frieden y col., 2014).

Tabla 1. Clasificación de la infección por el VIH de acuerdo a la edad y el conteo o porcentaje total de linfocitos T CD4+. Tomado CDC, 2014 (Frieden y col., 2014).

Etapas	Edad y conteo de linfocitos T CD4+					
	Menor a 1 año de edad		1–5 años de edad		Mayor a 6 años de edad	
	cél/mm ³	%	cél/mm ³	%	cél/mm ³	%
1	≥1,500	≥34	≥1,000	≥30	≥500	≥26
2	750–1,499	26–33	500–999	22–29	200–499	14–25
3	<750	<26	<500	<22	<200	<14

1.6.1 Infección primaria.

Se presenta en el 50% a 90 % de los pacientes y aparece entre 1 a 6 semanas tras la exposición al virus. El cuadro clínico consiste en un síndrome mononucleósico caracterizado por la presencia de fiebre, adenopatías, faringitis y rash. La mayoría de los

pacientes tienen linfocitosis atípica en el hemograma. En este período el recuento de linfocitos T CD8+ aumenta y el de T CD4+ disminuye transitoriamente, para luego tender a alcanzar los niveles previos a la infección. La carga viral del VIH, aumenta a niveles superiores de 10^5 copias/mL de sangre, para luego disminuir como resultado de la respuesta inmunitaria humoral y celular del hospedero, alrededor de los 4 a 6 meses. Durante este período ocurre la seroconversión que normalmente tarda entre 2 a 6 semanas desde la exposición (Figura 6) (De Berrazuela y col 2007; Frieden y col., 2014).

1.6.2 **Infección asintomática o período de latencia clínica.**

Este período se extiende desde el momento de la seroconversión con o sin manifestaciones del síndrome retroviral agudo, hasta el momento que aparecen las primeras manifestaciones de la enfermedad y puede durar de meses hasta años. Durante esta fase existe una replicación constante del virus, particularmente a nivel de los tejidos linfoides que constituyen el mayor reservorio del VIH. En este período, además del deterioro inmunitario progresivo, existe el riesgo evidente de transmitir la infección a otras personas. Esta etapa tiene una duración variable que fluctúa entre los 5 a 11 años, manteniendo un conteo de linfocitos T CD4+ mayor a 500 cél/mm^3 (Figura 6) (De Berrazuela y col., 2007; Frieden y col., 2014).

1.6.3 **Infección sintomática precoz.**

Este período se inicia cuando los linfocitos T CD4+ descienden por debajo de las 500 cél/mm^3 de sangre, ocurre progresivamente un aumento de la carga viral lo que se relaciona con el descenso de los linfocitos T CD4+ (Figura 6). Durante esta etapa, inician los primeros síntomas clínicos que incluyen infecciones oportunistas, manifestaciones

bucales, fiebre, más de un episodio de herpes zoster, pérdida de peso, diarrea crónica, entre otros. Esta etapa tiene una duración variable y de no suministrar al paciente terapia antirretroviral y/o profilaxis de las principales infecciones oportunistas, es seguida rápidamente por las manifestaciones clásicas del SIDA (De Berrazuela y col., 2007; Frieden y col., 2014)

1.6.4 Etapa de manifestaciones clínicas - SIDA.

La definición de SIDA corresponde a la presencia de infecciones oportunistas o neoplasias, y está caracterizada por un recuento de linfocitos T CD4+ menor a 200 $\text{cél}/\text{mm}^3$ (Frieden y col., 2014). La carga viral, es elevada y frecuentemente alcanza niveles superiores a 10^5 copias/mL. Las infecciones y neoplasias ocurren preferentemente cuando el recuento de linfocitos T CD4+ desciende por debajo de las 200 $\text{cél}/\text{mm}^3$ (Figura 6), pero el tipo de cuadro oportunista dependerá principalmente de la virulencia del agente (ver Anexo 3) (De Berrazuela y col., 2007; Frieden y col., 2014).

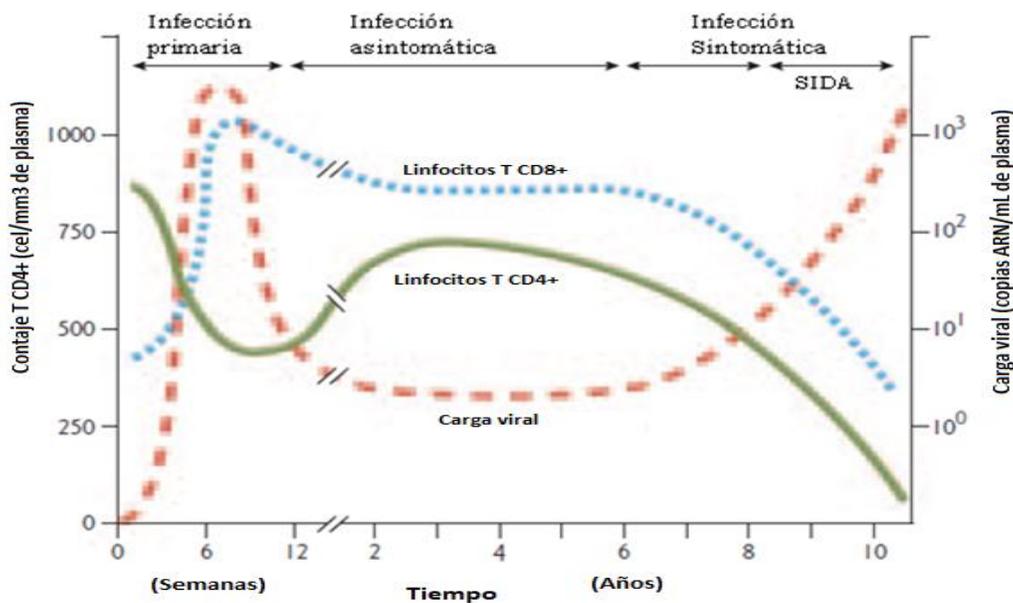


Figura 6. Curso de la infección con VIH-1. Tomado y modificado de Dimmok y col., 2007.

1.7. Herramientas de diagnóstico y control para pacientes VIH+.

1.7.1. Detección de anticuerpos específicos contra VIH.

El diagnóstico de infección por VIH, se realiza mediante la detección de anticuerpos específicos que el organismo produce como respuesta a la presencia del virus, utilizando el ensayo ELISA (acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*: ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas), que tiene una especificidad y sensibilidad del 99% (Chávez y Castillo, 2013).

1.7.2. Recuento de linfocitos T CD4+.

Por otra parte, el conteo de los linfocitos T CD4+ y la carga viral en sangre se utilizan para evaluar la evolución de la enfermedad (Mellors y col., 1997). El recuento de linfocitos T CD4+ es el mejor marcador de la función inmunitaria y su descenso está correlacionado con el riesgo a desarrollar infecciones oportunistas (De Berrazuela y col., 2007; Noda y col., 2013). Para el conteo de células T CD4+, se utiliza la técnica de citometría de flujo con la finalidad de estadificar la infección y como referencia para iniciar profilaxis contra infecciones oportunistas; así mismo, es un indicador de respuesta al tratamiento antirretroviral.

1.7.3. Carga Viral Plasmática (CVP).

La carga viral en sangre permite establecer el riesgo de progresión o transmisibilidad, además de monitorear la efectividad del tratamiento antirretroviral. Actualmente la CVP es un criterio secundario para el inicio de la terapia, complementario

al recuento de linfocitos T CD4. La carga viral en sangre se determina mediante la técnica PCR en tiempo real (McCoy, 2002; Mellors y col., 2007).

1.7.4. Tratamiento Antirretroviral.

La Terapia Antiretroviral Altamente Activa o HAART es el principal avance terapéutico logrado en los últimos años, cuya finalidad ha sido reducir drásticamente la mortalidad de la infección y ha permitido colocarla en la categoría de enfermedad crónica grave, controlable, aunque no curable hasta este momento (Murphy y col., 2008).

Los principios básicos de la terapia son: el tratamiento combinado con varias drogas (usualmente 3); el tratamiento permanente, y la necesidad de un alto grado de adherencia o cumplimiento (mayor al 95%) tanto en las dosis como en los horarios y en la continuidad (sin interrupciones). Actualmente hay 6 familias de antirretrovirales aprobados y con uso clínico: Inhibidores de fusión a la membrana celular, inhibidores de los correceptores, inhibidores de transcriptasa reversa análogos de nucleósidos y nucleótidos (INTR), inhibidores de transcriptasa reversa no análogos de nucleósidos (INNTR), inhibidores de la integrasa, e inhibidores de proteasa (IP). Todos interfieren en diversos procesos del ciclo de replicación viral y no en las células hospederas. Una excepción es la inhibición del correceptor, que actúa a nivel de la célula CD4 (Murphy y col., 2008).

1.8. Manifestaciones bucales en pacientes VIH+.

A medida que progresa la enfermedad, el deterioro del sistema inmunitario se refleja en un aumento en la incidencia de enfermedades e infecciones oportunistas. Entre el 70% al 90% de las personas infectadas con VIH, presentan manifestaciones bucales en algún estadio, y en ocasiones estas manifestaciones son el primer signo de la enfermedad (Schiodt

y col., 1989; Arendorf y col., 1998; Scully y col., 1991; Porter y Scully, 1994; Greenwood y col., 2002; Shiboski, 2002; Cherry-Peppers y col., 2003; Delgado y col., 2004).

Las manifestaciones bucales incluyen: candidiasis bucal, leucoplasia vellosa, sarcoma de Kaposi, eritema lineal gingival, gingivitis ulcerativa necrotizante, periodontitis ulcerativa necrotizante y linfoma no Hodgkin, todas asociadas a la reducción de linfocitos T CD4+ y cargas virales altas y medias (Scully y col., 1991; Porter y Scully, 1994; Mellors y col., 1997; Ceballos y col., 1998; Patton y col., 1998; Tetali y col., 1998, Mascarenhas y col., 1999; Milzman y Milzman, 1999; Patton y Shugars, 1999; Patton, 1999, Greenspan y col., 2001; Delgado y col., 2004; Coogan y col., 2005).

Así mismo, se ha reportado que en individuos VIH+, la presencia de las lesiones ulcerosas de origen desconocido y de larga evolución se debe en muchas ocasiones a infecciones virales, siendo las localizaciones más frecuentes: la mucosa labial y bucal (27%), lengua (25%) y encía (18%). Los agentes infecciosos de origen viral que pueden estar implicados en estas lesiones son: citomegalovirus, virus herpes simple y virus papiloma humano, que puede inducir la aparición de tumores benignos autolimitados, como es el caso de los papilomas, condilomas y de algunas lesiones con potencial maligno que pueden evolucionar a carcinomas (Miller y White., 1996).

En este sentido, en años recientes se ha reportado que la infección por el VIH está fuertemente asociada con una alta prevalencia e incidencia de la infección por VPH en cavidad bucal (Challacombe y col., 2002; Birnbaum y col., 2002., Beachler y col., 2015, Muller y col., 2015), así como la persistencia y progresión de lesiones escamosas intraepiteliales (de Vuyst y col., 2008). Así mismo, se ha observado un incremento en el desarrollo de cáncer de ano, cérvix, pene, vagina, vulva e incluso orofarínge, asociados con

la infección de VPH entre pacientes con VIH/SIDA (Palefsky, 2003; Chaturvedi y col., 2009). Es importante mencionar, que el riesgo de presentar este tipo de neoplasias se ha visto incrementado por la coexistencia de algunos factores de riesgo, tales como el consumo de tabaco y la inmunosupresión atribuida a los pacientes VIH+ (Gillison, 2009). El incremento en la detección de lesiones bucales y cáncer reportado en pacientes VIH+, se han atribuido a la mayor esperanza de vida de los individuos que reciben HAART (Greenspan y col., 2001; Anaya y col., 2013).

2. VIRUS DE PAPILOMA HUMANO (VPH).

2.1. Epidemiología.

Es la infección de transmisión sexual de origen viral más común en el mundo. La incidencia a nivel mundial es de aproximadamente el 10% y se estima que el riesgo de exposición a la infección en las personas sexualmente activas es de un 50% a 80% a lo largo de la vida, esto varía de acuerdo a la edad y la localización geográfica (Hathaway, 2012).

A pesar de que está bien establecido que la infección persistente con VPH de alto riesgo oncogénico (VPH-AR), es la causa de cáncer cervical y sus lesiones precursoras: neoplasias y lesiones intraepiteliales cervicales de alto y bajo grado, así como los adenocarcinomas *in situ* (Muñoz y col., 2003; Padilla, 2005; Naucler y col. 2007; Heideman y col., 2008; Roland y col., 2011; Hathaway, 2012; Oaknin y col., 2012), en los últimos años ha cobrado un interés particular el estudio de estos virus en la cavidad bucal debido a su asociación con diferentes patologías benignas y malignas en dicha localización (Escalona y col., 2011).

2.2. Estructura y Genoma de VPH.

Estos virus pertenecen al género Papilomavirus, familia *Papillomaviridae*. Cada partícula viral posee una cápside icosaédrica, compuesta de 72 capsómeros, con un tamaño de 50 nm. El genoma es una hebra de ADN doble cadena circular (ADNdc), de aproximadamente 8.000 pares de bases (Figura 7), dividida en tres regiones: una región de expresión temprana “E” (Early), que codifica para las proteínas virales (E1, E2, E4, E5, E6 y E7), necesarias para la replicación del ADN viral, la regulación de la transcripción y la transformación e inmortalización celular; una región de expresión Tardía “L” (Late), que codifica para proteínas estructurales (L1 y L2) y una región reguladora conocida como región larga de control o *LCR* (*Long Control Region*), que controla la replicación y la expresión del genoma viral (McMurray y col., 2001).

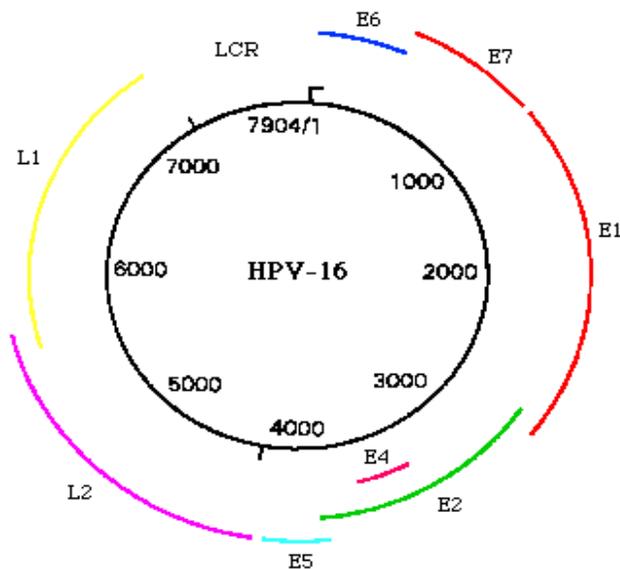


Figura 7. Mapa genético de VPH tipo 16. Tomado de Cortés y Leal, 2001.

2.3. Interacción de los genes *E6* y *E7* de VPH con proteínas del ciclo celular del hospedador.

Uno de los eventos claves en la carcinogénesis por VPH, es la integración del genoma de los VPH-AR en el cromosoma del hospedador que conduce a una sobreexpresión de las oncoproteínas *E6* y *E7*, debido a que el producto de los genes *E1* y *E2* que reprime la actividad del promotor P97 para los genes *E6* y *E7*, son deletados preferencialmente después de la integración del genoma (Bernard y col., 1989; Dyson y col., 1989; Lorincz y col., 1992; Scheffner y col., 1993; zur Hausen ,H. 1996; Demeret y col., 1997; Francis y col., 2000).

2.3.1. Gen *E6*

Este gen codifica una proteína de 150 aminoácidos, cuya importancia en el cáncer reside en su efecto sobre el gen supresor de tumor *p53*. Las alteraciones en dicho gen, incluyendo las deleciones, inserciones y mutaciones puntuales, son los acontecimientos genéticos más frecuentes en numerosos tipos de carcinomas. La función normal de la proteína *p53* incluye un incremento transitorio de su expresión cuando se produce daño en el ADN, que lleva a detener el ciclo celular en la fase G1. Este paro permite la reparación del ADN; si ésta no es posible, la célula sufrirá apoptosis. La proteína *E6* estimula también la degradación de *p53* a través de una vía proteolítica selectiva dependiente de ubiquitina. La proteína *E6* de los tipos de alto riesgo oncogénico, tienen una mayor afinidad por *p53*, si se comparan con los tipos de bajo riesgo oncogénico (Scheffner y col., 1993).

2.3.2. Gen E7

El gen *E7*, codifica una proteína de aproximadamente 100 aminoácidos. Se ha demostrado que la asociación de la proteína E7 de los genotipos de VPH 6, 11, 16 y 18 con pRb, una proteína codificada por el gen del retinoblastoma (*Rb*), un gen supresor de tumor, es un evento crítico para mantener un medio celular apropiado en el hospedador que ayude a la replicación del genoma viral. La proteína E7 de VPH se une a la proteína pRb y disocia el complejo E2F-Rb, estimulando la transcripción de los genes celulares. Se ha demostrado que ciertas infecciones persistentes con baja carga viral generan un fenotipo tumoral efectivo (Dyson y col., 1989).

Las infecciones por VPH con alta carga viral son capaces de producir grandes cantidades de unidades de proteína E6 y E7, cuya acumulación en pacientes con sistemas inmunitarios incompetentes al bloquear la acción de los genes *p53* y *Rb* incrementan el riesgo de transformación maligna (Ha y Califano, 2004).

2.4. Clasificación de VPH

Hasta el momento, se han identificado en base a las secuencias de ADN viral, más de 120 genotipos, de los cuales aproximadamente 40 han sido aislados del tracto anogenital por causar lesiones y cáncer cervical (Muñoz, 2000).

Basados en su asociación con el cáncer cervical y las lesiones precursoras, estos virus pueden agruparse en tipos de alto y bajo riesgo. Los tipos 6, 11, 42, 43 y 44, están comúnmente asociados con el condiloma acuminado y displasias menores, razón por la cual se les ha denominado de "bajo riesgo oncogénico"; mientras que los tipos 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45 están asociados al desarrollo de carcinoma *in situ* y carcinoma invasor y son

considerados de "alto riesgo oncogénico". Así mismo se han asociado al desarrollo de otros cánceres como: cáncer anal, vaginal, vulva, pene e incluso cáncer en cavidad bucal (Reimers y col., 2009).

2.5. Vías de transmisión

Estos virus son altamente específicos de especie y tejidos, mostrando un tropismo exclusivo por las células epiteliales de las mucosas y de la piel. La infección por VPH ocurre fundamentalmente de persona a persona a través de las relaciones sexuales, aumentando el riesgo conforme aumenta el número de parejas sexuales. Aunque son posibles, las vías de transmisión genital distintas al coito, son menos comunes. A pesar de que la infección oral y digital de tipos del VPH es un hecho establecido, el riesgo de transmisión por contacto digital-genital u oral-genital parece ser mínimo (González y Nuñez, 2014). Estudios realizados por Gutman y col., en el año 1993 y Summersgill y col., en el año 2001, sugieren una posible transmisión por saliva y autoinoculación, respectivamente. De modo similar, la infección por el VPH mediante transmisión perinatal también ocurre, ya que se ha detectado ADN viral y anticuerpos séricos en bebés y niños. Sin embargo, los datos disponibles sugieren que se trata de casos poco frecuentes y con pocas probabilidades de desencadenar una infección persistente (Tanti y col., 1999).

2.6. Ciclo de replicación.

Estos virus infectan las células basales a través de micro lesiones presentes en la superficie de los epitelios. Hasta ahora, no se ha podido identificar el receptor que permite la entrada del VPH a las células epiteliales (Hernández y col., 2004). El ciclo de replicación puede dividirse en dos etapas:

2.6.1. **Etapa No productiva:**

El genoma viral permanece como un elemento extracromosomal en forma de episoma. Este evento ocurre en las células basales del epitelio estratificado, donde el virus replica su ADN para mantener un número de 50-100 copias del genoma dentro de las células basales y parabasales. Al dividirse la célula infectada, una de las células hijas permanece en la parte basal del epitelio, mientras que la otra célula inicia un proceso de diferenciación en la parte superior del epitelio. El virus estimula la progresión de la fase celular G1-S en una célula diferenciada y de esta forma produce un ambiente adecuado para la replicación del ADN (Hernández y col., 2004).

2.6.2. **Etapa Productiva:**

El genoma viral se amplifica aumentando el número de copias en la célula y se expresan los genes tardíos que codifican las proteínas de la cápside. Los promotores tardíos que regulan la transcripción del ARNm que codifica las proteínas de la cápside (L1 y L2), se activan solamente en células parcialmente diferenciadas. La síntesis de las proteínas de la cápside sólo ocurre durante la diferenciación celular, dado que puede observarse exclusivamente en los estratos superiores del epitelio y no en las placas basales. De esta forma las células infectadas y parcialmente diferenciadas amplifican el ADN viral en la capa granular, transcriben y traducen los genes tardíos en la parte superior del epitelio, donde se ensamblan las partículas virales infecciosas (Figura 8) (Hernández y col., 2004).

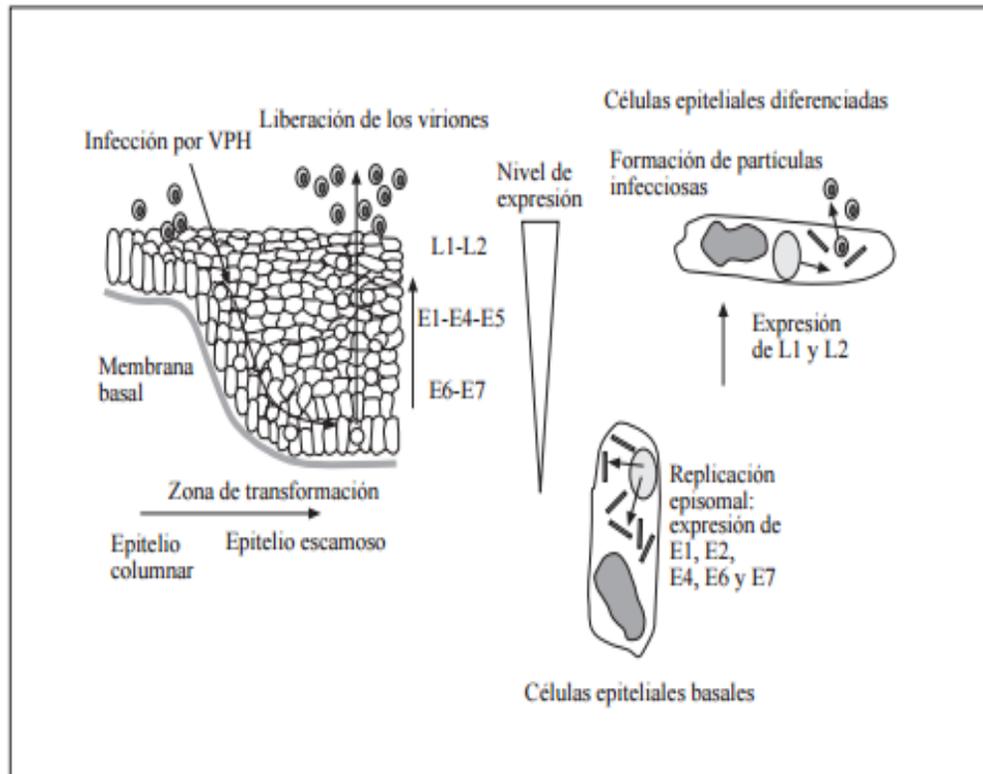


Figura 8. Replicación de las partículas del virus del papiloma humano (VPH). En las células basales, la expresión de los genes virales está controlada por factores celulares, mientras que, en los estratos superiores, las células infectadas amplifican el genoma viral. Finalmente, las partículas virales son liberadas a lo largo de las células escamosas, las cuales son exfoliadas a la superficie del epitelio. Tomado de Hernández y col., 2004.

2.7. Historia Natural de la Infección por VPH.

La evolución natural de una enfermedad puede definirse como el curso clínico de la misma, cuando no sufre alteraciones por intervenciones terapéuticas. La infección por VPH es esencialmente una enfermedad de transmisión sexual que puede ser asintomática tanto en hombres como en mujeres. El VPH infecta principalmente el epitelio escamoso y puede

producir una infección clínica, subclínica o latente. Estas tres manifestaciones pueden ocurrir o recurrir durante la infección. (Castellsagué, 2008).

La manifestación clínica habitual de la infección son los condilomas acuminados. La infección subclínica es de gran importancia, ya que al no ser aparentes las lesiones, se facilita el contagio. La infección latente, sin evidencia clínica ni histológica, sólo es posible detectarla con métodos de biología molecular para la detección del ADN viral. Se desconoce el tiempo y las condiciones para que una infección latente evolucione a clínica o subclínica (Moscicki y col., 2006).

El período de incubación de la infección se ha determinado experimentalmente en humanos, siendo de 3 a 4 meses, aunque algunas lesiones aparecen hasta 2 años después de la inoculación. La duración típica de la infección es corta, por lo que se estima una prevalencia e incidencia similares. El tiempo medio hasta la regresión de dicha infección oscila desde 4-6 meses hasta 1- 2 años en distintos estudios, dependiendo de las estrategias de seguimiento y de las definiciones empleadas (Moscicki y col., 2006).

La infección persistente con VPH de alto riesgo oncogénico puede generar lesiones premalignas al cabo de un año, de persistir la infección se pueden desarrollar lesiones premalignas de alto grado a los 5 años de la infección. Durante este período, se ha observado el aclaramiento espontáneo de la infección debido a la respuesta inmunitaria hasta en el 80 % de los casos. Si la infección no es eliminada y persiste durante diez años o más, puede ocurrir la progresión hacia un carcinoma *in situ* o un carcinoma invasor (Figura 9). Sin embargo, es importante mencionar que para que ocurra la progresión hacia malignidad, además de la infección con virus de alto riesgo, debe existir inestabilidad genética e integración del virus al genoma del hospedador (Reimers y col., 2009).

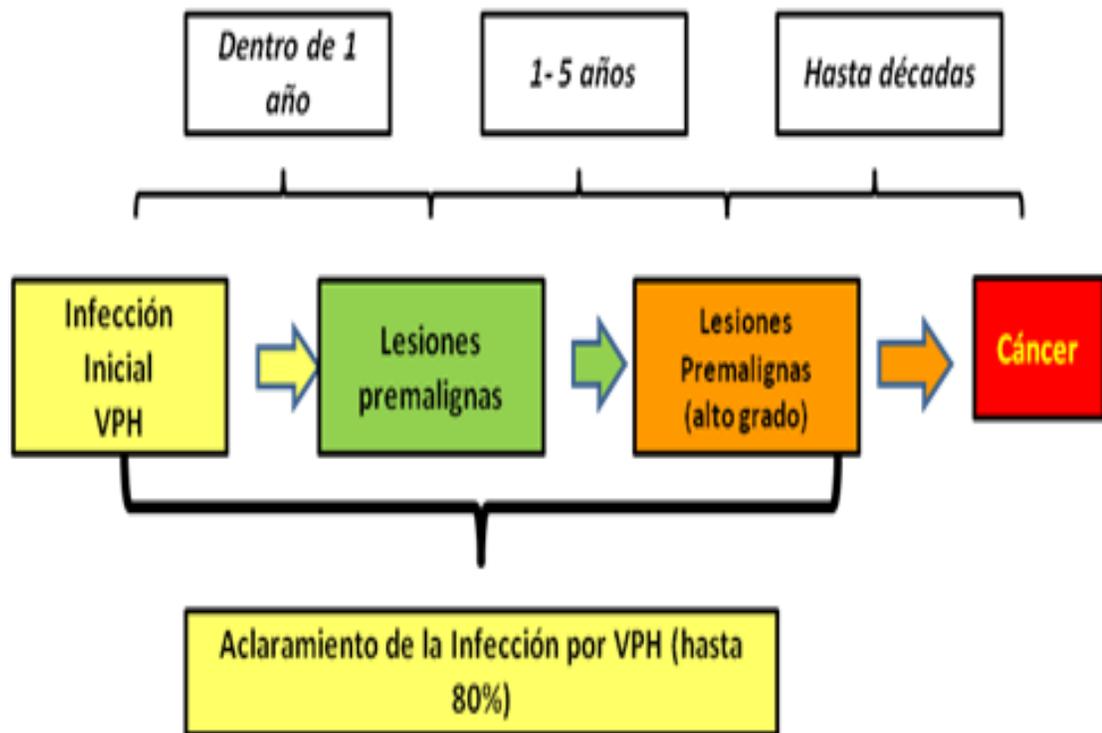


Figura 9. Historia natural de la infección con el VPH. Tomado y modificados de Reimers y col., 2009.

2.8. Manifestaciones bucales por VPH.

Estos virus son responsables de múltiples manifestaciones en la mucosa bucal, caracterizadas generalmente por lesiones vegetantes, verrugosidades o lesiones papulares. La incidencia de la enfermedad en la cavidad bucal ha aumentado, debido que la vía sexual (sexo oro-genital) es una de las principales vías de contagio, lo que también permite que cada vez más exista un mayor número de diagnósticos de VPH-AR oncogénico en la cavidad bucal (Martínez y col., 2012). Entre las lesiones bucales benignas producidas por estos virus, se incluyen: el papiloma bucal, verruga vulgar bucal, condiloma acuminado

bucal e hiperplasia epitelial multifocal, mientras que las lesiones premalignas o malignas se incluyen; la leucoplasia y el carcinoma escamocelular (Kumar y col., 2010).

2.8.1. **Verruga vulgar:**

Las Verrugas Orales son consecuencia de la infección por el VPH-2 y se han reducido drásticamente en la era de la HAART. Estas lesiones tienen apariencia exofítica, pediculada y con una superficie plana (Narani y col., 2001).

2.8.2. **Condiloma acuminado:**

El condiloma acuminado es una lesión asociada con los genotipos 6 y 11 y tienden a aparecer en la mucosa bucal, en zonas no queratinizadas como los labios, paladar blando, suelo de la boca y bordes laterales de la lengua. Algunas de estas lesiones bucales son consecuencia de la autoinoculación en individuos con lesiones en genitales (Narani y col., 2001). Las lesiones intrabucuales pueden ser únicas o múltiples y, en general, al principio son pápulas ligeramente elevadas con un color similar al de la mucosa normal. Las pápulas tienden a coalescer y formar lesiones de mayor tamaño. Estas lesiones son frecuentes en los pacientes VIH+ y la localización es similar a la observada en pacientes VIH negativos (VIH-), sin embargo, el número de lesiones es mayor en los pacientes con infección por VIH. Las lesiones de mayor tamaño tienden a interferir con la masticación y ocasionalmente, la mordedura de las mismas produce sangrado (Tong y Mutasim, 1996).

2.8.3. **Papilomas**

Son hiperplasias epiteliales benignas de larga evolución y crecimiento lento. Se presentan habitualmente como una masa única, bien delimitada, aunque también pueden ser múltiples. Son lesiones exofíticas, pediculadas, cuya superficie presenta proyecciones digitiformes visibles macroscópicamente. Se pueden encontrar con frecuencia en la boca,

sobre todo en la úvula, el paladar, la lengua y los labios. Su tamaño no suele superar los 10mm. En los pacientes VIH+ estas lesiones presentan características idénticas a las presentes en los pacientes inmunocompetentes, a excepción de su aparición, que es más brusca en los primeros y con un curso evolutivo más corto (Narani y col., 2001).

2.8.4. Hiperplasia epitelial multifocal

La hiperplasia epitelial multifocal se localiza con mayor frecuencia en las mucosas labial, lingual y bucal. Clínicamente se caracteriza por presentar lesiones múltiples, solo en raras ocasiones son únicas y son asintomáticas (van Wick y col., 1977; Pilgard, 1984; Ledesma y col., 1992; Tong y Mutasim, 1996; Carlos y Sedano, 1994). Suelen ser elevaciones redondeadas bien definidas, con la superficie lisa del mismo color de la mucosa que las rodea, de 0.1 y 0.5 cm de diámetro, a veces, de varios centímetros por la confluencia de varios nódulos más pequeños. En ocasiones pueden ser rugosas, con aspecto papilomatoide y confundirse con papilomas. Son de crecimiento lento y no se ha observado transformación neoplásica maligna. Esta enfermedad tiene preferencia por afectar a la población infantil y ocasionalmente a los adultos con predilección por las mujeres (Buchner y Ramón, 1973; Jarvis y Gorlin, 1989).

Estas lesiones se han asociado a los genotipos de VPH 13 y 32 (Hernández y col., 1987; Garlick y col., 1989; Henke y col., 1989; Garlick ,1991; Padayachee y van Wick, 1991). En los pacientes seropositivos, es más frecuente la recurrencia y la tendencia a la diseminación (Moerman y col; 2001).

2.9. Factores de riesgo asociados a la infección con el VPH.

Los factores de riesgo asociados con la infección por VPH están relacionados con el comportamiento sexual, la edad de inicio de las relaciones sexuales, un alto número de

parejas sexuales a lo largo de la vida y el contacto sexual con individuos de alto riesgo (García y col., 2009; Beachler y col., 2015; Muller y col., 2015). El número de compañeros sexuales se encuentra relacionado de manera directamente proporcional al riesgo de infección por el VPH (García y col., 2009).

Diversos estudios realizados por Kreimer y col., 2004; van Aar y col., 2014; Muller y col., 2015 y Beachler y col., 2015, sugieren que en la cavidad bucal de pacientes VIH+ la detección y el incremento de la infección por VPH observada con respecto a individuos VIH-, se debe a factores tales como: la edad, el sexo, un bajo recuento de linfocitos T CD4+, así como el comportamiento sexual. Otros factores que pueden aumentar el riesgo de infecciones por VPH en pacientes VIH+ incluyen: senescencia inmune, envejecimiento, alteración de la respuesta inmunitaria al virus e interacción directa entre los dos virus (Vernon y col., 1993; Kim y col., 2008; Syrjanen, 2011).

En este sentido, los resultados de estudios longitudinales sugieren que el riesgo de adquisición de la infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+, se incrementa con el grado de inmunosupresión y el sexo oral, mientras que el riesgo de persistencia de la infección por estos virus en cavidad bucal se incrementa por: edad avanzada, sexo masculino y tabaquismo (Beachler y col., 2015; Muller y col., 2015). Como ocurre con las infecciones anogenitales, las infecciones bucales por VPH parecen ser a menudo transitorias, sin embargo, algunas infecciones persisten por un período de hasta 2 años (Beachler y col., 2015).

2.10. Detección de VPH mediante ensayos moleculares.

Los métodos usados para el diagnóstico de la infección por VPH, están basados principalmente en la detección del ADN viral y han sido agrupados en ensayos de alta sensibilidad como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), ensayos de moderada sensibilidad como el Southernblot y de baja sensibilidad como la hibridación *in situ* (Miller y White, 1996), siendo la técnica de la PCR la más utilizada debido a su alta sensibilidad, accesibilidad y bajo costo (Molijn y col., 2005).

III. ANTECEDENTES

Dado que en los pacientes VIH+ las manifestaciones bucales tienen un importante valor pronóstico y son consideradas como un indicador de inmunosupresión temprana y de la progresión de la enfermedad (Arendorf y col., 1998, Díaz y col., 2000), en los últimos años ha cobrado especial interés la identificación de infecciones virales particularmente de los VPH en cavidad bucal. En este sentido, es importante destacar que la prevalencia global de las manifestaciones bucales ha cambiado desde que se utiliza HAART. Con esta terapia se ha observado una reducción significativa de algunas lesiones como la Leucoplasia Velloso Oral y la Periodontitis Ulcero necrotizante o Gingivitis Ulcero necrotizante Aguda, entre otras, sin observarse una reducción de la incidencia de Candidiasis bucal, Ulceras bucales o del Sarcoma de Kaposi. Así mismo, se ha reportado que el grado de reconstitución inmune alcanzado con esta terapia controla otras infecciones oportunistas asociadas con el SIDA causadas por virus, tales como el Virus Herpes Simple (VHS), el Citomegalovirus (CMV), y el Virus Epstein Barr (VEB), entre otros (Reimers y col., 2010). En contraste, otros estudios muestran un marcado incremento de la incidencia de verrugas orales, condilomas e hiperplasia epitelial multifocal por VPH, en pacientes tratados con HAART (Schmidt y col., 2000; Greenspan y col., 2001; King y col., 2002; Cameron y col., 2005).

Con respecto a las neoplasias malignas orofaríngeas relacionadas con la infección por VPH, algunas investigaciones llevadas a cabo por Clifford y col., 2005; Engels y col., 2008; Patel y col., 2008 en población estadounidense VIH+, han reportado un incremento en su incidencia, a pesar de la amplia disponibilidad de HAART. En particular, el riesgo a desarrollar cáncer orofaríngeo, anal y cervical (todos los cuales pueden estar asociados con

el VPH) es de 3 a 60 veces mayor entre los pacientes infectados por el VIH, en la era moderna del HAART (Greenspan y col., 2001).

Un estudio realizado por D'Souza y col., en el año 2007, mostró que el uso y el aumento de la duración de HAART estuvo asociado con la presencia de VPH en la cavidad bucal, detectándose con más frecuencia la infección por VPH en aquellos pacientes con uso de HAART por más de 5 años, que en los pacientes que no se encontraban bajo terapia.

De manera consistente, diversos estudios han reportado que los individuos VIH+ presentan infección con VPH en la cavidad bucal entre un rango del 14% hasta un 87%, una proporción sustancialmente superior a la reportada en individuos VIH- (Coutlee y col., 1997; Kreimer y col., 2004; D'Souza y col., 2007; Fatahzadeh y col., 2012; Read y col., 2012; Beachler y col., 2012; Mooij y col., 2013; van Aar y col., 2014; Beachler y col., 2015; Muller y col., 2015).

En el año 1997, Coutlée y col., realizaron un estudio un grupo de 287 individuos sexualmente activos, de los cuales 178 eran VIH+ y 109 eran individuos VIH-, con el objetivo de determinar la prevalencia de infecciones por VPH en la cavidad bucal, y encontraron que el 14% de los individuos VIH+ presentaban infección por VPH, de los cuales el 12% presentaban infección con genotipos de alto riesgo oncogénico.

En este sentido, una investigación llevada a cabo por Kreimer y col., 2004, donde realizaron la detección y tipificación de VPH en 396 muestras de mucosa bucal de pacientes VIH- y 190 de pacientes VIH+, se encontró una mayor prevalencia de la infección por VPH (25,3% vs 7,6%; $p < 0.001$), y de VPH-AR oncogénico en los pacientes VIH+ (13.7% vs 4.5%; $p < 0.001$). Otro estudio realizado por Cameron y col., 2005 en

muestras de saliva de 98 pacientes VIH+ bajo HAART reportó la presencia de VPH en un 37% de la muestra de estudio.

En el año 2008, una investigación realizada por Richter y col., para evaluar la presencia de VPH en la cavidad bucal de mujeres VIH+ con un conteo de linfocitos T CD4+ menor a 300 células/ μ L, reportó un 20% de infección por VPH que incluían genotipos de alto riesgo oncogénico. Así mismo, en un estudio similar realizado por Marais y col., 2008 en 33 muestras de hisopado bucales de mujeres VIH+, reportó un 33% de infección por VPH en las muestras, de las cuales el 12% presentaban infección con genotipos de alto riesgo oncogénico.

En nuestro país, una investigación realizada por Escalona y col., en el 2011 donde se evaluaron muestras de fluido crevicular para detectar y tipificar el VPH de pacientes VIH+ con o sin HAART, reportó que el 46% de los pacientes bajo terapia antirretroviral presentaban infección por VPH, mientras que los pacientes que no recibieron terapia, no presentaron infección de VPH. Así mismo, este estudio reportó que el 66,6% de las muestras positivas para VPH presentaban los genotipos 6 y 11, de bajo riesgo oncogénico.

Parisi y col., en el 2011 en una investigación realizada en hombres VIH+ que tienen sexo con hombres (HSH), con el fin de determinar la prevalencia de la infección con VPH de alto y bajo riesgo oncogénico en la cavidad bucal y ano, reportaron que la prevalencia de la infección con VPH-AR oncogénico entre las muestras positivas para el VPH, fue similar tanto en la cavidad bucal como en ano, con 24,3% y 20,9%, respectivamente.

Un estudio similar llevado a cabo por Mooij y col., en 2013, con el objetivo de determinar la presencia de VPH-AR oncogénico en la mucosa bucal de 767 HSH, de los

cuales 314 eran VIH+, reportó que el 24,4% de los individuos VIH+ presentaban infección por VPH, mientras que en los individuos VIH- el virus solo estuvo presente en el 8,8%. Así mismo se observó que el 24,8 % de los pacientes positivos para VPH presentaban infecciones con genotipos de alto riesgo, siendo el genotipo más común el VPH-16.

Un estudio realizado en el año 2012 por Read y col., para evaluar la prevalencia de VPH cavidad bucal en un grupo de 249 HSH VIH+ a partir de muestras de hisopado bucal encontraron infección por VPH en el 19% de las muestras, de las cuales en el 8% se detectó la presencia de VPH-16 de alto riesgo oncogénico. Además, encontraron una asociación estadísticamente significativa entre la detección de VPH en cavidad bucal y el hábito tabáquico.

En el año 2012 Beachler y col., realizaron una investigación en 379 pacientes VIH+ y 266 pacientes VIH-, para detectar VPH a partir de muestras de hisopado bucal, y observaron que la prevalencia fue del 35% para pacientes VIH+ y de 18% en pacientes VIH-. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p<0.05$). Así mismo, reportaron que el genotipo más común fue el VPH-16 y reportaron una fuerte correlación entre el estado de inmunosupresión y la detección de VPH en la cavidad bucal.

Otra investigación llevada a cabo este mismo año por Del Mistro y col., a partir de 100 muestras de saliva de individuos VIH+, que incluyeron hombres y mujeres homosexuales y heterosexuales, detectaron presencia de infección por VPH en el 37% de las muestras, y reportaron un 13% de prevalencia de VPH-16 de alto riesgo oncogénico. Otro estudio realizado en el año 2013 por Videla y col., en 733 hombres VIH+, reportó un 16% de infección por VPH en la cavidad bucal de estos pacientes, siendo el genotipo más común el tipo 16.

Fatahzadeh y col., 2013 en una investigación realizada en 52 muestras de enjuague bucal de individuos VIH+, con el fin de detectar la presencia de VPH, reportó que el 87% de los individuos presentaban infección por VPH, de los cuales 23% presentaron VPH-AR oncogénico, y 40% VPH-BR oncogénico. Por otra parte, encontraron una relación estadísticamente significativa entre la detección de VPH en relación al aumento de la carga viral del VIH.

Recientemente, una investigación similar llevada a cabo por Muller y col., 2015, en muestras de enjuague bucal de 161 pacientes VIH+ bajo HAART y 128 pacientes VIH-, detectaron la presencia del virus en el 32% de los pacientes VIH+ y 16% en los pacientes VIH-. En este estudio el genotipo VPH-16 se detectó en el 8% de los pacientes VIH+ y en el 2% de los pacientes VIH-, observándose, además, una relación estadísticamente significativa entre el conteo de linfocitos T CD4+ y la detección de VPH en cavidad bucal.

Por su parte, Beachler y col., en 2015 en otro estudio donde también se evaluó la presencia de VPH en muestras de enjuague bucal de 761 pacientes VIH+, se observó que el 34% de las mismas presentaban infección por VPH. Además se encontró una relación estadísticamente significativa, entre la detección del virus y el bajo conteo de linfocitos T CD4+ y otros factores de riesgo como el número de parejas sexuales. Adicionalmente, encontraron que: el sexo masculino, la edad avanzada y el hábito tabáquico incrementaron el riesgo de persistencia de la infección por VPH en la cavidad bucal.

Por último, en la investigación realizada por Shiboski y col., 2016 con el objetivo de determinar la presencia y el tipo de virus presente en la cavidad bucal de 338 pacientes VIH+, 12 semanas antes y 18 semanas después de iniciar HAART, reportó que el 18% tenía al menos un genotipo de VPH presente antes de iniciar la HAART. Así mismo, luego

de 12-24 semanas de haber iniciado tratamiento con HAART el 24% tenía al menos un genotipo de VPH.

IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, las manifestaciones bucales en los pacientes VIH+ tienen un importante valor pronóstico, debido a que la gran mayoría de estos individuos presentarán alguna manifestación bucal durante el curso de la enfermedad, que estarán relacionadas con el estado de inmunosupresión y la carga viral. En este sentido, diversos estudios han reportado un incremento de lesiones bucales debidas a la infección por el VPH, entre ellas: papilomas, condilomas acuminados, verrugas vulgares, hiperplasia epitelial multifocal, a pesar de la introducción de HAART.

En nuestro país, existen pocas investigaciones que correlacionan la carga viral con el conteo de linfocitos T CD4+ y la presencia de VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+. Es por esto, que este tipo de estudios donde se correlaciona el conteo de linfocitos T CD4+, la carga viral de VIH y la detección de la infección por VPH en la cavidad bucal, empleando métodos moleculares altamente sensibles y específicos, en conjunto con un examen odontológico exhaustivo de la cavidad bucal, son de vital importancia en el seguimiento, así como en la aplicación de un tratamiento más efectivo y oportuno en aquellos pacientes con infecciones por VPH-AR oncogénico, que presentan mayor riesgo de desarrollar neoplasias malignas en la cavidad bucal.

V. **OBJETIVOS**

- Objetivo general:
 - Establecer la frecuencia de la infección por Virus Papiloma Humano (VPH) en la cavidad bucal de un grupo de pacientes VIH+.
- Objetivos específicos:
 - Realizar la extracción de material genómico viral, a partir de muestras de hisopado bucal de pacientes VIH+.
 - Realizar la detección de la infección por VPH, a partir de muestras de hisopado bucal de pacientes VIH+.
 - Realizar la tipificación de VPH, a partir de muestras de hisopado bucal de pacientes VIH+.
 - Correlacionar la presencia de la infección por VPH con el conteo de linfocitos T CD4+ y la carga viral en pacientes infectados con el VIH.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Grupo de estudio:

Se incluyeron 31 pacientes mayores de edad, con diagnóstico confirmado de infección por el VIH, que acudieron al Centro de Atención a Personas con Enfermedades Infectocontagiosas (CAPEI), de la Facultad de Odontología, de la Universidad Central de Venezuela, entre los meses de enero a mayo de 2017. A cada uno de los pacientes se invitó a participar en el estudio, con previa información del diseño y protocolo. Seguidamente, se recolectaron los datos clínicos provenientes de la historia clínica (contaje de linfocitos T CD4+, carga viral de VIH, edad, sexo) y cada uno firmó un consentimiento informado, aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UCV.

1.1 Criterios de selección.

1.1.1 Inclusión:

- Pacientes atendidos en el CAPEI con diagnóstico conocido de infección por VIH, mayores de edad, con registro de la carga viral para VIH y registro del contaje de linfocitos T CD4+ en la historia clínica.

1.1.2 Exclusión:

- Mujeres embarazadas, pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus, pacientes que consumieran antidepresivos y pacientes con tratamiento de ortodoncia.

2. Grupo Control:

Se incluyeron 10 individuos mayores de edad, sanos, sin infección por VIH que acudieron a los Servicios Clínicos de la Facultad de Odontología, de la Universidad Central de Venezuela, entre los meses de enero a mayo de 2017. A cada uno de los individuos se invitó a participar en el estudio, con previa información del diseño y protocolo.

Seguidamente se recolectaron los datos personales y cada uno firmó un consentimiento informado, aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UCV.

2.1. Criterios de Selección.

2.1.1. Inclusión:

- Individuos sanos, seronegativos para VIH, mayores de edad, sin tratamiento de ortodoncia.

2.1.2. Exclusión:

- Individuos seropositivos para VIH, con tratamiento de ortodoncia.

3. Metodología.

3.1. Recolección de las muestras de hisopados bucales.

Para la recolección de las muestras de hisopados bucales, un odontólogo del CAPEI, realizó un examen extra e intrabucal de la cavidad bucal, para verificar lesiones en tejidos blandos y duros. Posteriormente, con el hisopo de dacrón se realizó un barrido por la mucosa oral que incluyó: lengua, borde de lengua, piso de boca, paladar y carrillo. Seguidamente, el hisopo fue colocado en un tubo con medio de transporte y se llevó al Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Oncología y Hematología, donde se almacenó a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

3.2. Procesamiento de las muestras:

3.2.1. Extracción del ADN viral.

El ADN genómico se obtuvo utilizando el estuche comercial PureLink™ Genomic DNA Kits de Invitrogen. El hisopo contenido en el tubo con el medio de transporte, se agitó con el vórtex durante 15 segundos. Luego, la solución se trasvasó a un tubo eppendorf de 1.5 mL y se centrifugó a 20.000 g durante 10 min a 4 °C. Se descartó el sobrenadante y

el sedimento celular se resuspendió en: 180 µL del buffer de lisis y 20 µL proteinasa K, se agitó con el vórtex durante 5 segundos y posteriormente se incubó en un bloque térmico con agitación a 55°, durante 5 min. A la solución se le agregaron 20 µL de RNAasa y se dejó reposar durante 2 min a temperatura ambiente (25 °C ± 2 °C). Posteriormente, se le agregaron 200 µL de buffer de enlazamiento (BF), se mezcló por inversión y se añadieron 200 µL de Etanol al 100 %. La solución se trasvasó a la columna y se centrifugó a 10.000 g durante 1 min a 4 °C, el eluyente se descartó. Luego, se agregaron 500 µL de buffer de lavado 1 (W1) y luego se centrifugó a 10.000 g durante 1 min a 4 °C, el eluyente se descartó. Luego se agregó 500 µL de buffer de lavado 2 (W2), y se centrifugó a 20.000 g durante 3 min a 4 °C, el eluyente se descartó. Por último, se cambió la columna a un tubo eppendorf, se agregó 50 µL de buffer de elución (BE) y se centrifugó a 20.000 g a 4 °C durante 1 min, obteniendo el ADN en solución.

3.2.2. Detección y Tipificación de VPH mediante el Sistema de Hibridación Reversa de INNO-LiPA- HPV Genotyping Extra de INNOGENETICS.

Una vez extraído el material genómico se procedió a detectar y tipificar el VPH. Para ello se utilizó el Kit INNO- LiPA HPV Genotyping Extra de INNOGENETICS, que está basado en el principio de hibridación reversa. Parte de la región L1 del genoma de VPH es amplificado y los amplicones biotinilados de 65 pb desnaturalizados son hibridados con sondas de oligonucleótidos específicas, las cuales son inmovilizadas en tiras de membranas que contienen 28 secuencias específicas de VPH. Este sistema detecta los genotipos de bajo riesgo oncogénico: 6, 11, 40, 43, 44, 54 y 70; los tipos de alto riesgo oncogénico: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82. Así mismo, genotipos probables de alto riesgo, tales como: 26, 53, 66, 69/71 y 74. Después de la

hibridación y el lavado astringente, la estreptavidina conjugada a fosfatasa alcalina se agrega a los híbridos biotinilados formados previamente. La incubación con el cromógeno BCIP/NBT produce un precipitado púrpura y los resultados se pueden interpretar visualmente.

3.2.2.1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante el estuche INNO-LiPA-HPV Genotyping Extra de INNOGENETICS.

Para la reacción en cadena de la polimerasa, se utilizó el estuche INNO-LiPA- HPV Genotyping Extra de INNOGENETICS y se llevó a cabo en volumen final de 50 µL. Para ello 10 µL del ADN extraído se incubó con los reactivos especificados en la Tabla 2. Las condiciones de corrida para la amplificación del ADN viral se especifican en la Tabla 3.

Tabla 2. Reactivos para la preparación de la mezcla de PCR.

<i>Reactivos</i>	<i>Cantidad (µL)</i>
AMP MIX	37,7
ENZ MIX	2,3
ADN	10
Total	50

Tabla 3. Condiciones de amplificación de la PCR.

	<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>No. Ciclos</i>
Descontaminación	37°C	10 min	1
Desnaturalización	94°C	9 min	1
Desnaturalización	94°C	30 seg	40
Hibridación	52°C	45 seg	40
Extensión	72°C	45 seg	40
Extensión Final	72°C	5 min	1

3.2.2.2. Hibridación y Revelado mediante el estuche INNO-LiPA- HPV Genotyping Extra de INNOGENETICS.

- Procedimiento de la Prueba.

Una vez amplificado el ADN viral, se realizaron las incubaciones de hibridación y lavado astringente a 49 °C, en un baño de agua y con agitación constante.

- Hibridación.

Se removieron el número de tiras requeridas para la prueba y se identificó cada tira con un número. Se tomó el número requerido de cubetas para la prueba (1 cubeta por tira) y se colocaron en la bandeja. Luego se pipeteó 10 µl de solución de desnaturalización (DS) en la esquina superior de cada una de las cubetas. Posteriormente, se agregó 10 µl del producto amplificado biotinilado a la solución de desnaturalización y cuidadosamente se mezcló con la pipeta varias veces. Se usaron puntas con filtro y estériles. Se permitió la desnaturalización por 5 minutos a temperatura ambiente. Seguidamente se agitó la solución de hibridación precalentada y suavemente se agregaron 2 mL al amplificado desnaturalizado dentro de cada una de las cubetas. Se mezcló con cuidado. Inmediatamente se colocaron las tiras en el interior de las cubetas. Por último, se colocó la bandeja con las tiras en el baño de agua, con agitación a 49 °C (aprox. 80 rpm), se cerró la tapa y se incubó por 60 minutos.

- Lavado Astringente.

Después de la hibridación, se removió la bandeja con las tiras del baño de agua. Seguidamente, se aspiró el líquido de la cubeta con una pipeta, conectada a un aspirador de vacío. Se agregaron 2 mL de la solución de lavado astringente pre-calentada dentro de cada una de las cubetas y se enjuagó por agitación la bandeja de 10 a 20 segundos a temperatura ambiente. Se aspiró la solución de cada una de las cubetas. Se repitió este paso una vez

más. Luego se aspiró la solución y se incubaron cada una de las tiras en 2 mL de solución de lavado astringente en el baño de agua con agitación a 49 °C por 30 minutos. Se cerró la tapa del baño de agua.

- Desarrollo de color.

Todas las incubaciones posteriores se llevaron a cabo a 20- 25 °C sobre un agitador. Cada tira se lavó dos veces por 1 min., con 2 ml de la solución de enjuague diluida y se aspiró. Luego se agregaron 2 ml de la solución de conjugado a cada una de las cubetas y se incubó por 30 minutos con agitación y se aspiró. Posteriormente cada una de las tiras se lavaron 2 veces por 1 min., usando 2 ml de la solución de enjuague diluida y se lavaron una vez más usando 2 ml de Buffer Sustrato y se aspiraron. Se agregaron 2 ml de la solución sustrato a cada uno de las cubetas y se incubó por 30 minutos en agitación y se aspiró. El desarrollo de color se detuvo lavando las tiras 2 veces en 2 ml de agua destilada en agitación por lo menos 3 min. Por último, se usaron pinzas, se removieron las tiras de las cubetas y se colocaron sobre papel absorbente. Se esperó que las tiras se secaran completamente y se reportaron los datos en la hoja.

3.3. Interpretación de los Resultados.

Todas las bandas claramente visibles se clasificaron utilizando la tarjeta de lectura de INNO-LiPA HPV Genotyping *Extra*. Los patrones de bandas se compararon con el diagrama de interpretación de INNO-LiPA HPV Genotyping *Extra* suministrado por el kit, el cual muestra las bandas positivas (filas) para los distintos tipos de VPH. Aquellas muestras para las que el patrón de bandas obtenido no pudo asignarse a ningún patrón de genotipo, o aquellas que no tengan bandas específicas de tipo (1-28), pero tengan como mínimo una banda de control positivo de VPH, se clasificaron como VPH positivas, pero de tipo no identificable (VPHX).

3.4. Análisis estadístico.

Se utilizaron estadísticos descriptivos para determinar los promedios y desviaciones estándar con respecto a las variables: edad, conteo de linfocitos T CD4+ y carga viral en sangre. Se compararon las características clínicas de los pacientes, así como la detección y tipificación de VPH en cavidad bucal utilizando las pruebas no paramétricas: T exacta de Fisher y prueba de Kruskal-Wallis para valores de mediana en variables continuas. Se consideraron aquellas pruebas con valores de p menor a 0.05, estadísticamente significativas. Las pruebas de asociación entre detección de la infección por VPH en la cavidad bucal, el conteo de T CD4+ y la carga viral en sangre, se realizaron utilizando la prueba exacta de Fisher. El análisis de los datos se realizó usando el programa PAST, versión 3.0.

VII. RESULTADOS

1. Descripción de la muestra de estudio.

1.1. Características demográficas de la muestra de estudio.

La muestra de estudio estuvo constituida por 31 hisopados bucales provenientes de pacientes (hombres y mujeres), mayores de edad, VIH+ que acudieron al Centro de Atención de Personas con Enfermedades Infectocontagiosas (CAPEI), de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela, en el período de enero a mayo 2017. El control estuvo constituido por 10 individuos (hombre y mujeres), mayores de edad, VIH-. Para la obtención de la muestra de hisopado bucal, los pacientes debieron firmar un consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología (ver Anexo 1).

1.1.1. Edad y Género: En general, el promedio de edad de la muestra de estudio fue de $49,03 \pm 11,5$ (rango: 25- 75 años). El 74,2% (23/31) de la muestra de estudio correspondió a hombres en edades comprendidas entre 26 y 75 años (promedio de edad: $48,7 \text{ años} \pm 11,1$). El 25,81% (8/31) correspondió a mujeres en edades comprendidas entre 25 a 67 años (promedio de edad: $50,1 \text{ años} \pm 13,3$). El promedio de edad del control fue de $20,5 \text{ años} \pm 1,4$ años. El 80% (8/10) de los individuos del control correspondió a mujeres en edades comprendidas entre 18 y 22 años, y el 20% (2/10) correspondió a hombres en edades comprendidas entre 20 y 21 años (Tabla 4).

1.1.2. Terapia antirretroviral: Para el momento de la toma de muestra de hisopados bucales, todos los individuos (100%) que participaron en este estudio se encontraban bajo terapia antirretroviral de alta efectividad (HAART) (Tabla 4).

1.1.3. Orientación Sexual: En la población de estudio el 45,2% (14/31) tenía una orientación sexual de tipo homosexual, seguido de un 41,9% (13/31) con una orientación heterosexual y por último un 12,9% (4/31) con una orientación bisexual. En este estudio todas las mujeres (100%) eran heterosexuales y en el caso de los hombres, el 60,9% (14/23) eran hombres que tenían sexo con hombres (HSH), seguido de un 21,7% (5/23) que eran heterosexuales y el 17,4% (4/13) bisexuales. El 100% (10/10) de los individuos del control tenía una orientación sexual del tipo heterosexual (Tabla 4).

1.1.4. Hábito tabáquico y consumo de alcohol: En general, el 38,7% (12/31) de los pacientes que participaron en este estudio tenían hábito tabáquico, de los cuales las mujeres representaron el 6,5% (2/31) y los hombres el 32,2% (10/31), En cuanto al consumo de alcohol, el 32,2% (10/31) de los pacientes consumían alcohol, de estos el 25,8% (8/31) eran hombres y el 6,4% (2/31) eran mujeres. En la muestra control, el 30% (3/10) de los individuos consumían alcohol (Tabla 4).

Tabla 4. Características demográficas de la muestra de estudio.

	Muestra de estudio			Control	p
	Total (n=31)	Hombre (n=23)	Mujer (n=8)		
Edad	49,0 ± 11.5	50,1 ± 13.3	48,7 ± 11.1	20,5 ± 1.4	
Tratamiento					
HAART	31/31 (100 %)	23/23 (100 %)	8/8 (100 %)	0/10 (0%)	1,00
Orientación Sexual					
Bisexual	4/31 (12,9%)	4/23 (17,4%)	0/8 (0%)	0/10 (0%)	0,55
Heterosexual	13/31 (41,9%)	5/23 (21,7%)	8/8 (100,0%)	10/10 (100%)	0,55
Homosexual	14/31 (45,2%)	14/23 (60,9%)	0/8 (0%)	0/10 (0%)	0,01
Consumo					
Tabaco	12/31 (38,7%)	10/23 (43,5%)	2/8 (25,0%)	0/10 (0%)	0,43
Alcohol	10/31 (32,2%)	8/23 (34,8%)	2/8 (25,0%)	3/10 (0%)	0,43

Abreviaciones: HAART: Terapia Antirretroviral de Alta Eficacia; p: T exacta de Fisher, para la comparación de frecuencias entre pacientes mujeres y hombres VIH+.

1.2. Marcadores inmunitarios de la evolución de la enfermedad en la muestra de estudio.

En relación a la evaluación del estado inmunitario referido al conteo de linfocitos T CD4+ (cél/mm³) y la carga viral (copias ARN/mL) de los pacientes incluidos en el estudio, en la Tabla 5, se puede observar lo siguiente:

1.2.1. Contaje de Linfocitos T CD4+: En general, en la muestra de estudio el conteo de linfocitos T CD4+ promedio fue de 601 ± 200 células/mm³. En cuanto a la clasificación de los pacientes, según el estadio de la infección de acuerdo al conteo de linfocitos T CD4+ establecido por el CDC de los EE.UU en el año 2014 (Frieden y col., 2014), se observó que la mayoría de los pacientes (67,7%) se encontraban en el estadio 1 (conteo de T CD4+ es mayor a 500 células/mm³), seguido del 29,0% de pacientes que presentaban un conteo de linfocitos T CD4+ entre 200- 499 células/mm³ (estadio 2), y por último solo un paciente que

presentó un conteo de linfocitos T CD4+ menor a 200 a $\text{cél}/\text{mm}^3$, correspondientes al estadio 3.

El 62,5% (16/23) de las mujeres presentaron un conteo de linfocitos T CD4+ mayor a las 500 $\text{cél}/\text{mm}^3$ y el 37,5% restante (3/8) presentó un conteo de linfocitos T CD4+ entre 200- 499 $\text{cél}/\text{mm}^3$. En cuanto a los hombres, el 69,6% (16/23) presentó un conteo de linfocitos T CD4+ mayor a las 500 $\text{cél}/\text{mm}^3$, seguido del 26,1% (6/23) con un conteo de linfocitos T CD4+ entre 200-499 $\text{cél}/\text{mm}^3$, por último, un solo paciente que presentó un conteo de T CD4+ menor a 200 $\text{cél}/\text{mm}^3$. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la media de conteo de linfocitos T CD4+ entre hombres y mujeres, según los estadios mencionados anteriormente (Tabla 5).

1.2.2. Carga viral de VIH: Para el análisis de la carga viral, en este estudio se establecieron tres categorías de valores: la primera categoría correspondió a valores de carga viral menores a 100 copias ARN/mL, la segunda correspondió a valores de carga viral entre 100 - 10.000 copias ARN/mL, y la tercera categoría correspondió a valores de carga viral mayor a 10.000 copias ARN/mL (Tabla 5).

El 74,2% (23/31) de los pacientes en la muestra de estudio presentaron valores de carga viral en sangre menor a 100 copias ARN/mL, seguido de un 22,6% (7/31) que presentaron valores de carga viral entre 100- 10.000 copias ARN/mL. Solo un paciente del sexo masculino presentó un valor de carga viral mayor a 10.000 copias ARN/mL (35.490 copias ARN/mL).

El 78,3% (18/23) de los hombres y el 62,5% (5/8) de las mujeres presentaron cargas virales menores a 100 copias ARN/mL, el resto de los pacientes presentaron cargas virales

entre 100 - 10.000 copias ARN/mL, de los cuales el 17,4% (4/23) eran hombres y el 37,5% (3/8) eran mujeres. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas de los valores de carga viral entre hombres y mujeres (Tabla 5).

Tabla 5. Marcadores inmunitarios de la muestra de estudio.

	Total (n=31)	Hombre (n=23)	Mujer (n=8)	p
Contaje de T CD4+ (cél/mm³)				
< 500	21/31 (67,7%)	16/23 (69,6%)	15/8 (62,5%)	1,00
200-499	9/31 (29,0%)	6/23 (26,1%)	3/8 (37,5%)	0,66
> 200	1/31 (3,2%)	1/23 (4,3%)	0/8 (0,0%)	1,00
Carga viral (cop ARN/mL)				
> 100	23/31 (74,2%)	18/23 (78,3%)	5/8 (62,5%)	0,40
100-10000	7/31 (22,6%)	4/23 (17,4%)	3/8 (37,5%)	0,34
> 10000	1/31 (3,2%)	1/23 (4,3%)	0/8 (0%)	1,00

Abreviaciones: *p*: T exacta de Fisher, para la comparación de frecuencias entre pacientes mujeres y hombres VIH+.

1.3. Frecuencia y tipo de manifestaciones bucales presentes en la muestra de estudio.

Al momento del examen extra e intrabucal, el 67,7% (21/31) de los pacientes no presentaban manifestaciones en tejidos blandos, mientras que el 32,3% (10/31) si presentaron manifestaciones clínicas (Figura 10). Entre las manifestaciones clínicas en cavidad bucal se pueden mencionar: lengua reseca y fisurada, aftas, restos radiculares, abscesos gingivales, periodontitis, leucoplasia en carrillo, resección gingival y enrojecimiento en el paladar. Es importante destacar que ninguna de las lesiones observadas fue compatible con manifestaciones asociadas a la infección por VPH.

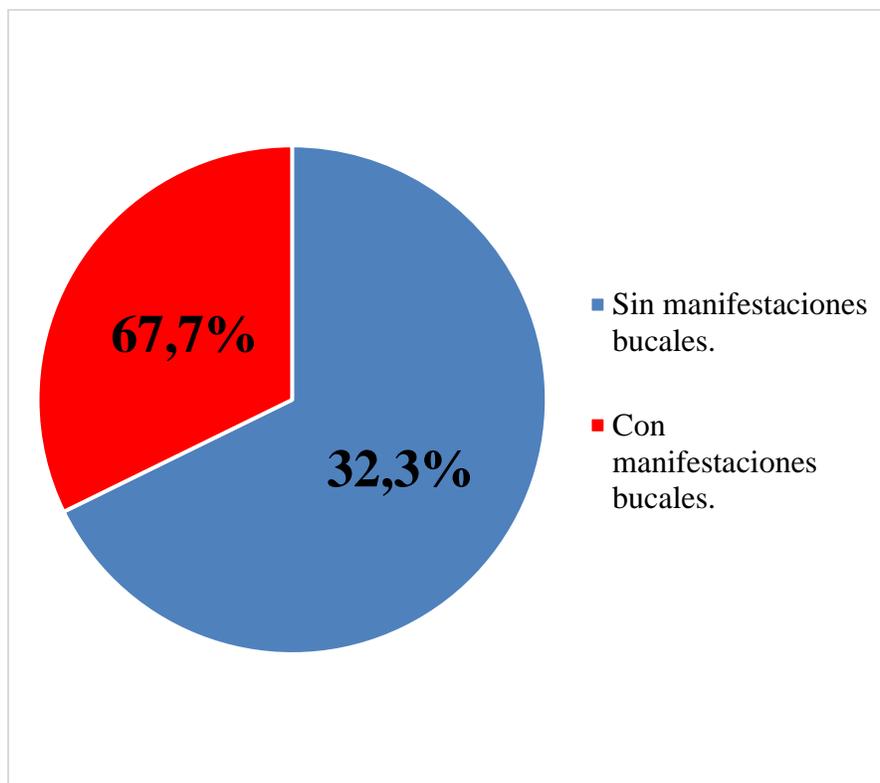


Figura 10. Frecuencia de manifestaciones bucales presentes en la muestra de estudio.

1.4.Frecuencia de pacientes con antecedentes de infecciones de transmisión sexual (ITS) e infecciones oportunistas en la muestra de estudio.

En general, entre los datos recogidos de la historia clínica en la muestra de estudio analizada, se observó que el 61,3% (19/31) de los individuos había presentado alguna infección de transmisión sexual (ITS). De estas infecciones, el 29,0% (9/31) de los individuos presentaron antecedentes con sífilis, seguido de 19,4% (6/31) que presentaron infección por Virus de Hepatitis B (VHB), igualmente un 19,4% (6/31) por infección de VPH en el área genital y un solo paciente con antecedentes de infección en la mucosa bucal. El 16,1% (5/31) presentaba antecedentes de infección por gonorrea, seguido de

9,7% (3/31) con antecedentes de infección por Virus Herpes Simple (VHS). Por último, un 3,2% (1/31) presentó antecedentes de infección con Virus de Hepatis C (VHC) e igualmente un 3,2% (1/31) para molusco contagioso (MC) (Figura 11).

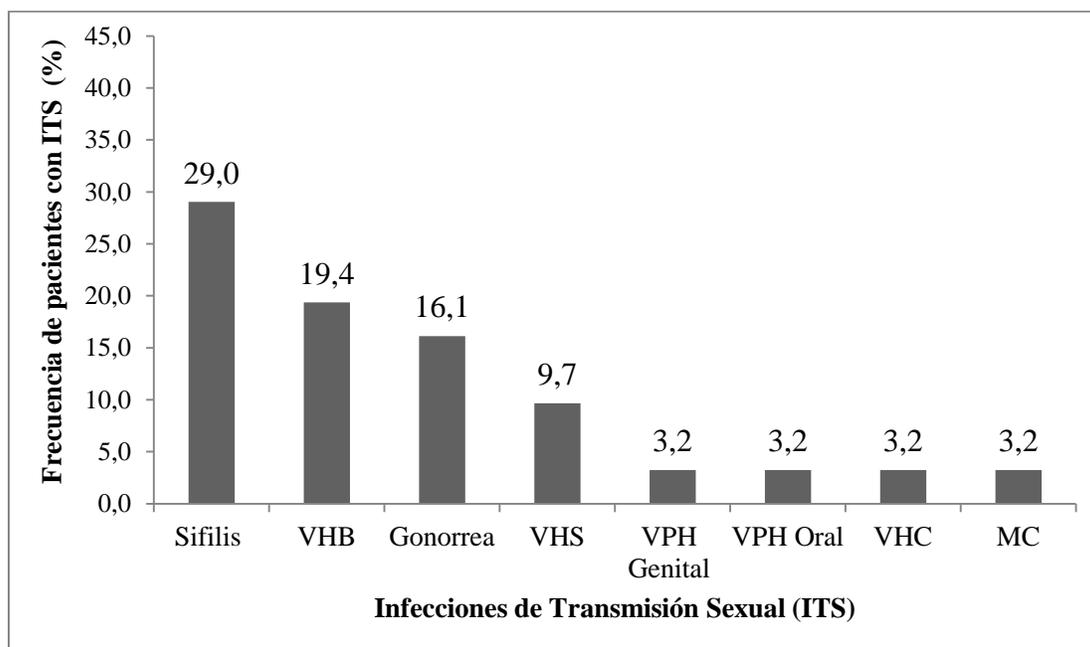


Figura 11. Frecuencia de pacientes VIH+ con antecedentes de infecciones de transmisión sexual (ITS).

Con respecto a los antecedentes de infecciones oportunistas presentes en la muestra de estudio, se observa que el 12,9% (4/31) de los individuos presentaba antecedentes de infección con Virus Varicela Zóster (VZV), seguido de un 9,7% (3/31) con infección por tuberculosis (TBC), un 6,5% (2/31) con Virus Epstein-Barr (VEB) y por último un 3,2% (1/31) con meningitis (Figura 12). En este sentido, es importante destacar que el 3,2% (1/31) presentó coinfección con Virus Epstein- Barr y Virus Varicella Zóster, además de otro 3,2% (1/31) que presentó coinfección con Virus Epstein- Barr, Varicella Zóster y Virus Herpes Simple.

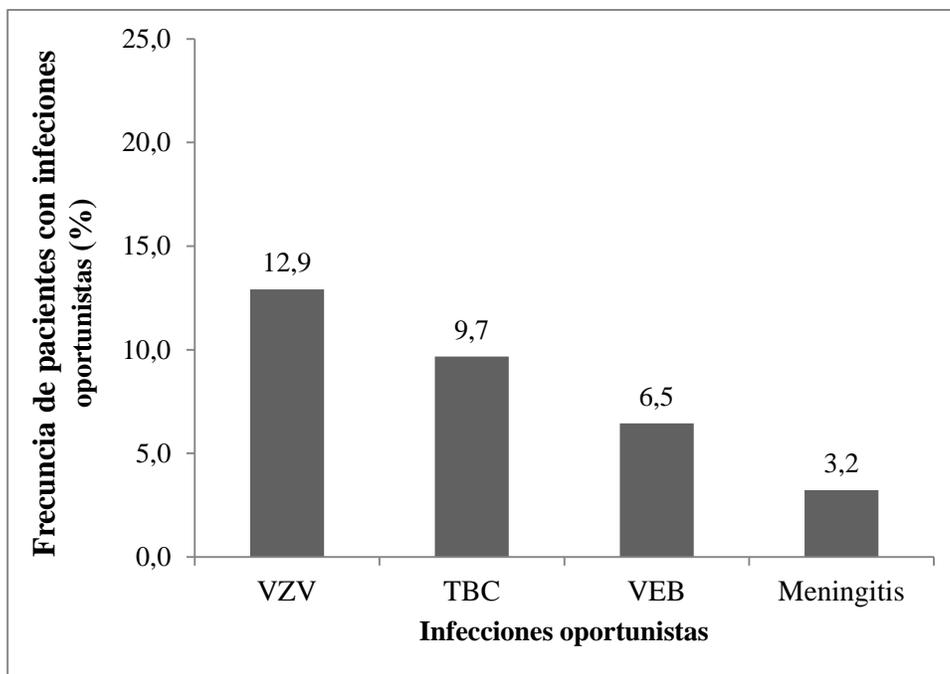


Figura 12. Frecuencia de pacientes VIH+ con antecedentes de infecciones oportunistas.

2. Detección de la infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

2.1. Frecuencia de la infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

Para la detección de la presencia de VPH se empleó el Sistema de Hibridación Reversa de INNO-LiPA, que detecta simultáneamente 28 genotipos de VPH y se encontró que el 61% (19/31) de los pacientes que conformaron la muestra de estudio presentaban una infección por VPH, mientras que el 39% (12/31) no presentó infección con este virus. En cuanto al control, en ninguno de los casos se detectó infección por VPH en cavidad bucal (Tabla 6).

Es importante mencionar que el 87,5% (7/8) de las mujeres presentaron infección con VPH y en el caso de los hombres la infección se detectó en el 52,2% (12/23), sin embargo, la diferencia entre las frecuencias de detección de VPH observadas de hombres y mujeres, no fue estadísticamente significativa (p : 0,11, T exacta de Fisher) (Tabla 6).

Tabla 6. Frecuencia de infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

Detección de VPH	Total (n=31)	Hombre (n=23)	Mujer (n=8)	P
Positivos	19/31 (61,3 %)	12/23 (52,2%)	7/8 (87.5 %)	0,11
Negativos	12/31 (38,7 %)	11/23 (47,8%)	1/8 (12,5%)	

Abreviaciones: *p*: T exacta de Fisher, para la comparación de frecuencias entre pacientes mujeres y hombres VIH+.

2.2.Frecuencia de Genotipos de VPH presentes en la cavidad bucal de paciente VIH+.

Los genotipos de VPH-BR estuvieron presentes en el 84,2% (16/19) de las muestras de estudio y los genotipos de VPH-AR en el 68,4% (13/19). Es importante mencionar, que para el caso de los hombres se observó que la frecuencia de infección con genotipos de bajo riesgo fue mayor con respecto a los genotipos de alto riesgo oncogénico, 83,3% (10/12) y 58,3% (7/12), respectivamente. Por otra parte, en las mujeres la frecuencia de infección con genotipos de VPH de alto y bajo riesgo oncogénico fue la misma, de 85,7% (6/7) (Tabla 7).

En cuanto a los genotipos de VPH en la muestra de estudio en general, el genotipo 6 de bajo riesgo oncogénico fue el más prevalente, detectándose en el 73,7% (14/19) de los pacientes, el VPH-18 de alto riesgo oncogénico estuvo presente en el 57,9% (11/19), el VPH-11 de bajo riesgo oncogénico se detectó en el 31,6% (6/19), el VPH-16 de alto riesgo oncogénico se encontró en el 26,3% (5/19), el VPH-35 de alto riesgo oncogénico se observó en el 5,3% (1/19) y un solo paciente positivo para VPH (5,3%), en el que no se pudo identificar el genotipo presente por la metodología empleada (Tabla 7).

Para el caso de las mujeres, el genotipo de VPH más frecuente fue el 18 con el 71,4% (4/7), seguido del 6 con el 57,1% (4/7), y los genotipos menos frecuentes

correspondieron a los VPH-16 y VPH-11, ambos con una frecuencia del 28,6% (2/7) (Tabla 7).

En los hombres la frecuencia de infección con genotipos de VPH varió con respecto a la encontrada en mujeres, siendo el genotipo más frecuente el VPH-6 con un 83,3% (10/12), seguido de VPH-18 con 50,0% (6/12) y los VPH-11 y VPH-16 se detectaron con una frecuencia de 33,3% (4/12) y 25,0% (3/12), respectivamente. Por último, el genotipo menos frecuente fue el VPH-35, detectado solo en un hombre, 8,3% (1/12). Las diferencias observadas en las frecuencias de detección de distintos genotipos entre hombres y mujeres no fueron estadísticamente significativas (Tabla 7).

Tabla 7. Frecuencia de la infección por VPH de bajo y alto riesgo oncogénico en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

	VPH-BR		VPH-AR			NT
Mujer (n=7)	6/7 (85,7%)		6/7 (85,7%)			0/7 (0,0%)
Hombre (n=12)	10/12 (83,3%)		7/12 (58,3%)			1/12 (8,3%)
Total (n=19)	16/19 (84,2%)		13/19 (68,4%)			1/19 (5,3%)
<i>p</i>	1,00		0,33			1,00
	VPH-6	VPH-11	VPH-16	VPH-18	VPH-35	
Mujer (n=7)	4/7 (57,1%)	2/7 (28,6%)	2/7 (28,6%)	5/7 (71,4%)	0/7 (0,0%)	
Hombre (n=12)	10/12 (83,3%)	4/12 (33,3%)	3/12 (25,0%)	6/12 (50,0%)	1/12 (8,3%)	
Total (n=19)	14/19 (73,7%)	6/19 (31,6%)	5/19 (26,3%)	11/19 (57,9%)	1/19 (5,3%)	
<i>p</i>	1,00	0,33	1,00	1,00	0,63	

Abreviaciones: VPH-AR= Virus de Papiloma Humano de alto riesgo oncogénico; VPH-BR= Virus Papiloma Humano de bajo riesgo oncogénico; NT: VPH no tipificable; *p*: T exacta de Fisher, para la comparación de frecuencias entre pacientes mujeres y hombres VIH+.

2.3.Frecuencia de infecciones simples y múltiples de VPH presentes en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

En cuanto a las infecciones múltiples y simples con VPH en la muestra de estudio, es importante mencionar, que un 74% (14/19) de los pacientes presentaron infecciones múltiples, es decir con más de un genotipo de VPH y un 26% (5/19) presentó infección con un solo genotipo de VPH (Figura 13).

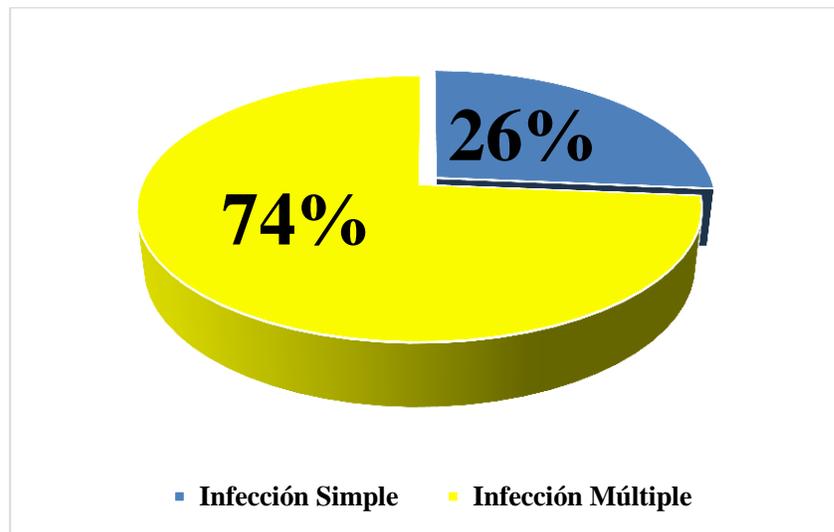


Figura 13. Frecuencia de infecciones simples y múltiples de VPH presentes en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

En este estudio, se observaron infecciones múltiples o co-infecciones con los genotipos de VPH-6, VPH-11, VPH-16, y VPH-18. Entre las infecciones múltiples la más común fue con los genotipos de VPH- 6 y 18, con un 31,6% (6/19) de frecuencia, seguida de un 15,8% (3/19) de infecciones con los genotipos de VPH- 6 y 11, y VPH- 6, 16 y 18. Un solo caso presentó una infección múltiple con los genotipos de VPH- 6, 11, 16 y 18, de igual manera un solo paciente que presentó infección con los genotipos de VPH- 11 y 16 (Figura 14).

En cuanto a las infecciones con un solo genotipo, se observó que los genotipos VPH- 6, 11, 18, y 35, se encontraron con una frecuencia de 5,3% (1/19) cada uno. El genotipo VPH-16, no se encontró en infecciones simples.

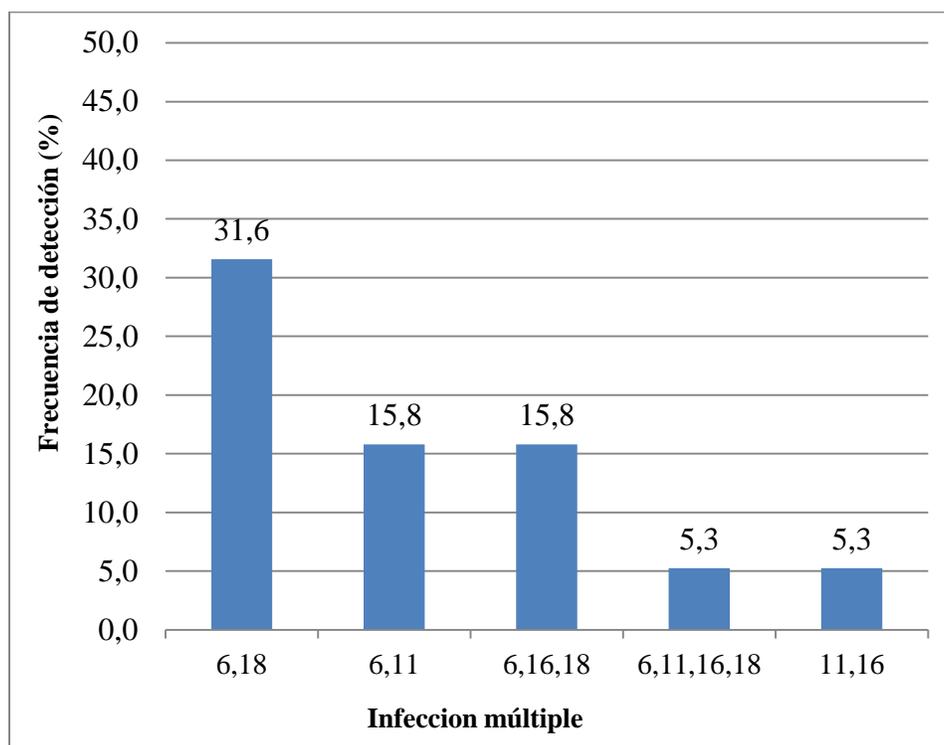


Figura 14. *Frecuencia de infecciones simples y múltiples de VPH presentes en la cavidad bucal de pacientes VIH+.*

3. Correlación entre el conteo de linfocitos T CD4+ e infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

Al analizar la relación entre el conteo de linfocitos T CD4+ con respecto a la infección por VPH en la cavidad bucal de estos pacientes, se observó que el conteo de linfocitos T CD4+ fue ligeramente mayor (663,8 $\text{cél}/\text{mm}^3$) en los pacientes que no presentaron infección por VPH con respecto a aquellos pacientes a los que se les detectó el

virus ($560,8 \text{ cél/mm}^3$) (Figura 15). Sin embargo, las diferencias entre las medias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,13$; Kruskal-Wallis).

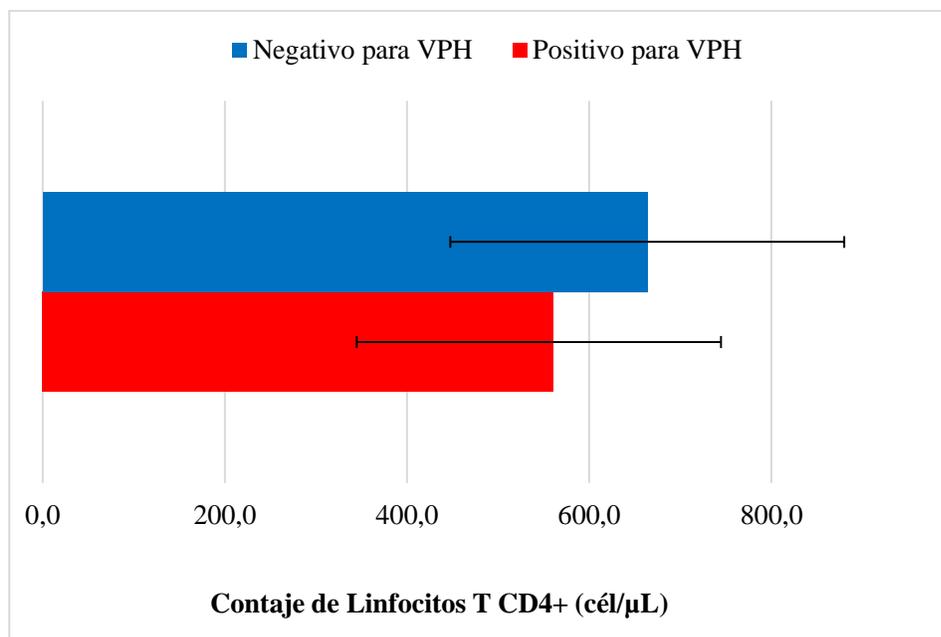


Figura 15. Promedio de linfocitos T CD4+ en pacientes VIH+ con y sin infección por VPH en la cavidad bucal.

Así mismo, se pudo observar que aquellos pacientes que presentaban un recuento de linfocitos T CD4+ mayor a 500 cél/mm^3 con y sin infección por VPH tenían medias o promedios similares (estadísticamente iguales $p=0,32$; Kruskal-Wallis), en contraste con aquellos que presentaban un conteo de linfocitos TCD4+ menor a 500 cél/mm^3 con medias o promedios significativamente diferentes ($p<0,05$; Kruskal-Wallis) (Figura 16). Sin embargo, al analizar la diferencia entre las medias o promedios, se observó que la misma no fue un factor de riesgo estadísticamente significativo para la detección de VPH en la cavidad bucal (OR: 0,47; IC: 95%, 0,1 - 2,3).

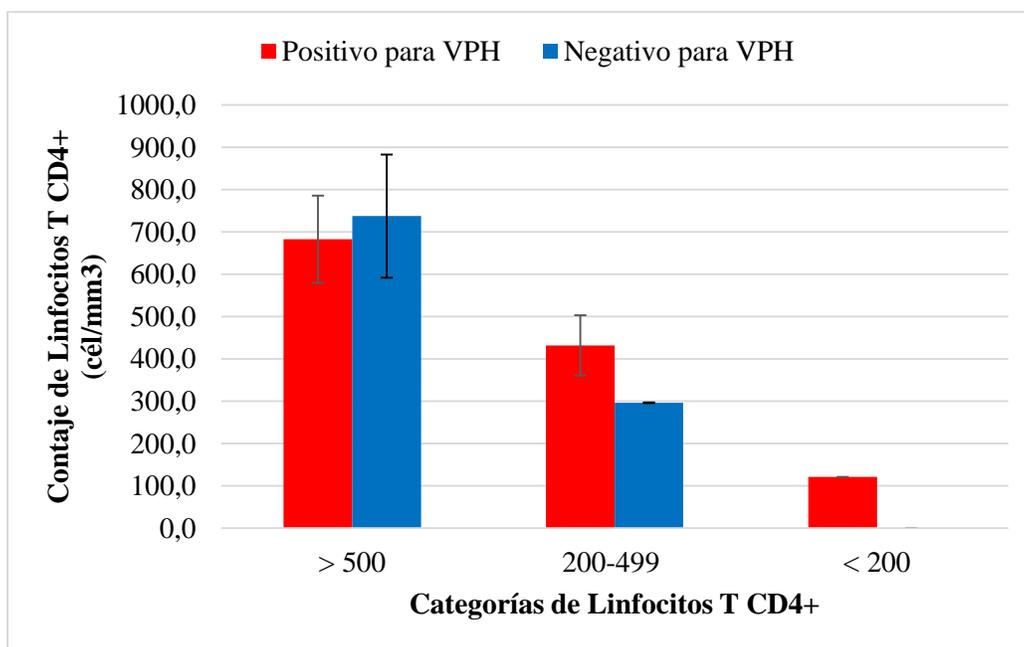


Figura 16. Promedio de linfocitos T CD4+ en pacientes VIH+ con y sin infección por VPH en la cavidad bucal.

En cuanto al promedio en el conteo de linfocitos por categorías con respecto a la infección por VPH, se observó un aumento en la frecuencia de infección por estos virus al disminuir el conteo de linfocitos T CD4+. Se encontró que el 77,8% (7/9) de pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+ entre 200- 499 $\text{cél}/\text{mm}^3$ presentaron infección por VPH, seguido de un 52,4% (11/21) de pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+ mayor a 500 $\text{cél}/\text{mm}^3$ que también presentaron infección por VPH en la cavidad bucal. Es importante mencionar, que el único paciente con un recuento de linfocitos T CD4+ menor a 200 $\text{cél}/\text{mm}^3$ presentó infección por VPH en la cavidad bucal (Tabla 8). Sin embargo, a pesar de observar mayor frecuencia de infección por VPH en la cavidad bucal de acuerdo al conteo de linfocitos T CD4+, no se observó una relación estadísticamente significativa entre el conteo de linfocitos T CD4+ y la detección de VPH en la cavidad bucal de estos pacientes ($p= 0,31$, T exacta de Fisher).

Tabla 8. Frecuencia de la infección por VPH de acuerdo a las categorías de linfocitos T CD4+ (CDC) en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

	Categorías de Linfocitos T CD4+		
	> 500 cél/mm ³	200- 499 cél/mm ³	< 200 cél/mm ³
Detección de VPH	11/21 (52,4 %)	7/9 (77,8 %)	1/1 (100 %)

4. Correlación entre la carga viral e infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

Al analizar la relación entre la carga viral plasmática y la detección de VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+, se pudo observar que el 71,4% (5/7) de los pacientes con valores de carga viral entre 100 - 10.000 copias ARN/mL presentaban infección por VPH en la cavidad bucal, seguido de un 60,9% (14/23) de pacientes con infección por VPH que tenían valores de carga viral menor a las 100 copias ARN/mL de sangre. El único paciente con carga viral elevada, mayor a las 10.000 copias ARN/mL, no presentó infección por VPH en la cavidad bucal (Tabla 9). No se encontró una relación estadísticamente significativa entre la presencia de VPH y la carga viral en sangre (p=0,63, T exacta de Fisher).

Tabla 9. Frecuencia de infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+ en relación a los valores de carga viral plasmática.

Carga viral en sangre (cop ARN/mL)	Detección de ADN de VPH
< 100	14/23 (60,9%)
100 - 10.000	5/7 (71,4%)
> 10.000	0/1 (0,0%)

VIII. DISCUSIÓN

La infección por el Virus de Inmunodeficiencia humana (VIH) constituye uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Las manifestaciones bucales son comunes en pacientes infectados por VIH, y representan un rasgo que puede predecir el deterioro general de la salud, además de representar un valor diagnóstico importante en el monitoreo del estado inmunitario del paciente (Moniaci y col., 1990; Reichart y col., 2003; Ranganathan y col 2004; Bravo y col., 2005). Es así como diferentes autores consideran las manifestaciones bucales como marcadores tempranos de la enfermedad, debido a que existe una relación significativa entre la presencia de las mismas con una disminución del recuento de linfocitos T CD4+ y un aumento en la carga viral (Greenspan y Greenspan., 1987; Greenspan y Greenspan., 2002; Patton y col., 2013; Gallardo 2016)

Desde la introducción de la terapia antirretroviral altamente activa o HAART, se ha observado una disminución en la morbilidad y mortalidad de los pacientes VIH/SIDA, así como también en la frecuencia y la prevalencia de las infecciones oportunistas (Gallardo y col., 2016). Sin embargo, la aparición de lesiones bucales en relación a la disminución en el conteo de linfocitos T CD4+, el inicio de la HAART y la reconstitución inmunitaria es compleja (Batavia y col., 2016). Algunas lesiones bucales asociadas con el VIH, como la candidiasis y leucoplasia vellosa, son más comunes a medida que disminuyen las células T CD4+ y se revierten con la reconstitución inmunitaria (Patton y Van der Horst., 1999; Shiboski y col., 2001; Bravo y col., 2005; Batavia y col., 2016). Este hecho, contrasta con otras lesiones bucales como el sarcoma de Kaposi, que se producen con mayor frecuencia a medida que disminuye el conteo de los linfocitos T CD4+, pero que no se revierten con el inicio de la terapia (Speicher y col., 2013; Gbabe y col., 2014). Otras lesiones como las

verrugas orales asociadas a la infección por VPH, han sido más frecuentes en el contexto de la reconstitución inmunitaria debido al uso de la HAART (Greenspan y col., 2001; Patton y col., 2001; Lourenço y col., 2011). Es así, como diferentes estudios han reportado una alta prevalencia de infecciones causadas por el VPH en la cavidad bucal de individuos VIH+ bajo HAART (D'Souza y col., 2007; Escalona y col., 2011; Muller y col., 2015; Beachler y col., 2015; Shiboski y col., 2016).

En particular, este trabajo de investigación llevado a cabo en el CAPEI tuvo como objetivo general, establecer la prevalencia de la infección por Virus Papiloma Humano en la cavidad bucal de un grupo de individuos VIH+ bajo terapia antirretroviral y correlacionarlo con el estado inmunitario: conteo de linfocitos T CD4+ y carga viral de VIH.

La población de estudio estuvo constituida por 31 pacientes VIH+, mayores de 18 años de edad y de ambos sexos. El promedio de edad fue de 49,0 años, similar a lo reportado en los estudios realizados por Bravo y col., 2006, Benito y col., 2007, Escalona y col., 2011, Muller y col., 2015, y Shiboski y col., 2016, que reportaron un rango de edad entre 30-50 años en individuos VIH+. Cabe destacar, que en esta investigación todos los pacientes evaluados se encontraban bajo terapia antirretroviral y la mayoría de los mismos (74,2%) correspondían al sexo masculino, lo que concuerda con estudios previos realizados por Bravo y col., 2005, Benito y col., 2007, Escalona y col., 2011, Jiménez y col., 2012, Muller y col., 2015, y Shiboski 2016.

En cuanto a la orientación o preferencia sexual, es importante mencionar que al inicio de la epidemia los HSH constituían la población más afectada por el virus del VIH, sin embargo en años recientes, el número de casos en mujeres y hombres heterosexuales ha venido aumentando, en Venezuela y el Mundo. En esta investigación la orientación sexual

de tipo homosexual (45,2%) fue la más frecuente, seguido de 41,9% de los pacientes con una orientación heterosexual y finalmente el 12,9% que refirieron ser bisexuales. Estos resultados coinciden con el trabajo realizado por Bravo y col., 2006, que reportó que la orientación sexual más frecuente fue la de tipo homosexual con un 44%, seguida de un 40% que tenían una orientación de tipo heterosexual y un 16% cuya preferencia era de tipo bisexual.

En esta investigación del total de pacientes evaluados, se observó que el 38,7% presentaban hábito tabáquico y el 32,2% consumían alcohol. Estos resultados son similares, a los reportados en otras investigaciones llevadas a cabo por Kreimer y col., 2004, Fatahzadeh y col., 2013, Mooij y col., 2013, Beachler y col., 2012, y Muller y col., 2015, que reportaron que entre el 20-50% de pacientes VIH+ presentaban hábito tabáquico y entre el 25- 60% de los pacientes consumían alcohol.

Con respecto al estado inmunitario de los pacientes, se observó que solo el 3,2% tenía un conteo de linfocitos T CD4+ menor a 200 células/mm³ (compatible con etapa SIDA), el 29,0% presentó un conteo entre 200- 499 células/mm³ y finalmente el 67,7% de los pacientes que presentaron un conteo de linfocitos T CD4+ mayor a 500 células/mm³. En esta investigación la baja proporción observada de pacientes con conteo de linfocitos T CD4+ menor a 200 células/mm³. Estos resultados son similares al estudio realizado por Escalona y col., 2011 en pacientes VIH+ bajo HAART que reportó que el 15,4% de los pacientes evaluados presentaban un recuento de linfocitos T CD4 + menor a 200 células/mm³, sin embargo, contrasta con los trabajos realizados por Bravo y col., 2006, y Benito y col., 2007, que reportaron que entre un 20-30% de pacientes VIH+ bajo terapia, presentaban un conteo de linfocitos T CD4+ menor a 200 células/mm³.

Por otra parte, en cuanto a la carga viral solo un paciente (3,2%) en este estudio presentó una carga viral elevada (superior a las 10.000 copias ARN/mL). El 74,2% de los pacientes presentaron cargas virales menores a las 100 copias ARN/mL y el 22,6% restante presentaron cargas virales entre las 100 - 10.000 copias ARN/mL, lo que coincide con los estudios realizados por Bravo y col., 2006, Escalona y col., 2011, Jiménez y col., 2012, Beachler y col., 2015, que reportaron entre el 57-89% de pacientes VIH+ bajo HAART presentaban cargas virales medias y bajas.

Es importante destacar, que el bajo porcentaje de pacientes que presentaron un conteo de linfocitos T CD4+ menor a 200 células/mm³ y una carga viral elevada puede ser explicado, porque en este estudio todos los pacientes se encontraban bajo terapia antirretroviral. En este sentido, un trabajo realizado por Shiboski y col., 2016, en pacientes VIH+ donde se realizó una evaluación en el conteo de linfocitos T CD4+ y de la carga viral 24 semanas después de haber iniciado HAART, se observó un incremento en el conteo de linfocitos T CD4+ y una disminución de la carga viral. Por su parte, Escalona y col., 2011, reportaron mayor conteo de linfocitos T CD4+ y menor carga viral en pacientes VIH+ bajo HAART en comparación con aquellos que no estaban bajo tratamiento.

Con respecto a la presencia de manifestaciones bucales, en esta investigación se observó que el 32,3% de los pacientes evaluados presentaron manifestaciones bucales, lo que concuerda con los trabajos realizados por Medina y col., 2012, Navarrete, 2014, Saavedra, 2016, que reportaron una frecuencia de manifestaciones bucales en pacientes VIH+ del 47,8%, 33,8% y 32,3%, respectivamente. En contraste las investigaciones realizadas por Bravo y col., 2006, Benito y col., 2007, Jiménez y col., 2012, Gallardo y col., 2016, observaron mayor frecuencia de manifestaciones bucales (65-94%) en pacientes VIH+. La baja frecuencia de manifestaciones bucales observada al momento del examen

extra e intrabucal pudo deberse a que todos los pacientes en este estudio se encontraban bajo HAART, por lo tanto la mayoría presentaban conteo de linfocitos T CD4+ mayor a 500 células/mm³ y cargas virales menores a 100 copias ARN/mL, ambos factores asociados a la mayor frecuencia de manifestaciones bucales en pacientes VIH+.

Entre el grupo de manifestaciones bucales causadas por virus, de particular interés son las causadas por los virus papiloma humano. En este sentido, diversos estudios entre ellos los realizados por van Aar y col., 2012, Beachler y col., 2012, reportaron mayor prevalencia de infección por VPH en la cavidad bucal de individuos VIH+ con respecto a los individuos VIH-.

Es importante mencionar, que diferentes estudios cuyo objetivo ha sido la detección de VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+, han reportado frecuencias variables de infección por VPH que van desde un 14% hasta un 87% (Coutlee y col., 1997; Kreimer y col., 2004; Cameron y col., 2005; Richter y col., 2008; Marais y col., 2008; Parisi y col., 2011; Steinau y col., 2011; Fatahzadeh y col., 2012; Read y col., 2012; Beachler y col., 2012; Del Mistro y col., 2012; Fatahzadeh y col., 2013; Videla y col., 2013; Muller y col., 2015; Beachler y col., 2015; Shiboski y col., 2016).

En el presente estudio, se detectó una alta frecuencia de infección por VPH (61,3%) en la cavidad bucal de pacientes VIH+. Estos resultados son similares a los obtenidos por Escalona y col., en 2011, donde evaluaron muestras de fluido crevicular de pacientes VIH+ bajo tratamiento y sin tratamiento antirretroviral y encontraron que el 46,1% de los pacientes bajo tratamiento HAART, presentaban infección por VPH.

Así mismo, estos resultados coinciden con otros estudios que han reportado un alto porcentaje de infección por VPH en la cavidad bucal de individuos VIH+, entre ellos, el realizado por Fatahzadeh y col., 2013 donde encontraron en muestras de enjuague bucal de pacientes VIH+, hasta un 87% de infección por VPH. Otro estudio realizado por Mooij y col., 2013, reporta un 56,7% de prevalencia de infección por VPH en la cavidad bucal. Así mismo, otras investigaciones realizadas por Fakhry y col., 2010 y Beachler y col., 2012 en individuos VIH+, detectaron un 45% y 40% respectivamente, de infección por VPH en la cavidad bucal.

En cuanto al sexo, no se encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de detección de VPH en cavidad bucal entre hombres y mujeres, al igual que en los trabajos realizados por Cameron y col., 2005, Beachler y col., 2012, Fatahzadeh y col., 2013, Shiboki y col., 2016. Sin embargo, los estudios de Kreimer y col., 2004, Beachler y col., 2015, y Muller y col., 2015, sugieren que el riesgo de adquisición y persistencia de la infección por VPH en cavidad bucal es mayor en hombres que en mujeres VIH+.

Las variaciones en las estimaciones de la prevalencia de la infección por VPH en la cavidad bucal de individuos infectados con VIH, probablemente se deban a múltiples factores, entre los cuales se pueden mencionar: el tipo de muestra, el procesamiento de las mismas, el número de genotipos de VPH detectados, la sensibilidad y especificidad de los métodos moleculares empleados en la detección de la infección por VPH, así como también de las características de la población de estudio (Beachler y D'Souza, 2013).

La alta prevalencia de la infección por VPH observada en nuestro estudio, puede ser explicada por el empleo de una metodología altamente sensible y específica como lo es, el sistema de hibridación reversa de INNO-LiPA, que combina la amplificación de un

fragmento pequeño de 65 pb y la hibridación con sondas de ADN, capaces de detectar hasta 28 genotipos diferentes, a diferencia de los métodos convencionales que utilizan los oligonucleótidos *MY09/MY11* correspondientes a una región altamente conservada del gen *L1*, que amplifican un fragmento de mayor tamaño de 450pb.

Además de la metodología empleada en esta investigación para la detección de VPH en la cavidad bucal, la alta prevalencia puede ser explicada por un estudio realizado por Tugizov y col., en 2013, que reportó que la expresión de las proteínas Tat y Gp120 del VIH en el epitelio de la mucosa se correlaciona con la disrupción o alteración de las uniones estrechas del epitelio de la mucosa bucal o TJ (Tight Junctions), este factor pudiera facilitar la infección tras la exposición, incrementando de esta manera la probabilidad en estos pacientes de desarrollar neoplasias asociadas a la infección por VPH.

Otro de los factores que explican la alta prevalencia de la infección por VPH en pacientes VIH+ además de la inmunosupresión, son las interacciones a nivel molecular entre los genes del VIH *tat*, *rev* y *vpr* y los de VPH. En este sentido, se piensa que la proteína Tat de VIH tiene efecto en la regulación positiva de la expresión de los genes oncogénicos *E6* y *E7* del VPH (Buonaguro y col., 1994, Nyagol y col., 2006, y Kim y col., 2008). Sin embargo, en la actualidad los mecanismos moleculares y celulares que explican la correlación entre el aumento de la susceptibilidad de infecciones y enfermedades asociadas a VPH y la inmunosupresión inducida por el VIH permanecen en gran medida desconocida (Verma y col., 2017).

Otro aspecto importante a considerar en la alta prevalencia de infección por VPH observada en la muestra de estudio, es que todos los pacientes se encontraban bajo HAART. En este sentido, algunos estudios muestran un marcado incremento de la

incidencia de infección por VPH y lesiones en la cavidad bucal de verrugas, condilomas e hiperplasia epitelial multifocal producidas por VPH, en pacientes tratados con HAART (Cameron y col., 2005; D'Souza y col., 2007; Videla y col., 2013; Shiboski y col., 2016) (Schmidt y col., 2000; Greenspan y col. 2001; King y col., 2002). Lo que sugiere que la reconstitución del sistema inmunitario asociada a HAART, no desempeña un papel en la reducción de la incidencia de la infección por VPH en la cavidad bucal de estos pacientes (Verma y col., 2017). Así mismo, se ha reportado que la inmunosupresión local y/o sistémica puede promover la reactivación de una infección latente previamente adquirida y/o la adquisición de nuevas infecciones por VPH en la mucosa bucal (Safaeian y col., 2010). Es así, como un estudio realizado por Beachler y col., en 2015, reportó una fuerte asociación entre la incidencia de la infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+ y el grado de inmunosupresión de los mismos.

Sin embargo, estos hallazgos contrastan con el estudio realizado por Buchacz y col., 2010, que reportaron que en pacientes VIH+ bajo HAART, hay una disminución de infecciones oportunistas asociadas con el SIDA causadas por virus, tales como: el Virus Herpes Simple (VHS), el Citomegalovirus (CMV), y el Virus Epstein Barr (VEB), entre otros (Reimers y col., 2010).

A pesar de que en esta investigación los pacientes evaluados, no presentaron lesiones en la cavidad bucal sugestivas de infección por VPH, la alta prevalencia de infección por VPH encontrada en estos individuos, sugiere que la cavidad bucal puede ser un reservorio de infección subclínica y latente que pudiera aumentar el riesgo en estos pacientes de desarrollar neoplasias con potencial de malignidad (Muller y col., 2015).

En general, en este estudio al analizar la presencia de los diferentes genotipos de VPH en la muestra de estudio, se observó que el 84,2% de los individuos presentaban infección con VPH de bajo riesgo oncogénico y los VPH de alto riesgo oncogénico estuvieron presentes en el 68,4% de los individuos. Estos resultados coinciden con los estudios realizados por Escalona y col., 2011, Parisi y col., 2011, Steinau y col., 2011, Del Mistro y col., 2012, Beachler y col., 2012, Fatahzadeh y col., 2013, Muller y col., 2015 y Shiboski y col., 2016, que reportaron mayor prevalencia de infecciones con genotipos de VPH de bajo riesgo oncogénico, en contraste con los resultados obtenidos por los estudios realizados Coutle y col., 1997, Kreimer y col., 2004, Cameron y col., 2005, Fackry y col., 2010, Read y col., 2012, Mooij y col., 2013, Videla y col., 2013, que reportan mayor prevalencia de infecciones con genotipos de alto riesgo oncogénico.

En cuanto a los genotipos de VPH de bajo riesgo oncogénico, el genotipo 6 fue el más prevalente con 73,7%, seguido del 11 en el 37% de los individuos, ambos genotipos asociados con el desarrollo de displasias menores, como los papilomas escamosos y condilomas. Estos resultados son similares a los reportados por Escalona y col., en el año 2011; que encontraron que el 100% de las muestras de fluido crevicular positivas para VPH presentaron infección por VPH tipo 6, y a los reportados por Fatahzadeh y col., 2013, y Parisi y col., 2013, que encontraron mayor frecuencia de VPH tipo 6 en cavidad bucal de pacientes VIH+.

Con respecto a los genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico, el tipo 18 estuvo presente en el 63,2%, seguido del VPH tipo 16 en el 26,3% de los individuos, ambos genotipos asociados al 40% aproximadamente de los cánceres de orofarínge y causantes de alrededor del 70% de los cánceres de cuello uterino en el mundo. En este estudio, las prevalencias de estos genotipos fueron mayores que las observadas en los estudios

realizados por Kreimer y col., 2004, Cameron y col., 2005, Mooij y col., 2013, y col., Muller y col., 2015, en la cavidad bucal de pacientes VIH+, que reportaron el genotipo 16 como el más frecuente, seguido del tipo 18. El VPH tipo 35 considerado también de alto riesgo oncogénico, se observó en un solo paciente (5,3%) coincidiendo con los trabajos de Kreimer y col., 2004, Fakhry y col., 2010, Parisi y col., 2011, Steinau y col., 2011, Mooij y col., 2013, van Aar y col., 2014, Muller y col., 2015, y Shiboski y col., 2016, que encontraron una prevalencia de infección con el genotipo 35 en cavidad bucal menor al 6%. Estos resultados coinciden con los reportados por van Aar y col., en el año 2014, que determinaron que los genotipos 16 y 18 presenta mayor incidencia de infección en cavidad bucal de pacientes VIH+, y el genotipo 35 la menor incidencia. Por otra parte, en este estudio en un solo un paciente (5,3%) positivo para VPH no se pudo identificar el genotipo por la metodología empleada, coincidiendo con el trabajo realizado por Muller y col., 2015, con un porcentaje de muestras positivas para VPH no tipificables menor al 5%. Sin embargo, estos resultados contrastan con los estudios realizados por Parisi y col., 2011, Fatahzadeh y col., 2013, y Mooij y col., 2013, que reportaron mayor frecuencia de genotipos no tipificables, 33%, 18,4%, y 18,2%, respectivamente.

Otro hallazgo de fundamental importancia en este trabajo, fue la detección de infecciones con múltiples genotipos de VPH (más de 2) en el 74% de los pacientes, lo que coincide con los resultados obtenidos por Fatazadeh y col., en el año 2013, donde realizaron la detección de VPH en muestras bucales de pacientes VIH+ y reportaron hasta un 71% de infecciones múltiples por VPH. Por su parte Escalona y col., en el año 2011, encontraron infecciones con múltiples genotipos de VPH en el 66,7 % de los pacientes. Así mismo, los estudios realizados por Steinau y col., 2011, Beachler y col., 2012, Read y col., 2012, Mooij y col., 2013, Videla y col., 2013, Beachler y col., 2012, Muller y col., 2015, y

Shiboski y col., 2016 reportaron desde un 7% hasta un 40% de infecciones con múltiples genotipos de VPH en la cavidad bucal de individuos VIH+. Cabe destacar, que un solo paciente (5,3%) en este estudio, presento infección múltiple con los genotipos 6, 11, 16 y 18, coincidiendo con el trabajo de Mooij y col., 2013, que reportó una prevalencia de infección con estos cuatro genotipos del 10,2% en cavidad bucal de pacientes VIH+.

Un estudio realizado por D'Souza y col., 2007, sugiere que la presencia de múltiples genotipos de VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+, aumenta de manera significativa el riesgo de desarrollar lesiones y neoplasias malignas asociadas a la infección por VPH, específicamente los cáncer de orofaringe.

Con respecto a la frecuencia de la infección por VPH en relación al conteaje de linfocitos T CD4+, es importante mencionar que en este estudio, solo un paciente tenía un conteaje de linfocitos T CD4+ menor a 200 células/mm³ consistente con SIDA, lo que puede explicar la falta de significancia estadística ($p > 0,05$) entre la detección de la infección por VPH en la cavidad bucal y el estado inmunitario.

En este sentido, diversos estudios realizados por Chun y col., 1997, Grivel y col., 2000, en individuos infectados por VIH, sugieren que la disminución de linfocitos T CD4+ conduce a la pérdida de la respuesta inmunitaria mediadas por estas células contra el VPH. Los linfocitos T CD4+ “naïve” o vírgenes se agotan en los tejidos de la mucosa en todas las etapas de la infección por VIH y la disminución progresiva de las células T CD4+ afecta el proceso de diferenciación de las células T CD4+ vírgenes en las diferentes subpoblaciones. La subpoblación Th1, se sabe que juega un papel importante en la respuesta inmunitaria contra el VPH (Scott y col., 2001), mediante la inducción de la inmunidad mediada por células en presencia de citocinas como la: IL-2, IL-12 e IFN- γ (Sasagawa y col., 2012).

El estado inmunitario parece tener un fuerte efecto en la infección de la mucosa bucal por VPH en individuos VIH+ (Muller y col., 2015). Una investigación llevada a cabo por Beachler y col., en el año 2015 donde se estudió la historia natural de la infección por VPH en la cavidad bucal de personas infectadas por el VIH, reportó que el grado de la inmunosupresión aumenta significativamente el riesgo de adquisición de la infección por VPH. En este sentido, otros estudios realizados por Kreimer y col., 2004, Beachler y col., 2012, Beachler y col., 2015, y Muller y col., 2015, han descrito que el factor de riesgo determinante para la infección por VPH en cavidad bucal de pacientes VIH+, es un bajo conteo de linfocitos T CD4+. En este trabajo, a pesar de que no hubo una relación estadísticamente significativa entre el conteo de T CD4+ y la infección por VPH, se observó que a medida que disminuye el conteo de linfocitos T CD4+ aumenta la frecuencia de infección por VPH.

Estos hallazgos son similares a los reportados en los estudios realizados por Cameron y col., 2005, Fakhry y col., 2010, Escalona y col., 2011, Del Mistro y col., 2012, Read y col., 2012, Fatahzadeh y col., 2013, Mooij y col., 2013, van Aar y col., 2014, donde a pesar de una alta prevalencia de infección por VPH en la mucosa bucal de pacientes VIH+, tampoco se observó una relación estadísticamente significativa entre el bajo conteo de linfocitos T CD4+ y la detección de la infección por VPH en la cavidad bucal. Es importante mencionar que hasta el momento, los mecanismos por los cuales ocurre una disminución de los niveles de los linfocitos T CD4+, que originan un deterioro de la respuesta inmunitaria contra el VPH como consecuencia de la infección por el VIH, siguen siendo en gran medida desconocidos.

En el año 2017, Verma y col., propusieron un modelo matemático que explica como la inmunosupresión asociada a la infección por VIH influye en la persistencia de la infección por VPH en la mucosa bucal. Este modelo predice que los individuos infectados por VIH y que poseen un conteo de linfocitos mayor a 500 cél/mm^3 , tienen una mayor probabilidad de eliminar o aclarar la infección por VPH como lo reportan los estudios realizados por Shiboski y col., en el año 2016.

Los resultados de este estudio, coinciden con la predicción generada por el modelo matemático, es decir, los pacientes que tenían infección por VPH, presentaron un valor promedio menor de conteo de linfocitos T CD4+ ($560,8 \text{ cél/mm}^3$) que aquellos que no tenían infección por VPH, los cuales presentaron un valor promedio de conteo de linfocitos T CD4+ mayor ($663,8 \text{ cél/mm}^3$). Sin embargo, la diferencia entre los promedios no fue estadísticamente significativa ($p=0,13$; Kruskal-Wallis).

El modelo propuesto por Verma y col., 2017, respalda reportes previos que predicen un mayor riesgo de infección por VPH en la cavidad bucal de individuos inmunosuprimidos, lo que puede explicarse por la reactivación de una infección previamente adquirida o latente (Beachler y col., 2014). Además, este modelo explica que la persistencia de infecciones crónicas de VPH en cavidad bucal en individuos VIH+ bajo HAART, se debe a una pobre recuperación de los linfocitos T CD4+, manteniendo un bajo conteo de linfocitos T CD4+. Estos resultados destacan el importante papel desempeñado por las células T CD4+, en la resolución y en el control de la infección por VPH (Verma y col., 2017).

En relación a la frecuencia de infección por VPH con respecto a la carga viral, en este estudio no se encontró una relación estadísticamente significativa, solo un paciente tenía carga viral mayor a las 10.000 copias ARN/mL y el mismo no presentó infección por VPH en la cavidad bucal. Este hallazgo, coincide con otros estudios similares realizados por Cameron y col., 2005, Del Mistro., 2012, Read y col., 2012, Mooij y col., 2013, van Aar y col., 2014, que tampoco encontraron relación entre la infección por VPH en la cavidad bucal y una carga viral alta (superior a 10.000 copias ARN/mL). Sin embargo, los trabajos realizados por Fatahzadeh y col., 2013, Escalona y col., 2011, Beachler y col., 2015, reportaron una asociación estadísticamente significativa entre cargas virales elevadas y la detección de VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+.

A pesar de que en esta investigación, no se encontró significancia estadística entre la presencia de VPH con respecto a la carga viral y el conteo de linfocitos CD4, debido a las características de nuestra muestra de estudio donde todos los individuos se encontraban bajo terapia antirretroviral, sin embargo queda demostrado que el empleo de métodos moleculares hoy en día son una herramienta fundamental en la detección de la infección latente y subclínica por VPH en la mucosa bucal, de vital importancia en el momento de evaluar y realizar el seguimiento de poblaciones de alto riesgo, como lo es en el caso de pacientes VIH positivos.

IX. CONCLUSIONES

1.- En la presente investigación, se encontró una alta prevalencia de la infección por VPH en la cavidad bucal de pacientes VIH+, a pesar de que al momento del examen extra e intrabucal no se evidenciaron lesiones compatibles con la infección por estos virus, lo que sugiere la presencia de infecciones subclínicas y latentes en la cavidad bucal de estos pacientes, que solo pueden ser detectadas por métodos moleculares altamente sensibles y específicos.

2.- Se encontraron infecciones con genotipos de bajo y alto riesgo oncogénico. Entre los genotipos de VPH de bajo riesgo oncogénico se detectaron el 6 y el 11, ambos asociados al desarrollo de displasias menores en la cavidad bucal. El VPH-6 fue el genotipo más frecuente, tanto en infecciones simples como en las múltiples.

3.- Los genotipos de alto riesgo oncogénico que se encontraron con más frecuencia fueron el tipo 18, seguido del genotipo 16, ambos asociados al desarrollo de neoplasias malignas en la cavidad bucal, como es el cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, específicamente los de orofaringe. El hallazgo de estos genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico, sugiere que pudiera los pacientes VIH positivos pueden ser una población con mayor riesgo de desarrollar neoplasias malignas de la cavidad bucal.

4.- En la mayoría de los pacientes que presentaron infecciones con VPH se observaron infecciones con múltiples genotipos, solo una baja proporción de pacientes presentó infección con un solo genotipo de VPH. Entre las infecciones con múltiples genotipos la más frecuente fue con los VPH- 6 y 18, seguida de infecciones con los genotipos 11 y 16, y

en menor proporción el genotipo 35. Se detectó con mayor frecuencia infecciones múltiples con los genotipos VPH 6 y 18. Además, se encontró en un caso una infección simultánea con los genotipos de VPH 6, 11, 16 y 18.

5.- No se encontró una relación estadísticamente significativa entre la infección por VPH en cavidad bucal, el conteo de linfocitos T CD4+ y la carga viral, debido a que todos los pacientes que participaron en este estudio se encontraban bajo terapia antirretroviral.

6.- Los métodos de PCR basados en la amplificación de un fragmento del genoma viral en combinación con la técnica de hibridación reversa poseen una alta sensibilidad para la detección del virus en muestras de hisopado bucal. Además, permiten conocer el genotipo específico e infecciones múltiples, lo que permitirá un seguimiento y manejo más oportuno a los pacientes VIH positivos con infecciones por VPH de alto riesgo oncogénico, con mayor riesgo de desarrollar neoplasias malignas en la cavidad bucal.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Arendorf, T., Bredekamp, B., Cloete, C., Sauer, G. 1998. Oral Manifestations of HIV infection in 600 South African patients. *J Oral Pathol Med.* **27**(4): 176-9.
2. Batavia, A., Secours, R., Espinosa, P., Jean, M., Severe, P., Pape, J., Fitzgerald, D. 2016. Diagnosis of HIV-Associated Oral Lesions in Relation to Early versus Delayed Antiretroviral Therapy: Results from the CIPRA HT001 Trial. *PLoS ONE.* **11**(3): e0150656. doi: 10.1371/journal.pone.0150656
3. Beachler, D., D'Souza, G. 2013. Oral human papillomavirus infection and head and neck cancers in HIV-infected individuals. *Curr Opin Oncol.* **25**:503–510. DOI:10.1097/CCO.0b013e32836242b4.
4. Beachler, D., Sugar, E., Margolick, J., Weber, K., Strickler, H., Wiley, D., Cranston, R., y colaboradores. 2015. Risk Factors for Acquisition and Clearance of Oral Human Papillomavirus Infection Among HIV-Infected and HIV-Uninfected Adults. *Am J Epidemiol.* **181** (1): 40–53
5. Beachler, D., Weber, K., Margolick, J., Strickler, H., Cranston, R., Burk, R., Wiley, D., y colaboradores. 2012. Risk factors for oral HPV infection among a high prevalence population of HIV-positive and at-risk HIV-negative adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **21** (1): 122–133.
6. Beachler, D., Abraham, A., Silverberg, M., Jing, Y., Fakhry, C., Gill, M., Dubrow, y col. 2014. Incidence and risk factors of VPH-related and VPH-

- unrelated Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in HIV-infected individuals. *Oral Oncol.* **50**(12):1169–1176.
7. Benito, M., Benito, M., Bernardoni, C., Arteaga, M., Sotolongo, M., Benito, M., Pereira, S., y colaboradores. 2007. Manifestaciones bucales en pacientes VIH positivos y su relación con valores de Linfocitos CD4. *Acta Odontol Venezolana.* **45**(2): 229-233.
 8. Bernard, B., Baily, C., Lenoir, M., Darmon, M., Thierry, F., Yaniv M. 1989. The human papillomavirus type 18 (HPV 18) E2 gene product is a repressor of the HPV 18 regulatory region in human keratinocytes. *J Virol.* **66**: 4317-4324.
 9. Birnbaum, W., Hodgson, T., Reichart, P., Sherson, W., Nittayannanta, S., Axell, T. 2002. Prognostic significance of HIV-associated oral lesions and their relation to therapy. *Oral Dis.* **8**: 110-4.
 10. Boraks, S. 2004. Diagnóstico bucal. Editorial Artes Médicas, Primera Edición, Sau Paulo, Brasil.
 11. Bravo, I., Correnti, M., Escalona, L., Perrone, M., Brito, A., Tovar, V., Rivera, H. 2006. Prevalence of oral lesions in HIV patients related to CD4 cell count and viral load in a Venezuelan population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* **11**: E33-9.
 12. Buchacz, K., Baker, R., Palella, F., Chmiel, J., Lichtenstein, K., Novak, R., y colaboradores. 2010. AIDS-defining opportunistic illnesses in US patients, 1994-2007: a cohort study. *AIDS.* **24**: 1549– 1559.
 13. Buchner, A., Ramón, A. 1973. Focal epithelial hyperplasia. Report of two

- cases from Israel and review of the literature. *Arch Dermatol.* **107**: 97-8.
14. Buonaguro, F., Tornesello, M., Buonaguro, L., Del Gaudio, E., Beth-Giraldo, E., y col. 1994. Role of HIV as cofactor in VPHoncogenesis: in vitro evidences of virus interactions. *AntibiotChemother.* 46:102-109
 15. Cameron, J., Mercante, D., O'brien, M., Gaffga, A., Leigh,J., Fidel, P, Hagensee, M. 2005. The Impact of Highly Active Antiretroviral Therapy and Immunodeficiency on Human Papillomavirus Infection of the Oral Cavity of Human Immunodeficiency Virus–Seropositive Adults. *Sexually Transmitted Diseases.* **32** (11): 703–709.
 16. Cañadas, M., Lloveras, B., Lorincz, A., Ejarque, M., Font, R., Bosch, X., De Sanjosé, S. 2006. Evaluación de las técnicas de detección de VPH en los programas de cribado para cáncer de cuello uterino. *Salud pública de México.* **48** (5).
 17. Carlos, B., Sedano, H. 1994. Multifocal papilloma virus epithelial hyperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* **77**: 631-5.
 18. Castellsagué, X. 2008. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *GynecolOncol.* **110**: 4-7.
 19. Ceballos, A., Gaitán, L., Ceballos, L., Lezama, D. 2000. Oral lesions in HIV/AIDS patients undergoing highly active antiretroviral treatment including protease inhibitors: A new face of oral AIDS?. *AIDS Patient Care STDS.* **12**: 627- 35.
 20. Ceballos, A., Antunez, J., Aguirre, J., Bagan, J., Ceballos, L. 1998. Lesiones orales asociadas a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana

- en una población de 510 enfermos. *Medicina Oral*. **3**: 199-206.
21. Center for Disease Control and Prevention 1993. 1992. Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescent and adults. *MMWR*. **41**: 1-19.
 22. Center for disease Control and Prevention. 1981. Kaposi's sarcoma and Pneumocystis carinii pneumonia among homosexual men- New York city and California. *MMWR*. **30**: 305-308.
 23. Challacombe, S., Coogan, M., Williams, D. 2002. Overview of the Fourth International Workshop on the Oral Manifestations of HIV Infection. *Oral Dis*. **8**: 9-14.
 24. Chaturvedi, A., Madeleine, M., Biggar, R., Engels, E. 2009. Risk of human papillomavirus-associated cancers among persons with AIDS. *J Natl Cancer Inst*. **101**: 1120-1130.
 25. Chávez, E., Castillo, R. 2013. Revisión bibliográfica sobre VIH/SIDA. *Multimed*. **17** (4): 189-213
 26. Cherry-Peppers, G., Daniels, C., Meeks, V., Sanders, C., Reznik, D. 2003. Oral manifestations in the era of HAART. *J Natl Med Assoc*. **95**: 21-32.
 27. Chun, T., Carruth, L., Finzi, D., Shen, X., Di Giuseppe, J., Taylor, H., Hermankova, M., y col. 1997. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature*. **387**:183-188. doi: [10.1038/387183a0](https://doi.org/10.1038/387183a0)
 28. Clifford, G., Polesel, J., Rickenbach, M., Dal Maso, L., Keiser, O., y colaboradores. 2005. Cancer risk in the Swiss HIV Cohort Study:

- associations with immunodeficiency, smoking, and highly active antiretroviral therapy. *J Natl Cancer Inst.* **97**: 425–432.
29. Coogan, M., Greenspan, J., Challacombe, S. 2005. Oral lesions in infection with human immunodeficiency virus. *Bull WHO.* **83**: 700-706.
 30. Cortés, E., Leal, C. 2001. Papilomavirus Humano Biología Molecular y Patogénesis. *Salud Pública y Nutrición.* **2**: 10-15.
 31. Coutlée, F., Trottier, A., Ghattas, G., Leduc, R., Toma, E., Sanche, G., Rodrigues, I., y colaboradores. 1997. Risk factors for oral human papillomavirus in adults infected and not infected with human immunodeficiency virus. *Sex Transm Dis.* **24**(1): 23-31.
 32. D'Souza, G., Fakhry, C., Sugar, E., Seaberg, E., Weber K., Minkoff, H., Anastos, K., y col. 2007. Six-month natural history of oral versus cervical human papillomavirus infection. *Int J Cancer.* **121**: 143-150. doi: [10.1002/ijc.22667](https://doi.org/10.1002/ijc.22667) PMID: [17354235](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17354235/)
 33. De Berrazuela, F. 2007. Evolución de las lesiones orales asociadas al SIDA de origen viral. Tesis doctoral. Universidad de Granada. Granada, España.
 34. De Vuyst, H., Lillo, F., Broutet, N., Smith, J. 2008. HIV, human papillomavirus, and cervical neoplasia and cancer in the era of highly active antiretroviral therapy. *Eur J Cancer Prev.* **17**: 545-554.
 35. Del Mistro, A., Baboci, L., Frayle-Salamanca, H., Trevisan, R., Bergamo, E., Lignitto, L., Sasset, L., y colaboradores. 2012. Oral Human Papillomavirus and Human Herpesvirus-8 Infections among Human Immunodeficiency Virus Type 1YInfected Men and Women in Italy.

- Sexually Transmitted Diseases*. **39** (11): 894-898.
36. Delgado, A., Vallejo, E., Marlos, E. 2004. Oral manifestations of HIV infection in infants: a review article. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. **9**: 410-420.
 37. Demeret, C., Desaintes, C., Yaniv, M., and Thierry, F. 1997. Different mechanism contribute to the E2- mediated transcriptional repression of human papillomavirus type 18 viral oncogenes. *J Virol*. **71**: 9343- 9349.
 38. Díaz, P., Ocampo, A., Miralles, C. 2000. Changing prevalence of human immunodeficiency virus-associated oral lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 403-404.
 39. Dimmok , N., Eastona, A., Leppard, K. 2007. Introduction to Modern Virology. Blackwell Publishing Ltd, Sexta edición, Malden, MA, USA.
 40. Dyson, N., Howley, P., Münger, K., Harlow, E. 1989. The human papillomavirus- 16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*. **243**: 934- 937.
 41. Engels, E., Biggar, R., Hall, H., Cross, H., Crutchfield, A., Finch, J., y colaboradores. 2008. Cancer risk in people infected with human immunodeficiency virus in the United States. *Int J Cancer*. **123**: 187– 194.
 42. Escalona, L., Correnti, M., Veitía, D., Perrone, M. 2011. Detección de Virus Papiloma Humano en el fluido gingival de pacientes con inmunodeficiencia humana y enfermedad periodontal. *Invest Clin*. 52(3): 207 – 215.
 43. Fakhry, C., Sugar, E., D’Souza, G., Gillison, M. 2010. Two-Week versus

- Six-Month Sampling Interval in a Short-Term Natural History Study of Oral HPV Infection in an HIV-Positive Cohort. *PLoS ONE*. **5**(7): e11918.
44. Fatahzadeh, M., Schlecht, N., Chen, Z., Bottalico, D., McKinney, S., Ostoloza, J., Dunne, A., Burk, R. 2013. Oral Human Papillomavirus Detection in Older Adults Who Have Human Immunodeficiency Virus Infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. **115**(4): 505–514
 45. Francis, D., Schmidt, S., Howley, P. 2000. Repression of the integrated papillomavirus E6/E7 promoter is required for growth suppression of cervical cancer cells. *J Virol*. **74**: 2679-2686.
 46. Frieden, T., Jaffe, H., Cono, J., Richards, C., Lademarco, M. 2014. Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection — United States, 2014. *MMWR*. **63**(3):1-10.
 47. Gallardo, R., Castillo, K., Alegría, P., Blackburn, E. 2016. Manifestaciones Orales en pacientes VIH/SIDA del Hospital Base de Valdivia en Chile. *CES Odont*. **29**(2): 12-19.
 48. García, C., del Carmen, I., Granados, M. 2009. VPH y los Carcinomas de Cavidad Bucal y Bucofaringe. *Cancerología*. **4**: 181-191
 49. Garlick, J. 1991. Taichman LB. Human papillomavirus infection of the oral mucosa. *Am J Dermatopathol*. **13**: 386-95.
 50. Garlick, J., Calderon, S., Buchner, A., Mitrani, S. 1989. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in focal epithelial hyperplasia. *J Oral Pathol Med*. **18**: 172-177.
 51. Gbabe, O., Okwundu, C., Dediccoat, M., Freeman, E. 2014. Treatment of

- severe or progressive Kaposi's sarcoma in HIV-infected adults. *Cochrane database Syst Rev.* **8**: CD003256. doi: 10.1002 14651858.CD003256.pub2
PMID: 25221796
52. Gileva, O., Sazhina, M., Gileva, E., Efimov, A., Scully, C. 2004. Espectro de las manifestaciones orales de VIH/SIDA en la región de Perm (Rusia) e identificación de lesiones orales linguales ulceronecrotizantes inducidas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* **9**(3): 212-215.
53. Gillison, M. 2009. Oropharyngeal cancer: a potential consequence of concomitant HPV and HIV infection. *Curr Opin Oncol.* **21**: 439-444.
54. Gillison, M., Broutian, T., Pickard, R., Tong, Z., Xiao, W., Kahle, L., Graubard, B., y colaboradores. 2012. Prevalence of oral VPH infection in the United States, 2009–2010. *JAMA.* **307**:693–703.
55. Gillison, M., Broutian, T., Pickard, R., y colaboradores. 2012. Prevalence of oral VPH infection in the United States, 2009–2010. *JAMA.* **307**:693–703.
56. Gonzáles, G., Nuñez, J. 2014. Historia natural de la infección por el virus del papiloma humano: una actualización. *Invest Clin.* **55** (1): 82-91.
57. Grando, L., Yurgel, L., Machado, D., Nachman, S., Ferguson, F., Berentsen, B., y colaboradores. 2003. The association between oral manifestations and the socioeconomic and cultural characteristics of HIV-infected children in Brazil and in the United States of America. *Rev Panam Salud Publica.* **14**: 112-118.
58. Gravitt, P. 2012. Evidence and Impact of Human Papillomavirus Latency. *The Open Virology Journal.***6**:198-203.

59. Greenspan, D., Canchola, A., MacPhail, L., Cheikh, B., Greenspan, J. 2001. Effect of highly active antiretroviral therapy on frequency of oral warts. *Lancet*. **357**: 1411–1412.
60. Greenspan, D., Greenspan, J. 1987. Oral mucosal manifestations of AIDS. *DermatoClin*. **5**(4), 733- 737.
61. Greenspan, D., Schiodt, M., Greenspan, J. 1990. AIDS and the mouth. *Dermatol Clin*. **5**: 733-737.
62. Greenspan, J., Greenspan, D. 2002. The epidemiology of the oral lesions of HIV infection in the developed world. *Oral Diseases*. **8**(2), 34-39. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12164657>
63. Greenwood, I., Zakrzewska, J., Robinson, P. 2002. Changes in the prevalence of HIV-associated mucosal disease at a dedicated clinic over 7 years. *Oral Dis*. **8**: 90-94.
64. Grivel, J., Penn, M., Eckstein, D., Schramm, B., Speck, R., Abbey, N., Herndier, B., y col. 2000. Human immunodeficiency virustype 1 coreceptor preferences determine target T-cell depletion and cellular tropism in human lymphoidtissue. *J Virol*. **74**:5347-5351.
65. Gutman, L., Herman, M., Phelps, W. 1993. Transmission of human genital papillomavirus disease: comparison of data from adults and children. *Pediatrics*. **91**: 31-38
66. Ha, P, Califano, J. 2004. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*. **15**: 188-196.
67. Hathaway, J. 2012. HPV: Diagnosis, Prevention, and Treatment. *Clinical*

- Obstetrics and Gynecology*. **55** (3): 671–680.
68. Heideman, D., Snijders, P., Berkhof, J. 2008. Vaccination against HPV: indications for women and the impact on the cervical screening programme. *BJOG*. **115**: 938–946.
69. Henke, R., Guerin, I., Milde, K., Strömme, H., Löning, T. 1989. In situ detection of human papillomaviruses types 13 and 32 in focal epithelial hyperplasia of the oral mucosa. *J Pathol Med*. **18**: 419-21.
70. Hernández, E., Mohar, A., Lizano, M. 2004. Elementos víricos y celulares que intervienen en el proceso de replicación del virus del papiloma humano. *Rev Oncol*. **6**(5): 263-71.
71. Hernández, P., Eriksson, A., Tamayo, R., Peterson, U., Moreno, J. 1987. Human papillomaviruses type 13 DNA in focal epithelial hyperplasia among Mexicans. *Arch Virol*. **93**: 131-7.
72. http://www.who.int/gho/hiv/epidemic/hiv_001.jpg [Consulta: 09 de Marzo de 2017]
73. Jarvis, A., Gorlin, R. 1989. Focal epithelial hyperplasia in an Eskimo population. *Oral Surg*. **32**: 227-8.
74. Jiménez, M., Harris, R., Palomino, W., Díaz, A., Puello, E. 2012. Manifestaciones orales en pacientes VIH/SIDA asociadas a tratamiento antirretroviral y el estado inmunológico en dos fundaciones de la ciudad de Cartagena. *Av Odontoestomatol*. **28**(4) 181-189.
75. Kabbas, A., Lightman, H., Pober, S. 1995. Inmunología celular y molecular. *Interamericana Mac Graw-Hill*. 472-486.

76. Kim, R., Yochim, J., Kang, M., Shin, K., Christensen, R., y col. 2008. HIV-1 Tat enhances replicative potential of human oral keratinocytes harboring VPH-16 genome. *Int J Oncol.* **33**:777-782.
77. King, M., Reznik, D., O'Daniels, C., Larsen, N., Osterholt, D., Blumberg, H. 2002. Human papillomavirus-associated oral warts among human immunodeficiency virus-seropositive patients in the era of highly active antiretroviral therapy: an emerging infection. *Clin Infect Dis.* **34**: 641–648.
78. Kreimer, A., Alberg, A., Daniel, R., Gravitt, P., Viscidi, R., Garrett, E., y colaboradores. 2004. Oral human papillomavirus infection in adults is associated with sexual behavior and HIV serostatus. *J Infect Dis.* **189**: 686–698.
79. Kumar, A., Pandya, S., Mehrotra, R., Bharti, A., Singh, M., Singh, M. 2010. Comparative study between the Hybrid Capture II test and PCR based assay for the detection of human papillomavirus DNA in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *Virology Journal.* **7**: 253
80. Ledesma, M., Torres, V., Garcés, O., López, M. 1992. Hiperplasia epitelial focal (enfermedad de Heck). Estudio clínico-patológico. *Práctica Odontológica.* **13**: 21-6.
81. Levy, J. 2007. HIV and the pathogenesis of AIDS. Washington DC: Wiley-Blackwell.
82. Lorincz, A., Reid, R., Bennett, A., Greenberg, M., Lanster, W., Kurman, R. 1992. Human papillomavirus infection of the cervix relative risk associations of 15 common anogenital type. *Obstet Gynecol.* **79**: 328- 337.

83. Lourenço, A., Motta, A., de Figueiredo, L., Machado, A., Komesu, M. 2011. Oral lesions associated with HIV infection before and during the antiretroviral therapy era in Ribeirão Preto, Brazil. *J Oral Sci.* **53**: 379–85. PMID: [21959667](#)
84. Manos, M., Wright, D., Lewis, A., Broker, T., Wolinsky, S. 1989. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papilloma viruses. *Cancer Cells.* **7**: 209-14.
85. Marais, D., Passmore, J., Denny, L., Sampson, C., Allan, B., Williamson, A. 2008. Cervical and Oral Human Papillomavirus Types in HIV-1 Positive and Negative Women With Cervical Disease in South Africa. *Journal of Medical Virology.* **80**: 953–959
86. Martínez, A., Baldiris, R., Díaz, A. 2012. Papiloma bucal producido por VPH y su relación con carcinoma. *Rev Clín Med Fam.* **5** (2): 144-145.
87. Mascarenhas, A., Smith, S., Hill, S. 1999. Factors associated with utilization of care for oral lesions in HIV disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **87**: 708-13.
88. McCoy, JP. 2002. Basic principles of flow cytometry. *Hematol Oncol Clin N Am.* **16**: 229-243.
89. McMurray, HR., Nguyen, D., Westbrook, TF., McAnce, DJ. 2001. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Pathol.* **82**: 15-33
90. Medina, N., Brett, M., Betancourt, F., Patiño, J. 2012. Frecuencia de lesiones en cavidad oral de pacientes con VIH/sida en el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá, Colombia (2005-2010). *Univ Odontol.*

31(66): 51-58.

91. Mellors, J., Margolick, J., Phair, J., Rinaldo, C., Detels, R., Jacobson, LP., y colaboradores. 2007. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA*. **297**: 2349-2350.
92. Mellors, J., Muñoz, A., Girodi, J. 1997. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann InternMed*. **126**: 946-954.
93. Miller, C., White, D. 1996. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma. A retrospective review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. **82**: 57-68.
94. Milzman, D., Milzman, J. 1999. Clínicas odontológicas de Norteamérica: Tratamiento de pacientes con trastornos médicos y sus complicaciones. En: Bordon E; Bordon J. eds. Problemas relacionados con las enfermedades infecciosas y sus posibles complicaciones en el paciente dental. *McGraw-Hill Interamericana Editores*. 481-504.
95. Moerman, M., Danielides, V., Nousia, C., Van Wanseele, F., Forsyth, R., Vermeersch, H. 2001. Recurrent focal epithelial hyperplasia due to HPV 13 in an HIVpositive patient. *Dermatology*. **203**: 339-341.
96. Molijn, A., Kleter, B., Quint, W., van Doorn, Y. 2005. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*. **1**: 43-51.
97. Moniaci, D., Greco, D., Flecchia, G., Raitieri, R., Sinicco, A. 1990.

- Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. *J Oral Pathol Med.* **19**:477-81.
98. Mooij S, Hein J. Boot, M., Speksnijder, A., Stolte, I., Meijer, C., Snijders, P., Verhagen, D., King, A., de Vries, H., Quint, W., Van der Sande, M., Schim van der Loeff, M. 2013. Oral human papillomavirus infection in HIV-negative and HIV-infected MSM. *AIDS.* **27**: 2117–2128.
 99. Moscicki, A., Schiffman, M., Kjaer, S., Villa, L. 2006. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine.* **24** (3): 43- 53.
 100. Muller, K., Kazimiroff, J., Fatahzaden, M., Smith, R., Wiltz, M., Polanco, J., Grossberg y colaboradores. 2015. Oral Human Papillomavirus Infection and Oral Lesions in HIV-Positive and HIV-Negative Dental Patients. *JID.* **212**; 760-768.
 101. Muñoz, N. 2000. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol.* **19**: 1- 5.
 102. Muñoz, N., Bosch, F., de Sanjose, S. 2003. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med.* **348**: 518-527.
 103. Murphy, K., Paul, T., Walport, M. 2008. *Inmunobiología de Janeway.* McGraw-Hill interamericana editores, s.a. de c.v, Séptima edición, México, D.F.
 104. Narani, N., Epstein, J. 2001. Classifications of oral lesions in HIV infection. *J Clin Periodontol.* **28**: 137-145.
 105. Naucler, P., Törnberg, S. 2007. Human Papillomavirus and Papanicolaou

- Tests to Screen for Cervical Cancer. *N Engl J Med.* **357**: 1589-1597.
106. Navarrete, D. 2014. Frecuencia de lesiones orales en pacientes adultos VIH/SIDA en el Hospital San Juan de Dios. Tesis de grado. Universidad de Chile. Santiago de Chile.
 107. Noda, A., Vidal, L., Pérez, J., Cañete, R., 2013. *Revista Cubana de Medicina.* **52**(2): 118-127
 108. Nyagol, J., Leucci, E., Onnis, A., De Falco, G., Tigli, C., y col. 2006. The effects of HIV-1 Tat protein on cell cycle during cervical carcinogenesis. *Cancer BiolTher.* **5**:684-690.
 109. Oaknin, A., Díaz de Corcuera, I., Rodríguez-Freixinós, V. 2012. SEOM guidelines for cervical cancer. *Clin Transl Oncol.* **14**: 516-519.
 110. Padayachee, A., van Wick, C. 1991. Human papillomavirus (HPV) DNA in focal epithelial hyperplasia by in situ hybridization. *J Pathol Med.* **20**: 210-4.
 111. Padilla, L. 2005. Human Papillomavirus Vaccine: History, Immunology, Current Status, and Future Prospects. *Clinical Obstetrics and Gynecology.* **48** (1): 226–240.
 112. Palefsky, J. 2003. Cervical human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in women positive for human immunodeficiency virus in the era of highly active antiretroviral therapy. *Curr Opin Oncol.* **15**: 382-388.
 113. Parisi, S., Cruciani, M., Scaggiante, R., Boldrin, C., Andreis, S., Dal Bello, F., Pagni, S., Barelli, A., Sattin, A., Mengoli, C., Palù, G..2011. Anal and

- oral human papillomavirus (HPV) infection in HIV-infected subjects in northern Italy: a longitudinal cohort study among men who have sex with men. *BMC Infectious Diseases*. **11**: 150
114. Patel, P., Hanson, D., Sullivan, P., Novak, R., Moorman, A., Tong, T., y colaboradores. 2008. Incidence of types of cancer among HIV infected persons compared with the general population in the United States, 1992-2003. *Ann Intern Med*. **148**: 728–736.
115. Patton, L. 1999. Hematologic abnormalities among HIV- infected patients: Associations of significance for dentistry. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod*. **88**: 561-7.
116. Patton, L., McKaig, R., Strauss, R., Eron, J. 1998. Oral Manifestations of HIV in a southeast USA population. *Oral Dis*.**4**: 164-9.
117. Patton, L., McKaig, R., Strauss, R., Rogers, D., Eron, J. 2000. Changing prevalence of oral manifestations of human immuno-deficiency virus in the era of protease inhibitor therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod*. **89**: 299–304. PMID: 10710453
118. Patton, L., Ramirez, V., Anaya, G., Nittayananta, W., Carrozzo, M., Ranganathan, K. 2013. Urban legends series: oral manifestations of HIV infection. *Oral Diseases*. **19** (6), 533–550. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23517181>
119. Patton, L., Van der Horst, C. 1999. Oral infections and other manifestations of HIV disease. *Infectious Disease Clinics of North America*. 879–900.
120. Patton, L., Shugars, D. 1999. Immunologic and viral markers of HIV-1

- disease progression: implications for dentistry. *JADA*. **130**: 1313-22.
121. Piketty, C., Selinger-Leneman, H., Bouvier, A., Belot, A., Mary-Krause, M., Duvivier, C., Bonmarchand, M., y colaboradores. 2012. Incidence of HIV related anal cancer remains increased despite long-term combined antiretroviral treatment: results from the french hospital database on HIV. *J ClinOncol*. **30**: 4360-4366. doi: 10.1200/JCO.2012.44.5486 PMID: 23091098.
 122. Pilgard, G. 1984. Focal epithelial hyperplasia. Report of nine cases from Sweden and review of the literature. *Oral Surg*. **57**: 540-3.
 123. Porter, R., Scully, C. 1994. HIV: The surgeons perspective: Part 3, Diagnosis and management of malignant neoplasm. *Brit J Oral Maxillofac Surg*. **32**: 241-247.
 124. Ranganathan, K., Umadevi, M., Saraswathi, T., Kumarasamy, N., Solomon, S., Johnson, N. 2004. Oral lesions and conditions associated with Human Immunodeficiency Virus infection in 1000 South Indian patients. *Ann Acad Med Singapore*. **33**:37-42.
 125. Read, T., Hocking, J., Vodstrcil, L., Tabrizi, S., McCullough, J., Grulich, A., Garland, S., y colaboradores. 2012. Oral Human Papillomavirus in Men Having Sex with Men: Risk-Factors and Sampling. *PLoS ONE*. **7**(11): e49324.
 126. Reichart, P., Khongkhunthian, P., Bendick, C. 2003. Oral Manifestations in HIV infected individuals from Thailand and Cambodia. *Med MicrobiolImmunol*. **192**:157-60

127. Reimers, L., Anderson, W., Rosenberg, P., Henson, D., Castle, P. 2009. Etiologic Heterogeneity for Cervical Carcinoma by Histopathologic Type, using comparative age period-cohort models. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **18**(3): 792-799.
128. Richter, K., van Rensburg, E., van Heerden, W., Boy, S. 2008. Human papilloma virus types in the oral and cervical mucosa of HIV-positive South African women prior to antiretroviral therapy. *J Oral Pathol Med.* **37**: 555–559.
129. Roland, K., Soman, A., Bernard, V. 2011. Human papillomavirus and Papanicolaou test screening interval recommendations in the United States. *Am J Obstet Gynecol.* **205**: 1-8.
130. Saavedra, A. 2016. Manifestaciones clínicas orales en pacientes VIH-SIDA en el servicio de infectología Hospital Nacional Hipólito Unanue en el año 2014. Tesis de grado. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima, Peru.
131. Safaeian, M., Porras, C., Schiffman, M. 2010. Epidemiological study of anti-HPV16/18 seropositivity and subsequent risk of HPV16 and -18 infections. *J Natl Cancer Inst.* **102**(21): 1653–1662.
132. Sasagawa, T., Takagi, H., Makinoda, S. 2012. Immune responses against human papillomavirus (VPH) infection and evasion of host defense in cervical cancer. *J Infect Chemother.* **18**:807-815. doi: [10.1007/s10156-012-0485-5](https://doi.org/10.1007/s10156-012-0485-5)
133. Scheffner, M., Huibregtse, J., Vierstra, R., Howley, H. 1993. The HPV- 16

- E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin- protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell*. **75**: 495- 505.
134. Schiodt, M., Greenspan, D., Daniels, T., Nelson, J., Leggott, P., Wara, D., y colaboradores. 1989. Parotid gland enlargement and xerostomia associated labial sialadenitis in HIV-infected patients. *J Autoimmune*. **2**: 415-425.
135. Schmidt, A., Priepeke, F., Bergmann, F., Reichart, P. 2000. Decline in the rate of oral opportunistic infections following introduction of highly active antiretroviral therapy. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. **29**: 336-341.
136. Scott, M., Nakagawa, M., Moscicki, A. 2001. Cell-mediated immune response to human papillomavirus infection. *ClinDiagn Lab Immunol*. **8**:209±220. doi: [10.1128/CDLI.8.2.209-220.2001](https://doi.org/10.1128/CDLI.8.2.209-220.2001)
137. Scully, C., Laskaris, G., Pindborg, J., Porter, S., Reichart, P. 1991. Oral manifestations of HIV infection and their management: I, More common lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. **71**: 158-166.
138. Shiboski, C. 2002. HIV-related oral disease epidemiology among women: year 2000 update. *Oral Dis*. **8**: 44-48.
139. Shiboski, C., Leeb, A., Chenb, H., Webster-Cyriaquec, J., Seamanc, T., Landovitzd, R., Johne, M., y colaboradores. 2016. Human papillomavirus infection in the oral cavity of HIV patients is not reduced by initiating antiretroviral therapy. *AIDS*. **30**: 1573–1582
140. Shiboski, H., Wilson, C., Greenspan, D., Hilton, J., Greenspan, J., Moscicki, A.2001. HIV-related oral manifestations among adolescents in a multicenter

- cohort study. *J Adolesc Heal.* 2001; 29: 109–114. doi:[10.1016/S1054-139X\(01\)00280-4](https://doi.org/10.1016/S1054-139X(01)00280-4)
141. Speicher, D., Sehu, M., Johnson, N., Shaw, D. 2013. Successful treatment of an HIV-positive patient with unmasking Kaposi's sarcoma immune reconstitution inflammatory syndrome. *J Clin Virol.* **57**: 282–5. doi: [10.1016/j.jcv.2013.03.005](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2013.03.005) PMID: 23578530
 142. Steinau, M., Reddy, D., Sumbry, A., Reznik, D., Gunthel, C., del Rio, C., Lennox, J., y colaboradores. 2011. Oral sampling and human papillomavirus genotyping in HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med.* doi: [10.1111/j.1600-0714.2011.01093.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2011.01093.x)
 143. Strickler, H., Burk, R., Fazzari, M., Anastos, K., Minkoff, H., Massad, S., Hall, C., y col. 2005. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst.* **97**(8):577–586.
 144. Summersgill, K., Smith, M., Levy, B., Allen, J., Haugen, H., Turek, L. 2001. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **92**: 62-69
 145. Syrjanen, S. 2011. Human papillomavirus infection and its association with HIV. *Adv Dent Res.* 23:84-89.
 146. Tanti, P., Zapparore, R., Migliora, P., Spinillo, A., Belloni, C., Carnevali, L. 1999. Perinatal transmission of human papillomavirus from gravidas with latent infections. *Obstet Gynecol.* **93**: 475-479.

147. Tetali, S., Bakshi, S., Pahwa, S., Abrams, E., Romano, J., Pahwa, S. 1998. Plasma virus load evaluation in relation to disease progression in HIV infected children. *AIDS Res Hum Retroviruses*. **14**: 571-577.
148. Theiler, R., Farr, S., Karon, J., Paramsothy, P., Viscidi, R., Duerr, A., Cu-Uvin, S., y col. 2010. High-risk human papillomavirus reactivation in human immunodeficiency virus-infected women: risk factors for cervical viral shedding. *Obstet Gynecol*. **115**(6):1150–1158.
149. Tong P, Mutasim, D. 1996. Herpes simplex virus infection masquerading as condyloma acuminata in a patient with HIV disease. *British J Dermatol*. **134**: 797-800.
150. Tugizov, S., Herrera, R., Chin-Hong, P., Veluppillai, P., Greenspan, D., Berry, M., Pilcher, C., y col. 2013. HIV-associated disruption of mucosal epithelium facilitates paracellular penetration by human papillomavirus. *Virology*. **446**(0):1-25.
151. van Wick, C., Staz, J., Farman, A. 1977. Focal epithelial hyperplasia in a group of South Africans: Its clinical and microscopic features. *J Oral Pathol*. **6**: 1-13.
152. Verma, M., Erwin, S., Abedi, V., Hontecillas, R., Hoops, S., Leber, A., Bassaganya, J., y col. 2017. Modeling the Mechanisms by Which HIV-Associated Immunosuppression Influences VPH Persistence at the Oral Mucosa. *PLoS ONE*. **12**(1): e0168133. doi:10.1371/journal.pone.0168133
153. Vernon, S., Hart, C., Reeves, W., Icenogle, J. 1993. The HIV-1 tat protein enhances E2-dependent human papillomavirus 16 transcription. *Virus Res*.

27:133-145

154. Videla, S., Darwich, L., Cañadas, M., Coll, J., Piñol, M., García-Cuyás, F., Molina-Lopez, R., y colaboradores. 2013. Natural History of Human Papillomavirus Infections Involving Anal, Penile, and Oral Sites Among HIV-Positive Men. *Sexually Transmitted Diseases*. **40** (1): 3-10.
155. zur Hausen, H. 1996. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers. *Biochim. Biophys Acta*. **1228**: 55-78.
156. Anaya, G., Flores, B., Garcia, A., Irigoyen, E., Guido, M., Ramirez, V. 2013. HPV oral lesions in HIV-infected patients: the impact of long-term HAART. *J Oral Pathol Med*. **42**:443–9.

XI. ANEXOS

1. Comité de Bioética de la Facultad de Odontología (Anexo 1).

COMITE
Bi**ETICA**
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA - UCV

CE-HONV-021-2016

Caracas, 11 de enero de 2017

Ciudadana
Lic. Carolina ~~Guilata~~

Nos dirigimos a usted en la oportunidad de informarle que el Comité de Bioética de esta Facultad, una vez analizado su proyecto de investigación bajo el título:
"Estudio de las infecciones virales, bacterianas y fúngicas en un grupo de pacientes VIH+"

Concluye que aprueba el protocolo de investigación presentado por usted, por lo tanto tiene el **Aval Inicial**, el cual tiene validez de un año a partir de la fecha 11 de enero de 2017 hasta el 11 de enero de 2018. Se le informa que debe presentar un informe sobre los resultados parciales o finales de la investigación durante el lapso antes mencionado, ya que el aval es indispensable para defender su presentación o para publicarla. En caso de no concluir la investigación, deberá consignar un informe con los resultados parciales para prorrogar el aval o en el mejor de los casos un informe con los resultados finales de su investigación y poder concluir el seguimiento de la investigación por parte del Comité de Bioética.

El Comité no subroga ni reemplaza de responsabilidad a quienes han solicitado su aval, para realizar un proyecto de investigación o asesoramiento. Las resoluciones no son amparo jurídico directo, ya que la ejecución debe estar en manos del profesional responsable.

Sin otro particular a que hacer referencia,

Atentamente,



Prof. Kenny Loyo Molina
Coordinadora del Comité de Bioética

KLM/~~klm~~

2. Consentimiento Informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACION EN LA INVESTIGACION CLINICA "ESTUDIO DE LAS INFECCIONES VIRALES, BACTERIANAS Y FUNGICAS EN LA CAVIDAD BUCAL DE UN GRUPO DE PACIENTES VIH+.

Yo, _____ edad: _____, C.I. _____ domiciliado en _____ declaro lo siguiente: entiendo que el objetivo de esta investigación es estudiar las infecciones virales, bacterianas y fúngicas presentes en la cavidad bucal. Si decido participar en este estudio el investigador me hará unas preguntas sobre mis antecedentes médicos y odontológicos. En un primer momento (tiempo 0): el investigador realizará un examen clínico bucal, empleando espejo plano bucal y sonda periodontal y procederá a tomar las diferentes muestras con hisopos para la determinación de virus, bacterias y hongos

Me informaron que los riesgos de estos procedimientos son mínimos, que no produce molestias. Recibiré la información del resultado de esta investigación la cual permitirá que el odontólogo sugiera el tratamiento adecuado en caso de ameritarlo lo cual permitirá mantener los tejidos bucales en estado de salud, siendo un beneficio para los pacientes y el investigador por los aportes en el área de estudio. Me garantizan la confidencialidad de la información y el resguardo de mi identidad. Además, tuve suficiente tiempo para tomar la decisión de participar y me siento libre, sin coacción ni manipulación. Igualmente sé que puedo retirarme del proyecto y esto no acarreará ninguna represalia. Se me explicó que no debo cancelar ningún costo por la evaluación clínica ni por la toma de la muestra de hisopo, esta etapa estará financiada por el investigador. Entiendo que el resultado de la investigación será utilizada con fines académicos y en actividades científicas, jornadas, cursos o congresos resguardando mi identidad. También comprendo que no existe ninguna compensación o indemnización derivada de este estudio.

Confirmando que luego de aclarar mis dudas, me siento informado, comprendo la información, libre, sin coacción ni manipulación, para decidir voluntariamente, con el tiempo suficiente para meditar o consultar la decisión con quien considere pertinente, de acuerdo con mis valores e intereses y me declaro competente para tomar las decisiones que correspondan. En tal sentido DOY MI CONSENTIMIENTO AL FACULTATIVO A REALIZAR LOS PROCEDIMIENTOS PERTINENTES _____ o NO CONSIENTO _____, con el buen entendido que puedo retirar este consentimiento por escrito cuando así lo desee, sin represalia, ni penalidad alguna.

Nombre del participante _____

Edad _____ C.I. _____ Firma: _____

Nombre del Investigador: Carolina Guilarte, COV: 15254 MPPS: 14996 Telf: 0212 6053789

Nombre del testigo _____ C.I.: _____ Firma: _____

Nombre del testigo _____ C.I.: _____ Firma: _____

Fecha: _____

3. Etapa 3 o SIDA.

Enfermedades oportunistas en la infección por VIH:

- Infecciones bacterianas, múltiples o recurrentes.
- Candidiasis de bronquios, tráquea o pulmones.
- Candidiasis del esófago.
- Cáncer de cuello uterino, invasivo.
- Coccidioidomicosis, diseminada o extra pulmonar.
- Criptococosis, extrapulmonar.
- Criptosporidiosis crónica intestinal (menor a 1 mes de duración).
- Enfermedad por citomegalovirus (que no sea hígado, bazo o ganglios), inicio a la edad menor a 1 mes.
- Retinitis por citomegalovirus (con pérdida de la visión).
- Encefalopatía atribuida a HIV.
- Herpes simple: úlceras crónicas (menor a 1 mes de duración) o bronquitis, neumonitis o esofagitis (inicio a la edad menor a 1 mes).
- Histoplasmosis, diseminada o extrapulmonar.
- Isosporiasis crónica intestinal (menor a 1 mes de duración).
- sarcoma de Kaposi.
- Linfoma, Burkitt (o término equivalente).
- Linfoma, inmunoblástico (o término equivalente).
- Linfoma, primario, del cerebro.
- Complejo *Mycobacterium avium* o *Mycobacterium kansasii*, diseminado o

extrapulmonar.

- Mycobacterium tuberculosis en cualquier sitio, pulmonar, diseminado o extrapulmonar.
- Mycobacterium, otras especies o especies no identificadas, diseminadas o extrapulmonares.
- Neumonía por Pneumocystis jirovecii.
- Neumonía, recurrente.
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva.
- Septicemia por Salmonella, recurrente.
- Toxoplasmosis del cerebro, inicio a la edad menor a 1 mes.
- Síndrome de desgaste atribuido a VIH.