

Artículo Original  
Original Article

## COMPARACIÓN DE SUBTIPOS HISTOLÓGICOS Y GENOTIPOS DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) EN LA NEOPLASIA INTRAEPITELIAL DEL PENE (PEIN) CON Y SIN CARCINOMA ESCAMOSO INVASIVO: UN ESTUDIO DE 76 LESIONES EN 43 PACIENTES UTILIZANDO MICRODISECCIÓN POR CAPTURA LÁSER Y PCR

## COMPARISON OF HISTOLOGICAL SUBTYPES AND HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) GENOTYPES IN PENILE INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA (PEIN) WITH AND WITHOUT INVASIVE SQUAMOUS CELL CARCINOMA: A STUDY OF 76 LESIONS IN 43 PATIENTS USING LASER-CAPTURE MICRODISSECTION AND PCR

**María José Fernández-Nestosa**

Universidad Nacional de Asunción, Facultad Politécnica. San Lorenzo, Paraguay

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-7764-7791>

**Diego F. Sánchez**

Universidad Nacional de Asunción, Facultad Politécnica. San Lorenzo, Paraguay

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9503-1947>

**Leticia N. Santacruz**

Instituto de Patología e Investigación. Asunción, Paraguay

Orcid: <https://orcid.org/0009-0005-3756-1658>

**Nuria Guimerà**

DDL Diagnostic Laboratory. Rijswijk, Países Bajos

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4481-4386>

**Elsa F. Velázquez**

Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital. Boston, Estados Unidos

Orcid: <https://orcid.org/0009-0002-1836-2598>

**Ingrid Rodríguez**

Universidad Nacional de Asunción, Hospital de Clínicas. San Lorenzo, Paraguay

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2623-4441>

**Nubia Muñoz**

Instituto Nacional de Cancerología. Bogotá, Colombia

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6732-9973>

**Antonio L. Cubilla**

Instituto de Patología e Investigación. Asunción, Paraguay

Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas. San Lorenzo, Paraguay

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3107-1429>

Autor corresponsal: **Antonio L. Cubilla**: [antonio.cubillaramos@gmail.com](mailto:antonio.cubillaramos@gmail.com)

Como citar este artículo:

Fernández-Nestosa MJ, Sánchez DF, Santacruz LN, Guimerà N, Velázquez EF, Rodríguez I, Muñoz N, y Cubilla AL. Comparación de subtipos histológicos y genotipos del Virus del Papiloma Humano (VPH) en la Neoplasia Intraepitelial del Pene (PEIN) con y sin carcinoma escamoso invasivo: un estudio de 76 lesiones en 43 pacientes utilizando microdissección por captura láser y PCR. Rev. Soc. cient. Parag. 2026;31:e3118.

### RESUMEN

La neoplasia intraepitelial de pene (PeIN) y el carcinoma de pene invasivo presentan un perfil bimodal: VPH-independiente y VPH-asociado. La PeIN puede ocurrir como lesión aislada o asociada a carcinoma invasivo. Este estudio compara los subtipos histológicos y los genotipos de VPH entre ambos grupos. Se evaluaron 40 lesiones de PeIN aisladas (17 pacientes) y 36 lesiones de PeIN asociadas a carcinoma invasivo (26 pacientes). Las lesiones se clasificaron como VPH-independientes (diferenciada), VPH-asociadas (basaloide, warty-basaloide, warty) o mixtas. Se realizó microdissección por captura láser (LCM) y genotipificación con el

sistema SPF-10/DEIA/LiPA25. La PeIN diferenciada fue significativamente más frecuente en los casos con carcinoma invasivo, mientras que la PeIN VPH-asociada predominó en las lesiones aisladas. Se detectó mayor diversidad de genotipos VPH en PeIN aislada (15 vs 6 genotipos). Genotipos exclusivos de PeIN aislada incluyeron VPH 30, 33, 35, 39, 44, 58, 66, 73, 84, 87, 51 y 59; los exclusivos de PeIN con carcinoma invasivo fueron VPH 11, 18 y 74. VPH 16, 52 y 56 fueron comunes a ambos grupos. La falta de correspondencia de los subtipos histológicos y genotipos detectados entre las PeIN aisladas y las asociadas a carcinoma sugiere que varias lesiones PeIN aisladas no progresan a carcinoma invasivo.

**Palabras clave:** Neoplasia de pene; carcinoma de células escamosas; neoplasia intraepitelial de pene; virus del papiloma humano; microdissección láser.

## ABSTRACT

Penile intraepithelial neoplasia (PeIN) and invasive penile carcinoma present a bimodal profile: HPV-independent and HPV-associated. PeIN may occur as a solitary lesion or in association with invasive carcinoma. This study compares histological subtypes and HPV genotypes across both groups. We evaluated PeIN without invasion (40 lesions from 17 patients) and PeIN associated with invasive carcinoma (36 lesions from 26 patients). Lesions were classified as HPV-independent (differentiated), HPV-associated (basaloid, warty-basaloid, and warty), or mixed. Each lesion was microdissected using the LCM and HPV genotyping was performed with the SPF-10/DEIA/LiPA25 system. Differentiated PeIN was significantly more frequent in PeIN with invasive SCC. Conversely, HPV-associated PeIN was more common in solitary PeIN. A greater diversity of HPV genotypes was detected in PeIN alone (15 vs 6 genotypes). Genotypes exclusive to solitary PeIN included HPV 30, 33, 35, 39, 44, 58, 66, 73, 84, 87, 51, and 59. Genotypes exclusive to PeIN with carcinoma were HPV 11, 18, and 74. HPV 16, 52, and 56 were detected in both groups. The lack of correspondence between histological subtypes and HPV genotypes detected in PeIN alone and PeIN with invasive carcinoma suggests that a number of solitary PeIN lesions do not progress to invasive carcinoma.

**Keywords:** Penile neoplasia; penile squamous cell carcinoma; penile intraepithelial neoplasia; human papillomavirus, laser microdissection.

## INTRODUCCIÓN

Desde 2016, las neoplasias precursoras e invasivas del pene se clasifican, de acuerdo con las recomendaciones consensuadas por un grupo de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en lesiones asociadas o independientes del virus del papiloma humano (VPH)<sup>(1,2)</sup>. Esta clasificación reconoce que cada grupo tumoral presenta características morfológicas distintivas.

En 1995, un estudio seminal estableció por primera vez la estrecha relación entre la presencia de VPH y la morfología de los carcinomas invasores de pene. En dicho trabajo se observó que los tumores con morfología basaloide o condilomatosa (warty) se asocian con mayor frecuencia al VPH, en comparación con otros subtipos como el verrucoso, papilar o sarcomatoide<sup>(3)</sup>. Posteriormente, esta asociación se extendió a las lesiones precursoras del pene, identificándose subtipos frecuentemente relacionados con el virus, como la neoplasia intraepitelial peneana (PeIN) de tipo basaloide y warty, y otros no relacionados con el VPH, como la PeIN diferenciada<sup>(4)</sup>.

A partir de estos hallazgos, se postuló la hipótesis de una patogénesis bimodal del cáncer peneano, dependiente o independiente del VPH, concepto que en la actualidad es ampliamente aceptado<sup>(5)</sup>. Diversos estudios han investigado la presencia de genotipos específicos de VPH en la neoplasia peneana, identificándose hasta 22 tipos virales, en su mayoría de alto riesgo oncogénico<sup>(6-9)</sup>. No obstante, en raras ocasiones, el cáncer peneano puede asociarse a genotipos de bajo riesgo<sup>(6, 10)</sup>. Entre los genotipos más frecuentemente reportados se encuentran los tipos 16, 18 y 31<sup>(11, 12)</sup>.

En contraste, existen pocos estudios enfocados en la detección de genotipos de VPH en lesiones precursoras peneanas<sup>(13-16)</sup>. La PeIN presenta una amplia variabilidad morfológica, lo cual se acompaña de una heterogeneidad en su contenido viral<sup>(4, 16)</sup>. Se han descrito diferencias geográficas en la distribución de estos subtipos: en países nórdicos predominan las lesiones precursoras asociadas al VPH, mientras que en regiones tropicales o del sur son más frecuentes las formas no relacionadas con el virus<sup>(17, 18)</sup>.

Clínicamente, estas lesiones pueden manifestarse de diversas maneras: como lesiones aisladas, no asociadas a carcinoma invasivo, o bien en coexistencia con carcinoma invasivo dentro de una misma pieza quirúrgica<sup>(4)</sup>.

El objetivo del presente estudio es comparar la distribución de los subtipos histológicos de PeIN y, en particular, los genotipos de VPH en casos de PeIN sin carcinoma invasivos y en aquellos asociados a carcinoma invasivo.

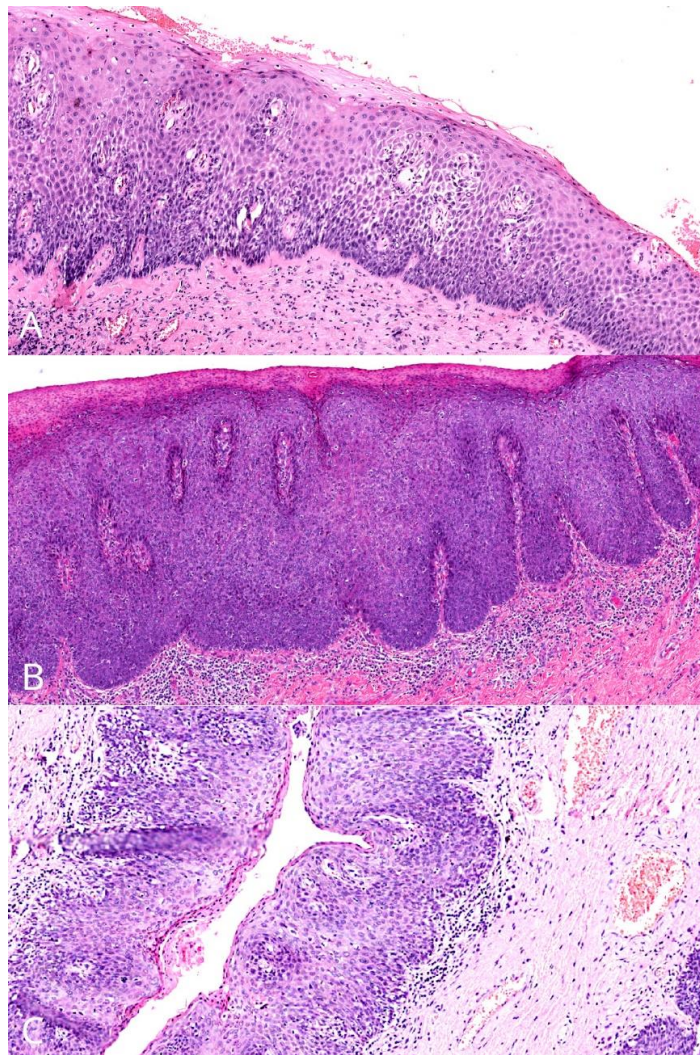
## METODOLOGÍA

### Casos y lesiones estudiadas

Se realizó un trabajo retrospectivo a partir de archivos históricos del Instituto de Patología e Investigación de Asunción. Se estudiaron especímenes patológicos diagnosticados como neoplasia intraepitelial peniana (PeIN). Se identificaron 40 lesiones precancerosas correspondientes a 17 pacientes con presentación aislada de PeIN. En los casos de PeIN asociada a carcinoma escamoso invasivo, se analizaron 36 lesiones en 26 pacientes. Los datos patológicos de los pacientes fueron verificados y desidentificados antes del análisis, respetando los principios de bioética.

### Clasificación patológica

Cada lesión fue clasificada como PeIN independiente del virus del papiloma humano (VPH) (variante diferenciada) o como PeIN asociada al VPH (variantes warty, warty-basaloide y basaloide) (Figura 1).



**Figura 1.** Variantes histológicas de la Neoplasia Intraepitelial Peniana (PeIN) con y sin asociación al VPH.

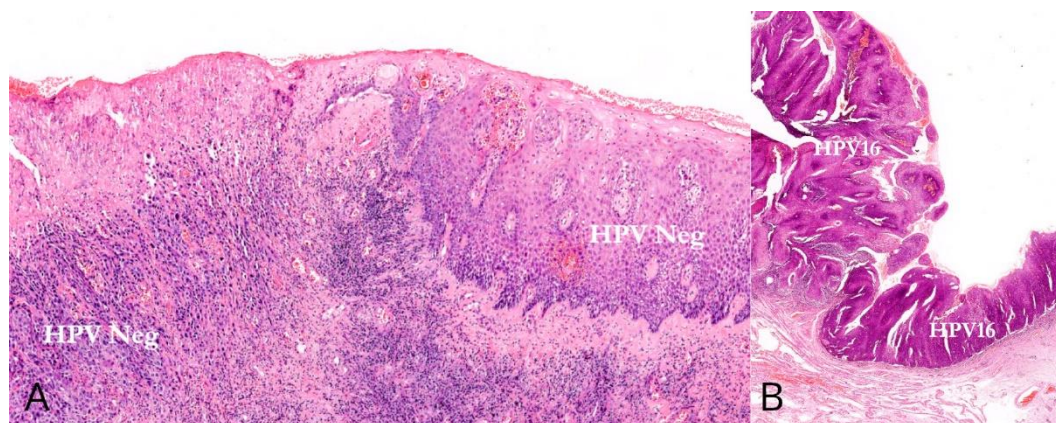
**(A)** PeIN independiente del VPH (variante diferenciada).

**(B)** PeIN asociada al VPH (variante warty).

**(C)** PeIN asociada al VPH (variante basaloide / warty-basaloide).

Tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E).

Los carcinomas invasivos con PeIN asociado fueron categorizados genéricamente como carcinomas escamosos (Figura 2). Los criterios diagnósticos utilizados fueron los propuestos por la Organización Mundial de la Salud<sup>(1, 2)</sup> y por el grupo de AFIP (2020)<sup>(19)</sup>.



**Figura 2.** Carcinomas escamosos invasivos de pene asociados a Neoplasia Intraepitelial Peniana (PeIN).

**(A)** Carcinoma escamoso invasivo VPH negativo (HPV Neg).

**(B)** Carcinoma escamoso invasivo VPH positivo (HPV16).

Tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E).

Los bloques de parafina fueron enviados al laboratorio molecular DDL Diagnostic Laboratory, en los Países Bajos, donde fueron procesados. Las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina (H&E) fueron escaneadas en dicho laboratorio y posteriormente visualizadas de forma digital en Asunción mediante la plataforma de visualización de láminas digitalizadas Aperio ImageScope®. En estas imágenes se identificaron los distintos tipos de lesiones y se delimitaron las áreas de interés mediante marcación específica, para su posterior evaluación de la presencia o ausencia de VPH y la determinación de sus genotipos. En el laboratorio DDL, las áreas seleccionadas fueron sometidas a microdissección mediante la técnica de captura por láser (Laser Capture Microdissection, LCM), con el fin de aislar el tejido de interés para el análisis molecular.

### Detección y genotipificación del VPH

Cada lesión fue sometida a microdissección por captura láser. La genotipificación del VPH se realizó mediante el sistema SPF-10/DEIA/LiPA25 (versión 1). El ADN de VPH se analizó mediante el sistema SPF10-LiPA25. Este sistema (SPF10 HPV LiPA, versión 1; fabricado por Labo Bio-Medical Products, Rijswijk, Países Bajos) amplifica un fragmento de 65 pares de bases de la región L1 de al menos 54 genotipos de VPH. Los productos de amplificación se detectaron mediante el sistema HPV SPF10-DEIA y se genotipificaron mediante un ensayo de hibridación reversa LiPA25 que contiene sondas para 25 genotipos (VPH 6, 11, 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, 68/73, 70 y 74), tal como se describió anteriormente<sup>(20, 21)</sup>.

### Análisis estadístico

La tabulación de los datos, el resumen, cálculo de porcentajes y el análisis estadístico utilizando la prueba exacta de Fisher se realizaron con el Software R, versión 4.4.1.

## RESULTADOS

### Comparación de subtipos histológicos de PeIN

Se identificaron los mismos subtipos histológicos de neoplasia peneana intraepitelial (PeIN) en ambos grupos, aunque en diferentes proporciones significativas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Subtipos histológicos de las Neoplasias Intraepiteliales Peneales (PeIN) (76 lesiones)

| Subtipos histológicos    | PeIN aislada (%)<br>40 lesiones | PeIN/Ca invasivo (%)<br>36 lesiones |
|--------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| <b>VPH-independiente</b> |                                 |                                     |
| Diferenciada             | 7 (18)                          | 19 (53)                             |
| <b>VPH-asociada</b>      |                                 |                                     |
| Basaloide                | 11 (28)                         | 7 (19)                              |
| Warty                    | 10 (25)                         | 7 (19)                              |
| Warty-basaloide          | 12 (30)                         | 3 (8)                               |

VPH-independiente vs VPH-asociada,  $P = 0.006297$  (prueba exacta de Fisher).

En el grupo de pacientes con lesiones precancerosas sin carcinoma invasivo, las PeIN VPH-asociadas fueron más frecuentes que las VPH-independientes (65% vs. 24%). Por el contrario, en las lesiones precancerosas asociadas a carcinoma invasivo en el mismo espécimen, las PeIN VPH-independientes fueron significativamente más frecuentes que las VPH-asociadas (58% vs. 31%) ( $P = 0,04481$ , prueba exacta de Fisher, tabla 2).

**Tabla 2.** Clasificación y genotipos de VPH en PeIN solitarias y asociadas a carcinoma invasivo (43 pacientes)

| Clasificación            | PeIN aislada (n=17) |                                                                | PeIN/Ca invasivo (n=26) |                     |
|--------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------|
|                          | Pacientes<br>n (%)  | Genotipos de<br>VPH                                            | Pacientes<br>n (%)      | Genotipos de<br>VPH |
| <b>VPH-independiente</b> | 4 (24)              | Neg                                                            | 15 (58)                 | Neg                 |
| <b>VPH-asociada</b>      | 11 (65)             | 16, 30, 33, 35, 44, 52, 56,<br>58, 66, 73, 84, 87,<br>44+51+59 | 8 (31)                  | 16, 18, 56          |
| <b>Mixta VPH/No-VPH</b>  | 2 (12)              | 16, 39                                                         | 3 (12)                  | 11, 16, 52, 74      |

VPH-independiente vs VPH-asociada,  $P = 0,04481$  (prueba exacta de Fisher), no se consideran las lesiones mixtas.

Al comparar los pacientes con lesiones precancerosas aisladas versus aquellas asociadas a carcinoma invasivos, se observó que en el primer grupo predominaron las lesiones VPH-asociadas (65% vs. 31%). En cambio, en los casos asociados a carcinoma invasivos, las lesiones VPH-independientes fueron más frecuentes que las VPH-asociadas (58% vs. 24%) ( $P = 0,04481$ , prueba exacta de Fisher, tabla 2). La coexistencia de lesiones VPH-asociadas y VPH-independientes en un mismo espécimen fue poco frecuente (12% vs. 12%) (Tabla 2).

### Comparación de genotipos del VPH

En general, las lesiones precancerosas clasificadas como PeIN diferenciadas fueron negativas para el virus del papiloma humano, con excepción de un caso positivo para VPH 74. Entre las lesiones positivas para el VPH se observó una mayor diversidad genotípica del virus en las lesiones precancerosas aisladas en comparación con aquellas asociadas a carcinoma invasivo (15 vs. 6 genotipos) (Tabla 2). Los genotipos exclusivos de PeIN aislada incluyeron VPH 30, 33, 35, 39, 44, 51, 58, 59, 66, 73, 84 y 87. En contraste, los genotipos exclusivos de PeIN asociada a carcinoma invasivo fueron VPH 11, 18 y 74. Los genotipos VPH 16, 52 y 56 se detectaron en ambos grupos. En las lesiones mixtas (VPH-asociadas y VPH-independientes en un mismo espécimen), únicamente el genotipo VPH 16 fue común a ambas presentaciones clínicas.

## DISCUSIÓN

La PeIN VPH-asociada fue más prevalente en lesiones aisladas, mientras que la VPH-independiente predominó en los casos asociados con carcinoma escamoso invasivo. Asimismo, se observó una mayor diversidad de genotipos de VPH en las lesiones de PeIN aisladas en comparación con aquellas asociadas a carcinoma. Los genotipos VPH 16, 52 y 56 estuvieron presentes en ambos grupos. La falta de correspondencia entre algunos genotipos detectados sugiere que una proporción de las PeIN aisladas no progresa a carcinoma invasivo.

El hallazgo más relevante de este estudio fue la mayor frecuencia de subtipos de PeIN VPH-asociados en presentaciones clínicas aisladas, sin carcinoma invasivo, en contraste con la mayor frecuencia de PeIN VPH-independiente (PeIN diferenciada) en casos asociados a carcinoma invasivo. Este resultado es concordante, aunque en un contexto distinto, con estudios comparativos geográficos entre Paraguay y Francia, donde se observó una mayor prevalencia de lesiones precancerosas VPH-asociadas en pacientes europeos, mientras que en Paraguay predominan las lesiones invasivas independientes del VPH<sup>(18)</sup>. Una posible explicación para esta diferencia radica en factores socioculturales que condicionan el acceso tardío a la consulta médica en Paraguay, lo que implicaría que muchas lesiones intraepiteliales no son diagnosticadas en fases tempranas y progresan a carcinoma invasivo. En contraste, en países europeos, la consulta precoz favorece el diagnóstico en etapas *in situ*, su tratamiento, y curación y consiguiente disminución de los casos invasivos<sup>(22)</sup>.

En un estudio previo, desarrollamos un modelo comparativo entre pacientes de un laboratorio privado y hospitales públicos, observando que los estadios tempranos (*in situ* o pT1) eran más frecuentes en el ámbito privado, mientras que los casos avanzados predominaban en hospitales públicos, lo cual refuerza el impacto del contexto socioeconómico en el diagnóstico temprano<sup>(23, 24)</sup>. Cabe destacar que las estadísticas de incidencia del cáncer de pene generalmente no incluyen las lesiones precancerosas. La incorporación de estas lesiones en los análisis epidemiológicos podría explicar mejor las diferencias geográficas observadas entre regiones tropicales y no tropicales.

Los hallazgos del presente estudio están en concordancia con investigaciones previas que han demostrado una alta correlación entre genotipos de VPH en lesiones precancerosas y los carcinomas invasivos dentro del mismo espécimen quirúrgico<sup>(25)</sup>. Sin embargo, en nuestro análisis, los genotipos detectados en PeIN aislados fueron más frecuentemente múltiples y diversos que aquellos asociados a carcinoma invasivo. Este hallazgo sugiere que un porcentaje de lesiones precancerosas podría experimentar regresión espontánea o eliminación inmunológica.

Desde la perspectiva de la prevención, la vacunación contra el VPH ha demostrado ser altamente eficaz en la reducción de cánceres asociados a este virus. La vacuna nonavalente (Gardasil 9) cubre los genotipos VPH 6 y 11 (bajo riesgo) y VPH 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58 (alto riesgo). En nuestro estudio, se identificaron genotipos no incluidos en la vacuna, tales como VPH 30, 39, 44, 51, 56, 59, 66, 73, 84 y 87 en lesiones precancerosas, mientras que en carcinomas invasores solo el genotipo VPH 74 no está cubierto. No obstante, el genotipo VPH 16 —el más frecuente— está incluido en todas las formulaciones vacunales, lo que refuerza el impacto potencial de la vacunación en la prevención del cáncer de pene<sup>(26)</sup>.

## CONCLUSIONES

Las lesiones precancerosas VPH-asociadas fueron más frecuentes en presentaciones aisladas, mientras que las lesiones diferenciadas, VPH-independientes, predominaron en pacientes con carcinoma invasivos. Además, los genotipos de VPH en lesiones aisladas fueron más diversos y frecuentemente múltiples, con escasa correspondencia con los genotipos presentes en lesiones asociadas a carcinoma. Estos hallazgos sugieren que una proporción de las lesiones precancerosas podría no progresar o resolverse espontáneamente.

|                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Declaración de financiamiento:</b>         | La presente investigación se llevó a cabo con financiación propia.                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Declaración de conflicto de intereses:</b> | Los autores declaran no tener conflictos de interés.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Declaración de autores:</b>                | Los autores aprueban la versión final del artículo.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Contribución de autores:</b>               | Conceptualización: ALC y MJFN.<br>Análisis formal: DFS.<br>Investigación: MJFN, NG, DFS, EFV, IR y LNS.<br>Metodología: NG, MJFN y LNS.<br>Supervisión: NM y ALC.<br>Redacción del borrador original: ALC.<br>Redacción, revisión y edición: ALC, MJFN, DFS.                                                                                                                   |
| <b>Agradecimientos:</b>                       | Al laboratorio DDL Diagnostic Laboratory y al Dr. Wim Quint por el apoyo en el análisis de las lesiones mediante microdissección por captura láser                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Revisión por pares:</b>                    | Este artículo fue evaluado mediante un proceso de revisión por pares anónimos, conforme al procedimiento de transparencia editorial de la revista. Las observaciones y sugerencias de los revisores fueron consideradas por los autores hasta alcanzar la versión final publicada, garantizando la integridad científica del trabajo y la confidencialidad de los evaluadores. |
| <b>Disponibilidad de los datos</b>            | Los datos están disponibles previa solicitud al autor corresponsal.                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

## REFERENCIAS

- Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumors. *Eur Urol.* 2016;70(1):93-105. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.029>
- Moch H, Amin MB, Berney DM, Comperat EM, Gill AJ, Hartmann A, et al. The 2022 World Health Organization Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumors. *Eur Urol.* 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2022.06.016>
- Gregoire L, Cubilla AL, Reuter VE, Haas GP, Lancaster WD. Preferential association of human papillomavirus with high-grade histologic variants of penile-invasive squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87(22):1705-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jnci/87.22.1705>
- Cubilla AL, Velazquez EF, Young RH. Epithelial lesions associated with invasive penile squamous cell carcinoma: a pathologic study of 288 cases. *Int J Surg Pathol.* 2004;12(4):351-64. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/106689690401200408>
- Rubin MA, Kleter B, Zhou M, Ayala G, Cubilla AL, Quint WG, et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: evidence for multiple independent pathways of penile carcinogenesis. *Am J Pathol.* 2001;159(4):1211-8. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62506-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62506-0)
- Backes DM, Kurman RJ, Pimenta JM, Smith JS. Systematic review of human papillomavirus prevalence in invasive penile cancer. *Cancer Causes & Control: CCC.* 2009;20(4):449-57. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10552-008-9276-9>
- Aleman L, Cubilla A, Halec G, Kasamatsu E, Quiros B, Masferrer E, et al. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. *Eur Urol.* 2016;69(5):953-61. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.12.007>
- Cubilla AL, Lloveras B, Alejo M, Clavero O, Chaux A, Kasamatsu E, et al. The basaloid cell is the best tissue marker for human papillomavirus in invasive penile squamous cell carcinoma: a study of 202 cases from Paraguay. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(1):104-14. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181c76a49>
- de Sanjose S, Serrano B, Tous S, Alejo M, Lloveras B, Quiros B, et al. Burden of Human Papillomavirus (HPV)-Related Cancers Attributable to HPVs 6/11/16/18/31/33/45/52 and 58. *JNCI cancer spectrum.* 2018;2(4):pky045. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jncics/pky045>
- Guimera N, Lloveras B, Lindeman J, Alemany L, van de Sandt M, Alejo M, et al. The occasional role of low-risk human papillomaviruses 6, 11, 42, 44, and 70 in anogenital carcinoma defined by laser capture microdissection/PCR methodology: results from a global study. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(9):1299-310. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31828b6be4>
- de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer.* 2017;141(4):664-70. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ijc.30716>
- Olesen TB, Sand FL, Rasmussen CL, Albieri V, Toft BG, Norrild B, et al. Prevalence of human papillomavirus DNA and p16(INK4a) in penile cancer and penile intraepithelial neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2019;20(1):145-58. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30682-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30682-X)
- Fernandez-Nestosa MJ, Guimera N, Sanchez DF, Canete-Portillo S, Lobatti A, Velazquez EF, et al. Comparison of Human Papillomavirus Genotypes in Penile Intraepithelial Neoplasia and Associated Lesions: LCM-PCR Study of 87 Lesions in 8

- Patients. *Int J Surg Pathol*. 2020;28(3):265-72. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1066896919887802>
14. Fernandez-Nestosa MJ, Guimera N, Sanchez DF, Canete-Portillo S, Velazquez EF, Jenkins D, et al. Human Papillomavirus (HPV) Genotypes in Condylomas, Intraepithelial Neoplasia, and Invasive Carcinoma of the Penis Using Laser Capture Microdissection (LCM)-PCR: A Study of 191 Lesions in 43 Patients. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(6):820-32. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000821>
  15. Straub Hogan MM, Spieker AJ, Orejudos M, Gheit T, Herfs M, Tommasino M, et al. Pathological characterization and clinical outcome of penile intraepithelial neoplasia variants: a North American series. *Mod Pathol*. 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41379-022-01020-y>
  16. Fernandez-Nestosa MJ, Clavero O, Sanchez DF, Giannico GA, Lobatti A, Canete-Portillo S, et al. Penile intraepithelial neoplasia: Distribution of subtypes, HPV genotypes and p16(INK4a) in 84 international cases. *Hum Pathol*. 2023; 131:1-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2022.11.006>
  17. Cubilla A, Fernández-Nestosa MJ, Santacruz L, Sánchez, DF, Gheit T, Giannico G. 793 hpv-independent and hpv-associated subtypes of penile intraepithelial neoplasia (Pein) and their corresponding hpv genotypes in countries with low and high incidence of penile cancer. *Laboratory Investigation*. 2026; 106(3): 105081. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.labinv.2025.105081>
  18. Soskin A, Vieillefond A, Carlotti A, Plantier F, Chaux A, Ayala G, et al. Warty/basaloid penile intraepithelial neoplasia is more prevalent than differentiated penile intraepithelial neoplasia in nonendemic regions for penile cancer when compared with endemic areas: a comparative study between pathologic series from Paris and Paraguay. *Hum Pathol*. 2012;43(2):190-6. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.04.014>
  19. Epstein JI, Magi-Galluzzi C, Zhou M, Cubilla AL. Tumors of the Prostate Gland, Seminal Vesicles, Penis, and Scrotum. Silver Spring (MD): American Registry of Pathology; 2020. 757 p.
  20. Kleter B, van Doorn LJ, ter Schegget J, Schrauwen L, van Krimpen K, Burger M, et al. Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *Am J Surg Pathol*. 1998;153(6):1731-9. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65688-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65688-X)
  21. Kleter B, van Doorn LJ, Schrauwen L, Molijn A, Sastrowijoto S, ter Schegget J, et al. Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus. *J Clin Microbiol*. 1999;37(8):2508-17. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/jcm.37.8.2508-2517.1999>
  22. Mølsted J, Als AB, Jensen JB, Aagaard M, Jakobsen JK. Danish National Penile Cancer Database, DaPeCa-data: Characteristics, management, and survival 2000–2025. *International Urology and Nephrology*; 2026. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11255-026-05121-4>
  23. Santacruz L, Fernández MJ, Sánchez D, Cañete-Portillo S, Bo C, Loup E, et al. Comparison of TNM staging in private and public patients with penile Squamous Cell Carcinoma (SCC) in Paraguay: A study of 209 cases. *Laboratory Investigation*. 2026; 106(3), 105156. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.labinv.2025.105156>
  24. Bjartmar I, Gerdtsson A, Torbrand C, Kristiansen S. Risk of invasive penile cancer after treatment of penile intraepithelial neoplasia. *BJU Int*. 2025;136(1):73-81. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/bju.16674>
  25. Canete-Portillo S, Fernandez-Nestosa MJ, Sanchez DF, Lobatti A, Lloveras B, Ordi J, et al. 779 Comparison of Distribution of Subtypes and HPV Genotypes in Penile Intraepithelial Neoplasia (PeIN) and Invasive Penile Carcinomas. *Lab Invest*. 2025;105(3):103012. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.labinv.2024.103012>
  26. Garland SM, Kjaer SK, Munoz N, Block SL, Brown DR, DiNubile MJ, et al. Impact and Effectiveness of the Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine: A Systematic Review of 10 Years of Real-world Experience. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016;63(4):519-27. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cid/ciw354>