

Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen **52**
Volume

Número **4**
Number

Octubre-Diciembre **2005**
October-December

Artículo:

Infección por VPH y cáncer cervicouterino

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

Otras secciones de
este sitio:

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

*Others sections in
this web site:*

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)

Infección por VPH y cáncer cervicouterino

Palabras clave: Cáncer uterino, papiloma del virus humano, tipos oncogénicos, reacción en la cadena de la polimerasa (PCR).

Key words: Uterine cancer, human papilloma virus, oncogenic types, polymerase chain reaction (PCR).

Recibido 21/08/05
Aceptado 05/09/05

José Antonio Sánchez Hernández,* Miriam Ivonne Huerta Pineda,*
José Antonio Rivera Tapia,** Mónica Rosales Pérez**

* Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

** Centro de Investigaciones Microbiológicas (CIUAP), BUAP.

Correspondencia:

Dr. José Antonio Sánchez Hernández
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Medicina, 13 sur 2702, Puebla, Puebla, México
E-mail: drjash@msn.com

Resumen

El cáncer cervicouterino es uno de los problemas más grandes de salud pública en América Latina. Aunque se dispone de una tecnología eficaz para la prevención secundaria de esta afección, más de 30,000 latinoamericanas mueren anualmente por dicha causa. Actualmente se plantea que existe una fuerte asociación entre la forma invasiva del cáncer cervicouterino y los virus del papiloma humano; se conocen en la actualidad más de 80 tipos, clasificados como de alto, mediano y bajo riesgo. Se ha profundizado en su comportamiento tanto como enfermedad de transmisión sexual como en su potencialidad de producir la transformación de células infectadas en células malignas, llegando a plantearse que los tipos oncogénicos son responsables de más de 90% de todos los cánceres cervicouterinos y sus precursores. Se acepta que la infección por el virus precede en el tiempo a la aparición de la neoplasia intraepitelial cervical (NIC) y, como todas las enfermedades de transmisión sexual (ETS), tiene relación directa con la edad de inicio de la actividad sexual y el número de parejas, misma que ha sido favorecida con la aparición de los anticonceptivos orales y el consiguiente abandono del condón. A pesar del desarrollo de las técnicas de biología molecular, que permiten la tipificación de los virus y el reconocimiento de las variedades de alto riesgo oncogénico, lo cual tiene un gran valor pronóstico, éstas no están al alcance de todos los pacientes en la práctica cotidiana. En nuestro país el diagnóstico de estas infecciones se basa fundamentalmente en

Abstract

The cervix uterine cancer is one of the biggest problems in public health in Latin America. Although there is an effective technology for the secondary prevention of this condition, more than 30 000 Latin Americans die for this cause yearly. Currently it is believed that the invasive form of cervix uterine cancer is strongly related with the human papilloma virus; At the present there are more than 80 types, classified as of high, medium and low risk. It has been deepened in their behavior as sexual transmission illness as in their potential of producing the transformation from infected cells to malignant cells, suggesting that the oncogenic types are responsible of more than 90% of all the cervix uterine cancers and their precursors. It is accepted that the infection by the virus precedes to the cervical intraepithelial neoplasia (CIN), and as all the sexual transmission illnesses (STI), it has direct relationship with the beginning of the sexual activity and the number of sexual partners, which has been favored for the appearance of the oral contraceptives and consequently people have stopped using condom. Despite the development of molecular biology techniques which have made possible to tipify the virus and the recognition of the varieties of high oncogenic risk that has a great value of prediction, these are not within reach of all the patients in the daily practice. In our country the diagnosis of these infections is mainly based on

la tríada citología-colposcopia-biopsia, favorecido por la existencia de un Programa Nacional de Diagnóstico Precoz del Cáncer Cervicouterino. Éste muestra muy buenos resultados en cuanto a la pesquisa del cáncer en etapas curables, aunque sin lograr un descenso significativo de la mortalidad. Acorde con las normas, las lesiones de bajo grado compatibles con NIC I y las de alto grado son objeto de estudio, tratamiento y seguimiento. Sin embargo, sólo se incluyen mujeres entre 25 y 60 años para la pesquisa, puesto que se ha visto mayor incidencia de esta patología entre este rango de edad.

Introducción

El impacto del cáncer cervicouterino (CaCU) en el mundo es devastador. En el informe anual de la Federación Internacional de Gineco-Obstetricia (FIGO) representa 5% de las neoplasias genitales femeninas, ubicándose en el cuarto lugar a nivel mundial. En México, el cáncer cervicouterino se ha mantenido como la segunda neoplasia más importante entre la población mexicana y como la primera causa en la población femenina. La edad promedio al momento del diagnóstico es de 45 años, pero la enfermedad puede ocurrir inclusive en la segunda década de la vida y, ocasionalmente, durante el embarazo.^{1,2}

En un estudio realizado en la Ciudad de México, Lazcano Ponce y colaboradores reportan que el riesgo de enfermedad para cáncer cervicouterino se incrementó hasta siete veces en mujeres con virus del papiloma humano (VPH) 16-18 positivo.^{2,3}

En un estudio de prevalencia del VPH en cáncer del cuello uterino coordinado por la Agencia Internacional para la Investigación sobre Cáncer (AIIIC), se reportó la presencia de ADN del VPH en más de 93% de los tumores a través de pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), capaces de identificar más de 25 tipos de VPH, lo que sugiere que menos de 5% de los cánceres del cuello uterino probablemente son verdaderos tumores VPH negativos. Por lo tanto, se considera a la infección por este virus como el factor de riesgo más importante. Los tipos de VPH co-

the triad citology-colposcopic-biopsy, favored by the National Program of Early Diagnostic of the Cervix Uterine Cancer. This shows very good results about investigation of the cancer in curable stages, but without success in the decrease of the mortality. Following the regulations, the compatible low degree lesions with CIN I and those of high degree are object of study, treatment and monitoring. However, women are only included from 25 to 60 for the investigation, because the incidence of this pathology has been bigger among this age range.

múnmente detectados fueron: el 16 (50%), el 18 (12%), el 45 (8%) y el 31 (5%).^{3,4}

Los datos epidemiológicos y clínicos sugieren una correlación entre el carcinoma de células escamosas del cuello uterino con el VPH, virus que se adquiere por transmisión sexual. Se ha reportado la baja frecuencia de neoplasias cervicales en mujeres célibes en comparación con aquellas que han iniciado su vida sexual.⁵

Los virus del papiloma humano (VPH) descubiertos en la actualidad suman ya cerca de 120 tipos, de los cuales 25 afectan al tracto genital. Se clasifican de alto o bajo riesgo según su repercusión en el grado de invasión. Los VPH 6 y 11 son capaces de producir condiloma acuminado de comportamiento benigno y autolimitado, llamados de bajo riesgo, y raramente se asocian a cáncer; en cambio otros, como los VPH 16, 18, 31, 45, 56, son de fácil reconocimiento clínico y de alto poder oncogénico, sobre todo en el cérvix. El VPH-16 tiene mayor proporción en el cáncer escamoso, mientras que el VPH-18 se encuentra más relacionado con el adenocarcinoma.^{6,7}

El virus del papiloma humano (VPH) pertenece a la familia de los papovavirus. Este virus de doble cadena de ADN se ha vinculado a diferentes alteraciones moleculares con la carcinogénesis cervical como: alteraciones en el receptor del factor del crecimiento epidérmico (RFCE), la sobreexpresión del HER-2-neu, la mutación del H-ras y K-ras y la amplificación/sobreexpresión del c-myc. El VPH es capaz de transformar las células que infecta mediante la acción directa de los productos de dos de

sus genes tempranos: E6 y E7. Las proteínas E6 y E7 de los VPH de alto riesgo son capaces de interactuar con moléculas importantes para la regulación del crecimiento y replicación celular, así como para la reparación de daños sufridos por el ADN de las células sanas.⁸

La proteína E6 de los VPH de alto riesgo se une con alta afinidad a la molécula conocida como p53, induciendo su degradación. La proteína p53 es un importante factor regulador de la replicación celular y es conocido como el principal represor de tumores en el ser humano; p53 es capaz de detectar daños sufridos por el ADN en cualquier célula del organismo. Si el daño ha sido en una etapa del ciclo celular en la que aún no ha ocurrido la replicación del ADN, p53 envía una señal para que el ciclo celular se detenga y el daño sea reparado; una vez ocurrida la reparación, la célula continúa su ciclo normal. Cuando el daño es sufrido durante o inmediatamente después de la replicación del ADN, p53 envía una señal para detener el ciclo celular y, como a este nivel es imposible reparar los daños, la célula sufre un proceso de eliminación por apoptosis orquestado por la misma p53. Con esto no se permite que los daños causados al ADN sean heredados a células hijas que pueden, eventualmente, ser el origen de un tumor maligno.⁹

El objetivo de este trabajo es presentar los mecanismos oncopatogénicos que ejerce el VPH en la génesis de atipias celulares y su progresión hacia cancer cervicouterino, así como proporcionar información acerca de las técnicas de diagnóstico y tratamientos de actualidad.

Características del VPH

Una alta proporción de cánceres humanos demuestra tener daños en el gen que codifica la proteína p53; el cáncer cervical es una excepción, ya que en este caso el gen se encuentra intacto, pero la proteína no se encuentra presente en las células infectadas por VPH, ya que

E6 se ha encargado de eliminarla. De esta manera la célula queda desprotegida y los tumores se desarrollan cuando el número de mutaciones desfavorables aumenta y, a la par, se incrementa la malignidad de las células. Por otra parte, la proteína E7 se une específicamente al producto del gen represor de tumores Rb. Rb fue descubierto y caracterizado en el retinoblastoma, y es un factor regulador del ciclo celular, ya que se une directamente al factor transcripcional E2F, que a su vez induce la transcripción de elementos involucrados con la replicación celular. La proteína E7 de los VPH de alto riesgo tiene una alta afinidad por el sitio de unión de Rb a E2F, cuando la célula ha sido infectada por el virus, la proteína E7 se une a este sitio en Rb, impidiendo que éste mantenga controlado a E2F, el cual queda libre e induce la replicación celular continua. De esta manera E6 y E7 cooperan eficientemente en la transformación de las células, produciendo tumores cervicales a largo plazo.^{10,11} La amplificación de los protooncogenes y la inactivación de los genes supresores de tumores juegan un papel importante en la patogénesis de diferentes tipos de cáncer. Estudios relacionados específicamente con el carcinoma cervical han demostrado que el RFCE, c-erbB2/neu y c-myc son importantes para el pronóstico de pacientes con tumores avanzados (etapas II-IV), pero el papel que desempeñan estos genes en etapas tempranas (0-I) todavía no es muy claro. La base molecular de la oncogénesis en el cáncer de cuello puede explicarse en parte por la regulación y función de dos oncogenes virales el E6 y el E7.^{12,13} Las líneas celulares y su expresión son necesarias para el mantenimiento del fenotipo maligno, y están reguladas por el E2 que es el sitio de integración del genoma viral en el genoma de la paciente. El E6 se une al gen supresor tumoral p53 e induce su degradación. El E7 se une a otro supresor tumoral, el productor de retinoblastoma (pRb), alterando su estado de fosforilación, e inactivando a la proteína. El papel que desempe-

ñan estos genes en etapas tempranas (etapas 0-I) todavía no es muy claro.¹³

Los VPH de alto riesgo tienen mayor inactivación de p53 pRb y presentan una diferencia en un aminoácido (ácido aspártico en los de alto grado y glicina en los de bajo grado) que se relaciona con la afinidad por el pRb. La ausencia de HPV en 5% de los cánceres de cuello es un factor de mal pronóstico. El p53 es afectado por oncogenes del VPH, principalmente por E6. Es de esperar que los tumores que contengan ADN de VPH sólo tendrán pequeños niveles de p53. Se puede sugerir que, de los resultados publicados sobre las mutaciones del p53 en el cáncer cervical, las mutaciones en el gen p53 son muy raras. El porcentaje de tumores con mutaciones del p53 va desde 0-10%. En adición a las mutaciones del p53, la inactivación del p53 puede también ser el resultado de otros mecanismos, por ejemplo la unión del wt p53 a varias oncoproteínas.¹⁴

El p53 y MDM-2 están correlacionados y juegan un papel importante en la interacción con el E6 del VPH. No hay importancia de la amplificación del c-erbB-2/neu y c-myc en los estadios I y II de cáncer cervical. Se necesita más investigación de los cuatro genes estudiados en diferentes estadios tumorales para validar la información y para investigar en qué estadios los genes son activados.¹⁵

Se pensaba que el potencial para incrementar la degradación del p53 por la oncoproteína E6 podría contribuir substancialmente a la progresión del riesgo en el cáncer cervical. En casi todos los reportes subsecuentes, no se encontró un incremento del riesgo de cáncer cervical asociado con el polimorfismo Arg72Pro del p53. En estos reportes, el riesgo relativo de invasión de cáncer cervical asociado con el genotipo Arg/Arg comparado con el genotipo heterogéneo va de 0.7 a 1.6. En estos estudios, en las mujeres que eran controles la distribución del polimorfismo va de 40% a 63%. Específicamente, la prevalencia del genotipo Arg/Arg fue de 50% o más en casos

controles en estudios hechos en el Reino Unido, Noruega, Suecia, Estados Unidos, los países bajos, Hungría, Italia y Alemania. La distribución del genotipo Arg/Arg fue menos de 50% entre los casos controles en Japón y Costa Rica (36% y 45%, respectivamente), así como en el reporte inicial del Reino Unido (37%).¹⁶

Sólo en el estudio publicado para apoyar los primeros hallazgos de Zehbe y colaboradores se reportó un incremento del riesgo de cáncer cervical invasor asociado con el genotipo Arg/Arg, comparado con el genotipo heterogéneo de 3.8 entre las mujeres italianas y 2.5 entre las mujeres suecas. La prevalencia del genotipo Arg/Arg fue en 53% de los controles italianos y en 50% de los controles suecos, por lo que este estudio es congruente con la mayoría de los hallazgos respecto a los controles. Aunque la prevalencia del genotipo Arg/Arg entre los grupos de este estudio (79% entre los casos del grupo italiano y 73% entre los casos del grupo sueco) fue casi similar a los encontrados en el estudio inicial (76%). La prevalencia de Arg/Arg entre los casos de los estudios negativos va de 40% a 68%.¹⁷ A diferencia de estudios anteriores que dependían de tejido tumoral de casos con cáncer cervical invasor como fuente de ADN para genotipificar, en otro estudio se usaron leucocitos periféricos para casos y controles como fuente de ADN. Por lo que a estos resultados no pueden atribuirse cambios somáticos en el tejido tumoral o artefactos de la PCR por la amplificación diferencial de un alelo largo de prolina obtenido de tejido preparado en formalina. Esto refuerza la validez de la conclusión de que el polimorfismo Arg72Pro no está asociado con el riesgo de carcinoma cervical en nuestra población. Esta información de las pacientes con cáncer cervical sugiere que el polimorfismo Arg/Arg puede relacionarse a anticuerpos en respuesta a la proteína L1 del VPH-16. Aunque no es estadísticamente importante, esta diferencia de la seroprevalencia puede sugerir que el genotipo Arg/Arg puede afectar la capacidad del

hospedero de combatir una infección del VPH-16. Estos hallazgos necesitan ser confirmados con otros estudios epidemiológicos en una población bien definida con diferentes grupos étnicos y raciales. No está claro cuáles son los mecanismos, aunque en diversos estudios se ha reportado una seroprevalencia mayor de LI VPH-16 en mujeres con cáncer comparado con otros controles. En general, la información no apoya la hipótesis de que el polimorfismo Arg72Pro del p53 modifica el riesgo de cáncer cervical.^{17,18}

Se considera al VPH como una causa necesaria, pero no suficiente para el desarrollo de la enfermedad, pues se requieren otros cofactores que incluyen la exposición al cigarro, la infección por *Chlamydia* y el tipo de antígeno humano linfocitario (HLA), entre otros, para que un porcentaje de infecciones persistentes por VPH logre en algún momento progresar y dar lugar al cáncer.¹⁸

Entre los cofactores que pueden ser importantes para el desarrollo de esta enfermedad tenemos: a) Tipos virales y variantes: los resultados de los estudios de cohorte indican que el alto riesgo de los tipos oncogénicos de VPH y probablemente ciertas variantes de esos tipos se asocian con un mayor riesgo de neoplasia cervical. b) Los factores del huésped que podrían modular el efecto del VPH, como los genéticos, la inmunosupresión genética o inducida, los factores hormonales endógenos, reflejados en las asociaciones con la elevada paridad detectada en varios estudios, así como la edad temprana en la que ocurre el primer contacto sexual, que podría considerarse como un sustituto de la edad temprana en que aparece la primera infección por VPH.¹⁹

Ciclo celular del VPH e interacciones en las células huésped

La progresión del ciclo celular a lo largo de sus fases se halla regulado por complejos moleculares de proteínas, compuestos por dos subunida-

des, una con actividad catalítica denominada quinasas dependiente de ciclina CDK (porque no posee actividad *kinasa* a menos que esté asociada con una ciclina) y otra con una función reguladora sobre la anterior denominada ciclina (llamada así porque su concentración sufre fluctuaciones a lo largo del ciclo celular, se realiza una síntesis y degradación periódica, permitiendo de esta forma regular la actividad de las CDK). Existen varios tipos de ciclinas, las cuales se designan con letras (ciclinas A, E, D, B, etcétera) y varios tipos de CDK (CDK1, CDK2, CDK7, etcétera) cada una relacionada con una fase específica del ciclo celular. Cuando una célula normal recibe una señal para proliferar, las ciclinas aumentan su concentración y se unen con las quinasas dependientes de ciclinas específicas formando un complejo ciclina/CDK activo, éstos se encargan de fosforilar distintas proteínas blanco que son cruciales para promover la progresión del ciclo celular, como por ejemplo la proteína producto del gen supresor de tumor Rb (pRb). Por otro lado, existe una familia de pequeñas proteínas denominadas ICDK/C (inhibidores de los complejos ciclina/quinasas dependientes de ciclina) que se encargan de inhibir la actividad del complejo C/CDK y de esta manera detener la progresión del ciclo celular cuando se detecta alguna anomalía. Dentro de esta familia de proteínas inhibitorias, se encuentran la p21, p27, p57, p15, etcétera.²⁰

La progresión del ciclo celular en esta forma armónica puede verse afectada por uno o varios factores que actuando en forma aislada o en conjunto llevan a la desregulación del mismo. En la transición de fase G1-S es donde se producen los cambios con consecuencias más peligrosas. A este nivel se pueden inactivar varias proteínas, ya sea por una mutación del gen o una inactivación funcional. En este punto las tres proteínas más importantes son la pRb, la p53 y la p21. La proteína pRb es el producto del gen supresor de tumor Rb (denominado así por estar relacionado con el desarrollo del retinoblastoma, una neoplasia del

globo ocular que se origina en los retinoblastos, precursores de las células fotosensibles de la retina); es una fosfoproteína nuclear que cumple un importante rol en el control de la división y la diferenciación celular. La proteína presenta en su parte central una estructura en forma de hendidura o bolsillo que le permite secuestrar factores de transcripción nuclear, tales como el E2F y DP1; estos factores son necesarios para la progresión del ciclo celular y conducir la maquinaria de replicación del ADN. La función de la proteína pRb, cuya concentración permanece fija a lo largo de todo el ciclo celular a diferencia de las ciclinas, es regulada con base en su estado de fosforilación.²¹

De esta manera, la proteína pRb se encuentra bajo dos formas: subfosforilada e hiperfosforilada; en el primer caso (subfosforilada) la proteína se encuentra en su forma activa, secuestrando a los factores de transcripción E2F y DP1 y actuando de esta forma como un freno para el ciclo celular. Por otro lado, si la célula recibe una señal para dividirse, el complejo ciclina/quinasa dependiente de ciclina se encarga de fosforilar a la proteína pRb, la cual pasa a su forma inactiva (hiperfosforilada), liberando del bolsillo o hendidura a los factores de transcripción que son necesarios para las fases siguientes del ciclo celular. La proteína p53 es el producto de un gen supresor de tumor P53. Al igual que la proteína pRb es también una fosfoproteína nuclear, pero su principal función aquí es la de controlar la progresión del ciclo celular monitoreando la integridad del ADN. La concentración de la proteína p53 en células normales es baja, pero su nivel sufre un rápido incremento cuando se detecta algún tipo de daño que afecte al ADN y, por lo tanto, a la integridad del genoma. Una vez detectado el daño, p53 actuando como un factor de transcripción se encarga de activar o reprimir genes necesarios para solucionar el problema, tales como los encargados de detener el ciclo celular, reparar el daño al ADN o iniciar el proceso apoptótico. Si p53 detecta un daño en la secuencia de nucleótidos del

ADN y este daño es reparable, activa la transcripción de varios genes, de los cuales el más importante es el P21 que codifica la proteína p21 (perteneciente a la familia de inhibidores de los complejos ciclina/CDK); esta proteína se encarga de regular el ciclo celular en forma negativa en la transición de fase G1-S, inhibiendo al complejo ciclina/CDK que queda incapacitado para fosforilar a la proteína pRb para inactivarla y permitirle liberar los factores de transcripción nuclear necesarios para la progresión del ciclo celular (E2F y DP1), deteniendo en esta forma al ciclo celular. Si el daño al ADN es extenso o si es irreparable, p53 activa otros genes, los cuales a su vez se encargan de activar los mecanismos que llevan a la muerte por apoptosis de esa célula, un acto altruista por el cual la célula se sacrifica suicidándose en bien del resto de las células, evitando de esta manera que el daño sea transmitido a la descendencia. En el caso que el daño al ADN no se repare y la célula logre completar un ciclo de división, este daño pasa a ser fijo y permanente y, por lo tanto, pasa a estar presente en toda la descendencia de la célula (primera mutación de las cinco o seis necesarias para la transformación celular). La p53 actúa así como un guardián del genoma, impidiendo que se acumulen mutaciones que podrían llevar a la transformación celular neoplásica. Como un hecho importante de remarcar, la gran mayoría de las neoplasias malignas humanas (más de 50%) presentan una mutación que afecta al gen P53, creando esto un doble problema, por un lado, permitiendo la acumulación de más mutaciones ya que los mecanismos para detectarlas y repararlas están anulados y, por otro lado, las dos mayores modalidades de tratamiento oncológico (radioterapia y quimioterapia) se basan en la generación de daño, principalmente al ADN y posterior inducción de apoptosis. Este proceso se vería afectado al estar mutado el gen que regula la vía apoptótica p53 dependiente, determinando así una resistencia o disminución en la eficacia de los tratamientos antineoplásicos.²²

Volviendo ahora al punto de comienzo donde se planteó cómo una infección por VPH conducía al desarrollo de una neoplasia, es necesario ahora conocer algunos conceptos sobre estos virus. La sola presencia del virus no es suficiente para el desarrollo de la neoplasia; aparentemente, serían necesarios otros factores para la progresión tumoral, tales como factores genéticos, epigenéticos, hormonales, inmunológicos, etcétera. El punto de partida del proceso carcinogénico se iniciaría en las células basales del epitelio de la zona de unión escamo-columnar donde se produciría la infección por el VPH. Esto sería posible a través de pequeños microtraumas que determinarían una solución de continuidad a nivel epitelial, permitiendo el acceso del virus a las células basales donde existirían receptores para el mismo, pertenecientes a la familia de las integrinas. Los VPH son virus que infectan principalmente a las células epiteliales y producen una gran variedad de lesiones. Son estrictamente huéspedes específicos y de acuerdo a su tropismo se les ha clasificado en dos amplias categorías: cutáneos y mucosos. Algunos autores mencionan una tercera categoría para aquellos VPH que afectan a pacientes inmunodeficientes. Por otro lado, los HPV que infectan la región anogenital pueden a su vez ser agrupados con base en su comportamiento clínico como VPH de bajo riesgo (6 y 11) y VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 45 y 56).²³

Diagnóstico y tipificación del VPH mediante técnicas biomoleculares

Cada día se brinda mayor importancia a la asociación biológica entre el VPH y el hombre debido a la capacidad que éste posee en el desarrollo de atipias en las células cervicovaginales, ya que induce cambios en su genética molecular a través de la alteración de genes preexistentes a oncogenes cuyos productos son los causantes de la afección sobre los mecanismos que regulan la multiplica-

ción celular, dando como resultado un clon de células que terminan formando una masa celular denominada tumor, por lo que queda claro que la mutación en el ADN celular es la clave en el desarrollo del cáncer cervicouterino.²⁴

El VPH ahora se conoce como la mayor causa de cáncer del cuello del útero (cervix). Algunos tipos de VPH se conocen como virus de “bajo riesgo” porque raramente se convierten en cáncer; éstos incluyen los VPH-6 y VPH-11. Los tipos de virus de papiloma humano que pueden llevar al desarrollo de cáncer se conocen como “tipos asociados con el cáncer”. Los tipos de virus más importantes de papiloma humano, transmitidos sexualmente, asociados con el cáncer en hombres y mujeres incluyen los VPH-16, VPH-18, VPH-31 y VPH-45. Estos tipos de VPH asociados con el cáncer causan crecimientos que normalmente parecen planos y son casi invisibles, comparados con las verrugas causadas por los VPH-6 y VPH-11. Las bases moleculares de la oncogénesis en el cáncer cervical se explican a través de la regulación y función de dos oncogenes virales conocidos como E6 y E7 debido a la habilidad de transformación en el ADN celular que poseen cuando son transferidos a líneas celulares *in vitro*. Dichos genes se encuentran bajo la regulación de otro gen viral conocido como E2; los VPH producen proteínas conocidas como E5, E6 y E7. Estas proteínas interfieren con las funciones de la célula que normalmente previenen el crecimiento excesivo. Por ejemplo, el VPH E6 interfiere con la proteína humana p53. La proteína p53 está presente en todas las personas y actúa para impedir que los tumores crezcan.²⁵

En más de 90% de los cánceres cervicales se ha podido detectar ADN de papilomavirus humano, ya que más de 30 tipos de VPH infectan el tracto genital y de algunos de ellos, se conocen los mecanismos moleculares que lo presentan como el virus de mayor potencial oncogénico. En los últimos años se han unificado criterios metodológicos para su diagnóstico y fundamentalmen-

te para su tipificación. La técnica de PCR ha permitido amplificar selectivamente diferentes fragmentos del genoma viral que pueden ser utilizados para su diagnóstico y posterior tipificación. Recientemente "Digene" colocó en el mercado un sistema diagnóstico de la presencia de ADN del virus denominado captura híbrida de segunda generación. Este es el único sistema disponible que, sin amplificación previa del ADN viral, es capaz de diagnosticar la infección con pequeñas cantidades de muestra biológica.²⁶

Detección de secuencias genómicas virales. La detección de secuencias genómicas de VPH se basa especialmente en la amplificación de secuencias virales blanco por PCR o en la hibridación. Las limitaciones de los métodos están dadas por su sensibilidad, utilidad clínica, complejidad, fiabilidad, facilidad de ejecución y disponibilidad comercial. Para un diagnóstico adecuado sin previa amplificación se requiere de grandes cantidades de muestra. En los últimos 20 años, con el advenimiento de nuevas técnicas de biología molecular, el diagnóstico directo del ADN de VPH ha cobrado importancia dado que el virus no necesariamente debe estar intacto para inducir la enfermedad. Sin embargo, las metodologías utilizadas han sido variadas, cada una de ellas con su significativo impacto desde el punto de vista de sensibilidad y/o especificidad. En todos los casos, además del diagnóstico, se vuelve de importancia fundamental la identificación del genotipo viral.²⁷

PCR diagnóstico. Dada la cantidad de tipos de VPH descritos y su diferente potencial oncogénico, se han desarrollado estrategias que se basan en la amplificación por PCR de regiones consenso entre los VPH, que amplifican un amplio espectro de tipos. Los métodos de diagnóstico basados en la PCR con diferentes iniciadores han sido revisados ampliamente. Todos se basan en el reconocimiento de secuencias del ORF L1 y utilizan iniciadores consenso degenerados, los más empleados son los denominados MY09-11 y los generales GP5+/-6+. La identificación del tipo de

VPH presente en la infección se determina de diferentes maneras, comúnmente por un segundo PCR de los casos positivos. El diagnóstico morfológico de la infección por VPH, aunque es altamente específico (cuando es realizado por expertos), tiene una sensibilidad baja, siendo reconocido actualmente como una fuente de error, por lo que puede originar problemas en el manejo de las parejas infectadas, sobre todo en las mujeres.²⁸

La dificultad básica para desarrollar una prueba de VPH ha sido la incapacidad del virus para multiplicarse en cultivo de tejidos, lo que ha impedido la producción de antígenos, antiseros y el desarrollo de sistemas serológicos clásicos. Se han desarrollado, por tanto, metodologías que aplican técnicas de biología molecular para el diagnóstico de VPH basándose en la detección de ADN viral específico en las muestras. Se han aplicado muchas variantes de detección de ADN con éxito relativo en el pesquaje de VPH de muestras clínicas; por ejemplo, la hibridación que consiste en la detección de ácidos nucleicos virales mediante fragmentos de secuencias homólogas (sondas), sintetizadas y marcadas para su detección con productos radiactivos, es un método muy específico, pues utiliza fragmentos de cada tipo de VPH. Inicialmente, estas sondas eran marcadas con compuestos radiactivos, los cuales permiten realizar ensayos con alta sensibilidad y precisión, pero tienen la desventaja de la vida media corta de los reactivos y los desechos radiactivos generados. Recientemente, se ha utilizado con gran éxito la amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR. En esta técnica, cantidades mínimas de ADN son amplificadas exponencialmente en ciclos consecutivos de desnaturalización, polimerización o hibridación y extensión hasta obtener cantidades medibles por métodos clásicos como electroforesis en geles de agarosa. La especificidad genética de los reactivos garantiza una elevada sensibilidad y especificidad del sistema. La prueba se ha diseñado para detectar y tipificar los tipos más comunes de VPH, lo cual tiene un gran

valor para el manejo de la paciente infectada. La prueba consiste en amplificar una región de ácidos nucleicos muy conservada entre todos los tipos de VPH; sin embargo, esta región presenta pequeñas variaciones entre unos tipos y otros de VPH, que pueden ser detectados al digerir el ADN amplificado con enzimas de restricción, produciéndose diferentes fragmentos que al ser separados en un gel de agarosa dan un patrón característico para cada tipo de VPH. La sensibilidad del ensayo permite detectar el patógeno en estadios tempranos, cuando el virus no ha causado transformación celular.²⁹

La captura híbrida. La captura híbrida de segunda generación (CH) se basa en la utilización de un anticuerpo monoclonal de híbridos de ADN/ARN. Las suspensiones celulares problemáticas son desnaturalizadas, y luego el ADN es hibridado con sondas de ARN de secuencia de tipo específico. El híbrido conformado, en caso de que exista ADN de VPH, es capturado en una placa utilizando el anticuerpo, mismo que, marcado con una enzima, es utilizado para reconocer la estructura capturada. El sustrato de esta enzima, cuando está metabolizado, emite luz y el resultado se obtiene por la lectura de unidades relativas de luz.^{28, 29}

Tratamiento

Para lograr una mejor efectividad en la curación de esta enfermedad, es necesario realizar una adecuada profilaxis, pues sólo actuando sobre los factores de riesgo y tratando las lesiones premalignas se podrá disminuir dicha entidad. El tratamiento del VPH no está bien establecido, existen múltiples ensayos clínicos que aprueban el uso de la radiocirugía, la electrocauterización (quemarlas con una aguja eléctrica), el láser, la crioterapia (congelar las verrugas genitales con nitrógeno líquido) y el empleo de biomoléculas, entre las que figuran el interferón alfa (IFN) agente biológico de gran actividad antiviral, antiproliferativa e inmunomodulador, que

afecta la división de las células cancerosas y hace que el crecimiento del tumor sea más lento, ha sido un arma valiosa en el tratamiento de muchas enfermedades y que, en el caso de las verrugas genitales, debe ser inyectado directamente en ellas. Actualmente no existe un tratamiento que elimine el virus y su desaparición depende del sistema inmunológico de cada paciente, aunque se está investigando una molécula que consigue activar el sistema inmunológico para provocar que éste genere interferón y se facilite la eliminación del virus. Pero de momento no se sabe en qué medida este tratamiento consigue eliminar el virus, aunque está demostrado que en cualquier caso la carga viral de cara a los contagios disminuye considerablemente. Este hecho es importante, ya que se estima que una de cada dos relaciones sexuales con una persona infectada implica una transmisión del mismo. Otros tratamientos menos comunes para las verrugas incluyen medicamentos como el ácido tricloroacético, podophyllin o podofilox (los cuales no deben usarse en mujeres embarazadas), y el 5-FU (5-fluorouracilo), el cual está disponible en crema. Nuevos medicamentos como el imiquimod (Aldara®), HspE7 y cidofovir (Vistide®), originalmente desarrollado para combatir el citomegalovirus (CMV), han demostrado ser útiles en el tratamiento para el VPH en estudios preliminares.²⁹

El sistema inmunológico. Es un hecho que un número importante de personas infectadas por el virus del papiloma humano cura en forma espontánea, es decir por la acción de su propio sistema inmunológico, por lo que podemos clasificar en dos los estudios realizados al respecto, el que utiliza los métodos de ADN (PCR) para saber si tiene la infección, y el que utiliza métodos visuales como el Papanicolaou, colposcopia, biopsia.³⁰

En el estudio efectuado a un grupo de 608 estudiantes universitarias en New Jersey, Estados Unidos, con una duración de tres años (*Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women*), se utilizaron pruebas de ADN para

detectar la presencia del virus del papiloma, observándose en un momento dado que 43% de las mujeres en estudio estaban infectadas con el virus y, después de un año de adquirida la infección, 70% se habían curado por la acción de su sistema inmune, es decir el virus se había eliminado por completo, la duración promedio de la infección por VPH fue de ocho meses. Un estudio más reciente en Suecia (*A population based five year follow up study of cervical human papilloma virus infection*) confirma este hecho.

En estudios realizados por inspección visual, el Centro de Capacitación Pfizer cita que de 20% a 30% se curan en forma espontánea. La diferencia tan grande entre ambos resultados es porque los métodos de ADN son altamente sensibles para detectar la presencia del virus; en cambio, los métodos visuales tienen que esperar que el virus cause las suficientes alteraciones para evidenciar su presencia y éstas no llegan a darse en la mayoría de las personas, cuando éstas se presentan se debe a una falla en su sistema inmune, por lo que la posibilidad de cura sin tratamiento se reduce de 20% a 30% de los casos. Por lo tanto, el sistema inmune tiene la capacidad de eliminar el VPH. Un examen de ADN, ya disponible en México (llamado PCR-VPH), permite detectar la presencia del virus, así como el serotipo.³¹

Nueva medicina natural. Inmunoterapia.

Nuestras defensas, es decir el sistema inmune, tienen la capacidad de eliminar el virus del papiloma. Inmunoterapia-I actúa sobre el sistema inmune habilitando para erradicar el virus, además de proveer las condiciones necesarias para su adecuado funcionamiento. Una función importante de Inmunoterapia-I además de restaurar las defensas, es que a nivel celular incrementa la permeabilidad de la membrana plasmática, es decir limpia profundamente. En el proceso de formación del cáncer dentro de cada célula gradualmente se van acumulando una serie de sustancias carcinogénicas, se acumulan en el plasma y, cuando la concentración rebasa ciertos niveles, afecta el núcleo de la célula

alterando su comportamiento ya que el ADN es sumamente sensible a estas sustancias, al liberar éstas evitan su transformación a cáncer. Los componentes activos de Inmunoterapia-I son el resultado de potenciaciones sucesivas de sustancias de origen natural; el concepto de la potenciación es el mismo utilizado en la elaboración del producto homeopático. Estos componentes proporcionan un beneficio al organismo a través de la eliminación del virus. Actualmente se han tratado cientos de personas con este producto, obteniendo excelentes resultados; cada caso es único y particular ya que intervienen muchas variables como la edad, grado de la lesión, reinfección, etcétera. Por lo tanto, se ha establecido que la efectividad del tratamiento depende del estado que guarda el sistema inmune de cada persona. Es de esperarse que alguien que enferma continuamente o que padece de varias enfermedades al mismo tiempo, requiere de un tratamiento de mayor duración del que necesitaría una persona regularmente sana; también el estrés, así como los serios conflictos emocionales, deben de tomarse en cuenta para establecer la duración del tratamiento. En el caso de los hombres, el tratamiento con inmunoterapia está dirigido a no ser portador de virus, ya que prácticamente no se tienen síntomas, sólo en pocos casos se presentan condilomas.^{31,32}

El tratamiento con Inmunoterapia-I debe ser continuo por un mínimo de tres meses, si se presentan condilomas, o tiene algún otro padecimiento como diabetes, insuficiencia renal, tuberculosis, el tratamiento es de seis meses. En el caso de las mujeres, el tratamiento es igual al de los hombres, pero adicionalmente, como el virus daña el cérvix, el ginecólogo debe realizar una evaluación del caso. La superficie del cérvix tiene una gran capacidad de regeneración, constantemente se está exfoliando, por tanto la severidad del caso se define como el grado de avance que tiene (NIC) y qué tan profundo es; aun cuando sea cáncer *in situ* si es totalmente superficial, no requiere de cirugía, ya que al eliminarse el virus con inmunoterapia el cérvix se

restablece. De acuerdo a la severidad del caso es necesario incrementar la duración del tratamiento hasta seis meses, la dosis a partir del segundo trimestre debe reducirse a una sola toma diaria. Generalmente las lesiones provocadas por el virus del papiloma propician el crecimiento de hongos y otros problemas que pueden requerir de medicamentos; éstos no afectan al tratamiento de Inmunoterapia-I y pueden tomarse a la par sin problemas. Ayuda al tratamiento cuidar que en la alimentación incluya verduras de color verde y rojo, el ejercicio moderado regular, evitar los conflictos emocionales y el estrés, además de cuidar la higiene y, por supuesto, no fumar.

Por último, otro punto a tener en cuenta durante el proceso carcinogénico es el rol que cumple el ciclo celular y sus mecanismos regulatorios. El ciclo celular se halla constituido por cuatro fases o etapas denominadas G1, S, G2 y M. Las fases G1 y G2 son fases preparatorias donde se produce la síntesis de ARN y proteínas; durante la fase S se produce la síntesis y replicación del ADN y, por último, durante la fase M la célula entra en mitosis, se segregan los cromosomas y la célula se divide en dos. A su vez se designa como fase G0 a la fase en la cual la célula ya no se divide más o sale del ciclo celular y entra en estado de quiescencia. La proliferación celular normal sigue esta secuencia ordenada de pasos (G1, S, G2 y M) bajo un estricto control, permitiendo o impidiendo la prosecución del ciclo celular. Existen varios puntos de control a lo largo del ciclo celular, pero el lugar más importante de regulación y control se halla ubicado entre las fases G1-S y es en esta transición de fases donde se hace la toma de decisión de si la célula se divide o no y si gasta energía en replicar su ADN, denominándose a este sitio como *checkpoint* (punto de control).³²

Conclusión

La importancia que la infección por el virus del papiloma humano posee, como factor causal en

el origen de las atipias celulares cervicovaginales y su progresión hacia cáncer cervicouterino es muy relevante, ya que se ha visto que son los responsables de más de 90% de todos los cánceres cervicouterinos, sobre todo los tipos 16, 18, 31, 45, 56; desafortunadamente, aunque se sospecha de ellos por clínica y exploración, el identificar los diferentes tipos de virus por medio de la biología molecular no están a disposición de toda la población por sus costos y complejidad; sin embargo, su tipificación es necesaria para brindar a las pacientes un tratamiento adecuado.

Referencias

1. Castellanos MR. Cáncer cervicouterino y el VPH. Opciones de detección. *Rev Fac Med UNAM* 2003; 46: 63-66.
2. Kersemaekers AMF. Oncogene alterations in carcinomas of uterine: Overexpression of the epidermal growth factor receptor is association with poor Prognosis. *Clin Resch* 1999; 5: 577-586.
3. Lazcano-Ponce EC, Moss S, Alonso P, Salmeron J, Hernandez M. Cervical cancer screening in developing countries : why is it ineffective? The case of Mexico. *Arch Med Res* 1999; 30: 240-250.
4. Ndisang D, Budhram-Mahadeo V, Latchman DS. The Brn-3a transcription factor plays a critical role in regulating human papilloma virus gene expression and determining the growth characteristics of cervical cancer cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 28521-28527.
5. Patti E, James V, Louise A et al. Evaluation of self-collected cervicovaginal cell samples for human papillomavirus testing by polymerase chain reaction. *Epidemiol Biomark Prev* 2001; 10: 95-100.
6. Torriente B, Martínez RV. Aplicación del Interferón en el tratamiento de la infección por virus del papiloma humano. *Rev Cub Obstet Ginecol* 2002; 28: 15-20.
7. Tapia C, Sandoval RJ, Garcia GA, Durán A. Cáncer cervicouterino: Factores de riesgo y alteraciones asociadas en mujeres del estado de Guerrero. *Rev Ins Nal Cancerol Mex* 1998; 44: 19-27.
8. Aguirre R, Álvarez C, Briozzo L, Varela R. Carcinoma verrugoso y carcinoma condilomatoso de vulva. Dos lesiones distintas desde el punto de vista histológico epidemiológico y clínico. *Arch Ginecol Obst* 2001; 39: 20-27.
9. Traiman P, Bacchi CE, De Luca LA. Vulvar carcinoma in young patients and its relationship with genital warts. *Eur J Gynaecol Oncol* 1999; 20: 191-194.
10. Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. *Nature Rev* 2004; 4: 46-54.
11. Velázquez RF, Pacheco C, Calderón F. Utilidad de la circuncisión en combinación con 5-fluorouracilo en el tratamiento de la infección subclínica por papilomavirus humano. *Rev Mex Urol* 1993; 53: 19-24.
12. Zhang A, Maner S, Betz R, Ångstrom T. Genetic alterations in cervical carcinomas: frequent low-level amplifications of oncogenes are associated with human papillomavirus infection. *Int J Cancer* 2002; 101:427-433.

13. Zur Hausen H, De Villiers EM, Gissmann L. Papillomavirus infections and human genital cancer. *Gynecol Oncol* 1981; 12: 124-128.
14. Janicek ME, Averette HE. Prevención y diagnóstico del cáncer de cuello. *CA Cáncer J Clin* 2001; 51: 92-144.
15. Burger RA, Monk BJ, Kurosaki T. Human papilloma virus type 18: Association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1361-1368.
16. Bosh FX, Mnos MM, Muñoz N, Shrman M, Jansen AM, Peto J. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
17. Muñoz M, Mendoza JA, Tellez L. Detección de VPH-16 y 18 en muestras de cérvix de mujeres que acuden a centros asistenciales de la ciudad de Mérida, Venezuela.
18. Brisson J, Morin C, Fortier M. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia: Differences between low and high-grade lesions. *Am J Epidemiol* 1994; 140: 700-710.
19. Eluf-Neto J, Booth M, Bosch FX, Meijer CJ. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. *Br J Cancer* 1994; 69: 114-119.
20. Karlsen F, Kalantari M, Jenkins A, Pettersen E, Kristensen G, Holm R, Johansson B, Hagmar B. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2095-2100.
21. Lazcano E, Nájera P, Alonso P, Buitti E, Hernández M. Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cervical en México. Diagnóstico situacional. *Rev Inst Natl Cancerol Mex* 1996; 42: 123-140.
22. Riethmuller D, Gay C, Bertrand X, Bettinger D, Schaal JP, Carbillet JP, Lassabe C, Aryeux P, Seilles E, Mougin C. Genital human papillomavirus infection among women recruited for routine cervical cancer screening or for colposcopy determined by hybrid capture II and polymerase chain reaction. *Diagn Mol Pathol* 1999; 8: 157-164.
23. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-19.
24. Ganén PI. Cancer y virus. *Revisiones Bibliográficas de la Facultad de Ciencias Médicas Provincia Guantánamo* 1997; 5: 23-27.
25. Janicek FM, Averette HE. Cervical cancer: Prevention, diagnosis and therapeutics. *CA Cancer J Clin* 2001; 51: 92-114.
26. Burns AKJ et al. Detection of low copy human papilloma virus DNA and RNA in routine paraffin sections of cervix by non-isotopic *in situ* hybridization. *J Clin Pathol* 1987; 40: 858-864.
27. Ostrow RS, Manias DA, Clark BA, Okagaki T, Twigg LB, Faras AJ. Detection of human papilloma virus DNA invasive carcinomas of cervix by *in situ* hybridization. *Cancer Res* 47: 649-653.
28. Roda A et al. Microtiter format for simultaneous multianalyte detection and development of a PCR-chemiluminescent enzyme immunoassay for typing human papillomavirus DNAs. *Clin Chem* 2002; 54: 1654-1660.
29. Jastreboff AM, Cymet T. Role of the human papilloma virus in the development of cervical intraepithelial neoplasia and malignancy. *PMJ Online* 2002; 78: 225-228.
30. Bates S, Vousden KH. P53 in signalling checkpoint arrest or apoptosis. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 12-19.
31. Evander M, Frazer IH, Pyne E, Qi YM, Hengst K, McMillan NAJ. Identification of the $\alpha 6$ integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. *J Virol* 1997; 71: 2449-2456.
32. Harro CD, Pang YY, Roden RB, Hildesheim A, Wang Z, Reynolds MJ et al. Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 284-292.