

# Cáncer cervicouterino:

## ¿Qué papel etiológico juega la infección con el virus del papiloma humano?

**Palabras clave:** Virus papillomavirus humano, cáncer cervical, neoplasia escamosa intraepitelial, célula epitelial, infección, factores de riesgo, enfermedad genital.

**Key words:** Human Papillomavirus, cervical cancer, squamous intraepithelial neoplasia, epithelial cell, infection, risk factors, genital disease.

Recibido: 08/05/2009  
Aceptado: 12/05/2009

José Roberto Barba Evia\*

\* Unidad Médica de Alta Especialidad de Mérida Yucatán. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia:  
José Roberto Barba Evia  
Calle 34 por 41 núm. 439  
Exterrenos «El Fénix», Col. Industrial  
97150 Mérida Yucatán, México.  
Tel: (01999) 9-22-56-56, ext. 61680 y 61681  
E-mail: jose.barbae@imss.gob.mx

### Resumen

Debido a que el cáncer cervicouterino (CaCu) es la segunda causa de muerte en mujeres alrededor del mundo y como una medida tomada por los sistemas públicos de salud con el afán de disminuir esta incidencia anual, sobre todo en lo que respecta a mujeres que habitan en países en vías de desarrollo, los tamizajes masivos mediante la realización de la prueba de Papanicolaou son una buena opción para tal fin. Por otra parte, existe una vasta información publicada mundialmente acerca de la estrecha relación que guarda este incremento anual de cáncer cervicouterino con el incremento en la incidencia de infecciones genitales por el virus del papiloma humano (VPH), sobre todo de los tipos considerados de alto riesgo, sin que exista evidencia contundente que demuestre esta causa-efecto. En el presente artículo se revisan aspectos importantes acerca del virus del papiloma humano y su estrecha relación con el desarrollo de cáncer cervicouterino.

### Abstract

Because the uterus cervical cancer (CaCu) is the second cause of death in women around the world and like a measure taken by the public systems of health with the desire of diminishing this annual incidence, overalls in what to those women that live in developing countries, the massive screen by means of the realization of the Papanicolaou smears (Pap) are a good option for such end. On the other hand vast information exists published worldwide about the narrow relationship that keeps this annual increment of cervical cancer, with the increment in the incidence of genitals infections for the human papilloma virus (VPH), mainly of the types of high risk, without an overwhelming evidence exists that demonstrate this cause-effect. Presently article is revised important aspects about the human papilloma virus and their narrow relationship with the development of cervical cancer.

83

### Introducción

La incidencia de cáncer en el mundo se ha incrementado en las últimas décadas. Así, en 2008, por citar un ejemplo, sólo en los Estados Unidos, 1.4 millones de personas fueron diag-

nosticadas; de las cuales medio millón falleció como resultado de la enfermedad. Este incremento en la incidencia es consecuencia de factores modificables y no modificables.<sup>1,2</sup>

Tres son los factores modificables: consumo de tabaco, hábitos en el estilo de vida relacionados

con el desarrollo de obesidad y la amenaza de enfermedades infecciosas. La urbanización, así como la globalización económica han propiciado un rápido y marcado cambio en el estilo de vida de muchas personas. Estos cambios incluyen incrementos en el consumo de tabaco, alcohol, dietas ricas en grasa y bajas en fibra, así como en hábitos de tipo sedentario como son: transporte por medio de automotores, mayor tiempo de observar la televisión, etcétera, todas ellas relacionadas con el aumento en la incidencia de cáncer.<sup>1</sup>

Diversos agentes infecciosos son considerados como la causa de cáncer en humanos. En el año 2002 se estimó que las enfermedades infecciosas fueron responsables de 17.8% de los casos nuevos de cáncer en el mundo, afectando 1.9 millones de personas (26% de la población total) que habitan en países subdesarrollados (84% de la población reside en estas naciones) y de 360,000 (7.2%) en países desarrollados (16% de la población reside en ellos). Los principales agentes «oncogénicos» de acuerdo a su frecuencia y para las cuales existen medidas preventivas incluyen: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 5.5% de todos los cánceres, virus del papiloma humano (VPH) 5.2%, virus de la hepatitis B y C (VHB y VHC) 4.9%, virus Epstein-Barr (EB) 1%, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) junto con el virus herpes humano tipo 8 (VHH8) 0.9%. Otros agentes involucrados en la etiología del cáncer, pero cuya incidencia es menos frecuente, incluyen a: esquistosomas (0.1%) y virus linfotrófico humano de células T tipo I (0.03%).

Un factor fundamental acerca del papel etiológico del virus del papiloma humano (VPH) en el desarrollo de cáncer cervicouterino (CaCu) es la preservación demostrada del genoma viral en lesiones metastásicas; por lo tanto, se le ha considerado como la causa de aproximadamente 55,100 casos nuevos de cáncer cervicouterino en todo el mundo. Los rangos de incidencia y mortalidad por esta enfermedad han descendido en países desarrollados, gracias al tamizaje masi-

vo mediante la prueba de Papanicolaou. Desgraciadamente, esta prueba no está disponible para aquellas mujeres que residen en países en vías de desarrollo debido a fallas imputables a sus sistemas públicos de salud.<sup>1-6</sup>

Existe un factor de riesgo no modificable para desarrollar cáncer, el cual se relaciona con el crecimiento demográfico. Entre los años 2000 a 2030, la población mundial actual de 6 mil millones de personas se incrementará en 2 mil millones más, lo que conllevará a su vez al envejecimiento poblacional, con lo que se incrementará de 550 a 973 millones los adultos mayores de 65 años.<sup>1</sup>

## Cáncer cervicouterino (CaCu)

La mucosa vaginal y ectocervical se encuentra formada por epitelio plano (escamoso) estratificado, no queratinizado, con proceso de maduración que tarda de cuatro a cinco días y que va desde las células localizadas en el estrato basal hacia la superficie, donde se encuentran las células más maduras y diferenciadas.<sup>7</sup>

El cérvix se encuentra cubierto por una capa de tejido denominado epitelio cervical. Cuando las células de este epitelio crecen de forma anormal, pueden generarse lesiones precancerosas o displasias, las cuales si no son tratadas oportunamente pueden desarrollar cáncer. Por lo tanto, antes de manifestarse, el CaCu pasa por varias etapas que empiezan, como ya se ha mencionado, con la displasia, la cual según su avance se clasifica en leve, moderada o severa y, en caso de no tratarse, evoluciona a carcinoma *in situ* y cáncer invasor (generalmente la enfermedad se detecta en esta etapa). El adenocarcinoma es responsable de aproximadamente 15% de todos los cánceres del cérvix, e incluye diferentes severidades de tipos histológicos. La mayoría de los tumores son adenocarcinomas mucinosos y generalmente se asocian con la presencia de lesiones escamosas intraepiteliales. Los tumores no mucinosos incluyen carcinomas de

células claras y carcinomas serosos que recuerdan tumores de células claras y serosos encontrados en el endometrio y ovario. Cada año, aproximadamente 470,000 casos de CaCu son diagnosticados en todo el mundo, y cerca de la mitad de las mujeres afectadas fallecerán. En México, este tipo de cáncer tiene una tasa de mortalidad de 9.5 por 100,000 mujeres.<sup>7-9</sup>

En 1941, George N Papanicolaou desarrolló una técnica para la toma, procesamiento y lectura de la citología cervical (la cual se basa en dos conceptos: la diferenciación escamosa normal de las células y la carcinogénesis manifestada por las características morfológicas del citoplasma y del núcleo de estas células). La técnica original ha sufrido modificaciones y hoy en día se le conoce como DOC (detección oportuna de CaCu).<sup>1</sup>

En los Estados Unidos, 50 millones de DOC son realizadas cada año, lo que permite diagnosticar cerca de 50% de las atipias celulares de significancia indeterminada, 1'200,000 casos de displasia de bajo grado (neoplasia cervical intraepitelial I ó NIC1), 300,000 casos de displasia de alto grado (NIC2/3) y 100,000 casos de CaCu. Los costos estimados desde el diagnóstico hasta el tratamiento de la enfermedad, es aproximadamente de 6 billones de dólares/año.<sup>7,10</sup>

El Papanicolaou ha reducido dramáticamente la incidencia de esta enfermedad en el mundo desarrollado, ya que en estos países entre 40 a 50% de las mujeres son tamizadas; no así en naciones en vías de desarrollo, donde muchas mujeres no tienen acceso a este tipo de cuidados (solamente 5% se realiza el Papanicolaou). En ellas, el CaCu (tercera malignidad más frecuente dentro de todas las patologías oncológicas) se constituye como la segunda malignidad tanto en incidencia como en mortalidad, siendo la primera el cáncer de mama.<sup>7,11-14</sup>

El tratamiento convencional de la displasia cervical está limitado a procedimientos locales ablativos con láser o excisionales repetitivos para remover o destruir el tejido cervical anormal. Estos

procedimientos tienen un rango de eficacia cercana a 90%, pero se asocian con morbilidad elevada y expansión de la lesión; además de que se trata de métodos dolorosos, mutilantes y particularmente penosos, sobre todo en mujeres jóvenes. En el caso de las lesiones de bajo grado, éstas pueden ser más estables genéticamente y quedar bajo regulación de importantes moléculas inmunológicas como son las moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-A), dentro de las que se incluye a HLA-A\*0201, la cual posee tres sitios de alta afinidad (E711-20, E782-90 y E786-93) y uno de afinidad intermedia (E629-38). Sin embargo, debido al pobre pronóstico para las pacientes con enfermedad avanzada, en la actualidad se han desarrollado investigaciones sobre inmunoterapia enfocada a esta enfermedad.<sup>7,15,16</sup>

Avances en estudios virológicos y epidemiológicos acerca de la etiología del carcinoma de células escamosas del cérvix (malignidad más común del cérvix) han permitido el reconocimiento de la importancia clínica de la infección con VPH de tipos oncogénicos o de alto riesgo con el desarrollo de tumorogénesis, sin que se comprenda totalmente la patogénesis.<sup>8,17</sup>

## Antecedentes históricos

Durante el siglo XIX se sospechó y se demostró la teoría de la etiología infecciosa de las verrugas.<sup>18</sup>

Uno de los primeros registros de casos experimentales de la transmisión de verrugas en humanos fue reportado en 1845 por Chandler. Él describe que, luego de la remoción de un gran condiloma, accidentalmente lesiona con el instrumento utilizado a su asistente, el cual poco tiempo después desarrolla una verruga en el sitio anatómico lesionado.<sup>18</sup>

Durante mucho tiempo, las verrugas genitales y CaCu, así como sus manifestaciones, se han relacionado con enfermedades venéreas como la sífilis y la gonorrea. Esta teoría quedó fundamen-

tada mediante una publicación de 1917, en la cual se relata que extractos de condilomas de pene extraídas de un estudiante de medicina y quien no exhibía otros síntomas de enfermedad venérea se utilizaron para ser inoculados en diversos sitios del antebrazo del autor y de su asistente, así como en la mucosa vaginal de una «virgo intacta». Después de 2.5 meses, la desafortunada mujer desarrolló condilomas genitales y, en el caso de los dos varones, éstos desarrollaron verrugas planas en los antebrazos.<sup>18</sup>

En la década de 1930, Shope identificó el primer papilloma virus (PV) en el conejo cola de algodón, siendo el agente causal de la papillomatosis cutánea en estos animales. Este PV, así como otros provenientes de otras especies animales (PV tipo I), se utilizaron posteriormente como modelos para explicar la transformación celular de tipo maligno causada por estos virus.<sup>19</sup>

En los años 50, se demostró que la prevalencia de la infección genital por VPH era común y con un constante incremento anual.<sup>20,21</sup>

En los 60, se pensaba que sólo existía un tipo viral y que la naturaleza del epitelio infectado era probablemente el responsable tanto de las características morfológicas como del comportamiento de las verrugas.<sup>22</sup>

En 1974 se establece en México el Programa Nacional de Tamizaje para la DOC. Sin embargo, a pesar de la mortalidad atribuible a CaCu, se ha mantenido en rangos estables en aproximadamente 17 por cada 100,000 mujeres en los últimos 30 años.<sup>23</sup>

En la década de los 80, la atención se centró en la habilidad de los PV de mediar la conversión celular a la malignidad, surgiendo una fuerte asociación entre la infección con ciertos tipos de VPH y el desarrollo de CaCu.<sup>19,24</sup>

En los inicios de la década de los 90, equipos de investigación interdisciplinarios demostraron que la infección con VPH y sus precursores citopatológicos preinvasivos eran la causa virtual de todos los casos de CaCu.<sup>25</sup>

En 1995, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) concluyó, mediante cuatro estudios de casos-control, material suficiente para considerar a los VPH-16 y VPH-18 como carcinógenos humanos.<sup>26,27</sup>

Un año después, en 1996, gracias al desarrollo de las técnicas de biología molecular, en particular las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), fue posible que se caracterizaran 77 tipos, clasificados de acuerdo a su localización anatómica (mucosos y cutáneos), secuencia genómica y carácter oncogénico (alto y bajo riesgo). Para 1999 ya se habían secuenciado 85 genotipos y aproximadamente 120 parcialmente secuenciados. En la actualidad se conocen 216 tipos; sin embargo, sólo 100 se encuentran completamente secuenciados y, de éstos, entre 13 a 19 tipos, que aunque son transitorios, son de particular interés médico, ya que la infección persistente con alguno de ellos, frecuentemente se asocian con el desarrollo de diversos tipos de cáncer como son: anogenital (aproximadamente 60% de los CaCu se relacionan con infección por VPH-16, y entre 10 a 20% con VPH-18), cabeza, cuello, pene y boca; por lo tanto, se les clasifica como tipos putativos de alto riesgo, entre ellos se incluyen: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67, 68, 69, 73 y 82. Los tipos de bajo riesgo incluyen: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81 y 89.<sup>7,19,22,28-36</sup>

## Virus del papiloma humano

Los papilloma virus (PV) bajo un nivel taxonómico se clasifican tradicionalmente en géneros, especies y tipos. La utilización de estos términos permite describir un nuevo PV aislado. El primer sistema de clasificación que se utilizó se basó en los ensayos de hibridación de ADN, y establecía que los nuevos tipos de VPH mostraban < 50% de homología genética con otras especies conocidas. Este tipo de clasificación fue reemplazada por un sistema más específico, sin tomar en cuenta este criterio de homología de < 50%.<sup>19,22,28</sup>

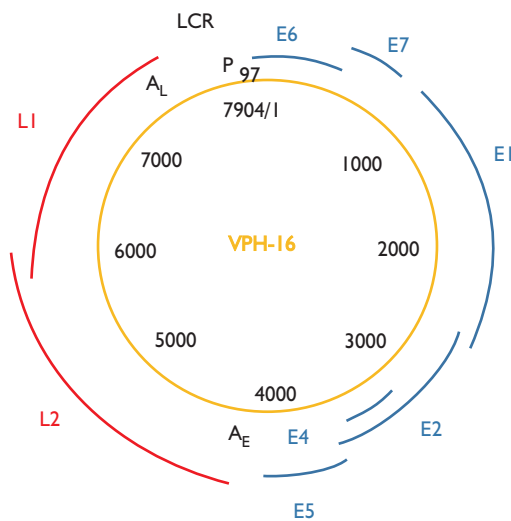
Bajo esta nueva clasificación, un tipo de VPH se define como un taxón separado que permite conocer los tipos en seis genes tardíos y tempranos y define, de acuerdo a las regiones de regulación, un nuevo tipo, donde la secuencia de nucleótidos presentan una homología de < 90% del gen L1, es decir, que este gen difiere de uno a otro tipo en > 10% del genoma completo de VPH típico. El subtipo (término utilizado hace más de 20 años) define un grupo donde la secuencia del nucleótido L1 es > 2% y < 10% (es decir, presentan una homología de 90-98% con respecto al genoma típico). Solamente cuatro genomas de VPH se consideran subtipos: VPH-55, -46, -64 y dos subtipos de VPH-68: VPH-68 -a y -b. Una homología > 98% indica una variante o polimorfismo.<sup>19,22,28,37-39</sup>

Los VPH se consideran un grupo heterogéneo de virus que constituyen la subfamilia *Papovavirinae* y junto con la subfamilia *Polyomavirinae* forman la familia *Papovaviridae*, que infectan a humanos, así como a numerosas especies animales. Son estrictamente epiteliotróficos, ya que infectan típicamente células epiteliales manteniéndose de manera latente en las células madre, invadiendo células del estrato basal del epitelio cutáneo o mucoso en una variedad de nichos biológicos como son: tracto anogenital, manos o pies, próstata, boca, laringe, esófago, colon, recto, uretra, vejiga y recientemente se ha descrito su presencia en tejido hepático. Dependiendo de la preferencia por el sitio de infección y de la presentación clínica, los VPH se subdividen en 5 géneros. Los dos géneros más grandes se denominan alfa y beta ( $\alpha$  y  $\beta$ ), los cuales abarcan 90% de todos los tipos conocidos.<sup>19,22,28,37-42</sup> El gran grupo de los  $\alpha$ -VPH comprende a los tipos genital/mucosos y que pueden causar infección persistente. En este grupo también se incluyen virus cutáneos como el VPH-2 causante de las verrugas comunes, el cual en raras ocasiones se relaciona con el desarrollo de lesiones cancerosas. Los  $\beta$ -VPH se asocian típicamente con infecciones cutáneas no aparentes

en humanos; sin embargo, en individuos inmunocomprometidos y en pacientes que sufren epidermodisplasia verruciforme, estos virus pueden asociarse con el desarrollo de cáncer de piel de tipo no melanoma. Los restantes VPH conforman tres géneros: gamma, mu y nu ( $\gamma$ ,  $\mu$  y  $\nu$ ); generalmente causa papilomas y verrugas cutáneas que no progresan a cáncer. VPH de alto riesgo asociados con los tipos de cáncer más comunes en humanos predominantemente provienen de los grupos  $\alpha$ -9 y -7.<sup>41</sup>

Es importante señalar que se ha demostrado la existencia de polimorfismos en el caso de VPH-16 relacionadas al área geográfica, por lo que han sido clasificados ampliamente como: Europeos (E), Africanos (Af), Asiáticos (As), y Asia-Americanos (AA). Esta clasificación es importante, ya que ciertas variantes se han reportado como la causa más probable de CaCu.<sup>43</sup>

Dentro de las características generales, los VPH son partículas sin envoltura con simetría icosaédrica y 72 capsómeros de forma pentamérica. Las proteínas de cubierta externas del virus consisten en dos tipos de proteínas, una mayor y una menor. La proteína de la cápside mayor se denomina L1, la cual se encuentra en la superficie externa en forma de un mosaico icosaédrico, que solamente puede ensamblarse en el virus como una partícula estructural primaria; por lo tanto, esta proteína L1 contiene toda la información necesaria para el ensamble de partículas y contiene 360 copias de proteínas. La proteína de la cápside menor se le denomina L2 y se localiza en la superficie interna de L1 en el centro del vértice de los capsómeros pentavalentes del virión. Ambas cápsides rodean el genoma viral, a manera de un minicromosoma con un diámetro aproximado de 55 nm, que contiene ADN de doble cadena circular covalente cerrado, que contiene de 7,500 a 8,000 pares de bases y se completa con histonas celulares que sirven para codificar de ocho a nueve marcos abiertos de lectura, los cuales a su vez codifican para proteínas estructurales y no



**Figura 1.** Mapa genómico del VPH-16. Los genes son designados E1 a E6 (genes de región temprana) y L1 y L2 (genes de región tardía). La gran región de control viral (LCR) contiene elementos de control de la replicación y transcripción, incluyendo los promotores conocidos, P97. Tomado y modificado de *Am J Med* 1997; 102 (5A): 9-15.

control y ~3-kb L o región tardía (*cuadro 1*). La primera codifica para todas las proteínas E o no estructurales conocidas (denominadas de E1 a E8), las cuales están involucradas en: la persistencia del genoma viral, replicación del ADN, activación del ciclo lítico, transformación celular y en la regulación de los genes virales, por lo que es considerada la región más importante en la patogénesis del cáncer invasivo. La región L codifica las proteínas estructurales de la cápside L1 y L2, mientras que la región LCR se localiza entre las regiones E y L, y se le considera como la región de control que no contiene secuencias codificadoras, pero que posee promotores y amplificadores (elementos cis) implicados en la regulación de la transcripción de los genes virales (*figura 1*).<sup>18,22,28,39</sup>

Los VPH codifican para diversos antígenos blancos potenciales para las células T, siendo las células epiteliales las «más atractivas» para las oncoproteínas E6 y E7.

La infección por parte de estos virus causan un rango muy amplio de enfermedad que va desde la hiperproliferación benigna de verrugas (por lo que vulgarmente se les conoce como los virus de las verrugas y que afecta tanto a humanos como animales domésticos) hasta, como ya se ha mencionado, tumores epiteliales de diferentes localizaciones, por lo que juegan un papel importante en

estructurales, necesarias para la replicación viral, así como para proteínas estructurales que forman la cubierta del virus.<sup>19,22,28,30,37-39,41,44,45</sup>

La organización genómica del virus es similar en todos los tipos de VPH. Se encuentra constituida por tres regiones fundamentales: ~4-kb E o región temprana, ~1-kb LCR o gran región de

**Cuadro 1.** Funciones de los genes del VPH. Tomado y modificado de *Am J Med* 1997; 102 (5A): 9-15.

Nombre del gen	Función
E1	Replicación; represión de la replicación.
E2	Transcripción activa (VPH-6, -11, -16); represión de la transcripción; unión a la larga región control.
E3	Producto o función no conocida.
E4	Proteína citoplásmica (VPH-1) que induce verrugas.
E5	Transformación (VPH-6).
E6	Transformación en cooperación con E7 (VPH-16 y -18).
E7	Transformación en cooperación con E6 (VPH-16 y -18); activación transcripcional (VPH-16).
E8	Función o producto no conocido.
L1	Proteína mayor de cápside.
L2	Proteína menor de cápside.



la patogénesis del cáncer. En la actualidad son considerados como el agente etiológico en casi 100% de los casos de CaCu, 100% de las verrugas genitales (condiloma acuminado) y plantares, así como de la gran mayoría de los cánceres de piel.<sup>15,22,28,44</sup>

## Enfermedades inducidas por VPH

Más de 40 tipos de VPH son capaces de infectar al cérvix. La infección genital por VPH constituye una de las enfermedades más comunes de transmisión sexual, cuyo rango de prevalencia en mujeres jóvenes es de 20 a 46% en varios países. Muchas de estas infecciones son subclínicas y asintomáticas; cuando las manifestaciones clínicas ocurren se manifiestan comúnmente como lesiones benignas de la piel (*figura 2*), que en raras ocasiones presentan transformación maligna. Dentro de las formas visibles de la infección se encuentran las verrugas anogenitales, las cuales constituyen una de las enfermedades de transmisión sexual más comunes en los Estados Unidos.<sup>37</sup> Estas lesiones pueden causar molestias significativas y, en algunos casos, pérdida de la función sexual.



**Figura 2.** Verrugas comunes.

De los más de treinta tipos de VPH transmitidos sexualmente, sólo dos son considerados de alto riesgo (VPH-16 y -18) porque se les considera ser la causa de:

- a) Más de 70% de los casos de CaCu (se ha demostrado el genoma viral en más de 99.8% de las muestras de tumores biopsiados). 500,000 casos nuevos CaCu por año con la siguiente distribución: VPH-16 causa aproximadamente 50% de los casos; VPH-18, 10 a 15% y más de 35% de los adenocarcinomas de cérvix; VPH-45, 7%; VPH-31, 3%; y colectivamente menos de 2% se debe a otros tipos considerados de alto riesgo: -6, -33, -35, -39, -51, -52, -56, -58, -59, -66, -68, -70, -73 y -82. Otros tipos de menor frecuencia se relacionan con 15% de los casos de CaCu.
- b) 250,000 muertes por año de mujeres alrededor del mundo.
- c) 25 a 35% de las displasias cervicales de bajo grado.
- d) 50 a 70% de las displasias cervicales de alto grado.
- e) Más de 90% de los cánceres de boca (incremento 0.8% por año entre 1973 a 2004).
- f) 70% tanto de cánceres anales como de lesiones precancerosas del pene. No obstante que estas dos patologías son raras, la incidencia de cáncer anal se ha duplicado en varones homosexuales en los últimos 30 años.
- g) 26% de todos los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello, particularmente por VPH-16.<sup>2,46-60</sup>

Es importante señalar que la coinfección con múltiples tipos de VPH se ha observado más frecuentemente entre mujeres jóvenes y en aquéllas con anomalías citológicas o con daño en la respuesta inmune. Al respecto, existen diversos estudios con disparidad en los resultados que sugieren el posible papel de múltiples tipos de VPH en el desarrollo o progresión de la neoplasia del

cérvix, mientras que otros han demostrado que el desarrollo de lesiones precancerosas o de cáncer invasivo en mujeres infectadas con múltiples tipos de VPH no es mayor que en las infectadas con un solo tipo.<sup>61-63</sup>

La prevalencia de infección con VPH de alto riesgo entre mujeres jóvenes (edad media, 25 años), dependiendo de la localización geográfica, es aproximadamente de 20 a 40%. Esta incidencia disminuye con la edad.<sup>41</sup>

Adicionalmente, VPH-6 y -11, considerados de bajo riesgo, causan más de 90% de las verrugas genitales (condilomas acuminados), las cuales son lesiones benignas, pero extremadamente molestas que afectan mayormente a varones jóvenes. También se asocian con 10 a 15% de las displasias de bajo grado del cérvix (estas lesiones rara vez evolucionan a cáncer) y con 90% de papilomatosis respiratoria juvenil recurrente.<sup>46,53,64-66</sup>

Una vez que la infección se establece, los VPH pueden persistir en individuos infectados durante largos periodos de tiempo y muchos tipos parecen tener un ciclo «latente» de vida, ya que ambos tipos (de alto y bajo riesgo) tienen la habilidad para inducir producción de viriones en diferenciación, lo que sugiere que realizan un mecanismo para modular el control del ciclo celular.<sup>39,53</sup> El *cuadro II* indica los principales tipos de VPH y las enfermedades que causan.

## Prevalencia de verrugas genitales

Infecciones del tracto genital por VPH son transmitidas por contacto sexual. Estas infecciones pueden tener diversas manifestaciones clínicas, incluyendo condilomas acuminados, planos, gigantes y verrugas papulares.<sup>44</sup>

El condiloma acuminado constituye una enfermedad de transmisión sexual muy común. Se estima que en los Estados Unidos aproximadamente de 4 a 13% de la población sexualmente activa presentan clínicamente verrugas genitales. Para

hacer notar el aumento en la incidencia de estos condilomas, señalemos que, en los Estados Unidos, 169,000 sujetos consultaron por presentar verrugas genitales en 1966, incrementándose el número de pacientes a 1'150,000 en 1984.<sup>20</sup>

## Factores de riesgo asociados con infección genital por VPH

La mayoría de los factores epidemiológicos de riesgo previamente identificados para el CaCu son también factores de riesgo para la infección por VPH, entre los que se incluyen: inicio de relaciones sexuales a edades tempranas, así como número de parejas sexuales. Adicionalmente se reconoce que son necesarios cofactores para desarrollar carcinogénesis, los cuales varían considerablemente en diferentes regiones geográficas. A continuación se analizan algunos factores de riesgo.<sup>20,67</sup>

**Actividad sexual.** Se trata de una infección de transmisión sexual, por lo que el riesgo de adquirirla está influenciado por diversos factores relacionados a la actividad sexual. En mujeres, éstos incluyen número de parejas sexuales, frecuencia de relaciones sexuales, presencia de verrugas genitales, así como de los patrones en las relaciones sexuales. En hombres un factor de riesgo significativo es el número de parejas sexuales de tipo casual. Un mecanismo no demostrado, pero posible para adquirir la infección, es el uso de fomites, ya que se ha logrado aislar el genoma del virus en instrumentos ginecológicos utilizados después de examinar pacientes con verrugas genitales.<sup>11,20</sup>

**Uso de preservativo.** Fallas en la utilización del condón se asocian con infección con VPH.<sup>20</sup>

**Embarazo.** Se han encontrado niveles elevados del virus en embarazadas, sin que se haya determinado esta relación. En un estudio multicéntrico de la IARC, mujeres con VPH+ con antecedente de siete o más embarazos de término incrementan el riesgo hasta el cuádruple para el desarrollo de CaCu, si se les compara con muje-



**Cuadro II.** Tipos de VPH y enfermedad relacionada.<sup>18,19,27,70,71</sup>

Sitio	Enfermedad o lesión	Tipo VPH
Piel	Verruga común	2,7
	Verruga plantar	1,2,4
	Verruga cutánea chata	3,10
	Verruga en mosaico	
	Verruga y carcinoma en áreas periungueales	
	Verruga de Butcher	
	Cáncer de tipo no melanoma	5,8
Tracto anogenital	Epidermodisplasia verruciforme	5,8
	Verruga genital-anal	6,11, 42, 43, 44, 55 y otras
	Tumor de Buschke-Löwenstein	6,11
	Papulosis de Bowenoid	16,34,37,42
	Malignidades genitales	16,18,31,33,35,39,45,51
	Neoplasia intraepitelial cervical (grados I al III) y carcinoma invasivo	16,18,31,33,35,39,42,43,44,45,51,52,56
	Neoplasia intraepitelial y carcinomas de cérvix, vulvar y perianal	16 (raro 6,11)
	Neoplasia intraepitelial y carcinomas de pene	16 y 18
	Neoplasia intraepitelial y carcinomas de ano	16 (raro 6,11,18,33)
	Vías digestivas	6,11,13,16,18,20,24,25,30,33,51,52,53,54,57, DL231, DL416 y DL428
Tracto digestivo	Esófago	DL436
	Adenomas de colon y carcinomas colorrectales	6,11,16,18,31 y 33
Tracto respiratorio	Papilomatosis laríngea juvenil	6,11
	Carcinoma de células escamosas de la laringe	
	Carcinoma de células escamosas de los senos	
Otras	Carcinoma de células escamosas del pulmón	
	Epidermodisplasia verruciforme	Más de 15 tipos (más frecuente 5,8,9) <sup>71</sup>
	Hiperplasia focal epitelial (oral)	13,32
	Papilomas orales	6,7,11,16,32
	Papilomatosis conjuntival	
	Carcinoma y queratosis en epidermodisplasia verruciforme	
	Carcinoma asociado con deficiencias en inmunidad mediada por células de tipo genético, iatrogénico y relacionada al VIH	

res VPH+ nulíparas. Este riesgo disminuye al doble cuando se compara con mujeres VPH+ y con uno o dos embarazos de término.<sup>20,67</sup>

**Estado inmunológico.** Estados de inmunosupresión del huésped tienen un significativo impacto entre la detección de la infección genital por VPH y la progresión de las lesiones relacionadas con el virus. La inmunosupresión puede resultar en una alta prevalencia de infección por VPH debido al incremento en el riesgo de infección o por la incapacidad del organismo de suprimir la infección latente. Pacientes con infección con el virus de la

inmunodeficiencia humana (VIH) y síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) tienen un riesgo incrementado en el desarrollo de ciertos cánceres, especialmente sarcoma de Kaposi, linfoma no Hodgkin, enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de cerebro y seminoma. En este tipo de pacientes han sido documentados incrementos en los rangos de infección con VPH, así como las malignidades relacionadas con éste, entre las cuales se incluyen lesiones intraepiteliales escamosas, cánceres invasivos de cérvix y ano, lo mismo que carcinoma conjuntival. Un estudio

basado en los datos obtenidos de los registros de casos de cáncer y SIDA en los Estados Unidos, encontró que las mujeres VIH+ tienen ocho veces más riesgo de cáncer anal *in situ* y siete veces más el riesgo de cáncer anal invasivo.<sup>20,69-70</sup>

## Cáncer cervicouterino (CaCu)

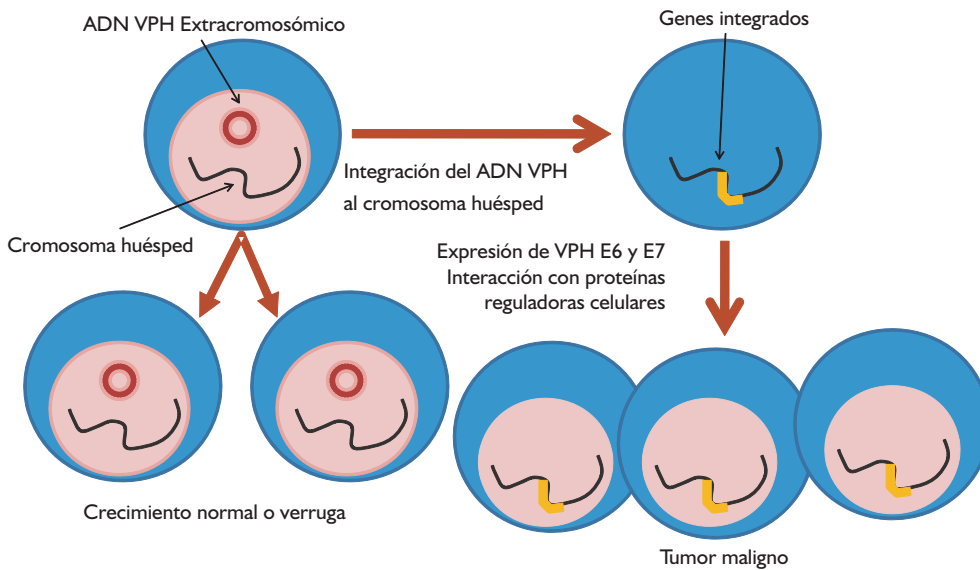
Existe una fuerte asociación claramente establecida mediante evidencias moleculares y epidemiológicas entre la transmisión sexual del virus, la infección crónica del epitelio cervical y el riesgo de desarrollo de carcinoma invasor de células escamosas. Sin embargo, la historia natural entre VPH y adenocarcinoma en mujeres permanece incierta, y es totalmente desconocida en varones. Datos concernientes a otros factores de riesgo conocidos para el desarrollo de cáncer, como tabaquismo, obesidad y uso de anticonceptivos orales (los cuales incrementan el riesgo con la edad, así como con el desarrollo de lesiones de alto grado), son menos convincentes. Por otra parte, se ha reportado que VPH provee ayuda en la replicación de adenovirus (pequeños virus ADN con un genoma de aproximadamente 4,700 nucleótidos, que pertenecen a la familia *Parvoviridae* y que constituyen el género *Dependovirus*). Esta interacción pudiera ser interesante desde el punto de vista seroepidemiológico, lo mismo que la correlación entre adenovirus y el desarrollo de CaCu.<sup>20,73-74</sup>

Otro factor de riesgo es la prevalencia de VPH en varones. Un análisis de datos combinados proveniente de siete estudios de casos-control patrocinados por la IARC reveló la prevalencia de VPH en varones en la siguiente distribución: 13.1% en varones de esposas consideradas como controles sanos, 17.5% en aquéllos de mujeres con CaCu invasivo y 21.2% en esposos de mujeres con carcinoma *in situ*, lo que proporcionó evidencia sólida acerca de la importancia de la presencia de infección con VPH en hombres como un factor de riesgo para el desarrollo de CaCu.

En México se ha reportado una prevalencia en varones jóvenes sanos de 49%.<sup>27</sup>

En la actualidad existe controversia sobre la naturaleza precisa del receptor que facilita la entrada del virus, pero se considera que los proteoglicanos heparan-sulfato pueden jugar un papel fundamental en la unión inicial. Como con otros virus, la infección por VPH requiere la presencia de receptores secundarios necesarios para favorecer la infección, por lo que se ha sugerido a la integrina  $\alpha 6$  como el más indicado. Las partículas virales se introducen relativamente despacio en la célula mediante endocitosis o mediante la formación de caveolas. Se cree que la infección se inicia en el estrato basal indiferenciado, presumiblemente accediendo a través de una herida (ya que normalmente las células del estrato suprabasal ya culminaron su proceso de diferenciación terminal, lo que constituye una barrera protectora). El genoma del virus se establece y replica en este estrato basal en forma de plásmido extracromosomal nuclear. Siguiendo la replicación en las células basales, las células hijas VPH+ migran de la capa basal y comienzan a diferenciarse. En la capa suprabasal, estas células son inducidas para entrar a la fase S, resultando en la amplificación del genoma viral (de 20 a 50 copias por célula), expresión de la transcripción tardía, producción de proteínas de cápside y, finalmente, ensamble de toda la progenie de viriones. La amplificación del ADN viral y la producción de su progenie solamente se observa en el estrato más superficial diferenciado del epitelio escamoso. Sin embargo, muchos VPH asociados a cáncer contienen su genoma integrado al ADN del hospedero (*figura 3*).

Durante la infección viral, la inserción de los genes virales en el genoma del huésped puede detonar mecanismos de defensa por parte del hospedero, como es la activación de la maquinaria de metilación que deprime la transcripción del ADN. Se cree que la respuesta inmune mediada por células es esencial en el control de las infecciones por VPH; esto queda demostrado con el



**Figura 3.** Modelo para la transformación maligna celular por VPH-16 y -18. Tomado y modificado de Am J Med 1997; 102(5A):9-15.

incremento en la frecuencia de tumores asociados a VPH en individuos tratados con drogas inmunosupresivas o que padecen SIDA. Recientes estudios demuestran que partículas similares al VPH son estructuras altamente inmunogénicas no replicativas que se unen a células dendríticas, induciendo un rango de respuesta en células inmunes, expresando citoquinas del tipo interferón- $\alpha$  interferón- $\gamma$ , interleucina-10, proteína 2 quimioatáctica del monocito. Cuando las proteínas L1 y L2 de las cápsidas mayor y menor, respectivamente, se unen a estas partículas, se inducen altos títulos de anticuerpos neutralizantes virales que proporcionan protección contra la infección viral y, por lo tanto, contra papilomas. Esto explica el porqué la mayor parte de las infecciones por VPH han desaparecido del organismo al cabo de aproximadamente nueve meses de la infección inicial; cuando esto no ocurre, se produce una infección persistente o recurrente. La mayoría de las cervicovaginitis por VPH son asintomáticas, y las manifestaciones clínicas asociadas pueden tener un rango muy amplio de presentación que va desde condilomas acuminados hasta el desarrollo de neoplasia intraepitelial cervical (NIC).<sup>8,51,53,75-78</sup>

VPH codifica para ocho proteínas y solamente dos de éstas (E1 y E2) son necesarias para la iniciación de la replicación del ADN viral. Tres de estas proteínas se consideran oncogénicas (E5, E6 y E7). Numerosos estudios han definido el papel crítico de E6 y E7 en la oncogénesis (ya que son marcos de lectura abiertos que infectan a los queratinocitos para la inmortalización *in vitro*, alterando el grado de proliferación epitelial e interfiriendo con su diferenciación normal), ya que inactivan los genes supresores de tumor y promueven inestabilidad genómica. Estos oncogénicos son expresados invariablemente en los carcinomas asociados por VPH y líneas celulares derivadas de estos cánceres. E5 es una proteína transmembrana de 83 aminoácidos que se encuentra en niveles detectables en el aparato de Golgi, retículo endoplásmico y membrana nuclear y también se le considera oncogénica, ya que transforma en cultivos celulares fibroblastos y queratinocitos. E5 también se asocia con las proteínas de membrana y de transformación celular mediante la activación de un receptor tirosinquinasa como es el receptor  $\beta$  del factor de crecimiento derivado de plaquetas.<sup>4,18,20,40,47,64,79-88</sup>

Un aspecto crucial del mecanismo oncogénico de E6 y E7 involucra su habilidad para unirse e inactivar alrededor de 20 proteínas celulares, dos de las cuales son claves en los puntos de control en el ciclo celular: p53 y proteína supresora retinoblastoma (pRb), respectivamente.

E6 son pequeñas proteínas de aproximadamente 150 aminoácidos y que presentan dos dominios, la cual induce la pérdida de p53, actuando como supresor de tumor, por lo que cuando existe daño en el ADN durante la replicación, este gen inicia la apoptosis, lo que en condiciones normales previene mutaciones celulares. Este concepto se correlaciona fuertemente con la transformación celular inducida por el oncogen E6; sin embargo, recientemente se han identificado otros «blancos» celulares adicionales, los cuales juegan un papel importante en la oncogénesis, dentro de los que se incluyen: E6BP, paxillina, hDig, Mcm7, IRF-3, myc, Bak, E6TP1, CBP/p300, Tyk2, hScribb, PKN, MUPPI, MAGI-1, Gps-2, adicionalmente a estas proteínas, se ha reportado que E6 induce el incremento de la actividad telomerasa.<sup>4,88-90</sup>

E7 (primer antígeno del VPH-16 expresado en *Lactobacillus casei*) es una proteína de bajo peso molecular de aproximadamente 100 aminoácidos, la cual se une a la pRb, aumentando el nivel de p21, lo que puede enfatizar la síntesis de ADN y la apoptosis, o bien causar crecimientos desordenados.<sup>47,92-94</sup>

Esta integración de genomas (del huésped y virales) invariablemente contienen los genes virales intactos E6 y E7 expresados siempre en las células cancerosas y, en consecuencia, involucradas en el proceso de carcinogénesis; por lo tanto, esta integración es la causa del incremento en su expresión, lo que sugiere que E6 y E7 contribuyen al desarrollo de CaCu.<sup>47,64</sup>

Las proteínas E1 y E2 intervienen en la replicación del genoma viral. E2 es una secuencia específica de ADN implicada en la replicación, transcripción, progresión del ciclo celular, apoptosis, secuenciación, así como del mantenimien-

to y segregación del genoma viral; por lo tanto, juega un papel muy importante en el ciclo de vida del virus. Esta proteína se encuentra compuesta de tres dominios distintos que pueden ser expresados de manera separada, conservando su función. Para llevar a cabo la replicación del ADN viral se requiere de la maquinaria de replicación del ADN del hospedero para complementar la progenie viral mediante la unión de la proteína E2 con la helicasa E1 del ADN viral. Esta interacción es necesaria para hacer eficiente el reconocimiento inicial y, por lo tanto, de la replicación viral, la cual en modelos experimentales puede ser detectada 12 horas después de la infección. Como muchos factores de transcripción celular con diferentes módulos funcionales, E2 contiene un dominio de unión C-terminal con el ADN, el cual se une al dominio N-terminal de transactivación mediante un modelo de bisagra flexible. Esta configuración proporciona a E2 distintos sitios de reconocimiento y de unión con secuencias variables internas. El virus debe restablecerse en torno a la fase S del ciclo celular en el estrato basal para alcanzar infección productiva. E2 puede también actuar como un factor de transcripción y puede regular a promotores virales tempranos (p27 en VPH-16; p99 en VPH-31). En células infectadas con VPH, la unión de E2 con LCR reprime la expresión del gen viral, lo que contribuye al control de la proliferación celular por regulación en la expresión de E6 y E7, independientemente de su potencial oncogénico. Pérdida en la expresión de E2 provoca incrementos en la expresión de E6 y E7 y, consecuentemente, incrementos en la proliferación celular y presumiblemente aumento en la tumorigénesis. Otra propiedad de la proteína E2 es su habilidad de activar la transcripción de promotores heterólogos.<sup>18,38,41,64,95-101</sup>

E1 es una helicasa dependiente de ATP, la cual se desenvuelve como una doble cadena de ADN viral que sirve para reclutar factores celulares para continuar con el proceso de replicación.<sup>38</sup>

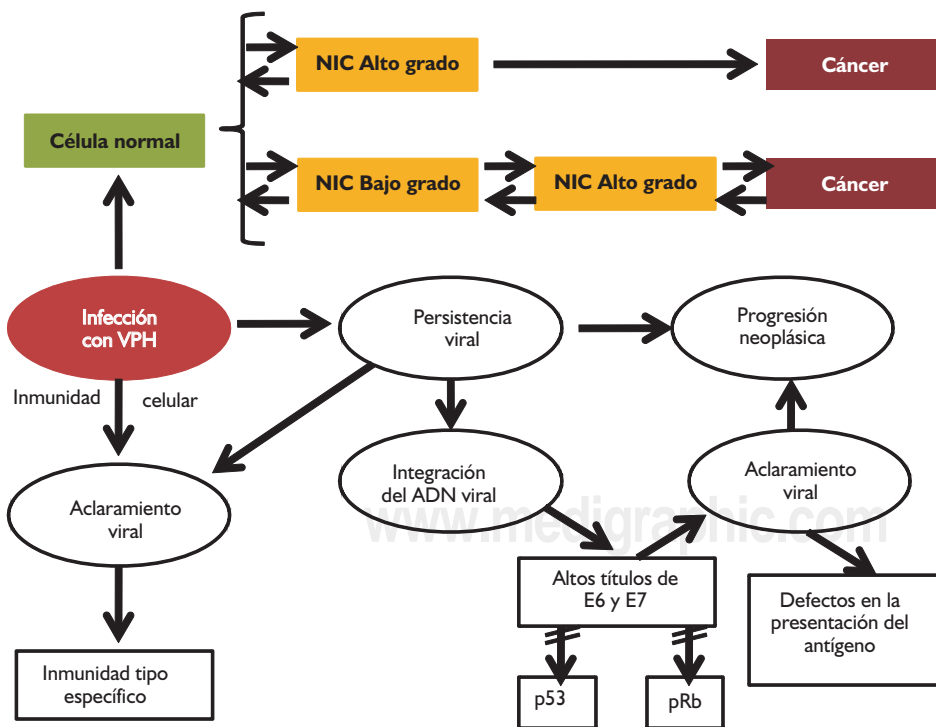
Por otra parte, p53, pRb y las proteínas relacionadas p107 y p130 son factores críticos en el control del ciclo celular (proliferación, diferenciación y apoptosis). La pérdida de su función ha mostrado jugar un papel pivote en la proliferación celular continua, así como del desarrollo y progresión del cáncer. La oncoproteína E6 de los VPH de alto riesgo promueven la degradación de p53 (sobre todo si ésta presenta residuos de arginina y no de prolina en la posición 72), llevando a su inhibición. La prevalencia de alteraciones de p53 en cánceres de cabeza y cuello se ha reportado en 39 y 62%, respectivamente.<sup>9,79,102,103</sup>

El estado final en el ciclo productivo de PV requiere que los genomas replicados sean empaquetados en forma de partículas infectantes. El ensamble de los viriones infectantes en las capas epiteliales superficiales requiere de E2 (la cual facilita este encapsulamiento) adicionalmente a las proteínas de la cápsida L1 y L2.<sup>41</sup> En la *figura 4* se esquematiza el mecanismo carcinogénico de los VPH.

## Diagnóstico de infección genital por VPH

Las infecciones por VPH pueden resultar, como ya se ha mencionado, en diversas verrugas anogenitales. Sin embargo, en la mayoría de los individuos infectados, las lesiones no son visibles. En ausencia de manifestaciones clínicas, los signos de infección genital con VPH pueden ser difíciles de detectar. El tiempo comprendido entre la infección inicial y la aparición de las formas productivas puede variar, dependiendo de los títulos del virus infectante y posiblemente también de la naturaleza del tipo viral infectante; incluso se ha sugerido que la latencia puede ser resultado de la inoculación viral en títulos bajos.<sup>41,104</sup>

Diversos estudios han demostrado que las pruebas para VPH poseen una gran sensibilidad y baja especificidad, comparadas con la citología para detectar NIC de alto grado. Muchas de las técnicas utilizadas para el diagnóstico de otras infecciones virales no han sido aplicadas satisfactoria-



**Figura 4.** Mecanismo carcinogénico del VPH. Tomado y modificado de J. Clin Pathol 2002;55:0-21.

mente al VPH; un ejemplo de estas técnicas son los cultivos celulares, ya que el VPH no crece pronto en este tipo de cultivos, debido probablemente a que la infección productiva requiere de células en diferenciación.<sup>105,106</sup>

El diagnóstico se basa, por lo tanto, principalmente en la detección del genoma viral (ADN) en muestras celulares o de tejidos mediante biopsias, por medio de métodos moleculares como son hibridación líquida, la cual puede distinguir entre genotipos de alto o bajo riesgo, pero no permite distinguir genotipos individuales. Estas técnicas actualmente han ganado una amplia aceptación y han sido introducidas como pruebas adjuntas a la citología exfoliativa del cérvix. Debido a que las infecciones por VPH son focales, existen errores de muestreo asociados con estos métodos, especialmente en sujetos asintomáticos. Por otra parte, la mayoría de las infecciones por VPH son transitorias, por lo que la ausencia de ADN del VPH no es excluyente de exposición previa. El diagnóstico exacto de tipo-específico de VPH requiere de métodos moleculares sensibles como son PCR.<sup>104,107-110</sup>

Anticuerpos dirigidos contra los antígenos de la cápside son marcadores fiables de infección pasada o presente; mientras que los métodos seroepidemiológicos han sido utilizados en estudios prospectivos que han permitido la relación entre la infección con VPH-16 con infección del cérvix y cáncer anogenital. En un extendido citológico, la presencia de coilocitos sugiere la posible infección con VPH. Con microscopía electrónica puede confirmarse la infección mediante la observación de las partículas virales; sin embargo, no es posible determinar el tipo de VPH, lo cual se logra, como ya se ha mencionado, mediante la aplicación de técnicas de biología molecular, inmunoelectromicroscopía o técnicas inmunohistoquímicas. De acuerdo con lo anterior, las lesiones clínicamente aparentes y las alteraciones citológicas permanecen como los criterios más frecuentemente utilizados para el diagnóstico de infección por VPH.<sup>105,108</sup>

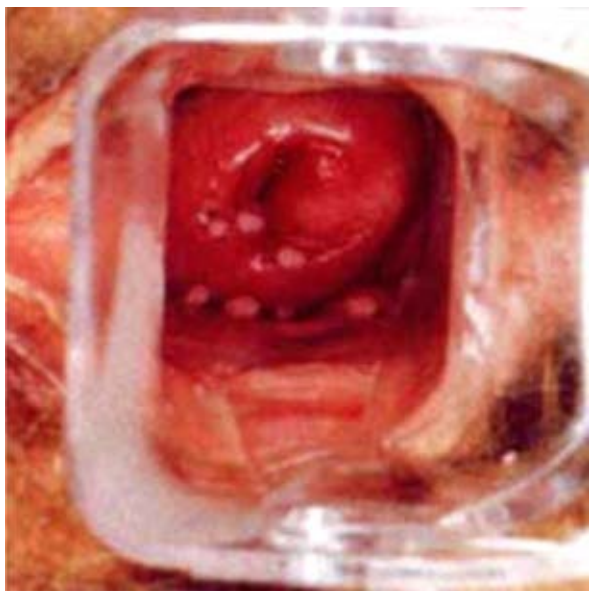
Una técnica de reciente aparición es la citología en fase líquida; sin embargo, la evaluación de su sensibilidad y especificidad tiene severas limitaciones debidas básicamente a que existen pocos estudios relacionados al respecto.<sup>106</sup> A continuación se revisarán los principales métodos de diagnóstico.

**Métodos convencionales.** *Observación clínica.* Condilomas acuminados asociados a VPH se caracterizan por crecimientos hacia afuera de la piel, formando un punto. Estas lesiones exfoliativas usualmente tienen como característica la formación de racimos juntos que forman una gran área de enfermedad.<sup>105</sup>

Condilomas planos, o infección subclínica se asocia con la infección genital por VPH y puede ser más difícil de detectar. La visualización de estas lesiones es mejor mediante examen colposcópico del área genital después de la aplicación de ácido acético al 3 a 5% durante cinco minutos. La infección por VPH es revelada por blanqueamiento del ácido acético, mostrando lesiones planas, blanco-brillantes y que representa hiperplasia epitelial (*figura 5*). Estas lesiones se pueden presentar en toda el área genital, pero es particularmente común en el cérvix. Aunque se trata de un método sensible, presenta baja especificidad diagnóstica.<sup>105</sup>

**Métodos histológicos y citológicos.** El método más frecuente utilizado para demostrar citológicamente la infección por VPH es la prueba de Papanicolaou, en la cual las células genitales exfoliativas (del cérvix o la vagina) son teñidas y examinadas para buscar la presencia de coilocitos y neoplasia intraepitelial escamosa. Las células coilocíticas de las capas intermedias presentan una marcada característica, la cual consiste en núcleo hiper Cromático, alargado y de borde irregular rodeado por un citoplasma claro en forma de anillo y una vacuola perinuclear bien delimitada (*figura 6*). Estas células son consideradas parte de un espectro de bajo grado de neoplasia cervical intraepitelial o NIC I. La especificidad de la técnica





**Figura 5.** Presencia de condilomas planos en cérvix uterino.

es cercana a 90%; sin embargo, su sensibilidad es pobre.<sup>28,105</sup>

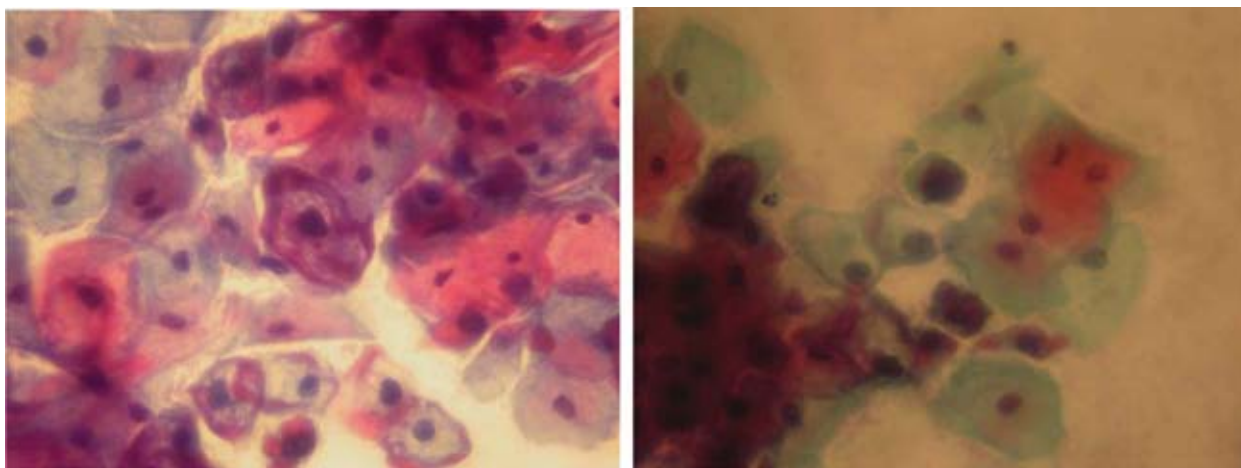
Como ocurre con las características citológicas, los hallazgos histológicos dependen del estado de la infección por VPH. Comúnmente se observa paraqueratosis, acantosis, disqueratosis y multinucleación (usualmente binucleación). Anor-

malidades en la maduración epitelial, desarrollo vascular y actividad mitótica son características de las células neoplásicas.<sup>105</sup>

**Ensayos serológicos.** Aunque algunos ensayos serológicos para infección con VPH están disponibles, son insensibles y no específicos para ser utilizados en el tamizaje de las infecciones genitales por VPH. Un parámetro serológico que puede ser empleado para el seguimiento de la infección por VPH es la serorreactividad de las proteínas E6 y E7 de los VPH del tipo oncogénicos.<sup>105</sup>

**Métodos de detección de ADN de VPH.** Muchos ensayos para la detección del ADN de VPH están disponibles, sin embargo todos presentan fortalezas y debilidades. El principio de estos procedimientos se basa en una reacción de hibridación, en la cual una sonda de ácido nucleico específica para el ADN del VPH se une al ADN de la prueba. El uso de una sonda tipo-específica presenta mayores ventajas si se compara con los métodos tradicionales de detección de VPH.<sup>105</sup>

*Southern Blots.* Denominado así por los primeros científicos que introdujeron estas técnicas y que revolucionaron la biología molecular. Es uno



**Figura 6.** Presencia de coilocitos en muestra de citología vaginal mediante Papanicolaou. Imágenes proporcionadas por el Servicio de Patología de la UMAE de Mérida.

de los métodos más fiables para detectar la presencia de fragmentos específicos de ADN en una muestra; como desventaja presenta el tiempo de elaboración del examen. En estas pruebas, el ADN se aísla de una muestra celular y es digerida con una enzima de restricción. El ADN es entonces electroforizado en un gel de agarosa, desnaturizado para hacerlo capaz de unirse a la sonda de ácido nucleico, se transfiere a un filtro de nitrocelulosa, y se hibridiza a una sonda específica para ADN de VPH. Posteriormente se lava para remover las sondas no unidas, el filtro es examinado usualmente con autorradiografía mediante la presencia de la señal asociada a la sonda. Su presencia indica que la muestra estudiada contiene ADN de VPH. Con este método se puede determinar el tipo de VPH infectante.<sup>105</sup>

**Dot Blots.** Utiliza muchos de los principios utilizados por los Southern blots. El ADN es extraído de las células, desnaturizado y aplicado directamente en el filtro de nitrocelulosa, sin iniciar su digestión mediante enzimas de restricción o electroforesis. Como sucede en los Southern blots, el filtro es hibridizado con una sonda, lavado y examinado usualmente con autorradiografía. Este método trabaja rápidamente y puede utilizarse para el tamizaje de numerosas muestras. La disponibilidad comercial de equipos de Dot Blots ha permitido que este método sea el más popular para la detección de ADN de VPH. Sin embargo, la gran cantidad de ADN celular presente puede producir un fondo alto y dificultar el distinguir señales débiles de falsos-positivos.<sup>105</sup>

**Hibridación in situ.** Es ejecutado a partir de material histológico que ha sido fijado en portaobjetos de vidrio especialmente tratados. Las células se tratan con sustancias (por ejemplo, proteasas) que incrementan su permeabilidad, y mediante la utilización de álcalis o calor se desnaturiza el ADN. La prueba es entonces hibridada; posteriormente la muestra se lava y la señal positiva se visualiza mediante autorradiografía o mediante métodos de detección enzimática. Este

método tiene la gran ventaja de revelar la localización específica del VPH en la célula infectada o en regiones de tejido. Sin embargo, se trata de una metodología menos sensible en comparación con los Southern blots o dot blots, ya que solamente detecta infección viral manifiesta; tampoco revela el tipo de ADN del VPH presente.<sup>29</sup>

**Hibridación in situ utilizando filtros.** Técnica que combina ambas formas (hibridación *in situ* y dot blots). Las células se colocan directamente en filtros de nitrocelulosa y se tratan con químicos para desnaturizar el ADN. Posteriormente se hibridizan en sondas de ácido nucleico. Las señales positivas pueden observarse por autorradiografía. Este método es fácil de usar e inicialmente fue atractivo para detectar infección por VPH; sin embargo, se ha encontrado que tiene pobre sensibilidad y especificidad, lo que hace inapropiado su uso.<sup>29</sup>

**PCR.** Varios métodos basados en este principio han sido descritos para la identificación de genotipos de VPH. Presenta como ventaja su habilidad para detectar cantidades mínimas de ADN de VPH. Dos pequeños «primers» correspondientes a secuencias específicas del VPH localizados en pocos cientos de nucleótidos son hibridados aparte para desnaturizar el ADN aislado de la muestra de interés. Los primers son utilizados para iniciar la síntesis de ADN mediante polimerasas ADN de bacterias tolerantes al calor. Después de que la reacción es completada mediante el ciclo de: desnaturización, hibridación y extensión del primer se inicia nuevamente el ciclo. Estos ciclos secuenciales resultan en la amplificación selectiva del ADN original reconocido por el primer. En una reacción exitosa, 30 ciclos de PCR producen más de un millón de copias del ADN blanco. La amplificación del ADN puede ser electroforizada y visualizarse mediante tinción de bromuro de etidio o a través de la detección de una sonda marcada. La mayor ventaja de esta técnica es su exquisita sensibilidad, y ésta también constituye su mayor inconveniente.<sup>28,109</sup>

*Solución de hibridación (ensayo de captura de híbridos)*. Nuevo ensayo realizado a partir de las antiguas metodologías de ácidos nucleicos. Estos híbridos son «arrancados» de la solución mediante anticuerpos específicos inmovilizados para híbridos ARN-ADN, que posteriormente son colocados en un tubo de plástico. La visualización de los híbridos reactivos se realiza mediante sustratos quimioluminiscentes, los cuales emiten luz que puede ser medida mediante un luminómetro. Este sistema es capaz de proveer una medición cuantitativa de la proporción de ADN de VPH presente en la muestra.<sup>29</sup>

## Conclusiones

Décadas atrás, la materia de discusión se centraba en que tanto virus como carcinógenos eran importantes para explicar la causa primaria en el desarrollo de cáncer en el humano. Hoy en día se sabe que ambos factores son importantes. Actualmente la discusión se centra en un debate diferente: ¿son los factores celulares endógenos, como por ejemplo errores espontáneos en la replicación del ADN o reacciones tipo oxidativo, los mayores generadores de mutaciones en la oncogénesis y en los genes supresores de tumor, o son los factores externos más importantes para muchos cánceres humanos? Aunque aún no se ha podido dar respuesta a esta pregunta, se ha considerado a la carcinogénesis humana como una enfermedad de inestabilidad genómica, y la mayoría de los tumores sólidos humanos demuestran evidencia de aberraciones cromosomales, más notablemente del tipo aneuploidia. Esto ha sido demostrado mediante la presencia en tumores humanos de mutaciones celulares como por ejemplo en p53, la cual induce a la apoptosis en condiciones normales y, por lo tanto, es vital para la supresión tumoral.<sup>107,111</sup>

La evolución de los tipos de VPH se remonta a la evolución del *Homo sapiens*.<sup>53</sup> Son patógenos de gran importancia médica, los cuales se

agrupan con base en la homología en sus secuencias. Los tipos relacionados presentan tropismo tisular y patogenicidad similar. Estudios epidemiológicos basados en tecnologías moleculares han provisto de suficiente evidencia que asocia el papel causal de algunas infecciones por VPH con el desarrollo de lesiones proliferativas malignas y premalignas de útero, cérvix, vulva, pene, ano, piel, cavidad oronasal, conjuntiva, así como del tracto superior aerodigestivo. Cerca de 100 subtipos de VPH han sido descritos en humanos, y los tipos -8, -11, -16, -18 y -31 se han asociado mayormente con enfermedad en el humano.<sup>103,112-115</sup>

El CaCu es una de las principales neoplasias que causan la muerte en mujeres de todo el mundo. Sin embargo, la incidencia ha disminuido en aproximadamente 75% en los Estados Unidos, como consecuencia de la introducción de la citología para DOC desde hace más de 50 años. La infección persistente por VPH de alto riesgo y CaCu están íntimamente relacionados (ADN de VPH es detectado en 99.7% de los CaCu alrededor del mundo), así como la transmisión sexual de la infección puede inducir el desarrollo de papiloma benigno o neoplasia intraepitelial de los genitales externos y del cérvix uterino. El CaCu invasivo de células escamosas está precedido usualmente de lesiones escamosas no invasivas. Así como las infecciones por VPH oncogénicos son el mayor factor etiológico para el desarrollo de CaCu, no necesariamente son suficientes para ser considerados el principal factor etiológico. Adicionalmente se requiere de alteraciones en el sistema inmune del huésped, así como de cambios genéticos para el desarrollo y progresión de dichas lesiones. Una revisión de la literatura sugiere que la mayoría de las mujeres (80%) infectadas con un tipo específico de VPH no muestran evidencia del tipo infectante después de 18 meses de la infección inicial, y generalmente la reinfección por el mismo tipo de VPH no es común; mientras una minoría de las mujeres que no resuelven su primoinfección de-

sarrollarán infección persistente y solamente una proporción de aquellas infectadas con los tipos considerados de alto riesgo progresarán a lesiones intraepiteliales escamosas de alto riesgo y carcinoma invasor. Se ha estimado que aproximadamente 20% de los NIC1 pasarán a NIC2, y aproximadamente 30% de estas lesiones evolucionarán a neoplasias más severas, si no son tratadas; mientras que aproximadamente 40% de los NIC3 progresarán a cáncer. NIC y cáncer invasivo se incrementan con la edad, existiendo una meseta entre los 24 y 29 años para NIC y entre los 35 y 39 años para el cáncer invasor. La actividad oncogénica del VPH depende de la actividad de los oncogenes virales E6 y E7, los cuales tienen la habilidad de inmortalizar células epiteliales y, en conjunto con otros oncogenes, incrementan la transformación celular. Trabajos previos de diversos laboratorios han sugerido que no todos los casos de CaCu se desarrollan por la vía de la infección con VPH. El VPH ha sido propuesto necesariamente como la causa primaria de cáncer humano; sin embargo, en ausencia de la presencia persistente del genoma viral como causa implicada en CaCu, el concepto antes mencionado queda en entredicho.<sup>16,115-127</sup>

Algunos científicos consideran que la prevención de la infección de VPH en hombres es otro camino para eliminar el CaCu en mujeres, así como para reducir los rangos de cáncer anal y verrugas genitales en los varones. Recientemente, como parte de estas medidas preventivas y debido a las implicaciones sociales y económicas para los programas públicos de salud, se han desarrollado vacunas, las cuales han demostrado su efectividad para prevenir infección y enfermedad de tipos específicos-persistentes y se les ha denominado como cuadrivalente (VPH-6,-11,-16 y-18) y bivalentes (VPH-16 y -18).<sup>31,46,128</sup>

## Referencias

- Fontham ET. Infectious diseases and global cancer control. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 5-7.
- Winer E, Gralow J, Diller L, Karlan B, Loehrer P, Pierce L, Demetri G et al. Clinical cancer advances 2008: Major research advances in cancer treatment, prevention, and screening. A report from the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2008; 7: 812-826.
- Tyring Stephen. Introduction: Perspectives on human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997; 102 (5A):1-2.
- D'Souza G, Sugar E, Ruby W, Gravitt P, Gillison M. Analysis of the effect of DNA purification on detection of human papillomavirus in oral rinse sample by PCR. *J Clin Microbiol* 2005; 43 (11): 5526-5535.
- Strome SE, Savva A, Brissett AE, Gostout BS, Lewis J, Clayton AC, McGovern R et al. Squamous cell carcinoma of the tonsils: A molecular analysis of HPV Associations. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1093-1100.
- DM Parkin. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118 (12): 303-304.
- Rodríguez FM, Lunar T, Lara MGM, López GY. Calidad en la toma de muestra para la detección oportuna de cáncer cervicouterino. *Rev Mex Patol Clin* 2006; 53 (4): 229-234.
- Mahdavi Ali, J Monk Bradley. Vaccines against human papillomavirus and cervical cancer: Promises and challenges. *Oncologist* 2005; 10: 528-538.
- Siraj Sami, Naseruddin Höti, Han-Mei Xu, Zilong Shen, Xiaofeng Huang. Valproic acid inhibits the growth of cervical cancer both *in vitro* and *in vivo*. *J Biochem* 2008; 144: 357-362.
- Castle PE, Solomon D, Schiffman M, Wheeler CM. Human papillomavirus type 16 infections and 2-year absolute risk of cervical precancer in women with equivocal or mild cytologic abnormalities. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1066-1071.
- Ahtar MS, Ibrahim R, Herrin VE, Gause B, Steinberg S, Grollman F, Rahma O et al. Pre-immature dendritic cells pulsed with human papillomavirus 16 E7 peptide vaccine in advanced cervical cancer. *Vaccine* 2009; 27 (5):701-707.
- Ben-Bassat H, Rosenbaum-Mitrani S, Hartzstark Z, Levitzki R, Chaouat M, Shlomei Z, Klein BY et al. Typhostins that suppress the growth of human papilloma virus 16-immortalized human keratinocytes. *J Pharmacol Exper Therap* 1999; 290 (3): 1442-1457.
- Toshiyuki Sasagawa, Walid Basha, Hiroshi Yamazaki, Masaki Inoue. High-risk and multiple human papillomavirus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 2001; 10: 45-52.
- Garland ZM. Cancer screening. Can we really beat cervical cancer? *MJA* 2003; 178 (12): 647-650.
- Smith KL, Tristram A, Gallagher KM, Fiander AN, Man E. Epitope specificity and longevity of a vaccine-induced human T cell response against HPV18. *Inter Immuno* 2004; 17 (2): 167-176.
- Evans M, Borysiewicz LK, Evans AS, Rowe M, Jones M, Gileadi U, Cerundolo V, Man E. Antigen processing defects in cervical carcinomas limit the presentation of a CTL epitope from human papillomavirus 16 E6. *J Immunol* 2001, 167: 5420-5428.
- Snijders PJ, Van den Brule AJ, Meijer CJ. The clinical relevance of human papillomavirus testing: relationship between analytical and clinical sensitivity. *J Pathol* 2003; 201 (1): 1-6.
- Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, Grace M, KyungWon Huh. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *J Virol* 2004; 78 (21): 11451-11460.
- Beutner KR, Tyring S. Human papillomavirus and human disease. *Am J Med* 1997; 102 (5A): 9-15.
- C. Pirog E, Kleter B, Olgac Semra, Bobkiewicz P, Lindeman J, G V Quint Wim, M Richart R, Isacson C. prevalence of human



- papillomavirus DNA in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma. *Am J Pathol* 2000; 157: 1055-1062.
21. Chen R, Sehr P, Zaterboer T, Leivo I, Pawlita M, Vaheri, Leena-Maija Aaltonen. Presence of DNA of human papillomavirus 16 but no other types in tumor-free tonsillar tissue. *J Clin Microbiol* 2005; 43 (3): 1408-1410.
  22. Pérez SM, Leonard Feliu Ibrahín, Alvarez, Amores I, Domínguez C, González N, Paniagua M, Quintero CS, Bienvenido G. Infección por papillomavirus (PVH) en carcinomas colorrectales. *Rev Panam Infectol* 2004; 6 (3): 26-33.
  23. Aldrich T, Landis S, García SG, Becker D, Sanhueza P, Higuera A. Cervical cancer and the HPV link: Identifying areas for education in Mexico City's public hospitals. *Sal Pub Mex* 2006; 48: 236-243.
  24. Harald zur Hausen. Papillomavirus and cancer: From basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 342-350.
  25. Schiffman MH, Castle P. Epidemiologic studies of a necessary causal risk factor: Human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J Nation Cancer Inst* 2003; 95 (6): E2.
  26. Muñoz N, Bosch F X, De Sanjosé S, Herrero R, Castellsague X, Shah Keerti V, Snidjers PJF, Meijer Chris JLM. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-527.
  27. Lajous M, Mueller N, Cruz VC, Aguilar LV, Franceschi S, Hernández AM, Lazcano PE. Determinants of prevalence, acquisition, and persistence of human papillomavirus in healthy mexican military men. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005; 14 (7): 1710-1716.
  28. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997; 102 (5A): 3-8.
  29. Hsiu-Ting T, Ching-Hu W, Hsiao-Ling L, Rwei-Nian L, Yi-Ching T, Hung-Yi C, Trong-Neng W et al. Association between quantitative high-risk human papillomavirus DNA load and cervical intraepithelial neoplasm risk. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005; 14 (11): 2544-2549.
  30. Calleja MI, Villa LL, Prado JC, Kalantari M, Bruce A, Williamson AL, Chung Lap-Ping, Collins RJ et al. Worldwide genomic diversity of the high-risk human papillomavirus types 31, 35, 52 and 58, four close relatives of human papillomavirus type 16. *J Virol* 2005; 79: 13630-13640.
  31. Jian H, Swan DC, Smith SJ, Lum SH, Sefers SE, Unger ER, Yi-Wei T. Simultaneous amplification and identification of 25 human papillomavirus types with Tempex Technology. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (11): 4157-4162.
  32. Söderlund SA, Dillner J, Carlson J. High-throughput genotyping of oncogenic human papilloma viruses with MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Clin Chem* 2008; 54 (1): 86-92.
  33. Maucort BD, Franceschi S, Plummer M. IARC HPV Prevalence surveys study group. International correlation between human papillomavirus prevalence and cervical cancer incidence. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2008; 17 (3): 717-720.
  34. Castle PE, Porras P, Quint WG, Rodríguez AC, Schiffman M, Gravitt PE, González P et al. Comparison of two PCR-Based Human Papillomavirus Genotyping Methods. *J Clin Microbiol* 2008; 46 (10): 3437-3445.
  35. Muñoz N, Bosch X, De Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snidjers PJF, Meijer CJLM. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-527.
  36. Clifford JM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gerald Gough, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: Comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005; 14 (5): 1157-1164.
  37. Calleja MIE, Kalantari M, Allan B, Williamson AL, Lap-Ping Chung, Collins RJ, Zuna RE et al. Papillomavirus subtypes are natural and old taxa: phylogeny of human papillomavirus types 44 and 55 and 68a and -b. *J Virol* 2005; 79 (10): 6565-6569.
  38. Brown C, Kowalczyk AM, Taylor ER, Morgan IM, Gaston K. p53 represses human papillomavirus type 16 DNA replication via the viral E2 protein. *Virol J* 2008; 5: 5-13.
  39. Feeney KM, Parish JL. Targeting mitotic chromosomes: a conserved mechanism to ensure viral genome persistence. *Proceedings of The Royal Society Biological Sciences* 2009. [Rspb.royalsocietypublishing.org](http://Rspb.royalsocietypublishing.org).
  40. Abbate EA, Berger JM, Botchan MR. The X-ray structure of the papillomavirus helicase in complex with its molecular matchmaker E2. *Genes Develop* 2004; 18: 1981-1996.
  41. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci* 2006; 110: 525-541.
  42. H zur Hausen. Papillomaviruses in human cancers. *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111 (6): 581-587.
  43. Swan DC, Rajeevan M, Tortolero LG, Follen M, Tucker RA, Unger ER. Human papillomavirus type 16 E2 and E6/E7 variants. *Gynecol Oncol* 2005; 96 (3): 695-700.
  44. Munday JS, Hanlon EM, Howe L, Squires RA, French AF. Feline cutaneous viral papilloma associated with human papillomavirus type 9. *Vet Pathol* 2007; 44: 924-927.
  45. Pérez SM, Ibrahín L, Amores SI, Domínguez C, González N, Paniagua M, Quintero S, Bienvenido G. Virus del papiloma humano. Actualización y presentación de un caso de carcinoma esofágico asociado a VPH. *Rev Mex Patol Clin* 2003; 50 (1):12-19.
  46. Bishop B, Dasgupta J, Chen XS. Structure-based engineering of papillomavirus major capsid L1: Controlling particle assembly. *Virol J* 2007; 4 (3): 1-6.
  47. Geipert N. Vaccinating men for HPV: New strategy for preventing cervical cancer in women? *J Nation Cancer Inst* 2005; 97 (9): 630-631.
  48. Balsitis S, Dick F, Dyson N, Lambert PF. Critical roles for Non-pRb targets of human papillomavirus type 16 E7 in cervical carcinogenesis. *Cancer Res* 2006; 66 (19): 9393-9400.
  49. De la Rosa JP, Monroy GA, Mora GML, Reynaga PCG, Hernandez MJ, Weiss Steider B, Gomez LMA. An HPV 16 L1-based chimeric human papillomavirus-like particles containing a string of epitopes produced in plants i sable to elicit humoral and cytotoxic T-cell activity in mice. *Virol J* 2009; 6 (2): 6-12.
  50. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007; 356: 1944-1956.
  51. Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, Wipf GC, Carter JJ, Madeleine MM, Er-Jia Mao et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1626-1636.
  52. Zimmerman JM, Maher III JL. Solution measurement of DNA curvature in papillomavirus E2 binding sites. *Nucleic Acids Research* 2003; 31 (17): 5134-5139.
  53. Thomas JT, Oh ST, Terhune SS, Laimins LA. Cellular changes induced by low-risk human papillomavirus type 11 in keratinocytes that stably maintain viral episomes. *J Virol* 2001; 75 (16): 7564-7571.
  54. Lavergne D, De Villiers EM. Papillomavirus in esophageal papillomas and carcinomas. *Int J Cancer* 1999; 80 (5): 681-684.
  55. Chang F, Syrjanen S, Shen Q, Clintorino M, Santopietro R, Tosi P, Syrjanen K. Human papillomavirus involvement in esophageal

- carcinogenesis in the high-incidence areas of China. A study of 700 cases by screening and type-specific *in situ* hybridization. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35 (2): 123-130.
56. Kreimer AR, Alberg AJ, Daniel R, Gravitt PE, Viscidi R, Garrett ES, Shah KV, Gillison ML. Oral human papillomavirus infection in adults is associated with sexual behavior and HIV serostatus. *J Infect Dis* 2004; 189 (4): 686-698.
  57. Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek LP, Haugen TH. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope* 1998; 108 (7): 1098-1103.
  58. Summersgill KF, Smith EM, Levy BT, Allen JM, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91 (1): 62-69.
  59. Ho GYF, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervical papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338: 423-428.
  60. Butsch Kovacic M, Castle PE, Herrero R, Sciffman M, Sherman ME, Wacholder S et al. Relationships of human papillomavirus type, qualitative viral load, and age with cytologic abnormality. *Cancer Res* 2006; 66 (20): 10112-10119.
  61. Palefsky JM, Holly EA, Gonzalez J, Berline J, Ahn DK, Greenspan JS. Detection of human papillomavirus DNA in anal intraepithelial neoplasia and anal cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 1014-1019.
  62. Trottier H, Mahmud S, Costa MC, Sobrinho J, Duarte FE, Rohan TE et al. Human papillomavirus infections with multiple types and risk cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 2006; 15 (7): 1274-1280.
  63. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88 (1):63-73.
  64. Quint WGV, Pagliusi SR, Lelie N, De Villiers EM, Wheeler CM. The World Health Organization Human Papillomavirus DNA International Collaborative Study Group. Results of the First World Health Organization International Collaborative Study of Detection of Human Papillomavirus DNA. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (2): 571-579.
  65. N. Sanjib Banerjee, Genovese NJ, Noya F, Wei-Ming Chien, Broker TR, Chow LT. Conditionally activated E7 proteins of high-risk and low-risk human papillomaviruses induce S phase in postmitotic, differentiated human keratinocytes. *J Virol* 2006; 80 (13): 6517-6524.
  66. Dell G, Gaston K. Human papillomaviruses and their role in cervical cancer. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58(889): 1923-1942.
  67. Ferrera A, Velema J, Figueroa M, Bulnes R, Toro LA, Claros JM, Odessa de Barahona, Melchers WJG. Co-factors related to the causal relationship between human papillomavirus and invasive cervical cancer in Honduras. *International J Epidemiol* 2000; 29: 817-825.
  68. Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1500-1510.
  69. Durante AJ, Williams AB, Da Costa M, Darragh TM, Khoshnood K, Palefsky JM. Incidence of anal cytological abnormalities in a cohort of human immunodeficiency virus-infected women. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 2003; 12: 638-642.
  70. Bosch FX, Lorincz v, Muñoz N, Meijer CJM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 0-21.
  71. Block SL, Nolan T, Sattler C, Barr EE, Giacoletti KED, Marchant CD et al. Reisinger. Comparison of the immunogenicity and reactogenicity of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (Types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in male and female adolescents and young adult women. *Pediatrics* 2006; 118: 2135-2145.
  72. Draganov P, Todorov S, Karchev T, Kalvatchev Z. Identification of HPV DNA in patients with juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis using SYBR Green real-time PCR. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2006; 70 (3): 469-473.
  73. [http://es.wikipedia.org/wiki/Virus\\_del\\_papiloma\\_humano](http://es.wikipedia.org/wiki/Virus_del_papiloma_humano).
  74. Appleby P, Beral V, Berrington GA, Colin D, Franceschi S, Goodhill A, Green J et al. International collaboration of epidemiological of cervical cancer. Cervical cancer and hormonal contraceptives: Collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet* 2007; 370 (9599): 1609-1621.
  75. Ogston P, Raj K, Beard P. Productive replication of adeno-associated virus can occur in human papillomavirus type 16 (HPV-16) Episome-containing keratinocytes and is augmented by the HPV-16 E2 Protein. *J Virol* 2000; 74 (8): 3494-3504.
  76. Krüger KS, Munk C, Falck FW, Ole Jorgensen H, Meijer CJLM, Van der Brule AJC. Acquisition and persistence of human papillomavirus infection in younger men: A prospective follow-up study among danish soldiers. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 2005; 14 (6): 1528-1533.
  77. Burk R, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund S, Dehovitz J, Landesman S. Declining prevalence of cervical human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Trans Dis* 1996; 23 (4): 333-341.
  78. Thomas JT, Oh ST, Terhune SS, Laimins LA. Cellular changes induced by low-risk human papillomavirus type 11 in keratinocytes that stably maintain viral episomes. *J Virol* 2001; 75 (16): 7564-7571.
  79. Orjuela M, Ponce CV, Ridaura C, Lecona E, Leal C, Abramson DH, Orlow I et al. Presence of human papillomavirus in tumor tissue from children with retinoblastoma: An alternative mechanism for tumor development. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4010-4016.
  80. Ndisang D, Vishwaine Budhram-Mahadeo, 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 (40): 28521-28527.
  81. Eiben GL, Velders MP, Schreiber H, Cassetti MC, Pullen JK, Smith LR, Kast WM. Establishment of an HLA-A\*0201 human papillomavirus type 16 tumor model to determine the efficacy of vaccination strategies in HLA-A\*0201 transgenic mice. *Cancer Res* 2002; 62: 5792-5799.
  82. Fakrudin JM, Lempicki RA, Gorelick RJ, Jun Yang, Adelsberger JW, Garcia PAJ, Pinto LA et al. Noninfectious papilloma virus-Like particles inhibit HIV-1 replication; implications for immune control of HIV-1 infection by IL-27. *Blood* 2007; 109: 1841-1849.
  83. Da Silva DM, Fausch SC, Verbeek JS, Kast WM. Uptake of human papillomavirus virus-like particles by dendritic cells is mediated by Fcγ receptors and contributes to acquisition of T cell immunity. *J Immunol* 2007; 178: 7587-7597.
  84. De la Cruz HE, Pérez CE, Contreras PA, Cantú D, Alejandro Mohar, Lizano M, Dueñas GA. The effects of DNA methylation and histone deacetylase inhibitors on human papillomavirus early gene expression in cervical cancer, an *in vitro* and clinical study. *Virol J* 2007; 4: 18-29.



85. Reelfs O, Yao-Zhong Xu, Massey A, Karran P, Storey A. Thiothymidine plus low-dose UVA kills hyperproliferative human skin cells independently of their human papilloma virus status. *Mol Cancer Ther* 2007; 6 (9): 2487-2495.
86. Genter Williams M, Disbrow GL, Schlegel R, Daekee Lee, Threadgill DW, Lambert PF. Requirement of epidermal growth factor receptor for hyperplasia induced by E5, a high-risk human papillomavirus oncogene. *Cancer Res* 2005; 65 (15): 6534-6542.
87. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Hoffman, Dong Hong Wang, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 449-455.
88. Flores ER, Allen HBL, Lee D, Lambert PF. The human papillomavirus type 16 E7 oncogene is required for the productive stage of the viral life cycle. *J Virol* 2000; 74 (14): 6622-6631.
89. Bruno S, Fabbi M, Tiso M, Santamaria B, Ghiotto F, Saverino D, Tenca C et al. Cell activation via CD44 occurs in advanced stages of squamous cell carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21 (5): 893-900.
90. Gao Q, Kumar A, Singh L, Huibregtse JM, Beaudenon S, Srinivasan S, Wazer DE et al. Papillomavirus E6-induced degradation of E6TP1 is mediated by E6AP ubiquitin ligase. *Cancer Res* 2002; 62: 3315-3321.
91. Tyagi A, Singh RP, Agarwal C, Agarwal R. Silibinin activates p53-caspase 2 pathway and causes caspase-mediated cleavage of Cip1/p21 in apoptosis induction in bladder transitional-cell papilloma RT4r cells: Evidence for a regulatory loop between p53 and caspase 2. *Carcinogenesis* 2006; 27 (11): 2269-2280.
92. Collins LL, Din-Lii Lin, Xiau-Min Mu, Chawnshang Chang. Feedback regulation between orphan nuclear receptor TR2 and human papilloma virus type 16. *J Biol Chem* 2001; 276 (29): 27316-27321.
93. Jong-Sung Park, Boyer S, Mitchell K, Gilfor D, Birrer M, Darlington G, Wafik El Deiry et al. Expression of human papilloma virus E7 protein causes apoptosis and inhibits DNA synthesis in primary hepatocytes via increased expression of p21Cip-1/WAF1/MDA6\*. *J Biol Chem* 2000; 275 (1): 18-28.
94. McLaughlin DME, Bromberg WJL, Meyers C. The role of the human papillomavirus type 18 E7 oncoprotein during the complete viral life cycle. *Virology* 2005; 338 (1): 61-68.
95. Araujo AK, Marques CA, Mendes CS, Lina VL, Boccardo E, Pérez MG, Pérez AI et al. Production of human papillomavirus type 16 L1 virus-like particles by recombinant lactobacillus casei cells. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72 (1): 745-752.
96. Shwu-Yuan Wu, A-Young Lee, Hou SY, Kemper J, Erdjument BH, Tempst P, Cheng-Ming Chiang. Brd4 links chromatin targeting to HPV transcriptional silencing. *Genes Develop* 2006; 20: 2383-2396.
97. Kaufmann AM, Stern PL, Rankin EM, Sommer H, Nuessler V, Schneider A, Adams M et al. Safety and immunogenicity of TA-HPV, a recombinant vaccinia virus expressing modified human papillomavirus (HPV)-16 and HPV-18 E6 and E7 genes, in women with progressive cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3676-3685.
98. Blachon E, Bellanger S, Demeret C, Thierry F. Nucleo-cytoplasmic shuttling of high risk human papillomavirus E2 proteins induces apoptosis. *J Biol Chem* 2005; 280 (43): 36088-36098.
99. Gunn GR, Zubair A, Peters C, Zhen-Kun Pan, Tzzy-Choo Wu, Paterson Y. Two listeria monocytogenes vaccine vectors that express different molecular forms of human papilloma virus-16 (HPV-16) E7 induce qualitatively different T cell immunity that correlates with their ability to induce regression of established tumors immortalized by HPV-16. *J Immunol* 2001; 167: 6471-6479.
100. Shishinn Sun, Steinberg BM. PTEN is a negative regulator of STAT3 activation in human papillomavirus-infected cells. *J Gen Virol* 2002; 83: 1651-1658.
101. Mendoza JA, Jacob Y, Cassonnet P, Favre M. Human papillomavirus type 5 E6 oncoprotein represses the transforming growth factor  $\beta$  signaling pathway by binding to SMAD3. *J Virol* 2006; 80 (24): 12420-12424.
102. Musheng Zeng, Ajay Kumar, Gaoyuan Meng, Qingshen Gao, Goberdhan Dimri, David Wazer, Hamid Band, Vimla Band. Human papilloma virus 16 E6 oncoprotein inhibits retinoic X receptor-mediated transactivation by targeting human ADA3 coactivator. *J Biol Chem* 2002; 277 (47): 45611-45618.
103. Smith EM, Donghong W, Rubenstein LM, Morris WA. Association between p53 and human papillomavirus in head and neck cancer survival. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 2008; 17 (2): 421-427.
104. Schiffman M, Wheeler CM, Castle PE. Atypical squamous cells of undetermined significance/low-grade squamous intraepithelial lesion triage study group. Human papillomavirus DNA remains detectable longer than cervical cytologic abnormalities. *J Infect Dis* 2002; 186 (8): 1169-1172.
105. Genovese NJ, Banerjee NS, Broker TR, Chow LT. Casein kinase II motif-dependent phosphorylation of human papillomavirus E7 protein promotes p130 degradation and s-phase induction in differentiated human keratinocytes. *J Virol* 2008; 82 (10): 4862-4873.
106. Trofatter KF. Diagnosis of human papillomavirus genital tract infection. *Am J Med* 1997; 102 (5A): 21-27.
107. Mork J, Lie AK, Eystein G, Göran H, Egil J, Pentti K, Bjorn M et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2001; 344 (15): 1125-1131.
108. Leen-Jan van Doorn, Moliijn A, Kleter B, Quint W, Colau B. Highly effective detection of human papillomavirus 16 and 18 DNA by a testing algorithm combining broad-spectrum and type-specific PCR. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (9): 3292-3298.
109. Davies P, Kornegay J, Iftner T. Current methods of testing for human papillomavirus. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2001; 15 (5): 677-700.
110. Slee EA, O'Connor DJ, Xin L. To die or not to die: How does p53 decide? *Oncogene* 2004; 23: 2809-2818.
111. Jochen vom Brocke, Schmeiser HH, Reinbold M, Hollstein M. MEF immortalization to investigate the ins and outs of mutagenesis. *Carcinogenesis* 2006; 27 (11): 2141-2147.
112. Slebos RJC, Yajun Y, Ely K, Carter J, Evjen A, Xueqiong Z, Yu S et al. Gene expression differences associated with human papillomavirus status in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (3): 701-709.
113. Pintos J, Franco EL, Black MJ, Bergeron J, Arella. Human papillomavirus and prognoses of patients with cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer* 1999; 85 (9): 1903-1909.
114. Ritchie JM, Smith EM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang D, Klussmann JR, Turek LP et al. Human papillomavirus infection as a prognostic factor in carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Ints J Cancer* 2003; 104 (3): 336-344.
115. Leachman SA, Tigelaar RE, Shlyankevich M, Slade MD, Irwin M, Chang E, Wu TC et al. Granulocyte-macrophage colony-

- stimulating factor priming plus papillomavirus E6 DNA vaccination: Effects on papilloma formation and regression in the cottontail rabbit papillomavirus-rabbit model. *J Virol* 2000; 74 (18): 8700-8708.
116. Kaiyo Takubo, Naotaka Shimomura-Izumiyama, Hidemi Koiwai, Naoko Honma, Yukiyoshi Esaki, Tomomi Yoshida, Takashi Nakajima et al. Detection of human papillomavirus infection of the cervix in very elderly women using PCR. *Clin cancer Res* 2005; 11 (8): 2919-2923.
117. Sufang Wu, Li Meng, Shixuan Wang, Wei Wang, Ling Xi, Xun Tian, Gang Chen et al. Reversal of the malignant phenotype of cervical cancer caski cells through adeno-associated virus – mediated delivery of HPV16 E7 antisense RNA. *Clin Cancer Res* 2006; 12 (7): 2032-2037.
118. Edwards S, Carne C. Oral sex and the transmission of viral STIs. *Sex Transm Inf* 1998; 74: 6-10.
119. Mattiussi S, Kazue Matsumoto, Illi B, Martelli F, Copogrossi MC, Gaetano C. Papilloma protein E6 abrogates shear stress-dependent survival in human endothelial cells: Evidence for specialized functions of paxillin. *Cardio Res* 2006; 70: 578-588.
120. Woodruff RA, Bonde RK, Bonilla JA, Romero CH. Molecular identification of a papilloma virus from coetaneous lesions of captive and free-ranging florida manatees. *J Wildlife Dis* 2005; 41 (2): 437-441.
121. Leen-Jan van Doorn, Quint W, Kleter B, Molijn A, Colau B, Martin MT, Kravang-In et al. Genotyping of human papillomavirus in liquid cytology cervical specimens by the PGMV line blot assay and the SPF10 line probe assay. *J Clin Microbiol* 2002; 40 (3): 979-983.
122. Rajeevan MS, Swan DC, Nisenbaum R, Lee DR, Vernon SD, Ruffin MT, Horowitz IR et al. Epidemiologic and viral factors associated with cervical neoplasia in HPV-16-positive women. *Inst J Cancer* 2005; 115 (1): 114-120.
123. Sun CA, Lai HC, Chang CC, Neih S, Yu CP, Chu TY. The significance of human papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2001; 83 (1): 95-99.
124. Bosch FX, Munoz N. The viral etiology of cervical cancer. *Virus Res* 2002; 89 (2): 183-190.
125. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, Duarte FE et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 2001; 286 (24): 3106-3114.
126. Melnikow J, Birch S. Human papillomavirus triage of atypical squamous cells of undetermined significance: Cost-effective, but at what cost? *J Natl Cancer Inst* 2006; 98 (2): 82-83.
127. Ronco G, Segnan N, Giorgi-RP, Zappa M, Casadei GP, Carozzi, Dalla Palma P et al. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology: Results at recruitment from the new technologies for cervical cancer randomized controlled trial. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 765-774.