

11217
48
2y.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

HOSPITAL DE MEXICO

ASOCIACION GINECO-OBSTETRICA S. A. DE C. V.



**VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO
Y SU RELACION CON EL
CARCINOMA DE CERVIX**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO EN
LA ESPECIALIDAD DE:

GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A:

DR. HECTOR VICENTE ESPINOSA PERALTA

MEXICO, D.F.
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

125873

1998



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



HOSPITAL DE MEXICO

ASOCIACION GINECO-OBSTETRICA, S.A. DE C.V.

JEFATURA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION.

CURSO DE ESPECIALIZACION : GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

TITULO DE LA TESIS : VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO Y SU RELACION CON EL CARCINOMA DE CERVIX.

NOMBRE DEL ALUMNO : *Vicente Espinosa P.*
DR. HECTOR VICENTE ESPINOSA PERALTA

TUTOR DE TESIS : DR. DAMASO A. CRUZ TALONIA

TITULAR DEL CURSO : DR. EDUARDO GONZALEZ CERDA

JEFE DE ENSEÑANZA : DR. JOSE A. AGUILAR GUERRERO

HOSPITAL DE MEXICO
JEFATURA DE ENSEÑANZA

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO
Y SU RELACION CON EL
CARCINOMA DE CERVIX.

CONTENIDO :

1.- INTRODUCCION

2.- ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA INFECCION POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

3.- FACTORES EPIDEMIOLOGICOS

4.- FACTORES DE RIESGO Y MECANISMOS DE TRANSMISION

5.- VIROLOGIA DE LOS PAPILOMAVIRUS

6.- SUBTIPOS VIRALES

7.- TEORIA Y EVOLUCION DE LA CAPACIDAD ONCOGENICA

8.- CONCLUSIONES

9.-BIBLIOGRAFIA

INDICE

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA INFECCION POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO	3
- Investigación del Origen de las Verrugas Genitales.....	3
- Relación de las Lesiones Genitales no Papilomatosas con el Virus del Papiloma Humano	6
- Relación del Virus del Papiloma Humano con el Carcinoma de Cervix	8
FACTORES EPIDEMIOLOGICOS	11
FACTORES DE RIESGO Y MECANISMOS DE TRANSMISION	15
- Factores de riesgo de Infección.....	15
- Transmisión Sexual	17
- Transmisión no Sexual	19
- Riesgo de infección por VPH y Cancer Cervicouterino	20

VIROLOGIA DE LOS PAPILOMAVIRUS	22
- Propiedades Básicas	22
- Biología Molecular del Virus del Papiloma Humano	24
- Clasificación de los Papilomavirus	30
- Ciclo Vital del Virus	33
SUBTIPOS VIRALES	36
TEORIA Y EVOLUCION DE LA	
CAPACIDAD ONCOGENICA	40
- Biología Básica del Virus del Papiloma Humano en el	
Cáncer Cervical	40
- Sucesos en la Génesis del Carcinoma Cervical por VPH	42
- Necesidad de Cofactores	48
- Gen P 53	51
CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFIA	56

INTRODUCCION

El Carcinoma Cervicouterino (Ca Cu) es el tipo de tumor maligno más frecuente en mujeres en la mayoría de países en desarrollo; mientras que en países desarrollados es menos común y son más frecuentes otro tipo de carcinomas como el de mama, pulmón y colon. El descubrimiento del Virus del Papiloma Humano (VPH) como agente etiológico de Carcinoma Cervicouterino y otros tipos de tumores anogenitales, provocó un gran interés en la biología y oncogenicidad de éste virus y la realización de encuestas epidemiológicas a largo plazo comparando la prevalencia del VPH y otros agentes etiológicos posibles en áreas de alta y baja incidencia del Ca Cu . (1)

Numerosos estudios han estado encaminados a elucidar la patogénesis de ésta enfermedad . Practicas sexuales, paridad, dieta, tabaquismo, otras enfermedades (incluidas las enfermedades de transmisión sexual) y características inmunológicas pueden jugar un importante papel en el desarrollo del Ca Cu . (1)

Estos factores pueden ser independientes unos de otros o estar asociados con infección por VPH . Una inmunización para prevenir éste tipo de infecciones y de éste modo el CaCu es un prospecto atractivo . Los estudios en animales son alentadores y se espera contar pronto con una vacuna que pueda ser empleada con éxito en seres humanos . (1)

Esta idea tendría como finalidad prevenir la exposición hacia el VPH y otros agentes etiológicos y mejorar de ésta forma las estrategias en la practica médica y así reducir la incidencia del Ca Cu . (1)

La infección cervical por virus del papiloma humano se ha considerado como una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes en México en donde se ha podido comprobar su relación con el carcinoma cervicouterino que también es el tipo de neoplasia ginecológica más frecuente . La citología cervico-vaginal es el recurso más practico y confiable para la detección de las lesiones precursoras. De igual manera la colposcopia ha desempeñado un papel muy importante en el diagnóstico y en el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical sola o asociada a infección por éste virus . (2)

Considerando la gran trascendencia que tiene éste problema tanto a nivel mundial como en nuestro medio se presenta ésta revisión con el proposito de recordar y actualizar algunos de los aspectos más importantes que son la base del conocimiento para su comprension y aplicación en la clínica .

ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA INFECCION POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

INVESTIGACION DEL ORIGEN DE LAS VERRUGAS GENITALES

La primera descripción de verrugas se encuentra en los escritos de Celso (25 DC). En los siguientes cinco siglos, los médicos griegos y romanos escribieron al respecto y notaron la transmisión sexual de lesiones verrucosas en la región genital. Habla mucho del poder de observación de los primeros médicos, que en los siguientes 1400 años añadieron poco o nada al conocimiento de las verrugas. La descripción de las lesiones genitales en la Edad Media era menos precisa que en el mundo antiguo, pero algunas de las lesiones descritas por Lanfrac en 1306 pudieran ser de condiloma acuminado. (3)

La sífilis con sus innumerables manifestaciones, dominó el pensamiento de los médicos durante siglos, y no se diferenciaban las verrugas genitales de los condilomas planos, sino que se consideraban manifestación de la sífilis. Finalmente, en 1793, Bell reconoció que las verrugas genitales eran una enfermedad no relacionada con la sífilis. A continuación se relacionó al condiloma acuminado con la gonorrea, de manera que en el siglo XIX a veces se les denominaba "verrugas

gonorreicas". En 1872, Martín señaló que muchos pacientes con verrugas genitales no tenían antecedentes de gonorrea. (3)

Después de aclarar el origen de la gonorrea gracias al aislamiento del gonococo en 1879, se consideró que las proliferaciones epiteliales verrucosas en los genitales eran causadas por irritantes, como polvo, esmegma o secreciones genitales. En 1893 Gémy descubrió similitudes histológicas entre las verrugas cutáneas y las genitales y postuló un origen común. En Londres, Payne había demostrado la naturaleza infecciosa de las verrugas comunes apenas dos años antes de que Gémy publicara sus observaciones. En su clásico artículo " De la contagiosidad de la verrugas vulgares " Payne señalaba que se desarrollaron verrugas en su pulgar después de haber rascado la superficie de la verruga de un niño. En 1884, se obtuvieron pruebas adicionales de la contagiosidad de las verrugas, cuando Variot, un pediatra parisino, produjo el desarrollo de verrugas en voluntarios adultos mediante la inyección de tejido verrucoso molido de niños. No obstante fue hasta 1917, cuando se demostró la capacidad infectante de los condilomas genitales. En ese año Waelsch realizó la primera inoculación eficaz, en voluntarios humanos, con material no filtrado de un condiloma peniano. (3)

Muchos observadores postularon el modo de transmisión de los condilomas genitales, pero se mantuvo la especulación hasta que en 1956 Barret y colaboradores proporcionaron evidencia epidemiológica . Los autores se sorprendieron de la aparición frecuente de verrugas penianas en soldados que cohabitaron con mujeres del Lejano Oriente. Las esposas de

los soldados desarrollaron verrugas genitales cuatro a seis semanas después de que éstos retornaron a casa. Los autores sugirieron que debería considerarse a las verrugas genitales como enfermedad venérea.

El origen viral de las verrugas fue postulado por primera vez por Ciuffo en 1907, quien se produjo verrugas en las manos al inyectarse con material de verrugas que se había hecho pasar por un filtro con poros tan pequeños que sólo podía implicarse a los virus. En 1924, Serra utilizó una metodología similar a la de Ciuffo, inoculó voluntarios con material filtrado de verrugas penianas y produjo lesiones verrucosas en uno de cada tres individuos, estableciendo así la etiología viral del condiloma genital.

(3)

La introducción de la microscopia electrónica en medicina en el decenio de 1940 hizo posible la observación directa de partículas virales en tejidos y demostró la teoría del origen viral de las verrugas. Strauss y colaboradores identificaron en la Yale University el virus del papiloma cutáneo, en 1949. En 1968, Dunn y Ogilvie demostraron partículas virales en condilomas genitales. (3)

RELACION DE LAS LESIONES GENITALES NO PAPILOMATOSAS CON EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

En vista de las similitudes microscópicas entre el condiloma acuminado y las lesiones genitales subclínicas no papilomatosas relacionadas con el VPH, es sorprendente que las dos formas de infección no se investigaran hasta dar con su origen común hace 12 años. Es más, los cambios citológicos e histológicos que más tarde se reconocieron como inducidos por el virus, ya habían sido descritos por Ayre en 1949. En un último artículo publicado en 1985, Ayre incluso sugirió una causa viral y postuló que esta infección viral pudiera representar "un eslabón entre células normales y células malignas o premalignas". Mientras tanto, en 1956, Koss y Durfee habían acuñado el término " atipia coilocítica " para descubrir células con un hueco citoplásmico (del griego, koilos, ' vacío, hueco '). No era raro observar coilocitos relacionados con displasia o carcinoma cervical. Meisels y colaboradores postularon que el coilocito en la citología exfoliativa era patognomónico de una infección de VPH (Quebec, Canadá, diciembre de 1976) y, también casi simultáneamente, los autores finlandeses Pruola y Savia (enero de 1977) describieron cambios epiteliales con características citológicas idénticas a las del condiloma acuminado, pero sin su aspecto papilar. Las lesiones eran clínicamente indistinguibles de la displasia cervical de bajo grado y fueron llamadas condiloma plano. También era evidente que estos cambios epiteliales o clínicos eran al menos en el cuello uterino mucho más comunes que las formas papilares de la infección. Además, se encontraron

cambios coilocíticos en las displasias, lo que sugirió una relación entre VPH y neoplasia cervical. (3)

En 1978, Della Torre y colaboradores confirmaron el significado de la coilocitosis, cuando junto con Laverty y colaboradores detectaron partículas virales en condilomas planos mediante microscopia electrónica. En 1980, Shah y colaboradores, en Baltimore, desarrollaron anticuerpos específicos de grupo que reaccionan con proteínas de la cápside de una amplia variedad del virus del papiloma humano y de animales. La técnica de inmunoperoxidasa, que emplea estos anticuerpos anti-VPH, hizo posible la demostración de virus del papiloma en antígenos específicos de grupo en las capas superficiales y en las células coilocíticas de casi 50% de las displasias cervicales. Como ya se señaló, Zur Hausen y su grupo buscaron simultánea, pero independientemente pruebas virológicas y epidemiológicas que señalaran participación del VPH en el carcinoma cervical. (3)

A principios del decenio de 1980, se aceptaba en general que el coilocito es un signo microscópico específico de infección por VPH en frotis y cortes histológicos, y que condilomas y displasias son formas de expresión de infección por VPH. (3)

RELACION DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO CON EL CARCINOMA DE CERVIX

La investigación del virus del papiloma humano está muy relacionada con el trabajo de Shope en el Rockefeller Institute for Medical Research, Princeton, New Jersey . En 1933, Shope encontró conejos “ cola de algodón “ silvestres con verrugas que aparecen de manera natural y descubrió que el agente productor de la verruga era un virus similar a los que producían papilomas en humanos, ganado vacuno y perros, y demostró la naturaleza infecciosa de la verruga al infectar conejos domésticos con material de papiloma de los conejos silvestres. Hoy se conoce al virus del papiloma del conejo cola de algodón como virus del papiloma de Shope . (3)

Rous y Beard, en el Instituto de Shope, observaron en 1935 que el virus que inducía papilomas en conejos, en algunas ocasiones causaba transformación en carcinoma maligno de células planas . Posteriormente encontraron que la conversión maligna ocurría antes, cuando se aplicaba metilcolantreno o alquitrán al papiloma, o se administraban conjuntamente con el virus . Rous y Beard compararon la transformación maligna del papiloma del conejo con el condiloma humano y sugirieron que pudiera representar precursores de carcinomas de células planas . Rous compartió un premio Nobel en 1966, por el descubrimiento de virus inductores de tumores, un paso muy importante en la ciencia médica moderna . (3)

En 1931, Büschke y Lowenstein descubrieron el condiloma acuminado gigante del pene . Esta lesión puede tener el aspecto de un carcinoma de células planas de bajo grado y también se considera como carcinoma verrucoso no metastático . No obstante, hay varios informes aislados de conversión maligna de condilomas acuminados, y las más sólidas pruebas que relacionan el VPH con el cáncer, provienen de pacientes con epidermodisplasia verruciforme (EV), descrita por primera vez por Lewandowski y Lutz, en 1922 . Los individuos afectados por este raro síndrome sufren de un defecto en la inmunidad mediada por células, de manera que no pueden tener una respuesta inmunitaria adecuada contra el gran número de virus del papiloma humano . En consecuencia, los pacientes con EV desarrollan verrugas cutáneas diseminadas con aspecto de placas rojizas o verrugas planas en niños . Con no poca frecuencia, las verrugas sufren transformación maligna, particularmente en zonas expuestas a la luz del sol. A fines del decenio de 1970 y principios de 1980, fueron identificados más de 20 tipos diferentes de VPH en pacientes con EV, casi todos por Orth y colaboradores . Sólo los tipos de VPH 5, 8 y 14 se encontraron en cánceres cutáneos provenientes de dichas verrugas . El hecho de que la conversión maligna ocurra principalmente en zonas expuestas a la luz solar sugiere que la luz ultravioleta actúa en sinergismo con los tipos de VPH potencialmente oncógenos . (3)

La participación de cofactores y virus oncógenos en la producción del cáncer en individuos genéticamente predispuestos, también es de máximo interés en el estudio de las tumoraciones genitales malignas .

A pesar de que los virus del papiloma humano tienen una participación importante en el desarrollo de tumores, también se sabe que la infección viral en sí no es suficiente para inducir cáncer cervical . La conversión maligna de una célula epitelial normal depende de factores adicionales, algo que se apoya en la observación de que el desarrollo de cáncer cervical a partir de una célula infectada por virus del papiloma humano es un proceso muy raro y lento . (3)

FACTORES EPIDEMIOLOGICOS

La enfermedad neoplásica más frecuente en la población femenina de los países subdesarrollados es el cáncer cervico-uterino (CaCu). Se considera que la lesión precursora del CaCu es la neoplasia intraepitelial cervical (NIC). Al parecer, las lesiones preinvasoras e invasoras del cuello uterino son parte del mismo padecimiento. Estas generalmente empiezan con una lesión bien diferenciada (NIC 1 o displasia leve), pasan por una fase menos diferenciada (NIC 11 o displasia moderada), luego una lesión intraepitelial indiferenciada (NIC 111, la clásica displasia severa o carcinoma in situ), y finalmente terminan en carcinoma invasor cuando las células neoplásicas del epitelio cervical han atravesado la membrana basal e invadido el tejido subyacente . (4)

La evolución de estas lesiones a estadios invasores no es inevitable y depende del individuo. Hay lesiones preinvasoras que regresan o permanecen inalterables durante toda la vida, y sólo un porcentaje pequeño progresa hacia CaCu . El tiempo de evolución de las lesiones que progresan de NIC 1 a NIC 111, y de éste a carcinoma invasor es muy variable, generalmente de 10 a 20 años , siendo la edad promedio de las mujeres que presentan NIC 1 y carcinoma invasor, de 25 y 50 años respectivamente . (4)

Estudios epidemiológicos sugieren que en el desarrollo del CaCu está involucrado un factor viral (transmitido sexualmente). Algunos virus

han sido detectados en lesiones de Ca Cu : el virus del herpes simple tipo 2 y más recientemente los virus del papiloma humano (VPH) . Sin embargo, desde hace algún tiempo han surgido evidencias experimentales que indican que el virus del herpes no es el principal candidato etiológico del Ca Cu . (4)

La posible asociación directa entre VPH y Ca Cu se puso de manifiesto con el aislamiento del VPH tipo 6, de un condiloma acuminado . De esta forma la aplicación de nuevas metodologías de la ingeniería genética y de la biología molecular, tales como la clonación génica y la hibridación del DNA, han permitido aislar e identificar, de neoplasias genitales, muchos otros tipos de virus del papiloma humano . (4)

Las infecciones por virus del papiloma humano (IVPH) han recibido mucha atención en años recientes, debido a su relación con el cáncer genital y al desarrollo de nuevos recursos diagnósticos. A diferencia de otras enfermedades de transmisión sexual, los estudios epidemiológicos de esta infección se ven impedidos por la imposibilidad de cultivar el virus y la falta actual de pruebas serológicas. Es más, los aspectos clínicos de la enfermedad son muy amplios y ninguna prueba diagnóstica puede detectar todas las etapas de la infección . Las verrugas exofíticas (condiloma acuminado) son sólo la manifestación más evidente, desde el punto de vista clínico, de la infección por VPH; La infección latente (presencia de DNA de VPH) puede detectarse en epitelio de aspecto normal desde los puntos de vista microscópico, colposcópico, citológico e histológico. (5) De los más de 50 tipos

diferentes de virus identificados a la fecha, al menos 13 infectan la región genital y son diferentes de los que producen las verrugas cutáneas vulgares en otros sitios del cuerpo. Con gran frecuencia, las verrugas genitales son producidas por los tipos 6 y 11. Los tipos 16, 18, 31, 33 y 35 suelen causar infección cervical subclínica, y también se han relacionado con cáncer cervical, vulvar, vaginal y displasia peniana. (5)

Se ha estimado la incidencia y la prevalencia de las enfermedades de transmisión sexual con base en los diferentes bancos de datos, como los sistemas de vigilancia de las enfermedades notificables y visitas de inspección a los centros de atención. Desafortunadamente, cada una de estas fuentes tiene limitaciones. Los datos informados acerca de las enfermedades son limitados por las diferencias de las fuentes de salud públicas y privadas. La información colectada de las clínicas públicas está sujeta a la selección por sesgo y los datos de la práctica privada pueden ser afectados por la ausencia de diagnóstico. Finalmente, la información de muestras nacionales es esporádica y limitada. (6)

El cáncer cervico-uterino (CACU) continúa siendo uno de los principales problemas de salud pública en países en desarrollo. En México, en el año de 1991, se notificó una tasa de mortalidad por este tipo de neoplasia de 9.5 por 100 mil mujeres lo que representó 4 194 muertes; a este respecto, la mortalidad por CACU durante los últimos 15 años en la república mexicana ha permanecido estable, e incluso en algunos grupos de edad se perfila un incremento. (7)

En la ciudad de México, de acuerdo al Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas, durante el año 1993 se registraron 3 491 casos nuevos de CACU, que constituyó el primer lugar en frecuencia de tumores malignos en ambos sexos, representando el 23.5% del total de tumores reportados. (7)

Es probable que la etiología del CACU sea de origen multifactorial; los factores asociados en forma más consistente a esta enfermedad son la infección por virus del papiloma humano, el antecedente de dos o más parejas sexuales, el inicio de vida sexual a temprana edad, la multiparidad vaginal y el nivel socioeconómico bajo. Asimismo, se ha reportado un efecto protector asociado al consumo elevado de vegetales verdes, precursores de vitamina A y vitamina C. (7)

La asociación de CACU con el virus del herpes tipo II, el hábito tabáquico, así como el consumo de hormonales anticonceptivos y el antecedente de lavados vaginales es aún controversial. (7)

FACTORES DE RIESGO Y MECANISMOS DE TRANSMISION

FACTORES DE RIESGO DE INFECCION

Aparecen verrugas genitales con mayor frecuencia en personas sexualmente activas de 20 a 24 años, son más frecuentes en las de raza blanca que en la negra, y se han visto relacionados con promiscuidad sexual, uso de anticonceptivos orales y el hábito de fumar. Las verrugas genitales no suelen relacionarse con las verrugas cutáneas u otras enfermedades de transmisión sexual. (5)

Los adolescentes experimentan un alto riesgo de exposición a enfermedades de transmisión sexual, en parte porque la adolescencia es un tiempo de curiosidad sexual, experimentación y el riesgo es tomado. En adición a los factores psicológicos, los factores biológicos de las mujeres adolescentes permiten que sean más vulnerables a las infecciones genitales las mujeres. En la pubertad temprana, el epitelio columnar en el útero se extiende desde el canal endocervical a la vagina y no hay protección para los patógenos por la mucosa cervical. (6)

Las consecuencias a largo plazo de la mayoría de las enfermedades de transmisión sexual son más serias para las mujeres que para los hombres. La mayoría de éstas enfermedades se presentan con pocos

síntomas. Las enfermedades no tratadas acarrearán consecuencias adversas sobre la reproducción. Una larga proporción de embarazos ectópicos y de infertilidad involuntaria son atribuidos a las secuelas de una enfermedad de transmisión sexual. En la mujer embarazada las enfermedades de transmisión sexual pueden ser asociadas con aborto espontáneo, infección transplacentaria del feto, parto prematuro, e infección del recién nacido a través del canal de parto contaminado.

Las pacientes con infección por VPH tienen riesgo de tener esterilidad tanto por factor tuboperitoneal, como por factor cervical ya que suelen cursar con otras enfermedades de transmisión sexual . (6,8)

El impacto adverso del uso de fármacos ha contribuido también al aumento de las enfermedades de transmisión sexual, como medicamentos esteroides e inmunosupresores. (6)

Se ha relacionado a tipos de VPH principalmente en pacientes inmunodeprimidos, incluidos aquellos que padecen del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida y aquellos que toman o tomaron medicamentos inmunosupresores por ejemplo posterior a un transplante de órganos. Por lo que también se incluiría como factor de riesgo a la inmunosupresión y a los medicamentos inmunosupresores . (9)

En éstos pacientes se han encontrado tipos de VPH benignos como el 11, pero también los llamados tipos malignos como el 16 o el 18, los cuales representan un factor de riesgo tanto por su relación directa con

CaCu y por la recurrencia que tienen en pacientes ya tratadas . (10)

TRANSMISION SEXUAL

La transmisión sexual de las verrugas genitales fue motivo de controversia hasta principios del decenio de 1960, cuando la investigación refutó la creencia de que las verrugas genitales eran sólo un tipo de verruga cutánea vulgar. Estudios independientes demostraron que 60 a 66% de los compañeros sexuales de personas con verrugas genitales las desarrollaban después de un periodo de incubación promedio de tres meses. No obstante, el periodo de incubación puede variar de tres semanas a ocho meses. Un estudio sugirió que la infectividad disminuía conforme aumentaba la duración de las verrugas. Es necesario el traumatismo epitelial para inducir infección por virus del papiloma humano en animales; de manera similar, los sitios más frecuentes para desarrollo de verrugas en humanos son los de zonas sujetas a abrasión durante el coito, como la parte posterior del introito en mujeres, el prepucio y el frenillo en varones.

(5)

No se ha calculado la proporción de compañeros sexuales que tienen infección subclínica sin desarrollar verrugas exofíticas después de los primeros tres meses de haber tenido contacto sexual con personas que las tenían. De manera similar, se desconoce la infectividad de la enfermedad subclínica relacionada con la de las verrugas exofíticas. Los tipos de estudio de transmisión necesarios para dilucidar estos asuntos son muy difíciles de realizar. La detección completa y precisa de infección

subclínica por VPH requiere usar múltiples pruebas y la confirmación histológica. Es más, no puede calcularse la duración de la infección y cuando ambos miembros de una pareja la tienen es imposible saber cuál se infectó primero. Varios estudios de transmisión han permitido observaciones bastante constantes. En un estudio de 51 compañeros de mujeres con datos histológicos de condiloma cervical, 88% tenían signos histológicos de condiloma, 16% tenían lesiones visibles y 72% más tenían infección subclínica " asintomática " detectada sólo por estudio colposcópico después de aplicar ácido acético al epitelio peniano macroscópicamente normal. Otros estudios demostraron que casi 66% de los compañeros de mujeres con condiloma cervical o neoplasia intraepitelial cervical tienen signos de infección peniana por VPH, la mayor parte de ellos macroscópicamente invisibles. (5)

En estudios realizados en Países en donde la incidencia de Ca Cu es importante, se ha relacionado al VPH como factor etiológico, principalmente a los tipos 16 y 18. Siendo las prostitutas un reservorio importante para éste problema, resulta imprescindible el uso de métodos de barrera como el preservativo o condón para abatir las posibilidades de infección . (11,12.)

TRANSMISION NO SEXUAL

Se ha informado de transmisión al parecer no sexual de VPH de tipos 6 y 11 a la conjuntiva y la mucosa nasal. La transmisión materno-fetal se ha considerado implicada en la papilomatosis laríngea juvenil. A semejanza de la papilomatosis laríngea del adulto, la forma juvenil se relaciona con el virus de tipo 11, o menos frecuentemente con el tipo 6. Las verrugas genitales en niños se consideran indicador sólido de abuso y se ha demostrado que contienen virus de tipos 6, 11 y 16. No se ha informado la transmisión por fómites. La detección reciente de DNA de VPH en vapores generados durante el tratamiento de ablación con láser de CO₂ han producido alguna preocupación; sin embargo, no se ha evaluado la infectividad del DNA de VPH sin cubierta. (5)

Otras vías de transmisión que también se mencionan son la infección transplacentaria del feto y la infección del recién nacido a través del canal del parto contaminado. (2)

RIESGO DE INFECCION POR VPH Y CANCER CERVICOUTERINO

El virus del papiloma humano se ha relacionado con la etiología de la neoplasia cervical y evidencias epidemiológicas sugieren que las hormonas esteroides pueden incrementar el riesgo de éste tipo de cáncer en mujeres infectadas por éste virus. Los esteroides pueden interactuar con la respuesta a los elementos en las grandes regiones de control viral, aumentando la transcripción y resultando en transformación de células cervicales. Subsecuentemente la progresión maligna puede relacionar que el virus induzca inestabilidad cromosómica, facilitando la integración del DNA viral y la desregulación de la expresión de genes . (13)

Usuarías de anticonceptivos orales, principalmente aquellas que los toman por periodos largos de tiempo se les relaciona con carcinoma cervical según lo reportan estudios epidemiológicos e incrementan la detección del DNA del VPH en éste tipo de pacientes . (14)

La infección por VPH es de gran importancia dada su rápida diseminación, así como por la capacidad de producir a mediano o largo plazo lesiones premalignas o malignas a nivel genital, de ahí que deba realizarse la detección oportuna. Existen informes en los cuales las pacientes con daño tubario tienen una mayor frecuencia de lesiones premalignas en cérvix, como es sabido estas lesiones en un buen porcentaje son consecuencia de la infección por VPH . Se menciona la

presencia de esterilidad en pacientes que acuden a las clínicas de colposcopia para tratamiento de infección cervical por VPH . (8)

Períodos cortos de detección de DNA del VPH son altamente variables entre individuos, por lo tanto una sola determinación para la cuantificación de VPH cervical tiene limitantes cuando se evalúan la presencia del virus entre individuos. La relación entre períodos cortos y largos sobre la persistencia de DNA del VPH muestra un perfil que puede mostrar lo relevante para la determinación de los riesgos de desarrollo de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) . (15)

La colposcopia ha desempeñado un papel muy importante en el diagnóstico y en el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical sola o asociada a infección por VPH . La alta frecuencia de infección subclínica por éste virus motivó que sea usado el llamado índice colposcópico combinado (ICC) el cual se caracteriza por substituir a 2 de los signos colposcópicos (**grosor**, color, **contorno**, atipias vasculares y tinción con yodo) por el de nitidez de los bordes periféricos . Este ICC es confiable para el diagnóstico colposcópico de VPH y NIC . (12)

VIROLOGIA DE LOS PAPILOMAVIRUS

Durante muchos años, el virus del papiloma humano (VPH) llamó poco la atención de los científicos básicos y clínicos. Dados los avances recientes en investigación virológica y clínica, esta situación ha cambiado espectacularmente y hoy se reconoce a este virus como uno de los patógenos humanos más importantes. La reciente avalancha de conocimientos se obtuvo por el desarrollo de tecnología relacionada con DNA recombinante e ingeniería genética que ha permitido la replicación y caracterización de su genoma , así como el estudio de la expresión de genes virales. (16)

PROPIEDADES BASICAS

Los virus del papiloma son miembros de la familia de papovavirus, que incluye al virus del polioma de ratón, al virus 40 de simio (SV 40) y a los virus humanos BK y JC, que se incluyen en éste grupo porque todos tienen genomas de DNA de doble cadena circular, rodeados por una cápside poliédrica de 20 caras (icosaédrica). Estudios moleculares recientes demuestran que la estructura genética de los virus del papiloma es bastante diferente que la de otros miembros del grupo. Por ello, tal vez sería más adecuado considerar a los virus del papiloma como una clase única. (16)

La partícula viral del papiloma tiene un diámetro de 55 nanómetros y una estructura icosaédrica formada por 72 unidades básicas llamadas capsómeros. No hay membrana de envoltura de lípidos. Las partículas virales contienen una proteína principal de la cápside con peso molecular de casi 54 000 daltones y también se ha identificado una más pequeña, de casi 76 000 daltones, cuyas estructuras todavía no se definen.

La partícula viral es al menos parcialmente termoestable y resiste la desecación, estabilidad que podría permitir la aparición de infección en algunos casos en que no ha habido contacto directo entre individuos.

El cromosoma viral consta de una molécula de DNA circular de doble cadena , cerrada de manera covalente con aproximadamente 7 900 pares de bases y peso de 5.2 millones de daltones. El cromosoma del papilomavirus es relativamente pequeño en comparación con los de otros tipos de virus. Por ejemplo, los cromosomas del grupo del herpesvirus tienen un tamaño de casi 100 millones de daltones, casi 20 veces más . (16)

BIOLOGIA MOLECULAR DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

Organización General del Genoma

Los genomas de los diferentes tipos virales presentan una estructura básica muy similar, con homología de secuencia entre ellos que va de moderada (45%) a alta (85%). Se han identificado marcos de lectura abierta (ORF), organizados en regiones de expresión temprana (E) y tardía (L). Los primeros codifican para proteínas relacionadas con la replicación (E1), transcripción (E2), y transformación celular (E6 y E7); los segundos codifican proteínas de la cápside (L1 y L2). La información genética se encuentra codificada en una sola de las cadenas del DNA, pues los genes tienen la misma orientación transcripcional, con sobreposición de algunos de ellos. (4)

El genoma contiene una región de control de aproximadamente 1000 pares de bases (pb), en la que se han identificado secuencias estimuladoras y represoras de la transcripción viral, así como el origen de la replicación. (4)

Oncogenes

Los productos de algunos genes, llamados oncogenes, participan en la inducción y el mantenimiento del estado inmortalizado de las células que contienen secuencias del VPH; dichos genes se expresan selectivamente en tumores genitales y líneas celulares derivadas de tumores humanos y se conservan intactos durante la integración del DNA viral al genoma celular. Las células HeLa contienen DNA integrado del VPH 18 y los oncogenes E6 y E7 se transcriben activamente. Se han identificado en estas células transcritos que codifican para un péptido de 105 aminoácidos, correspondientes a la proteína E7 completa. El producto del gen E7 de los VPH tipos 16 y 18 induce, in vitro, independencia de anclaje en fibroblastos de ratón. Además, los genes E6 y E7 son necesarios para la immortalización de queratinocitos humanos por estos tipos virales. (4)

La proteína E6 tiene gran afinidad por el DNA, y se ha encontrado tanto en el núcleo como en la membrana plasmática. La proteína E7 es una fosfoproteína que se ha localizado en el citoplasma, aunque reportes recientes sugieren que es nuclear. Se ha sugerido que ambas proteínas se originaron por duplicaciones de una unidad con 33 aminoácidos que contiene un doblete de cisteínas (Cys-x-x-Cys), y que estos residuos de cisteína pueden participar en la coordinación de la unión de iones metálicos (como los de zinc). (4)

Recientemente se identificaron dos regiones de aminoácidos en la proteína E7 que presentan gran homología con aquellas involucradas en los procesos de transformación de la proteína E1A de adenovirus. Una de estas regiones es aquella involucrada en la interacción de E1A con el producto del gen de retinoblastoma (Rb). El gen Rb es un antioncogén y su producto proteínico interacciona con los productos de algunos oncogenes como E1A, el antígeno T de SV40 y la proteína E7 de VPH.

(4)

Regulación de la Transcripción Temprana y Región de Control

Los elementos del DNA que regulan la expresión de los oncogenes virales (promotor e intensificador) se encuentran localizados en la región de control.

En la actualidad se han caracterizado varios elementos del DNA, en la región de control de algunos VPH genitales, que son el blanco de interacción de factores proteicos y celulares. Recientemente se identificó una secuencia específica (5'TGACTAA-3') que es blanco de interacción de factores de la familia AP-1; dicha secuencia se encuentra repetida dos veces en la región de control del VPH 18. Esta secuencia, reconocida por la familia AP-1, constituye un elemento de respuesta a algunos promotores de tumores, como los ésteres de forbol. Los factores de la familia AP-1 son los transductores finales de una serie de eventos que se inician en la membrana plasmática y que involucran sistemas transductores de señales que incluyen a la proteína cinasa C y el AMPc. Estos factores son

producto de dos oncogenes celulares (jun y fos) y pueden influenciar la unión de la polimerasa II0 al DNA y su activación, es decir, el encendido o apagado de los oncogenes virales . (4)

Transregulación de la Proteína E2

La proteína codificada por el gen E2 es un factor que regula la transcripción de los oncogenes E6 y E7. Este factor se une al DNA en forma de dímero, específicamente a la secuencia 5'-ACCG-NNNN-CGGT-3'. La secuencia blanco de E2 se encuentra repetida varias veces en la región de control de todos los tipos de VPH secuenciados hasta ahora y es característica del genoma de los papilomavirus en general . (4)

Se ha mostrado que esta proteína activa fuertemente la transcripción de diversos papilomavirus; sin embargo, recientemente se demostró que la transcripción a partir del promotor de E6, en los VPH 16 y 18, es fuertemente reprimida por esta proteína en células SW13 o en queratinocitos humanos.

Esta aparente discrepancia puede explicarse si se considera que en los casos en que se ha observado activación, la distancia del sitio blanco de E2 al sitio de inicio de la transcripción es mayor que en aquellos casos en que existe represión. En efecto, en el laboratorio hemos podido mostrar, usando construcciones quiméricas con el promotor heterólogo de SV40, que cuando el sitio de unión de E2 está a mas de 100 pares de bases del sitio +1 (es decir del sitio en que se inicia la transcripción), existe

activación, mientras que cuando la distancia es menor existe represión. Esta represión puede deberse, tal vez, a que al unirse E2 muy cerca del sitio de unión de otros factores básicos para la transcripción, impida el ensamble correcto de un complejo de transcripción. (4)

En experimentos de “huella sobre el DNA”, usando DNAsa Y, se demostró que los sitios de unión de E2 en el promotor del gen E6 del VPH 18 están protegidos en forma específica por la proteína E2. Se podría imaginar que la unión de varias moléculas de E2 sobre estos sitios cercanos llevaría a una interferencia espacial que impidiera la formación de un complejo de transcripción activo sobre el mencionado promotor.

Se piensa que la proteína E2 juega un papel muy importante en el ciclo viral de los papilomavirus, ya que esta proteína posee la capacidad de reprimir o activar los promotores virales, al unirse a la misma secuencia de DNA. (4)

Especificidad Tisular

La infección por VPH ocurre solamente en células basales del epitelio que pueden dividirse; en éstas, el virus no se replica y permanece en estado latente. A medida que las células epiteliales se diferencian, el DNA viral se replica, se transcribe y forma viriones completos. Esto sugiere que algunos factores de la diferenciación de los epitelios participan en la regulación del ciclo viral. (4)

Durante la diferenciación celular, las células se vuelven más y más permisivas para la replicación viral. Esta puede observarse en las capas suprabasales, mientras que las proteínas estructurales y las partículas virales aparecen sólo en las capas superiores. (4)

Al infectar las mucosas genitales, los VPH inducen frecuentemente coilocitosis, caracterizadas por una gran zona clara perinuclear y a menudo binucleación. En algunos coilocitos aparecen antígenos virales de la cápside, pero otros son negativos.

La especificidad tisular de los VPH puede estar determinada en parte por elementos de la región de control, ya que se han caracterizado fragmentos cortos de DNA en esta región, capaces de conferir especificidad tisular sobre genes heterólogos. En particular, se han demostrado la presencia de una región con estas propiedades para los VPH tipo 6,11,16 y 18. (4)

Experimentos de huella sobre el DNA han mostrado que la secuencia 5'ÁAGCCAAA-3' es protegida por un factor presente en extractos de células de origen epitelial; es decir, existe una proteína que interacciona con la secuencia mencionada.

Recientemente se ha iniciado la caracterización de este factor mediante ensayos de retardamiento de fragmentos cortos de DNA, en geles nativos de poliacrilamida y se encontró que este factor está enriquecido en líneas y tejidos de origen epitelial (SW13 y HeLa)

respecto de aquellos de origen no epitelial, como fibroblastos y linfocitos humanos. La secuencia que reconoce este factor está presente de manera conservada, en los promotores de genes que se expresan específicamente en los epitelios, como las citoqueratinas y la involucrina humana . (4)

CLASIFICACION DE LOS PAPILOMAVIRUS

Hay tipos específicos de papilomavirus en una gran variedad de vertebrados, como anfibios, reptiles, peces, aves y mamíferos. Se han identificado tipos múltiples en algunas especies y en general cada tipo es específico de una sola de ellas, un tipo de epitelio y una localización anatómica. Casi todos los virus afectan sólo las células planas de la epidermis llamadas queratinocitos. Los virus del papiloma bovino, de venado y de alce europeo son excepciones y las de los epitelios estratificados de las mucosas . (16)

Dos tipos de papilomavirus de animales han sido extremadamente útiles en estudios virológicos, el del conejo cola de algodón (CRPV, también llamado virus del papiloma de Shope) y el papilomavirus bovino tipo 1 (BPV 1).

El CRPV, el primer papilomavirus que fué aislado, ha sido un modelo experimental importante de carcinogénesis desde los años 30. El virus produce verrugas benignas en conejos silvestres y a veces

carcinomas de células planas. Los primeros experimentos mostraron que la radiación y los mutágenos químicos aumentan la frecuencia o rapidez con que se desarrollan los carcinomas. Estos estudios ayudaron a establecer la teoría de que la oncogénesis es un proceso gradual multifactorial. Los tumores trasplantables desarrollados a partir de conejos infectados por CRPV dieron más tarde líneas celulares que contenían DNA viral y genes en expresión. El DNA aislado de la partícula viral de CRPV puede inducir carcinomas en la piel de conejos. (16)

El papilomavirus bovino tipo 1 (BPV 1), por el contrario, no produce carcinomas en su huésped natural. Su capacidad para transformar morfológicamente células en cultivo llevó al desarrollo de análisis in vitro de algunas de las funciones genéticas. Estos estudios mejoraron nuestro conocimiento de la replicación del DNA viral, su expresión, la función de los genes virales y la transformación de células. (16)

En comparación con los papilomavirus de animales, el estudio de los correspondientes humanos se ha visto impedido por la imposibilidad de pasar al virus a un huésped no humano e infectar y transformar células en cultivo. La rápida expansión de la investigación de VPH no ocurrió hasta el advenimiento de la ingeniería genética moderna. Con la replicación molecular del DNA del papilomavirus se hizo posible analizar y comparar los diferentes tipos de VPH. Se estudió una gran variedad de lesiones cutáneas y mucosas que permitió el descubrimiento de una gran variedad de tipos del virus con diferencias notorias en la secuencia del DNA. A la fecha, hay al menos 56 tipos diferentes de VPH, y cada año se identifican

muchos más. Un virus se clasifica como de tipo específico si tiene menos de 50% de hibridación cruzada con los demás en un análisis de DNA de fase líquida. Los tipos diferentes se enumeran en el orden de descubrimiento. Se ha visto que tipos individuales y grupos de tipos de VPH se relacionan con lesiones epidérmicas o mucosas específicas. Es de notar el gran número de tipos virales aislados de pacientes con epidermodisplasia verruciforme. Los pacientes con esta rarísima enfermedad suelen estar infectados por múltiples tipos de VPH que causan verrugas cutáneas diseminadas de diferente morfología y pigmentación. Se cree que la enfermedad es secundaria a un defecto congénito hasta ahora mal definido en la inmunidad mediada por células. Aunque los tipos virales que se encuentran en ésta enfermedad con toda certeza están presentes en la población general, es posible que la respuesta inmunitaria de individuos normales impida que la infección se manifieste clínicamente. Es interesante que casi 33% de los pacientes con epidermodisplasia verruciforme presentan en un momento dado carcinomas planos invasores en zonas expuestas al sol. Estos tumores contienen DNA de los tipos 5, 8, 12, 17, 20 de VPH, pero no de los demás. Por tanto, los tipos virales difieren en cuanto a potencial oncógeno. (16)

VPH 6 y 11 son los tipos que con mayor frecuencia se encuentran en verrugas genitales benignas planas y exofíticas así como en displasias de bajo grado. (7) VPH 42, 43 y 44 también pueden producir verrugas genitales, pero son menos frecuentes que el VPH 6 y el 11 y raras veces o ninguna se relacionan con carcinomas invasivos. El tipo de VPH más frecuente en displasias de alto grado y carcinomas de la mucosa del

aparato genital es VPH 16, seguido por VPH 18. Los tipos de VPH 31, 33, 35 y 39 son menos frecuentes, pero también pueden relacionarse con displasias y cánceres invasivos de los genitales externos. (16)

CICLO VITAL DEL VIRUS

Una limitación importante en la investigación del papilomavirus es la imposibilidad de infectar células en cultivo con el propósito de producir nuevas partículas virales, imposibilidad tal vez debida a la naturaleza compleja de la interacción virus-huésped, que no ha podido reproducirse en cultivo celular. El ciclo vital del papilomavirus es bastante diferente al de otros tipos de virus y un mejor conocimiento del ciclo de infección viral requerirá entender mejor la biología de la epidermis y las mucosas. En general, la infección por papilomavirus se limita al queratinocito de la epidermis. En la epidermis normal, sólo las células de la capa basal única se dividen, y parece lógico que el papilomavirus llegue hasta ellas y las infecte. Los queratinocitos de las capas más superficiales normalmente no se dividen, sino que se diferencian progresivamente conforme se acercan a la superficie del epitelio. Esto conlleva cambios secuenciales en los tipos de queratina que producen. Conforme madura el queratinocito, adquiere una forma plana, y las queratinas tienen enlaces cruzados en parte por la producción de la proteína involucrina, que coadyuva a la formación de una envoltura celular dura cornificada. (16)

Los virus del papiloma suelen inducir hiperplasia de la capa epitelial intermedia, lo que se conoce como acantosis. En las capas más

superficiales hay degeneración nuclear y, en algunas de ellas, vacuolización citoplásmica. En lesiones del aparato genital por VPH, las células con vacuolización perinuclear, hipercromasia y convolución nuclear se denominan coilocitos. En algunas de las células más superficiales se registra la síntesis de DNA viral nuevo y un alto nivel de expresión de algunos genes virales, en experimentos de hibridación in situ. Según estudios de microscopia electrónica aparecen nuevas partículas virales sólo en algunas células de las capas más superficiales. Suele ser factible detectar la proteína principal de la cápside en los coilocitos y en células disqueratóticas, cerca de la superficie epitelial o en las células superficiales . (16)

A partir de éstas observaciones se puede descubrir un modelo muy rudimentario para explicar el ciclo vital del virus. En primer lugar, infecta la célula basal. La especificidad de tipos particulares de virus para tipos específicos de epitelio puede deberse a la unión específica de una proteína de la cápside con un receptor celular. Ciertos genes virales incipientes pueden inducir proliferación de la célula basal infectada, creando así la hiperplasia que se observa en las capas celulares intermedias del epitelio. Poco después que el virus entra en la célula basal, el DNA viral puede replicarse de modo limitado y producir unas cuantas copias de DNA viral en cada célula infectada. Después de la infección inicial, puede haber una fase intermedia de replicación del DNA viral, que es estable y sincrónica con la replicación del DNA de la célula. Esta fase de la replicación del DNA viral, puede asegurar que todas las células basales hijas mantengan un número suficiente de copias, para permitir que persista la infección

posiblemente en un estado de latencia. Conforme los queratinocitos de la capa suprabasal ascienden y presentan su diferenciación terminal, un nuevo patrón de expresión del gen viral permite una replicación del DNA de muy alto nivel (llamada replicación tardía o vegetativa) y producción de la proteína de la cápside. En este punto, las partículas se ensamblan.

(16)

Un modelo de infección del cuello uterino por papilomavirus también explicaría por qué la zona de transformación parece particularmente susceptible. La célula subcolumnar de reserva, o la célula metaplásica, parecen ser el blanco de la infección, porque están en proliferación activa y relativamente expuestas al virus que penetra. Se supone que la célula subcolumnar de reserva es un precursor tanto de células glandulares endocervicales como de células planas. Puede encontrarse DNA del papilomavirus en adenocarcinomas y carcinomas epidermoides del cuello uterino. Es posible que la célula de reserva infectada sea un precursor común de todos los tipos histológicos de cáncer cervical. (16)

SUBTIPOS VIRALES

Hasta los últimos años del decenio de 1960 se creía en general que las verrugas vulgares, las verrugas planas y las verrugas genitales eran producidas por el mismo virus del papiloma, y que las diferencias en su aspecto morfológico y clínico se debían a la diversa localización anatómica. En 1969, Almeida y colaboradores señalaron la heterogeneidad de los tipos de VPH, al observar diferente reactividad de suero humano de individuos con lesiones verrucosas genitales, en comparación con aquéllos que tenían verrugas cutáneas. (3)

Utilizando las mismas técnicas de hibridación de ácidos nucleicos que demostraron con éxito el virus DNA de Epstein-Barr en los linfomas de Burkitt y el cáncer nasofaríngeo, zur Hausen empezó a estudiar virus del papiloma humano y su posible participación en carcinomas planos a principios de 1970. Los primeros datos de hibridación, publicados en 1974, sugirieron que más de un tipo de VPH produce condiloma acuminado. En 1976 se estableció la heterogeneidad genética de los papilomas, lo que condujo a Gissmann, Pfister y zur Hausen a identificar cuatro tipos de VPH diferentes, en 1977.

En el mismo año, Orth y colaboradores caracterizaron de manera independiente en París, un nuevo tipo de virus del papiloma humano que produce verrugas cutáneas. El aislamiento y la caracterización de tipos distintos de VPH de verrugas genitales se vio impedido por la escasa producción de partículas en el condiloma genital. De manera fortuita,

Gissmann y zur Hausen encontraron un raro condiloma con elevada producción de partículas, que permitió la caracterización parcial del DNA viral en 1980. Se produjo replicación del DNA de esta lesión en vectores bacterianos y se obtuvieron cantidades suficientes del DNA viral para caracterización adicional del virus, que después se denominó VPH 6, y es el virus prevalente en el condiloma acuminado. (3)

Otras investigaciones lograron después un progreso rápido en la identificación de los tipos de VPH, gracias a una técnica que, a semejanza de la replicación de DNA, se utilizó por primera vez en el laboratorio de Howley y se publicó en 1979. Este nuevo sistema aplicaba procedimientos de hibridación de bajo rigor utilizando DNA con marca radioactiva de tipos conocidos de VPH como sondas. Con este método se podían identificar tipos de éste virus relacionados pero diferentes. En 1979 en Mobile, Alabama, en una reunión sobre virus del papiloma, el autor aceptó designar a un nuevo virus del papiloma como de diferente tipo, si tenía menos del 50% de homología en su secuencia con otros virus del papiloma. A la fecha se han identificado más de 50 tipos de VPH utilizando procedimientos de hibridación de DNA. Varios tipos son de interés para los ginecólogos, entre ellos el VPH 11, aislado por Gissmann y colaboradores en 1982 de un papiloma laríngeo, mediante el uso de DNA del VPH 6 utilizado como sonda. A continuación, se observó que el VPH 11 también se encontraba en el condiloma cervical plano, en displasias de bajo grado y en condiloma acuminado de la vulva. La presencia de VPH 11 en lesiones laríngeas y genitales sugiere que la infección perinatal puede ser motivo importante de papilomas laríngeos en

niños. (3)

En 1983 ocurrió un suceso importante que relacionó al VPH con el cáncer, cuando Dürst y colaboradores identificaron DNA de VPH en cánceres cervicales, utilizando mezclas de VPH 8, 9, 10 y 11 como sondas. Las secuencias de DNA recién detectadas se replicaron y utilizaron como sondas para estudiar otros tumores por análisis de mancha de Southern bajo condiciones rigurosas de hibridación. Los nuevos tipos de VPH se denominaron 16 y 18, y posteriormente se encontraron en displasias y carcinomas de todas las regiones externas de aparato genital masculino y el femenino. Después se descubrieron tipos adicionales de VPH en rápida sucesión, de los cuales 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52 y 56, se relacionaron con displasias genitales de grado elevado y carcinomas; Se encuentran VPH 41, 42, 43 y 44 en cambios cutáneos condilomatosos blandos. (3)

El VPH 6,11,16 y 18 son los tipos comunmente asociados con lesiones genitales basado sobre la frecuencia de detección, tanto en Condilomas, Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) y Carcinomas genitales .

Se ha observado que éstos tipos de VPH como 16 y 18 se relacionan de manera importante con neoplasias malignas mientras que los tipos 6 y 11 son casi exclusivamente establecidos con lesiones benignas .

Grandes autores sugieren que las células que guardan a los tipos 16 y 18 son vulnerables a un alto riesgo de convertirse en malignas en comparación con los tipos 6 y 11 .(3)

Estos datos están en contraste con los de Hallan el cual establece que el 16 y 18 son los tipos más comunes en 131 mujeres asintomáticas ; el 31,33 y 51 se les asocia con Carcinoma anogenital y displasia leve .

La tipificación del VPH requiere estudios de hibridación de ácidos nucleicos. La hibridación in situ puede usarse para detectar tipos de VPH en relación topográfica a las características patológicas de la lesión . (3)

TEORIA Y EVOLUCION DE LA CAPACIDAD ONCOGENICA

BIOLOGIA BASICA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN EL CANCER CERVICAL

Se encuentra DNA de VPH 16 no sólo en el carcinoma invasor, sino también en todas las displasias y en algunos condilomas genitales planos de aspecto totalmente benigno. Tal vez haya una relación similar en el caso de otros virus oncógenos menos estudiados, incluyendo VPH 18, 33, 35 y 39.

Las proteínas de la cápside viral suelen detectarse mediante anticuerpos específicos de grupo en displasias de bajo grado, pero no en las de alto grado, y casi nunca en el carcinoma invasor. El ciclo vital normal del virus parece verse detenido en las displasias de alto grado y cánceres, de manera que no se forman partículas virales. Por ello, el desarrollo de una displasia de alto grado y cáncer invasor constituye para el virus una muerte biológica. La conversión de displasia leve a cáncer invasor implica múltiples pasos y tal vez es modificado por otros factores causales cuya naturaleza y participación como cocarcinógenos se conoce poco. (16)

Un paso que ocurre en etapas relativamente tempranas del proceso oncogénico es el desarrollo de anomalías en la replicación del DNA de la

célula huésped. Las células normales son diploides y las de las verrugas suelen ser poliploides, pero las displasias de alto grado y los carcinomas invasores suelen ser aneuploides. Junto con la aneuploidia, a menudo aparecen cromosomas anormales y reubicados. Estos trastornos de la replicación del DNA pueden producir mutaciones múltiples en genes celulares, y algunas de las cuales pueden activar oncogenes y motivar la evolución del proceso oncógeno. (16)

El DNA del VPH es detectable en la gran mayoría de los cánceres cervicales, y en casi todos los casos está integrado al DNA celular. Casi 33 % de los tumores también contienen cromosomas virales libres, no integrados. Esto contrasta con las verrugas benignas, en las que todo el DNA viral se encuentra como molécula libre. El análisis del DNA viral integrado en tumores demuestra que en muchos casos está interrumpido en la región temprana, en algún punto después de los marcos de lectura abierta (ORF) E 6 y E 7. En ciertos tumores, las secuencias de DNA de parte de la región temprana tienen delección, pero las ORF E 6 y E 7 aún están presentes e intactas. Esto ha llevado a la hipótesis de que los genes relacionados con E 6 y E 7 son importantes para la oncogénesis. Como se mencionó, las proteínas E 6 y E 7 se han identificado en líneas celulares de cáncer cervical. (16)

SUCESOS EN LA GENESIS DEL CARCINOMA CERVICAL POR VPH

Se sabe que los VPH 6,11,16 y 18 se encuentran en estado episomal y en forma productiva en las lesiones benignas y precancerosas; los VPH 16 y 18 se encuentran en forma no productiva e integrados al genoma celular en las células cancerosas, y generalmente amplificados en unas 5-200 copias por célula. Esto parece indicar que la integración de los tipos 16 y 18 está relacionada con el proceso de malignización de las células normales o la progresión tumoral. El DNA viral generalmente se abre en la región E1-E2 durante la inserción al DNA celular. Los sitios de inserción en el DNA celular son variados y a pesar de que no hay patrón característico, parece que ocurren en sitios frágiles. En algunas líneas celulares, derivadas de carcinomas genitales, el DNA de VPH se ha encontrado insertado cerca de oncogenes celulares, como c-myc, c-raf y c-src. Además, se ha obtenido evidencia experimental que indica que en algunos tumores de carcinomas cervicales, las secuencias del VPH 16 se encuentra muy cerca, o dentro, del oncogén c-myc; en éstos tumores, el oncogén c-myc está molecularmente alterado y presenta rearrreglos y amplificaciones. Es posible que la inserción de secuencias virales cerca de algún protooncogén celular pueda activar a estos últimos en posición cis.

(4)

La activación de secuencias celulares en cis no es obviamente el único mecanismo de transformación. En la mayoría de los carcinomas invasores y líneas celulares derivadas de Carcinoma Cervical que contienen el VPH 16 o 18, se encuentran los transcritos E6,E7* y E7; esto

sugiere que dichas regiones forman parte de un mecanismo de transformación en posición trans y son importantes para la permanencia del fenotipo maligno. El transcrito E7* (generado por el procesamiento alternativo de E7) parece ser muy importante, ya que éste no lo producen los tipos virales asociados a lesiones benignas (VPH 6 y 11). (4)

En realidad la proteína E2 es un importante regulador de la transcripción de la expresión de VPH y en su ausencia puede resultar en incremento de la expresión de los oncogenes E6 y E7 . (17,18,19)

La replicación del genoma del VPH ya sea *in vivo* o *in vitro* depende de la diferenciación de epitelios . En lesiones benignas y en lesiones intraepiteliales el genoma viral persiste como ya se mencionó en estado episomal en un número bajo de copias en células basales indiferenciadas y en un número grande de copias en células superficiales más diferenciadas. En cánceres cervicales la amplificación del VPH se correlaciona directamente con diferenciación histológica y retención de los genes virales E1/E2 . (20,21,22)

Datos clínicos y moleculares sugieren que el VPH 16 y el 18 tienen un comportamiento biológico diferente. En tumores malignos positivos para el VPH, el DNA viral del subtipo 18 está generalmente integrado dentro del genoma celular y los genes E1/E2 están siempre alterados . En carcinomas que son positivos para el VPH 16 se reporta una frecuencia de integración viral que oscila entre 30 y 70% y la alteración de los genes E1/E2 es observada más bien con frecuencia baja (36%). Además el nivel de amplificación de el genoma viral es mucho más grande que en

aquellos tumores que son positivos para VPH 16 en donde los genes virales E1/E2 están intactos, mientras que en los tumores en que son positivos los subtipos 16 y 18 del VPH los genes están alterados .

(17,23,24,25,26)

Estos datos indican que la integración y la inactivación de E2 no es esencial para el desarrollo de carcinomas asociados con VPH 16 y las preguntas sobre la amplificación abierta de el papel que juega el genoma viral durante la carcinogénesis viral . (17,20,24,26)

Se ha observado que cuando se fusionan células HeLa (línea celular derivada de un Carcinoma Cervical que contiene DNA del VPH 18 integrado) con fibroblastos normales, las células híbridas resultantes ya no presentan el fenotipo maligno. Sin embargo, después de cierto tiempo, aparecen algunas revertirantes que presentan nuevamente el fenotipo maligno; son tumorigénicas cuando son inoculadas en un ratón atímico. Estos datos sugieren la existencia, en las células normales, de un mecanismo de control negativo, relacionado con la tumorigenicidad, probablemente regulado por un factor humoral. Estos datos apoyan el concepto en el cual el desarrollo del cáncer humano se da por lesiones génicas sucesivas. (4)

Si el cáncer genital resulta de la falla de los mecanismos celulares que controlan la expresión de los genes virales persistentes, aparte de la infección por VPH se requieren de otros agentes que lesionen el DNA celular. Esto pudiera explicar la asociación de otros factores

cocarcinogénicos (virus de herpes, metabolitos mutagénicos del cigarro e inflamaciones crónicas de los genitales) encontrados en estudios epidemiológicos; además permitiría explicar los grandes períodos de latencia entre la infección primaria por el VPH y el desarrollo del tumor, y el porqué el Carcinoma Cervical se desarrolla sólo en un porcentaje pequeño de los individuos infectados. (4)

De todos los tipos descritos de VPH, sólo algunos de ellos (tipos 6,11,16,18,31,33,35) se han encontrado frecuentemente en tumores de la región genital. Los tipos 6 y 11 se han encontrado en 90-100% de lesiones benignas, en 25% de lesiones precancerosas y muy raramente (2%) en las cancerosas. Por el contrario, en 90% de los carcinomas “ in situ “ o invasores se han encontrado los tipos 16,18,31,33 y 35. De estos casos, el 50-90% corresponden a los tipos 16 y 18 (en general el tipo 16 es tres veces más frecuente que el tipo 18). (4)

Recientemente se ha encontrado que una tercera parte de los tumores de Carcinoma Cervical analizados contienen secuencias del tipo 16. En un estudio comparativo que incluyó las ciudades de México y la de Monterrey, encontramos que la prevalencia de secuencias del tipo 16 es similar en ambas poblaciones; además, encontramos que el 7% de los tumores presenta secuencias del tipo 18, y 25% otros subtipos virales. (4)

Mediante estudios de seguimiento de casos, se ha visto que la historia natural de las lesiones de cérvix varía de acuerdo al tipo viral que presentan inicialmente las personas afectadas : el 46% de las lesiones con

VPH 16, y el 27% con VPH 18, progresaron hasta carcinoma invasor, a diferencia de las que contienen el VPH 6 y 11 que sólo excepcionalmente lo hicieron. (4)

Considerando que las lesiones precursoras tardan muchos años en progresar a Carcinoma Cervical (cuando lo hacen), así como las evidencias de pacientes con epidermodisplasia verruciforme cuyas lesiones progresan a carcinoma rápidamente, se ha sugerido la participación de factores de hospedero en el desarrollo del Carcinoma Cervical. En base a experiencias clínicas y epidemiológicas, la participación de mecanismos de supresión tumoral, es decir, de elementos capaces de mantener controlada la expresión de los oncogenes virales; recientemente se han descrito algunas proteínas celulares antioncogénicas que parecen desempeñar productos virales. (4)

Se puede suponer, considerando el elevado número de mujeres VPH-positivas con frotis de papanicolau normales, que en la mayor parte de los casos la infección por virus del papiloma humano no origina la formación de una lesión manifiesta desde el punto de vista clínico, sino que el virus se mantiene en un estado latente dentro del epitelio infectado. Por otro lado, estudios de compañeros sexuales demuestran la naturaleza infecciosa de las lesiones inducidas por papilomavirus, como la neoplasia intraepitelial del pene, la vulva o el cuello uterino. No se sabe en qué circunstancias una infección de un tipo dado de VPH induce una proliferación epitelial productora de virus visible, o simplemente latencia viral, y si en todos los casos el virus se mantiene después de desaparecer la lesión. (27)

Como se describió, las proteínas E 6 y E 7 del virus del papiloma humano pueden influir en la evolución de displasia a carcinoma. Dentro del grupo de células epiteliales portadoras de DNA de VPH puede ocurrir integración al azar del DNA viral con cierta frecuencia, que parece aumentar bajo el efecto de carcinógenos. La integración en la posición " correcta " por ejemplo, dentro de el armazón de lectura abierta E 2, se considera prerrequisito para la expresión constante de los genes E 6/ E 7 y llevaría a la expansión clonal de esa célula particular. La expresión viral temprana, junto con la proliferación celular, también pudiera ocurrir por exposición a hormonas esteroideas (como ocurre en usuarias de anticonceptivos orales por tiempo prolongado) o por falla del sistema inmunitario. Tales sucesos simplemente aumentarían el grupo de células que permiten el proceso de integración crítica del DNA de VPH y hacen independiente a la célula respectiva, de otros efectos. Sin embargo, las células en proliferación se mantienen aún bajo control de los productos del gen represor celular mencionado. Sólo su inactivación lleva finalmente a un crecimiento celular sin control. No se sabe si los oncogénes celulares influyen en este asunto, aunque se encontró que el gen myc se amplifica y superexpresa en múltiples muestras de biopsia de cáncer cervical. Además, puede observarse un efecto cooperativo entre el gen activado ras y el VPH 16 en la transformación de células primarias de roedor in vitro. (27)

NECESIDAD DE COFACTORES

A pesar de que los virus del papiloma humano tienen una participación importante en el desarrollo de tumores, también se sabe que la infección viral en sí no es suficiente para inducir cáncer cervical. La conversión maligna de una célula epitelial normal depende de factores adicionales, algo que se apoya en la observación de que el desarrollo de cáncer cervical a partir de una célula infectada por virus del papiloma humano es un proceso muy raro y lento. (27)

1.- El intervalo entre la infección primaria con virus del papiloma humano genital (que ocurre en la edad de mayor actividad sexual) y la aparición de tumores, suele ser de varios decenios.

2.- Estudios epidemiológicos indican que la prevalencia de las infecciones genitales con virus del papiloma humano (relacionadas con el cáncer) es al menos de 10-30 %, en tanto que en países occidentales el riesgo de que una mujer presente cáncer cervical en toda su vida es menor de 1 %.

3.- Los tumores malignos son monoclonales, es decir, surgen de una sola célula. Por ello, sólo una o unas cuantas del supuesto grupo muy numeroso de células positivas a VPH en el epitelio cervical infectado escapan del control normal del crecimiento celular . (27)

La naturaleza de los cofactores postulados no está bien definida y hoy su modo de acción es sólo objeto de especulación.

1.- Hay un mayor riesgo de aparición de cáncer cervical en mujeres que fuman, y se pueden aislar sustancias mutágenas de su líquido vaginal. También pueden producirse nitrosaminas de las tricomonas por ciertos microorganismos que habitan la parte inferior del aparato genital de mujeres sexualmente activas, las cuales tienen un riesgo particular de cáncer cervical.

Como se mencionó, se observa constantemente la integración específica del DNA del virus papiloma humano en biopsias del cáncer cervical y en líneas de células establecidas, por lo que se cree que es requisito para el crecimiento de células malignas. (27)

Puede especularse que los sucesos de mutación activan los sistemas de reparación del DNA celular que incluyen fragmentación y reconstitución del mismo. Parece posible que al mismo tiempo se desencadenen los sucesos de recombinación que favorecen la integración de DNA extraño al genoma del huésped. Además, el análisis de híbridos celulares de células malignas HeLa y fibroblastos o queratinocitos normales respectivamente, revela que el fenotipo transformado puede suprimirse por un producto (o productos) genético presente en células normales. Experimentos recientes sugieren que este factor actúa por regulación descendente de la expresión genética del virus del papiloma humano. Por tanto, el desarrollo de un tumor maligno a partir de una célula infectada por VPH se ve favorecido si se expone a estas células constantemente a mutágenos y se inactiva el gene celular respectivo. (27)

2.- Parece haber una mayor prevalencia de verrugas genitales en el embarazo. En frotis cervicales obtenidos de embarazadas se detectan virus del papiloma humano con una frecuencia casi triple que en el de muestras obtenidas de pacientes no embarazadas. Además, el embarazo múltiple y el uso prolongado de anticonceptivos orales se consideran factores de riesgo de cáncer cervical. El estado hormonal alterado pudiera entonces tener un impacto directo sobre la expresión del virus del papiloma humano. En los genomas de VPH 16 y VPH 18 se han identificado diversas homologías con las secuencias de DNA, que se sabe responden a glucocorticoides. Una de estas secuencias se activó después de tratamiento hormonal, y hubo una tasa elevada de expresión temprana del gen viral, aunada a mayor actividad de crecimiento en una línea celular de cáncer positiva a VPH 18 bajo tratamiento con dexametasona. (27)

3.- Además de la influencia hormonal, la inmunosupresión temporal que ocurre en el embarazo pudiera también representar un factor importante al permitir que una célula VPH-positiva escape de la vigilancia inmunitaria regular. La mayor prevalencia de tumores benignos y malignos relacionados con VPH en pacientes inmunosuprimidos demuestra que el sistema inmunitario tiene una influencia crítica en el desarrollo de tumores. (27)

GEN P 53

El gen supresor de tumor p53 se encuentra de manera muy frecuente como factor relacionado en carcinoma cervicouterino. Originalmente se descubrió en 1970 como una fosfoproteína nuclear y actualmente el p53 ha emergido como un gen alterado en cánceres humanos. La mutación de éste mismo ocurre en aproximadamente la mitad de todos los cánceres humanos. Cuando interactúa con oncoproteínas o proteínas agresivas se reprime y queda como un gen supresor de tumores. Esta mutación del gen parece ser el mecanismo predominante de la inactivación del p53 en carcinomas asociados con tabaco como el carcinoma de pulmón, esófago y cervico uterino. Esto se ha corroborado por experiencias clínicas y epidemiológicas sobre la participación de mecanismos de supresión tumoral, es decir, de elementos capaces de mantener controlada la expresión de los oncogenes virales, los cuales al alterarse o mutarse suprimen su función y se involucran en la génesis tumoral. (28,29,30,31)

CONCLUSIONES

El virus del papiloma humano presenta un problema multidimensional para los ginecólogos y urólogos. La incidencia de la infección por el virus del papiloma humano, se ha incrementado de tal forma que actualmente es la infección viral más frecuente del aparato genital. En particular la infección cervical por virus del papiloma humano se ha considerado como una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes en nuestro medio. En adición la infección por el virus del papiloma humano a nivel genital es asociada con displasia cervical y puede ser cofactor en el desarrollo de cáncer cervical. (6)

La detección temprana de la infección es crucial en las estrategias de prevención de las enfermedades de transmisión sexual. Esta puede ser hecha por un diagnóstico clínico basado en síntomas y signos, confirmándolo por medio de pruebas específicas, así como examinar a su pareja sexual. (6)

El Virus del papiloma humano se transmite por contacto sexual, pero no se ha precisado el mecanismo exacto de infección a nivel de la interacción virus-célula del huésped. Existen también factores de riesgo como lo son personas sexualmente activas de 20 a 24 años, más frecuente en la raza blanca que en la negra, promiscuidad sexual, uso de anticonceptivos orales y el hábito de fumar. (5)

Se mencionan como otras vías de contaminación a la transmisión materno-fetal, a los vapores generados durante el tratamiento de ablación con laser CO₂ (papilomatosis laríngea) y a mutación de genes supresores de tumores . (5)

La familia de los papovavirus incluye los papilomavirus, todos los papovavirus son físicamente semejantes, pero los papilomavirus poseen características similares. Tienen una estructura de icosaedro compuesta de 72 capsómeros proteínicos que rodean al genoma viral. El papiloma es un virus pequeño de DNA que induce una variedad de lesiones epiteliales proliferativas (papilomas) en humanos y otros mamíferos. Los análisis de la secuencia del DNA de los papilomavirus sugieren una organización similar en el genoma que los demás tipos de virus. La infección por virus del papiloma humano se piensa ocurre a través de las pequeñas heridas del epitelio, con respuesta de las células basales a la entrada del virus. (1)

La caracterización de los tipos de VPH ha permitido identificar los VPH tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39 y 42 relacionados con localizaciones anogenitales, y se consideran de alto riesgo los tipos 16, 18, 31, 33 y 35. Se ha encontrado una tendencia del virus del papiloma humano tipo 16 en el carcinoma de pene. También se ha encontrado virus del papiloma humano tipo 13 en cavidad oral asociado exclusivamente con hiperplasia focal epitelial. Recientemente, los tipos 6, 11, 16 y 18, han sido hallados en diferentes tipos de lesión oral. (6)

Los tipos 6 y 11 se han encontrado en 90-100 % de lesiones benignas, en 25 % de lesiones precancerosas y muy raramente (2 %) en las cancerosas. Por el contrario, en 90 % de los carcinomas “ in situ “ o invasores se han encontrado los tipos 16, 18, 31, 33 y 35. De estos casos, el 50-90 % corresponden a los tipos 16 y 18 (en general del tipo 16 es tres veces más frecuente que el tipo 18). (30)

Se han acumulado cada vez más datos que indican que los papilomavirus del ser humano intervienen en la génesis de cánceres epiteliales, los del cuello uterino y vulva en mujeres, y carcinoma de células escamosas en el pene de varones. (1)

Mediante estudios de seguimiento de casos, se ha visto que la historia natural de las lesiones de cérvix varía de acuerdo al tipo viral que presentan inicialmente las personas afectadas : el 46 % de las lesiones con VPH 16, y el 27 % con VPH 18, progresaron hasta carcinoma invasor, a diferencia de las que contienen el VPH 6 y 11 que sólo excepcionalmente lo hicieron. (30)

Considerando que las lesiones precursoras tardan muchos años en progresar a Carcinoma Cervicouterino (cuando lo hacen), así como las evidencias de pacientes con epidermodisplasia verruciforme cuyas lesiones progresan a carcinoma rápidamente, se ha sugerido la participación de factores de hospedero en el desarrollo del Carcinoma Cervicouterino. Se ha indicado, en base a experiencias clínicas y epidemiológicas, la

participación de mecanismos de supresión tumoral, es decir, de elementos capaces de mantener controlada la expresión de los oncogenes virales; recientemente se han descrito algunas proteínas celulares antioncogénicas que parecen desempeñar productos virales. (30)

BIBLIOGRAFIA

- 1.-Birley H.D.L. : Human papillomavirus, cervical cancer and the Developing World . *Annals of Tropical Med. and Parasit.* 1995 ; 89 : 453
- 2.- Von der Meden Alarcón J.W., Ruiz Moreno J.A. y col: Correlación cito-colposcópica-histopatológica de lesiones cervicales preinvasoras e infección cervical por virus del papiloma humano . *Ginec. Obst. Mex.* 1995; 63:365 .
- 3.- Krebs H.B.: Infección Genital por Papilomavirus Humano . *Clinicas Obstetricas y Ginecológicas* 1989; 1: 105 .
- 4.- García-Carrancá A., Gariglio P. V. : Aspectos moleculares de los papilomavirus humanos y su relación con el cáncer cérvico-uterino. *Rev. Inv. Clin.* 1993; 45: 85 .
- 5.- Stone K.M.: Infección Genital por Papilomavirus Humano. *Clinicas Obstetricas y Ginecológicas* 1989; 1: 111
- 6.- Garfias Cano R., Villarreal P.,Juarez Azpiculeta A.: Conceptos actuales sobre la infección por virus del papiloma humano . *Ginec. Obst. Méx.* . 1995; 63: 509 .

- 7.- Lazcano-Ponce E. C., Hernandez-Avila M. y col. : Factores de riesgo reproductivo e historia de vida sexual asociados a cáncer cervical en México. *Rev. Invest. Clin.* 1995; 47 : 377 .
- 8.- Repper Camacho F. Carranza-Lira S. y col : Factores alterados en el estudio de la pareja estéril en mujeres con infección por virus del papiloma humano . *Ginec. Obst. Mex.* 1995; 63 : 502
- 9.- Brown D. R., Bryan J.T.y col.: Detection of Multiple Human Papillomavirus Types in Condyloma Acuminata from Immunosuppressed Patients. *The Journal of Infect. Diseases.* 1994 ; 170: 759 .
- 10.- Rose B. R., Thompson C. H. y col. : Human papillomavirus deoxyribonucleic acid as a prognostic indicator in early-stage cervical cancer : A possible role for type 18 . *Am. J. Obstet. Gynecol.* : 1995 ; 173 1461 .
- 11.- Wang P.D., Lin S.R. : Risk Factors for Cervical Intraepithelial Neoplasia in Taiwan. *Gynec. Oncol.* 1996 ; 62 : 10 .
- 12.- Gonzalez Sanchez JL, Rodriguez de Santiago J.D. y col. El índice colposcópico combinado como método diagnóstico en la infección por papilomavirus humano y la neoplasia intraepitelial cervical. *Ginec. Obst. Mex.* 1993; 61:72-75 .

- 13.- Pater M.M., Mittal R, Pater A. : Role of steroid hormones in potentiating transformation of cervical cells by human papillomaviruses. Trends in Microbiol. 1994 ; 2 : 229 .

- 14.- Wideroff L.,Schiffman M.H., Hoover R. y col. : Epidemiologic Determinants of Seroreactivity to Human Papillomavirus Type 16 Virus-Like Particles in Cervical HPV-16 DNA-Positive and- Negative Women . The Journal of Infect. Diseas. 1996; 174 : 937 .

- 15.- Wheeler C.M., Greer C.E., Becker T.M. y col. : Short-term Fluctuations in the Detection of Cervical Human Papillomavirus DNA . Obst. and Gynecol. 1996; 88: 261 .

- 16.- Smotkin D. : Infección Genital por Papilomavirus Humano. Clinicas Obstetricas y Ginecológicas 1989; 1 : 117 .

- 17.- Berumen J., Unger E.R., Casa L. y col. : Amplification of Human Papillomavirus Types 16 and 18 in Invasive Cervical Cancer. Human Pathology . 1995 ; 26 : 676 .

- 18.- Fujinaga Y., Okazawa K., Nishikawa A. y col. : Sequence Variation of Human Papillomavirus type 16 E7 in Preinvasive and Invasive Cervical Neoplasias. Virus Genes . 1994 ; 9 : 85 .

19.- McNicol P., Guijon F., Wayne S. y col. : Expression of Human Papillomavirus type 16 E6-E7 Open Reading Frame Varies Quantitatively in Biopsy Tissue from Different Grades of Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Journal of Clin. Microbiol.* 1995 ; 33 : 1169 .

20.- Straight S.W., Herman B., McCance D.J. : The E5 Oncoprotein of Human Papillomavirus Type 16 Inhibits the Acidification of Endosomes in Human Keratinocytes. *Journal of Virology.* 1995; 69: 3185 .

21.- Van Belkum A., Juffermans L., Schrauwen L. y col. : Genotyping Human Papillomavirus Type 16 Isolates from Persistently Infected Promiscuous Individuals and Cervical Neoplasia Patients. *J. of Clin. Microbiol.* 1995 ; 33 : 2957 .

22.- Routes J.M., Ryan S. : Oncogenicity of Human Papillomavirus- or Adenovirus- Transformed Cells Correlates with Resistance to Lysis by Natural Killer Cells. *Journal of Virology.* 1995 ; 69 : 7639 .

23.- Berumen J., Casas L., Segura E. y col. : Genome Amplification of Human Papillomavirus Types 16 and 18 in Cervical Carcinomas is Related to the Retention of E1/E2 Genes. *Int. J. Cancer.* 1994 ; 56 : 640 .

24.- Ullman C.G., Haris P.I., Kell B. y col. : Hypothetical structure of the membrane-associated E5 oncoprotein of Human papillomavirus type 16 . *Biochem. Soc. Trans.* 1994 ; 22 : 439S .

- 25.- Namkoong S. E. : Clinical application of HPV typing in cervical cancer. *Gynecol. Obstetr.* . 1995 ; 49 Suppl. : S59.
- 26.- Dong X-P., Stubenrauch F., Beyer-Finkler E. y col. : Prevalence of Deletions of YY1-Binding Sites in Episomal HPV 16 DNA From Cervical Cancers. *J. Cancer.* 1994 ; 58: 803 .
- 27.-Gissmann Lutz. *Infección Genital por Papilomavirus Humano. Clinicas Obstetricas y Ginecológicas* 1989;1: 137 .
- 28.- Brachman D.G. : *Molecular Biology of Head and Neck Cancer* . *Seminars in Oncology* . 1994 ; 21 : 320 .
- 29.- Craigio J., Hopkins M., De Lucia A. : Uterine Cervix Adenocarcinoma with both Human Papillomavirus Type 18 and Tumor Suppressor Gene p53 Mutation from a Woman Having an Intact Hymen. *Gynecol. Oncolog.* 1995 ; 59 : 423 .
- 30.- Rangel L.M., Ramirez M., Torroella M. : *Multistep Carcinogenesis and Genital Papillomavirus Infection. Implications for Diagnosis and Vaccines.* *Arch. Med. Reser.* 1994 ; 25 : 265
- 31.- Oliveira, Frugulhetti, Passos, y col. : Human Papillomavirus Detection in Genital Lesions by in Situ Hybridization and Ultrastructural Observations . *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* . 1994 ; 89 : 195 .