

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA  
Y MEDICINA PREVENTIVA**

**DOCTORADO EN SALUD PUBLICA Y METODOLOGÍA  
DE LA INVESTIGACIÓN BIOMEDICA**

**El cáncer cervical como problema de salud pública  
en mujeres mexicanas y su relación  
con el virus de papiloma humano.**

**Maura Sara Castañeda Iñiguez**

**Director de Tesis: Dr. Mauricio Hernández Ávila.  
Tutor: Dr. Josep Vaqué Rafart**

*El esqueleto de la ciencia son los hechos,  
pero los músculos y los nervios  
son el significado que se les confiere,  
y el alma de la ciencia son las ideas.*

*Ruy Pérez Tamayo*

## Agradecimientos

---

*El camino para llegar a este momento, el de leer la tesis, ha sido largo y algunas veces tortuoso, sin embargo, ahora se que ha valido la pena. Con toda certeza, lo mejor ha sido conocer y tratar a personas excepcionales, de todas aprendí, de todas recibí una palabra apoyo.*

*En primer lugar quiero agradecer a mi director de tesis, el Dr. Mauricio Hernández su valioso apoyo.*

*Reciba también mi más sincero agradecimiento el Dr. Joseph Vaqué por su paciencia y amabilidad.*

*A Silvia de Sanjosé a quien no solo agradezco todo su apoyo, sino le doy las gracias por brindarme su amistad.*

*Mi reconocimiento al Instituto de Cooperación Iberoamericana porque sin su apoyo no hubiese sido posible llegar hasta aquí.*

*A todos los que me brindaron su amor y su confianza, familiares y amigos, muchas gracias!!!*

---

## INDICE GENERAL

Índice de Tablas	II
Índice de Figuras	III
Presentación	1
Capitulo 1. Introducción	13
1.1. El impacto del cáncer cervical en el mundo	13
1.1.1 Incidencia	13
1.1.2 Tendencias temporales	15
1.1.3 Mortalidad	17
1.1.4 El peso de la enfermedad en México	19
1.1.5 Historia natural del cáncer cervical	23
1.1.6 Patología del cáncer cervical	25
1.1.7 Etapificación clínica	27
1.1.8 Clasificación por tipo histológico	28
1.2. Virus de papiloma humano	30
1.2.1 Estructura y biología molecular del VPH	30
1.2.2 Propiedades de los virus de papiloma	31
1.2.3 Taxonomía	34
1.2.4 Caracterización molecular de VPH y distribución de tipos virales	34
1.2.5 El ciclo de los VPH en los epitelios en diferenciación	36
1.2.6 Clasificación de virus de papiloma humano por riesgo oncogénico	36
1.2.7 Historia natural de la infección por el VPH	37
1.2.8 Mecanismos de carcinogénesis del VPH	40
1.2.9 Epidemiología de la infección por el VPH	41
1.2.9.1. Prevalencia de VPH en mujeres con y sin patología cervical	42
1.2.9.2 Prevalencia de VPH 16 en mujeres con y sin patología cervical	42
1.2.9.3 Prevalencia de VPH por grupo de edad	43
1.2.9.4 Prevalencia por tipo de VPH, según grupo de edad	44
1.2.9.5 Prevalencia en casos y en controles por tipo de VPH	44
1.2.9.6 Prevalencia por tipo Histológico	47
1.3 El virus del papiloma humano en la etiología del cáncer cervical	52
1.3.1 VPH y cáncer cervical (evolución histórica)	52
1.3.2 El rol del VPH en la etiología del cáncer cervical	53
1.3.3 Cofactores del VPH	55
1.3.3.1 Factores ambientales	56
1.3.3.2. Factores no ambientales	62
Capitulo 2. Preguntas de investigación y objetivos	66
Capítulo 3. Metodología	69
Capítulo 4. Resultados	73
4.1 Determinación del virus de papiloma humano 16/18 utilizando reacción en cadena de la polimerasa fluorescente múltiple en biopsias de mujeres mexicanas con neoplasia cervical.	75
4.2 Frecuencia, tipos y cofactores del VPH en la etiología de la neoplasia cervical en mujeres del Estado de Morelos	75

4.2.1 Características sociodemográficas y reproductivas	75
4.2.2 Frecuencia por tipo del VPH en mujeres de Morelos	77
4.2.3 Virus de papiloma humano asociado a neoplasia cervical	80
4.2.4 Asociación entre factores de riesgo y lesiones de bajo grado	80
4.2.4 Asociación entre factores de riesgo y lesiones de alto grado y cáncer cervical	81
Capítulo 5. Discusión	83
Capítulo 6. Conclusiones generales y resumen	91
Capítulo 7. Bibliografía	93

<b>INDICE DE TABLAS</b>	<b>III</b>
Tabla 1. Tasa de Incidencia del cáncer de cuello uterino, por región, 2000	14
Tabla 2. Frecuencia relativa y tasas de Incidencia, cinco principales localizaciones tumorales en mujeres en el ámbito mundial, 1998	14
Tabla 3. Tasas de Incidencia del cáncer de cuello uterino por grupos de edad a nivel mundial, Países desarrollados y en desarrollo, 1998	15
Tabla 4. Tasa de Incidencia del cáncer de cuello uterino por grupos de edad, países de América Latina, EUA y Canadá, 1998	16
Tabla 5. Tendencias temporales del cáncer de cuello uterino en algunos registros seleccionados	16
Tabla 6. Frecuencia relativa y tasa de mortalidad, cinco principales localizaciones tumorales en mujeres en el ámbito mundial 1998	17
Tabla 7. Tasas de mortalidad por cáncer del cuello uterino. Ámbito mundial, países desarrollados y en desarrollo, 1998	18
Tabla 8. Tasas de mortalidad del cáncer del cuello uterino estandarizadas por edad, por región, 2000	18
Tabla 9. Tasas de mortalidad del cáncer del cuello uterino por grupos de edad, países de América Latina , EUA, Canadá, 1998	19
Tabla 10. Cinco principales causas de mortalidad general en Mujeres en México, 2001	20
Tabla 11. Tasa de Mortalidad por cáncer del cuello uterino, República Mexicana, 2002	21
Tabla 12. Porcentaje de regresión y progresión en NIC, II,III	25
Tabla 13. Clasificación histológica de tumores epiteliales del cérvix	28
Tabla 14. Función de distintas regiones del genoma del virus de papiloma humano	32
Tabla 15. Taxonomía de virus del papiloma humano	35
Tabla 16. Clasificación filogenética y epidemiológica de tipos de virus de papiloma humano	37
Tabla 17. Porcentaje de persistencia de infección por virus de papiloma humano	40
Tabla 18. Porcentaje de regresión y progresión de infección por virus del papiloma humano	41
Tabla 19. Prevalencia global del virus de papiloma humano en cáncer cervical	43
Tabla 20. Prevalencia global del virus de papiloma humano en neoplasia cervical	44
Tabla 21. Prevalencia global del virus de papiloma humano en mujeres sanas	45
Tabla 22. Prevalencia del virus de papiloma humano en estudios de casos y controles	46

Tabla 23. Prevalencia del virus de papiloma humano 16 en cáncer cervical	46
Tabla 24. Prevalencia de virus de papiloma humano 16 en mujeres con neoplasia cervical	47
Tabla 25. Prevalencia del virus de papiloma humano 16 en mujeres sanas	48
Tabla 26. Prevalencia del virus de papiloma humano por grupos de edad	49
Tabla 27. Prevalencia por tipo de virus de papiloma humano, según grupo de edad	50
Tabla 28. Prevalencia en casos y en controles por tipo de virus de papiloma humano	51
Tabla 29. Prevalencia del virus del papiloma humano según tipo histológico	52
Tabla 30. Riesgo de cáncer cervical por tipo de virus de Papiloma humano	55
Tabla 31. Cofactores de VPH asociados a cáncer cervical en mujeres VPH positivas. Resultados del estudio multicentrico de casos y controles	56
Tabla 32. Características Sociodemográficas y reproductivas de las mujeres del estudio de Prevalencia de virus de papiloma humano 16-18 en México	73
Tabla 33. Frecuencia (%) de los virus de papiloma humano 16 y 18 en cáncer invasor, por región, en mujeres mexicanas, 2000	74
Tabla 34. Frecuencia (%) de los virus de papiloma humano 16 y 18 en lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado, por región, en mujeres mexicanas, 2000	74
Tabla 35. Características sociodemográficas de las mujeres VPH positivas del estado de Morelos, México	76
Tabla 36. Características reproductivas de las mujeres VPH positivas del estado de Morelos, México	77
Tabla 37. Distribución porcentual por tipo de VPH en mujeres del estado de Morelos, México	78
Tabla 38. virus de papiloma humano asociado a neoplasia cervical en mujeres del Estado de Morelos	80
Tabla 39. Factores de riesgo para LIEBG* en mujeres VPH positivas del Estado de Morelos	81
Tabla 40. Factores de riesgo para LIEAG*/cáncer cervical en mujeres VPH positivas del Estado de Morelos	82

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	IV
Figura 1. Tasas estandarizadas de incidencia a nivel mundial del cáncer del cuello uterino, 2000	15
Figura 2. Tasas estandarizadas de mortalidad a nivel mundial del cáncer del cuello uterino, 2000	18
Figura 3. Tendencias en la mortalidad por cáncer del cuello uterino en América, 1968-1995	19
Figura 4. Tasas específicas de mortalidad por cáncer del cuello uterino por edad en América, 2000	20
Figura 5. Distribución porcentual de los tumores malignos en Mujeres, México 2001	21
Figura 6. Tasa de mortalidad para tumores de cuello del útero, México, 2002	22
Figura 7. Distribución proporcional de la mortalidad por tumores del cuello del útero, por grupo de edad, México 2001	22
Figura 8. Mortalidad por cáncer cérvico uterino en México	23
Figura 9. Historia natural del cáncer cervical	24
Figura 10. Terminología usada en anormalidades cervicales	26
Figura 11. virus del papiloma humano	30
Figura 12. Árbol filogenético de virus de papiloma humano	30
Figura 13. Integración viral	32
Figura 14. Historia Natural de la infección por virus de papiloma humano	39
Figura 15. Participación del VPH en la evolución del cáncer cervical	39
Figura 16. Posibles mecanismos de carcinogenesis	41
Figura 17. Distribución por regiones de los estados participantes en el estudio de prevalencia de virus de papiloma humano 16 y 18	69
Figura 18. Distribución regional de la frecuencia (%) del virus de papiloma humano 16 y 18 en mujeres mexicanas con cáncer cervical invasor por Región, en mujeres mexicanas, 2000	74
Figura 19. Distribución regional de la frecuencia (%) del virus de papiloma humano 16 y 18 en mujeres mexicanas con Neoplasia Intraepitelial cervical II, III por Región, en mujeres mexicanas, 2000	74
Figura 20. Distribución regional por tipo histológico en mujeres mexicanas con cáncer cervical invasor	75
Figura 21. Distribución regional por tipo histológico en mujeres mexicanas con Neoplasia Intraepitelial cervical II, III	75
Figura 22. Distribución porcentual por grupos de edad y tipo del virus de papiloma humano en mujeres del estado de Morelos, México	109

Figura 22. Distribución porcentual por grupos de edad y principales tipos del virus de papiloma humano en mujeres del estado de Morelos, México

79

Figura 23. Distribución porcentual por grupos de edad y tipo del virus de papiloma humano en mujeres del estado de Morelos, México

79

## Capítulo 1. Introducción

### 1.1. El impacto del cáncer cervical en el mundo

El cáncer cervical (CC) es, en el ámbito mundial, el segundo cáncer entre las mujeres, siendo precedido por el cáncer de mama, con tasas de incidencia en rangos que van de 3.8 por 100,000 mujeres por año en Israel, a 48.2 por 100,000 mujeres por año en Colombia (Haverkos *et al*, 2000). Es el tumor más común en el conjunto de países en desarrollo, mientras que ocupa el décimo lugar en los países desarrollados. En el año 2000 se presentaron aproximadamente 470,606 casos incidentes y alrededor de 233,372 muertes al año por esta enfermedad (Ferlay *et al*, 2001). Cuando se contemplan los dos sexos juntos el cáncer de cuello uterino ocupa el sexto lugar en el ámbito mundial, precedido por los cánceres de mama, pulmón, estómago, colorectal y próstata (Pisani *et al*, 1999)

El cáncer cervical afecta, en los países de alto riesgo, a un número substancial de mujeres en edades reproductoras y laboralmente activas con acceso limitado a actividades de detección, diagnóstico precoz o tratamiento. En contraste, en los países desarrollados y en períodos recientes, apenas se producen casos antes de los 30 años de edad, ya que la práctica de detección oportuna de lesiones pre-neoplásicas ha entrado a formar parte de las rutinas ginecológicas, y la terapéutica de las lesiones precoces ha mejorado sensiblemente el pronóstico de las mujeres con estos diagnósticos (Gustafsoon *et al*, 1997).

La tendencia secular del CC en los países desarrollados ha sido decreciente desde la década de 1940. No obstante, las razones de esta tendencia no están plenamente determinadas. En algunas zonas, la práctica de la detección sistemática ha tenido ciertamente una influencia en esta tendencia, por ejemplo, en los países nórdicos y Canadá. En otros países, el descenso en la incidencia y la mortalidad

por este tumor han ocurrido paralelamente a la mejora en la calidad asistencial médica y al desarrollo de los sistemas de seguridad social y podría presumiblemente atribuirse al incremento en el número de citologías cervicales realizadas en conexión con otras actividades médicas y sanitarias (Jacobs *et al*, 2000, Parkin *et al*, 1997). A pesar de esta tendencia general, en algunos países, como Inglaterra, País de Gales, Australia, Nueva Zelanda, Países Nórdicos y ciertas áreas de Estados Unidos de América (EUA), se ha detectado, a partir de los años 60, un aumento en la incidencia por cáncer cervical limitado a las mujeres menores de 40 años de edad, que podría ser real o estar reflejando un aumento de detección por el uso de nuevas técnicas diagnósticas o por un aumento en la frecuencia de los adenocarcinomas. En Inglaterra se identificó este aumento como consecuencia de fallas importantes en el programa nacional de detección (Patnicck *et al*, 1997; Gibson *et al*, 1997; Quinn *et al*, 1999).

#### 1.1.1 Incidencia

Antes de entrar en el tema es necesario hacer hincapié en las siguientes consideraciones: En los países desarrollados, los registros de tumores producen información regular sobre la incidencia global y específica por grupos de edad para el cáncer cervical (dichos registros mantienen controles de calidad con relación a la verificación histológica de los diagnósticos y a la distinción topográfica entre los tumores de origen endometrial, los tumores cervicales y los tumores de la cavidad vaginal), asimismo, los registros de estadísticas vitales producen datos de mortalidad y censos de población, con lo que la información disponible resulta suficiente para establecer la frecuencia y el impacto de esta (y de cualquier otra) enfermedad tumoral en el ámbito de la comunidad.

En los países en desarrollo, la situación es claramente distinta. Los registros de tumores son escasos y cubren fracciones muy limitadas

de su población total de referencia, las estadísticas de mortalidad son muy deficientes o no existen y lo mismo cabría decir de los censos de población. En este segundo escenario, la estimación del impacto del cáncer de cuello debe hacerse mediante extrapolaciones de la escasa información disponible. A pesar de estas limitaciones, es importante tratar de estimar el impacto global del cáncer de cuello utilizando para ello todas las fuentes de datos disponibles (Parkin *et al*, 1984, 1988, 1993).

La Tabla 1 muestra las tasas estandarizadas por edad de incidencia del CC en distintas regiones del mundo, observándose que la Región de Latinoamérica y el Caribe sólo es superada con relación a tasas de incidencia de CC, por la Región Este de África, y en donde el Asia Occidental y Australia son las Regiones con tasas de incidencia más baja.

**Tabla 1**

<b>Tasa de Incidencia del cáncer de cuello uterino, por Región, 2000</b>	
<b>Región</b>	<b>Tasa*</b>
África del Este	44.32
África Central	25.08
África Norte	16.77
Sudáfrica	30.32
África Occidental	20.28
Caribe	35.78
América Central	40.28
América del Sur	30.92
Norteamérica	7.88
Asia del Este	6.44
Sureste de Asia	18.26
Sur-Centro de Asia	26.47
Asia Occidental	4.77
Este de Europa	16.81
Norte de Europa	9.84
Sur de Europa	10.18
Europa Occidental	10.43
Australia	7.72
Malasia	43.81
Micronesia	12.31
Polinesia	28.98

Fuente: Ferlay, J. Globocan 2000. International Agency for Research on Cancer

\*Tasa ajustada por edad por 100,000 mujeres

En la mayor parte del continente africano, Centro y Sudamérica, así como en la gran parte del continente asiático (excluyendo el Japón) el cáncer de cérvix representa de 20 a 30% de todos los cánceres femeninos. Las cifras correspondientes para Norteamérica, Europa Occidental y Australia oscilan entre el 4 y 6 %. Los países de Europa del Este ocupan una posición intermedia (IARC,1995).

En la mayor parte del continente africano, Centro y Sudamérica, así como en la gran parte del continente asiático (excluyendo el Japón) el cáncer de cérvix representa de 20 a 30% de todos los cánceres femeninos. Las cifras correspondientes para Norteamérica, Europa Occidental y Australia oscilan entre el 4 y 6 %. Los países de Europa del Este ocupan una posición intermedia (IARC,1995).

La Tabla 2 muestra la frecuencia relativa de los tumores de la mujer por localizaciones tumorales según estimación mundial para 1998 (Ferlay *et al*. 1998). El cáncer de cuello uterino contribuye con 9.8% de todos los tumores femeninos y es el tercero en importancia después del cáncer de mama y colon/recto en números absolutos, mientras que cuando se contemplan las tasas estandarizadas por edad (TEE) ocupa el segundo lugar (TEE=15,4) después del cáncer de mama (TEE= 33,0). El número total de nuevos

**Tabla 2**

**Frecuencia relativa y tasas de incidencia, cinco principales localizaciones tumorales en mujeres en el ámbito mundial, 1998**

<b>Localización</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>TEE</b>
Mama	794,751	33.0
Cervix	369,374	15.4
Colon/Recto	380,816	15.3
Estómago	287,106	11.6
Pulmón	265,064	10.8
Total	3,782,881	

Fuente: Ferlay, J. International Agency for Research on Cancer World Health Organization 1998 TEE= Tasa x 100,000 estandarizada por edad con la población mundial

casos de cáncer de cuello esperados para este año (Tabla 3) era, según está estimación de 369,374, de los que 83,279 se presentaron en países desarrollados y el resto en países en vías de desarrollo.

Los grupos de edad más afectados por el CC fueron los de 45-64 años, sin embargo, existen diferencias entre los países desarrollados y en desarrollo, ya que en los primeros las mujeres de más de 65 años son las que soportan el mayor peso de la enfermedad, mientras que en los segundos son las mujeres más jóvenes las que lo hacen (Tabla 3).

**Tabla 3**

**Tasas de incidencia del cáncer de cuello uterino por grupos de edad a nivel mundial, países desarrollados y en desarrollo, 2000**

	Casos nuevos	15-44	45-54	55-64	> 65	ASR
Mundial	470,606	9.5	44.9	51.8	41.9	16.1
Países desarrollados	91,451	11.5	22.0	25.0	26.4	11.3
Países en desarrollo	379,153	9.0	53.6	65.0	53.8	18.7

Fuente: Bosch, JX, de Sanjosé S. Human papillomavirus and cervical cancer Burden and assessment of causality J Natl Cancer Inst 2000; 31:3-13  
Tasas estandarizadas con la población mundial Tasa por 100,000

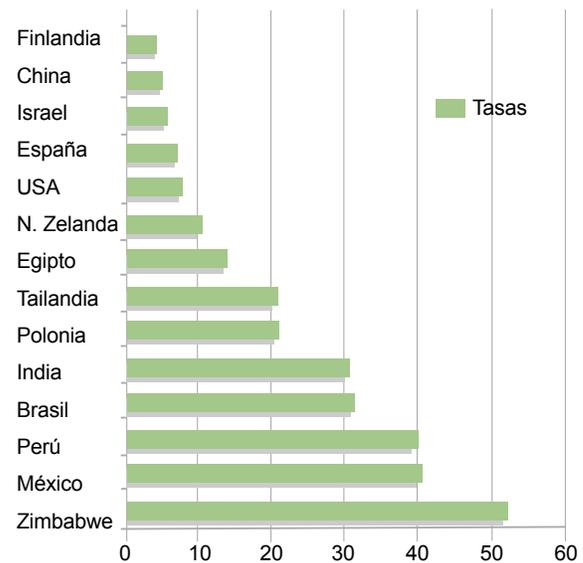
La variación de la incidencia es notable. En la Figura 1 se observan tasas 40 veces superiores en el grupo de los países de alto riesgo como en los del sur de África (47.6 por 100,000) o Centro y Sudamérica (45.3 por 100,000) respecto a China (3.9 por 100,000), Israel (5,3 por 100,000) o ciertos países europeos como Finlandia (3,9 por 100,000), según lo reportado por Ferlay *et al*, 1998. O la variación según grupos étnicos como lo observado en las poblaciones cubiertas por el Registro de tumores de Los Angeles (EUA) en donde la incidencia se multiplica por 2 o 3 para la población de latinas, en comparación con las mujeres japonesas. Esta diferencia se puede apreciar también entre las poblaciones maoríes o no maoríes de Nueva Zelanda; o en las tasas

casi dos veces mayores entre las mujeres de raza negra que en las mujeres de raza blanca que viven en EUA (Chan *et al*, 2003; O'Brien *et al*, 2003).

Lo mismo se observa en América Latina (países de Centro y Sudamérica) con respecto a EUA y Canadá (Tabla 4) en donde se pueden ver diferencias importantes en la incidencia de cáncer del cuello uterino (Ferlay *et al*, 1998).

**Figura 1**

**Tasas estandarizadas de incidencia a nivel mundial del cáncer de cuello uterino, 2000**



Fuente: Ferlay, J. Globocan 2000. International Agency for Research on Cancer  
Tasa ajustada por edad por 100,000 mujeres

**1.1.2 Tendencias temporales**

En los países desarrollados las tasas de incidencia de CC muestran en las últimas décadas una marcada disminución debido entre otras cosas al establecimiento de efectivos programas de detección masiva (Sasieni *et al*, 1995). En la mayor parte de los registros de tumores (Tabla 5) con alguna excepción como son los registros del Reino Unido y ciertos registros españoles (Tarragona), la incidencia de CC desciende notoriamente.

**Tabla 4**

**Tasa de Incidencia del cáncer de cuello uterino por grupos de edad,  
países de América Latina, EUA y Canadá, 1998**

<b>País</b>	<b>Casos Nuevos</b>	<b>15-44</b>	<b>45-54</b>	<b>55-64</b>	<b>&gt; 65 años</b>	<b>ASR</b>
Brasil	18,032	16.8	78.9	89.9	106.8	30.6
Perú	3,032	18.2	99.4	125.0	152.3	39.5
Colombia	3,882	18.9	85.7	94.1	93.1	31.6
Chile	1,884	33.1	61.7	49.3	50.6	28.5
Canadá	1,434	9.7	15.1	16.0	20.5	8.5
EUA	13,784	10.4	17.6	18.6	17.9	9.1
México	13,747	25.4	113.1	117.8	178.9	45.3
Costa Rica	283	15.0	55.5	66.1	101.7	25.0
Honduras	647	24.9	109.1	114.0	173.5	44.0
El Salvador	621	19.0	81.8	80.2	148.7	34.0

Fuente: Ferlay, J. International Agency for Research on Cancer World Health Organization 1998  
ASR=Tasa estandarizada con la población mundial por edad x 100,000

**Tabla 5**

**Tendencias temporales del cáncer de cuello uterino  
en algunos registros seleccionados**

	PERIODOS (VOLUMENES I-VII)						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
<b>Canadá, Alberta</b>	21.1	19.4	12.9	9	8.8	9.6	8.4
<b>EUA, Connecticut</b>	13.4	10.3	9.8	8.4	7.2	6.9	7
<b>Noruega</b>	15.3	16.2	18.1	19	15.5	12.7	12.7
<b>Suecia</b>	17.2	17.8	17.6	12.7	9.9	8.7	8
<b>Reino Unido, Mersey</b>	13.7	16.4	16.1	13.2	7.4	16.1	14.2
<b>Eslovenia</b>	26.2	24.9	18.1	17	13.5	12.7	12.4
<b>España, Zaragoza</b>			4.1	5.4	6.1	4.8	4.8
<b>España, Tarragona</b>					7.7	8.4	9.5
<b>Colombia, Cali</b>	80.5	75.6	62.8	51.8	48.2	42.2	34.4
<b>EUA, Puerto Rico</b>	47	31.9	25.6	18.4	15.6	11.5	9.8

Fuente: Cancer Incidence in Five Continents 1998 Tasas específicas por 100.000 mujeres por año

Desafortunadamente, para la mayoría de los países de alto riesgo (por ejemplo para el continente africano), la información disponible es muy escasa, y no existe ninguna prueba de que esta tendencia general ocurra con las mismas características.

Algunos registros de base poblacional con adecuado número de casos con confirmación

histológica han detectado que este aumento en mujeres jóvenes se producía principalmente a expensas de los adenocarcinomas cervicales, mientras que los cánceres de células escamosas disminuían o eran constantes en el tiempo.

En EUA, Peters *et al*, 1986, analizaron las tendencias seculares durante el período 1972 a 1982 observando que, en general, el número

de cánceres invasores del cuello uterino disminuye en el tiempo en todos los grupos de edad, pero cuando el análisis se realiza según diferentes tipos histológicos se aprecia que esta disminución se limitaba a los cánceres de células escamosas, mientras que la incidencia de adenocarcinomas sufre un aumento de 8% en mujeres de menos de 35 años.

Los patrones de incidencia del cáncer de cuello uterino han sufrido cambios, en estudios realizados en los países nórdicos por ejemplo Noruega (Eide *et al*, 1987), se han examinado los cambios en la incidencia del cáncer de cuello uterino durante el período 1970 a 1984 y se ha encontrado un aumento de 38% en la incidencia de adenocarcinomas, con una disminución de 30 % para los cánceres de células escamosas durante el mismo período. El aumento de adenocarcinoma cervical fue observado exclusivamente para el grupo de edad de 20 a 34 años. Este estudio ha sido corroborado por otro más reciente hecho en dicho país (Bjorge *et al*, 1993).

Chilvers *et al*, 1987 examinaron los datos de tres registros ingleses encontrando que la incidencia de adenocarcinomas en mujeres de menos de 35 años de edad aumenta de 2.4 a 6.6 por millón entre 1968-1972 y 1978-1982, mientras que los cánceres de células escamosas sufren un ligero aumento en el tiempo y limitado al grupo de 30 a 39 años de edad. El aumento observado en estos países, entre las generaciones jóvenes, ha sido motivo de múltiples especulaciones. Algunos autores han sugerido que la evolución clínica de estas neoplasias podría tener una agresividad mayor que la de los tumores diagnosticados en edades avanzadas y quizá, que los factores etiológicos podrían ser diferentes (Lorincz, 1987, Ursin, 1996, Alterkruse, 2003 ).

### 1.1.3 Mortalidad

Como ya se indicó, los datos de mortalidad son menos precisos que los de incidencia si se quiere examinar la evolución del cáncer cervical en el tiempo. Pese a esto, dichos datos permiten

estimar la carga de la enfermedad. Así, podemos apreciar que por localización tumoral a escala mundial, el cáncer cervical representa 8.6% del total de las muertes por tumores malignos en el mundo (Tabla 6) y el cuarto lugar dentro de las cinco principales localizaciones tumorales en mujeres, precedido por el cáncer de colon/recto, estómago y mama, en forma ascendente.

**Tabla 6**

**Frecuencia relativa y tasa de mortalidad, cinco principales localizaciones tumorales en mujeres en el ámbito mundial, 1998**

Localización	No. de Defunciones	ASR
Mama	313,582	13
Estómago	230,337	9.2
Colon/Recto	215,285	8.7
Cervix	190,415	8.6
Hígado	121,141	4.9
<b>Total</b>	<b>2,225,278</b>	

Fuente: Ferlay, J. International Agency for Research on Cancer World Health Organization 1998  
ASR=Tasa x 100,000 estandarizada por edad con la población mundial

Asimismo, de las cerca de 200,000 muertes anuales por cáncer del cuello uterino que ocurren en el mundo, alrededor de 80% se presentan en los países en desarrollo. Respecto al grupo etáreo (Tabla 7), conforme aumenta la edad la tasa de mortalidad es más alta, siendo el grupo de más de 65 años en el que se presentan un mayor número de defunciones, tanto a en el mundo como en países desarrollados y en desarrollo (Ferlay *et al*, 1998).

La Tabla 8 y la Figura 2 muestran las tasas estandarizadas por edad de mortalidad por CC en distintas regiones del mundo. Observándose que la región de Latinoamérica y el Caribe sólo es superada, en relación con las tasas mortalidad por CC, por la región Este de África, siendo el Asia Occidental y Australia las regiones con tasas de mortalidad más baja.

**Tabla 7****Tasas de mortalidad del cáncer de cuello uterino por grupos de edad, ámbito mundial, países desarrollados y en desarrollo 1998**

	No. Defunciones	15-44	45-54	55-64	65 +	ASR
Mundial	190,415	3.4	19.6	27.5	31.0	8.0
Países desarrollados	41,937	2.4	9.0	13.7	23.9	4.8
Países en desarrollo	148497	3.6	24.2	35.1	37.4	9.6

Fuente: Ferlay, J. International Agency for Research on Cancer World Health Organization 1998  
Tasa x 100,000 estandarizada con la población mundial

En la Tabla 9 se observan las diferencias de mortalidad por cáncer cervical entre los países de América Latina (Centro y Sudamérica) en

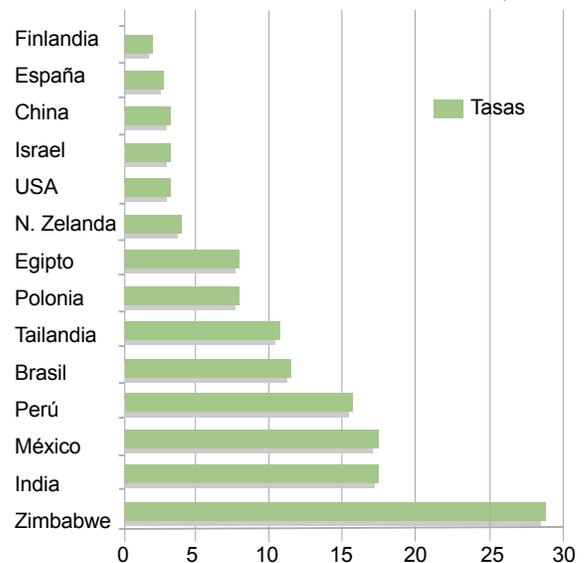
**Tabla 8****Tasas de mortalidad del cáncer de cuello uterino estandarizadas por edad, por región, 2000**

Región	Tasa*
África del Este	24.24
África Central	14.16
África Norte	9.08
Sudáfrica	16.45
África Occidental	10.87
Caribe	16.84
América Central	17.03
América del Sur	11.97
Norteamérica	3.23
Asia del Este	3.19
Sureste de Asia	9.65
Sur-Centro de Asia	14.95
Asia Occidental	2.50
Este de Europa	6.20
Norte de Europa	4.00
Sur de Europa	3.25
Europa Occidental	3.74
Australia	2.66
Malasia	23.78
Micronesia	6.16
Polinesia	15.20

Fuente: Globocan 2000. Internacional Agency for Research on Cancer  
\* Tasa por 100,000

relación con las presentadas en países como EUA y Canadá, siendo en los primeros veinte veces más altas dichas tasas.

Las tendencias de mortalidad por CC muestran que pocos países de América Latina (PAHO, 1998, Robles *et al*, 1996) muestran una declinación significativa de dichas tasas en el período 1968-1995 (Figura 3).

**Figura 2****Tasas estandarizadas de mortalidad a nivel mundial del cáncer de cuello uterino, 2000**

Fuente: Ferlay, J. Globocan 2000. Internacional Agency for Research on Cancer

\*Tasa ajustada por edad por 100,000 mujeres

**Tabla 9**

**Tasas de mortalidad por cáncer de cuello uterino. Países de América Latina, EUA, Canadá, 1998**

País	No. de Defunciones	15-44	45-54	55-64	> 65 años	ASR
Brasil	9,400	6.98	39.94	50.78	70.05	16.36
Perú	1,596	7.61	50.34	70.64	99.91	21.46
Colombia	1,818	5.05	37.93	55.99	75.43	16.1
Chile	756	5.63	27.55	35.51	53.71	12.13
Canadá	540	1.55	5.15	7.56	14.88	2.88
EUA	6,058	1.96	7.28	9.86	15.31	3.5
México	4,585	5.49	37.79	49.4	81.54	16.19
Costa Rica	129	4.07	23.26	33.51	73.48	12.13
Honduras	331	10.36	55.22	64.41	113.86	23.65
El Salvador	333	6.42	43.12	57.18	103.53	19.34

Fuente: Ferlay, J. International Agency for Research on Cancer World Health Organization 1998  
Tasa x 100,000 estandarizada con la población mundial

Aunque mortalidad por CC se incrementa con la edad (Figura 4), la mayor carga de la enfermedad se presenta en las mujeres de mediana edad. En particular en Latinoamérica y el Caribe Región en la que el grupo de edad más afectado es el de 35-54 años (PAHO, 1998).

**1.1.4 El peso de la enfermedad en México**

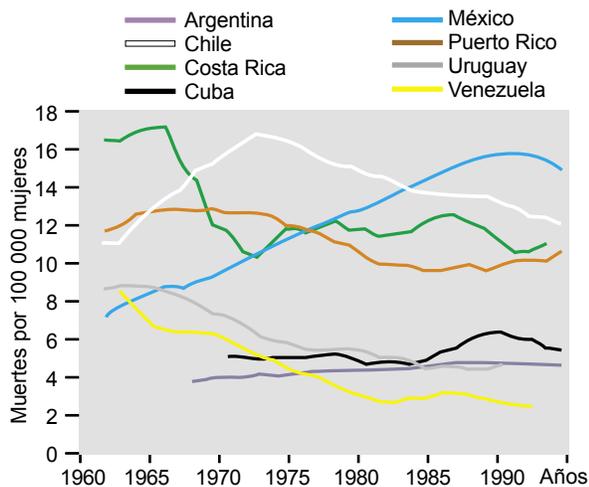
El cáncer cervical es la causa más común de morbimortalidad en las mujeres de los países en desarrollo. En varios países de América Latina las tasas de incidencia de esta patología se encuentran entre las tasas más altas del mundo (Eluf Neto *et al*, 2001).

En México continua siendo la neoplasia más frecuente en la mujer mexicana, con una incidencia calculada de 44.4 casos por 100,000 mujeres (Parkin *et al*, 1999, Hernández *et al*, 1998). Para 2001 se notificaron en México 22,774 casos nuevos de lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) y tumores malignos del cuello del útero (SSA, 2001), siendo difícil estimar el total de casos que se presentan, dadas las deficiencias de los sistemas de información.

En relación con la mortalidad general en México, los tumores malignos ocupan el 2º lugar como causa de muerte en las mujeres (Tabla 10) y dentro de estos el cáncer cervical ocupa el primer lugar como causa de defunción por neoplasias malignas.

**Figura 3**

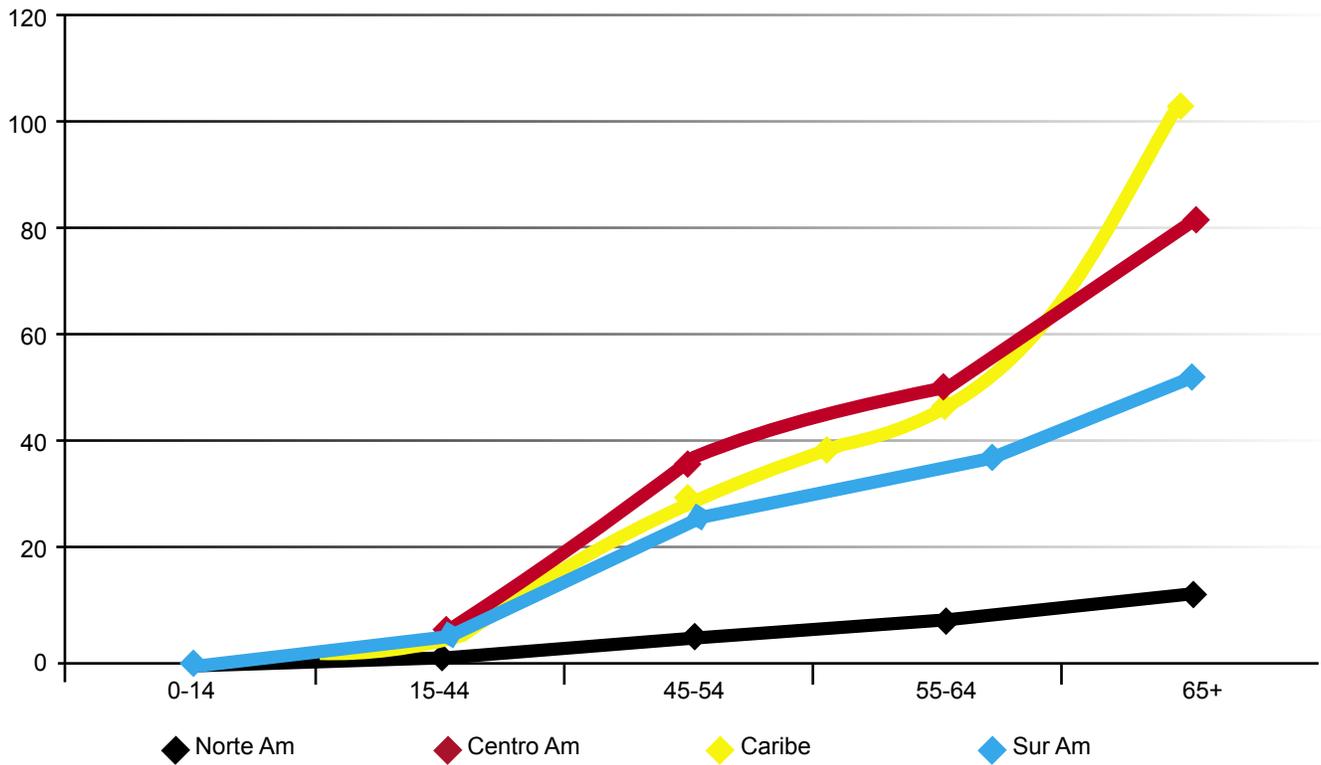
**Tendencias en la mortalidad por cáncer de cuello uterino en America, 1968-1995**



Fuente: Arrossi S, Sankaranarayanan R, Parkin DM. Incidence and mortality of cervical cancer in Latin America. Salud Publica Mex. 2003;45 Suppl 3:S306-14

**Figura 4**

**Tasas específicas de mortalidad por cáncer de cuello uterino por edad en América, 2000**



Fuente: Globocan 2000

Tasa por 100 000 hab.

**Tabla 10**

**Cinco principales causas de mortalidad general en mujeres en México, 2001**

Causa	No. de Defunciones	Tasa*	%
<b>Total</b>	<b>196,789</b>	<b>386.3</b>	<b>100</b>
<b>Enfermedades del corazón</b>	34,577	67.9	17.6
<b>Tumores malignos</b>	29,151	57.2	14.8
Del cuello de útero	4,512	8.9	2.3
De Mama	3,603	7.1	1.8
De Estómago	2,337	4.6	1.2
<b>Diabetes Mellitus</b>	27,577	54.1	14.0
<b>Enfermedad Cerebrovascular</b>	13,719	26.9	7.0
<b>Accidentes</b>	8,429	16.6	4.3

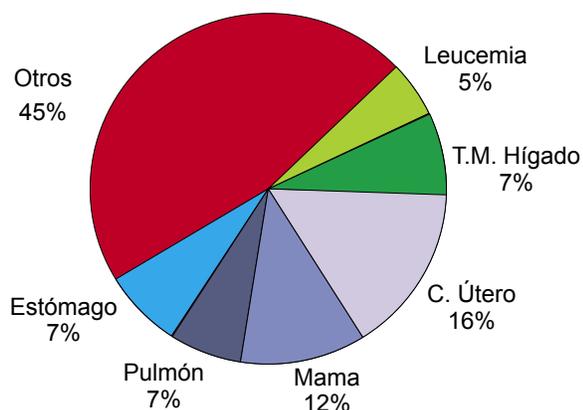
Fuente: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática /Secretaría de Salud \*Tasa por 100,000 mujeres

Los datos anteriores muestran que el cáncer ginecológico en México constituye un problema importante de salud pública, encabezado por el tumor maligno del cuello uterino, que se presenta como la primera causa de mortalidad en las mujeres, en todo el país (SSA, 2004).

De los tumores malignos que se presentan en mujeres, el cáncer de cuello del útero ocupa el primer lugar y representa 16% del total de todas las defunciones por dicha causa, seguido por el cáncer de mama con 12% (Figura 5).

**Figura 5**

**Distribución porcentual de tumores malignos en mujeres, México**



Fuente: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática/Secretaría de Salud

Anualmente, en nuestro país se presentan alrededor de 4,500 muertes; para 2002 la tasa de mortalidad por CC en el ámbito nacional fue de 16 muertes x 100,000 mujeres y un total de 4,323 defunciones en ese año (Tabla 11). Las entidades federativas con tasa superiores a la media nacional fueron Colima, Chiapas, Michoacán, Guerrero y Morelos entre otras (Tabla 11 y Figura 6). SSA, 2004.

Analizando la distribución de la mortalidad por CC por grupos de edad se observa que el grupo

**Tabla 11**

**Tasa de mortalidad por cáncer de cuello uterino, República Mexicana, 2002**

Entidad Federativa	No. Defunciones	Tasa*
<b>República Mexicana</b>	<b>4 323</b>	<b>16.98</b>
Aguascalientes	30	12.56
Bcn	114	17.10
Bcs	19	16.68
Campeche	44	26.12
Coahuila	123	20.08
Colima	36	24.71
Chiapas	199	22.40
Chihuahua	128	15.68
D.F.	345	13.25
Durango	58	15.76
Edo. de México	179	15.20
Guanajuato	148	20.95
Guerrero	60	10.59
Hidalgo	231	14.09
Jalisco	462	13.32
Michoacan	211	21.26
Morelos	104	24.95
Nayarit	53	22.29
Nuevo Leónn	108	10.01
Oaxaca	221	26.44
Puebla	227	17.71
Querétaro	42	11.62
Quintana Roo	28	12.94
San Luis	105	18.49
Sinaloa	96	14.92
Sonora	87	14.62
Tabasco	87	18.72
Tamaulipas	140	17.96
Tlaxcala	36	14.37
Veracruz	445	24.37
Yucatán	112	25.75
Zacatecas	45	13.20

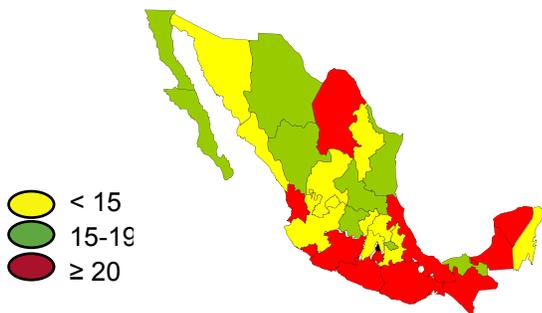
Fuente: Secretaría de Salud. Dirección General de Información en Salud. Estadísticas de mortalidad en México: muertes registradas en el año 2002. Salud Pública Mex; 2004;46:169-185. Tasa x 100 000 mujeres de 25 años y más

en el que proporcionalmente se presentan más muertes es de mujeres entre 25 y 64 años (Figura 7).

En México la mortalidad por este tipo de cáncer aumentó de 1965 en adelante, observándose que de presentar en 1975 10,1 defunciones

**Figura 6**

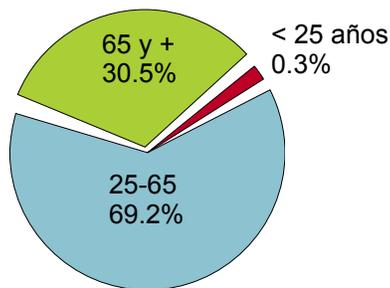
**Tasa de mortalidad por cáncer del cuello uterino México, 2002**



Fuente: Secretaría de Salud. Dirección General de Información en Salud. Estadísticas de mortalidad en México: muertes registradas en el año 2002. Salud Pública Mex; 2004;46:169-185. Tasa x 100 000 mujeres de 25 años y más

**Figura 7**

**Distribución proporcional por grupo de edad de la mortalidad por cáncer de cuello uterino México, 2002**



Fuente: Estadísticas de mortalidad relacionada con la Salud Reproductiva México, 2002 Salud Pública Mex 2004; 46(1):75-88

por 100,000 mujeres, en 1990 la mortalidad se situó en alrededor de 20 x 100,000 mujeres, manteniéndose estable en la década de los noventa (SSA, 1997, Torres *et al*, 2002), (Figura 8).

En un análisis de la mortalidad por dicha causa realizado por Lazcano *et al*, 1996 en México, se reportan tasas mayores entre las mujeres de mayor edad con una tendencia lineal significativa.

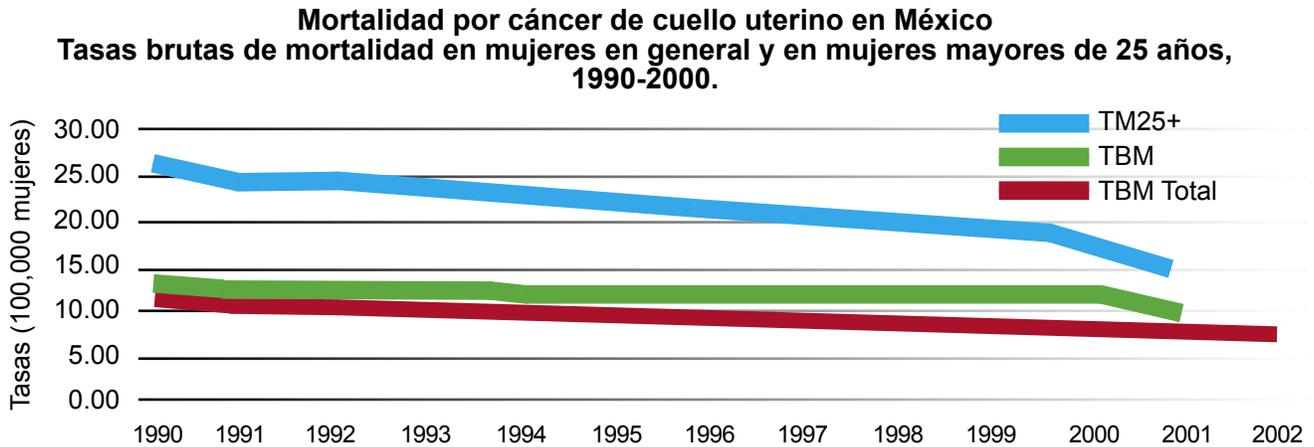
Siendo notorio que en los grupos de edad por arriba de los 35 años las defunciones por cáncer cervical ocupan el primer lugar dentro de los tumores malignos. Durante 1980-1990, período analizado por dicho autor, la media de edad a la muerte fue de 57.5 años. Este estudio también reveló variaciones por estadios y mostró que 71% de todos los cánceres se diagnosticaban en etapa avanzada.

Son diversos los estudios realizados en México para conocer las características epidemiológicas del cáncer cervical. En el realizado en el Instituto Nacional de Cancerología, para determinar las características que presenta esta neoplasia en dicho centro en el período 1985-1991, se encontró que 86% de los 5.082 casos de cáncer cervical que se observaron durante ese período presentaban cáncer invasor, con un predominio de este último a razón de 5,7: 1. El tipo histológico epidermoide se presentó en el 76,4%, el tipo adenoescamoso en 14,9%, el adenocarcinoma en 4,0% y 4,7% otras variedades histológicas (Mohar *et al*, 1993). En un estudio más reciente llevado a cabo en dicho Instituto se encontró que los casos de cáncer de cérvix y de mama representaron más del 50% del total de los pacientes atendidos en el período 1985-1994 (Mohar *et al*, 1997).

En un estudio ecológico de tendencias efectuado en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) se reporta que en los últimos 10 años el cáncer cervical se ha mantenido como la segunda neoplasia en orden de frecuencia; sin embargo, para la población femenina se ha ubicado en el primer lugar. La incidencia reportada en este estudio fue de 9,7 casos por 100.000 años persona de observación (Escandón *et al*, 1998)

Al analizar el panorama epidemiológico de la mortalidad por cáncer en el IMSS en el período 1991-1995 (Salmerón *et al*, 1997) observó un importante incremento del peso absoluto de la mortalidad por cáncer al interior de la población adulta derechohabiente. En el caso particular del

Figura 8



Fuente: Población Proyectada por CONAPO y Estadísticas Vitales, Registros de Mortalidad, INEGI/SSA, 1990 a 2002.

TM25+: Tasa de Mortalidad por cáncer cervicouterino en mujeres mayores de 25 años.

TBM: Tasa Bruta de Mortalidad por cáncer cervicouterino en todas las mujeres.

TBM Total: Tasa Bruta de Mortalidad por cáncer cervicouterino en todas las mujeres, incluyendo los casos mal clasificados.

cáncer cervical se aprecia que dicha patología ocupa el primer lugar como causa de muerte por cáncer entre las mujeres derechohabientes del IMSS, presentando una proporción de cambio a cinco años de 12%, representando casi 20% del total de las defunciones por cáncer en mujeres durante 1995. De acuerdo con la distribución por edad de la mortalidad por cáncer de cérvix, las tasas de mortalidad se incrementan en la medida en que se avanza en edad hasta los 80 años cuando se inicia una curva descendente, con una edad promedio a la muerte de 57 años.

### 1.1.5 Historia natural del cáncer cervical

Desde hace más de 20 años diversos autores han señalado que el cáncer cervical se comporta como una enfermedad de transmisión sexual (Kessler *et al*, 1977; Lorincz *et al*, 1992; Muñoz *et al*, 1992). En 1976, Zur Hausen planteó la hipótesis en la cual proponía al VPH como el agente sexualmente transmitido responsable de la transformación neoplásica en el cuello uterino. Dicha hipótesis ha sido validada, tanto por múltiples estudios epidemiológicos como por la evidencia molecular de que el ADN del VPH está

integrado en las células neoplásicas en 99% de los carcinomas cervicales, con lo que se puede asegurar, sin lugar a dudas, el papel causal que el VPH tiene en el desarrollo del cáncer genital (Muñoz *et al*, 1992; Bosch *et al*, 1994; Bosch *et al*, 1995; Walboomers *et al*, 1999).

Ciertos tipos de virus de papiloma humano en particular VPH-6-11 generalmente se asocian sólo con neoplasia intraepitelial cervical (NIC) I-II. Además, se ha visto que las lesiones leves presentan un contenido de DNA diploide o poliploide, lo que correlaciona con su tendencia a revertir (Fu *et al*, 1988; Bibbo *et al*, 1989). En contraste, las NIC III frecuentemente son aneuploides, presentan un mayor grado de atipia celular y tienen mayor tendencia a persistir, progresar o revertir (Fu *et al*, 1988; Bibbo *et al*, 1989). A pesar de esto, el panorama no es tan claro ya que no se pueden distinguir, consistentemente, las lesiones precancerosas verdaderas de lesiones benignas que sean citológica o histológicamente similares. Del mismo modo, la variabilidad en la historia natural de lesiones biológicamente similares puede estar influenciada por una gran diversidad de factores.

Las neoplasias intraepiteliales del cérvix se definen como lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) en proliferación, que presentan maduración anormal, alargamiento nuclear y atipia. Aparentemente la amplia gama de lesiones epiteliales son facetas de una misma enfermedad en la cual hay un continuum en los cambios morfológicos (Richart *et al*, 1993). Numerosos estudios llevados a cabo en pacientes portadoras de lesiones previas al carcinoma invasor del cuello uterino concluyen que :

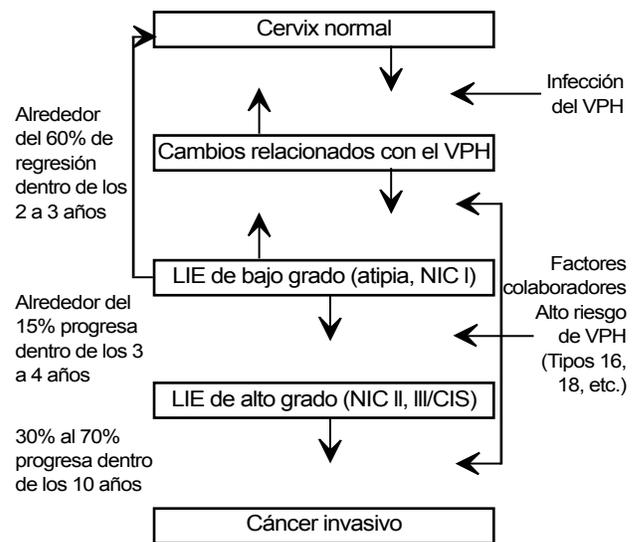
- En la mayoría de los casos, las LIE ocurren al menos una década antes que el cáncer invasor .
- Las mujeres que presentan LIE desarrollan cáncer invasor más frecuentemente que quienes no.
- A través de biología molecular, cultivo de tejidos, microscopía electrónica se ha comprobado la similitud entre el epitelio con displasia y el invasor.
- Estudios epidemiológicos muestran que, tanto las lesiones precursoras como el cáncer invasor comparten idénticos factores de riesgo (Wang *et al*, 1995; Ho *et al*, 1998).

No se conoce con certeza el tiempo que se requiere para que una lesión evolucione desde una lesión de bajo grado hasta un cáncer in situ, o para que eventualmente progrese a un cáncer invasor y es imposible por cuestiones éticas determinarlo mediante observación directa. Sin embargo, se han desarrollado modelos matemáticos para tratar de entender dicho fenómeno. Se ha calculado que el tiempo promedio que le toma a una lesión epitelial progresar de un grado al siguiente es, aproximadamente, de cinco años; y de 1 a 30 años (con un promedio de 10-13 años) lo que toma a una lesión de alto grado para progresar a cáncer invasor (Gustafsson *et al*, 1989; Myers *et al*, 2000). La Figura 9 muestra la historia natural del cáncer cervical.

Diversos estudios han investigado la progresión de las LIE, así, Holowaty *et al*, 1999; Burk *et al*, 1999, encontraron que cerca de un tercio

**Figura 9**

**Historia natural del cáncer cervical**



Fuente: PATH 1997. LIE: lesión intraepitelial escamosa; NIC: neoplasia intraepitelial cervical; CIS: carcinoma in situ

de las lesiones intraepiteliales de alto grado (LIEAG) no tratadas progresaran a cáncer en aproximadamente diez años, así mismo aproximadamente 70% de las lesiones de bajo grado regresarán espontáneamente (entre seis meses a un año) o no progresaran. En un estudio realizado en Grecia (Paraskevaidis *et al*, 1999), 29% de los casos con VPH + NIC I progresarán a lesiones más severas contra 9% de los casos con sólo infección por el VPH.

Syrjanen *et al*, 1994 llevó a cabo una revisión de diversos estudios que presentan los porcentajes de regresión y progresión de las LIE, encontrando que los porcentajes de regresión de las lesiones variaban en un rango de entre 17-70% y entre 9-27% de progresión de dichas lesiones (Tabla 12).

**Tabla 12**

Porcentaje de regresión y progresión en NIC, II,III				
	n	Seguimiento(Años)	% de Regresión	% de Progresión
Weaver, 1990	32	1-8	50%	9%
Byrne, 1990	28	4	33%	15%
Bibbo, 1989	29	1-17	17%	27%
Kataja, 1989	213	3-7	21%	23%
Kwikkel, 1987	28	> 2	43%	28%
Lutthra, 1987	138	4.5	s/d	29%
Navone, 1987	16	0.5-1.5	25%	19%
Cotton, 1986	41	3.5	70%	22%

Adaptado de : Syrjanen K. Natural History of Low Grade SIL Lesions. In Screening of Cervical Cancer for Whom, Why and How. 2<sup>nd</sup> International Congress of Papillomavirus in Human Pathology, Paris 1994. Monsonego Ed. NIC: Neoplasma Intraepitelial Cervical.

Los estudios sobre la historia natural de la neoplasia cervical comparten un cierto número de problemas metodológicos: a) Posible mala clasificación sobre el status de la enfermedad al inicio del estudio, esto es más probable cuando el status de la enfermedad es definido por examen citológico, que hace la detección pero no un diagnóstico preciso. El examen histológico de tejido cervical probablemente proporcione un diagnóstico exacto, más no siempre garantizado, ya que la parte anormal de la lesión pudo no haber sido muestreada. b) Remover tejido con propósitos diagnósticos puede influir sobre la historia natural de la enfermedad; la probabilidad de que esto ocurra depende del tamaño del tejido removido. Al parecer, aun la biopsia dirigida por colposcopia es suficiente para asegurar la regresión de la enfermedad en un importante número de casos. c) Es también un problema el detectar la progresión de la enfermedad, ya que ésta es asintomática y dicha progresión no puede ser medida en un continuo en el tiempo; lo que se hace es inferir a través de observaciones periódicas practicando citología o examen colposcópico, y se confirma con el examen histológico; existiendo un elemento de subjetividad en la decisión cuando los resultados citológicos o colposcópico requieren una confirmación histológica. Una dificultad

adicional es la decisión de cuáles cambios en la severidad de la enfermedad constituyen una evidencia de progresión de la enfermedad en un determinado período de tiempo. Otra sería determinar el punto de corte de un seguimiento por cuestiones éticas dada la imposibilidad de permitir la progresión de la enfermedad a fases de potencial malignidad. d) El uso de la misma técnica tanto para la medición inicial como para el seguimiento se constituyen en otro problema ya que tanto la citología como la colposcopia presentan algunos problemas para distinguir correctamente los distintos tipos de LIE, por ejemplo 15% de las LIE ocurren en la parte alta del canal endocervical fuera del alcance del colposcopio (Woodman, 1996).

### 1.1.6 Patología del cáncer de cuello uterino

El desarrollo del CC está frecuentemente precedido por una larga historia de anomalías celulares caracterizadas citológica e histológicamente por variaciones en la maduración citoplasmática e irregularidades nucleares. La enfermedad comienza como una proliferación atípica de las células epiteliales que poco a poco invaden el espesor del epitelio y degeneran en lesiones más graves hasta invadir el estroma que es cuando el cáncer se manifiesta.

El desarrollo de una lesión precancerosa del cuello del útero aparentemente involucra varios eventos. La exposición a algún VPH de "alto riesgo" probablemente produce una infección inicial del epitelio escamoso en la zona T, seguido por alteraciones morfológicas y biológicas de las células infectadas por el VPH. Aunque en este proceso es clara la interacción entre VPH y genes celulares, algunos estudios apoyan la participación de alteraciones en oncogenes celulares, además de la respuesta inmune del huésped, para que se produzca un cáncer invasor. Se sabe en la actualidad que la transformación maligna de las células normales se debe a la alteración de dos tipos de genes: los proto-oncógenes y los genes supresores de los tumores llamados anti-oncógenes. Los proto-oncogenes (c-myc, ras y erbB2), anti-oncogenes (p53, Rb) son componentes celulares normales que tienen funciones importantes en el crecimiento, desarrollo y diferenciación celular, que para convertirse en oncogenes y producir un cáncer deben alterar su estructura, ya sea mediante mutaciones o a través de re-arreglos genéticos (Riou *et al*, 1987; Cullen *et al*, 1991).

Los anti-oncógenes son también componentes celulares normales que codifican proteínas necesarias para que las células progresen a través del ciclo celular (DiPaolo *et al*, 1989).

A medida que se ha mejorado el conocimiento de la historia natural de la enfermedad la clasificación de estas lesiones ha recibido diferentes denominaciones (por ejemplo, PAP 1 a V; displasia moderada o severa y carcinoma in situ, neoplasia intraepitelial cervical (NIC) I,II, III, y lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado (LIEBG y LIEAG respectivamente).

La Figura 10 resume las diferentes nomenclaturas introducidas en la secuencia patológica de la enfermedad considerada como premaligna o preinvasiva. Microscópicamente la evolución de la lesión se caracteriza por la diferenciación de las células epiteliales que progresivamente proliferan e invaden el espesor del epitelio. Inicialmente esta progresión fue descrita en función del incremento en el grado de displasia (leve, moderada, y severa) y carcinoma in situ. En principio en las displasias, las atipias

**Figura 10**

**Terminología usada en anormalidades cervicales**

Términos Citológicos		Términos Histológicos		
Clasificación PAP	Sistema Bethesda			
Clase I	Dentro de límites normales	Normal	Normal	Normal
Clase II	ASCUS AGUS	Respuesta Inflamatoria	Respuesta Inflamatoria	Respuesta Inflamatoria
Clase III	LIE* bajo grado	NIC de bajo grado	NIC I	Displasia leve
Clase IV	LIE alto Grado	NIC de alto grado	NIC II,III	Displasia moderada y severa, Cáncer In situ
Clase V	Cáncer Invasor	Cáncer Invasor	Cáncer Invasor	Cáncer Invasor

Adaptado de: IARC Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans, Vol. 64: Human Papillomaviruses. Lyon, IARC (1995). LIE: Lesiones Intraepiteliales escamosas, NIC: Neoplasia Intraepitelial Cervical, ASCUS: alteraciones inflamatorias crónicas inespecíficas del epitelio escamoso y del epitelio columnar (AGUS)

celulares no comprenden todo el espesor del epitelio, observándose una tendencia a la maduración y proliferación celular normal en los estratos superiores; en el carcinoma in situ las atipias celulares comprometen todo el espesor del epitelio. La única diferencia histológica entre éste y el carcinoma infiltrante es la ausencia de invasión del estroma (Reagan *et al*, 1956).

Posteriormente, se introdujo la terminología de neoplasia cervical intraepitelial (NIC I,II, III) (Richart *et al*, 1973). Este sistema de clasificación ha servido de base para el diagnóstico y manejo clínico de las lesiones cervicales en los pasados 20 años (Kiviat *et al*, 1996).

Con el fin de facilitar la comunicación y la comparación entre las diferentes clasificaciones, recientemente ha aparecido una nueva clasificación llamada "Bethesa System", en ella se describen los cambios citológicos en relación con las modificaciones histológicas (NIC, 1989). La nueva nomenclatura introduce los términos de alto y bajo grado de lesiones intraepiteliales (LIE). LIE de bajo grado incluye NIC o ligera displasia, coilocitosis y condiloma. LIE de alto grado incluye NIC II y NIC III o displasia moderada o severa y Carcinoma in situ.

En los últimos años se han relacionado los cambios morfológicos en las células exfoliadas con la infección del virus del papiloma humano y se han incorporado como componentes del diagnóstico citológico e histológico de los estadios tempranos del proceso neoplásico. Las lesiones precoces son actualmente consideradas manifestaciones de la infección del virus del papiloma humano (VPH), se caracterizan por la presencia de alteraciones nucleares y proliferación celular del epitelio. Estas anomalías celulares tienden a la regresión espontánea (Wright y Kurman, 1994), pero algunas de estas lesiones, particularmente las causadas por los virus (VPH) oncogénicos (16, 18, 31, 33, 35, 45, 56, 58, 65) pueden modificar el espesor del epitelio y desarrollar la enfermedad (Park *et al*, 1996).

El diagnóstico citológico se realiza mediante la extracción de un pequeño volumen de las células exfoliadas del cérvix con una espátula. Este popular procedimiento es conocido como prueba de Papanicolau (Pap). Este método es el recomendado para la detección del cáncer de cuello en la población normal.

### 1.1.7 Etapificación clínica

Sin un diagnóstico y tratamiento temprano, el cáncer de cérvix se disemina invadiendo el resto del útero, la vagina, lateralmente el parametrio y la pelvis. Las metástasis linfáticas se manifiestan en la pelvis, en el retroperitoneo y eventualmente a distancia. La progresión clínica ha sido clasificada por FIGO (Internacional Federation of Gynecology and Obstetrics) quienes han definido los criterios más aceptados para la etapificación clínica del CC en cuatro estadios (I-IV) y 15 subestadios con marcadas diferencias en el pronóstico. El sistema FIGO se basa en un cuidadoso examen clínico y en los resultados de estudios radiológicos y procedimientos específicos (FIGO, 1995).

#### - Etapa 0

La etapa 0 es el carcinoma in situ, carcinoma intraepitelial. No hay invasión del estroma.

#### - Etapa I

La etapa I es el carcinoma estrictamente limitado al cérvix (la extensión al cuerpo no avanza la etapa).

Etapa IA: carcinomas preclínicos cervicales, es decir, aquellos que sólo fueron diagnosticados por microscopio.

Etapa IA1: invasión medida del estroma de no más de 3 mm en profundidad y no más de 7 mm de ancho.

Etapa IA2: Invasión medida del estroma de más de 3 mm, pero no de más de 5 mm en profundidad y no más de 7 mm de ancho.

Etapa IB: Lesiones clínicas limitadas al cuello uterino o lesiones preclínicas de mayor extensión a la etapa IA.

**Tabla 13****Clasificación histológica de tumores epiteliales del cérvix**

## Carcinoma de células escamosas

1. No-queratinizante
2. Queratinizante
3. Verrugoso
4. Papilar transicional
5. Tipo Linfoepitelioma

## Adenocarcinoma

1. Mucinoso (Endocervical)
2. Endometroide
3. Viloglandular
4. Adenoma maligno
5. Células claras
6. Seroso
7. Mesonefrítico

## Otros tumores epiteliales

1. Carcinoma adenoescamoso
2. Carcinoma de células vidriosas
3. Carcinoma adenoide quístico
4. Carcinoma adenoide basal
5. Tumor carcinoide
6. Carcinoma de células pequeñas

Revisado por Benda JA. Pathology of cervical carcinoma and its prognostic implications. *Semin Oncol* 1994;21(1):3-11

Las variedades más comunes del carcinoma de células escamosas son el de células grandes queratinizantes y no queratinizantes. Estas tienen en común una diferenciación celular escamosa, tanto en la formación intracelular de puentes como en la queratinización. Sin embargo, las variedades no queratinizantes presentan queratinización de células únicas, mientras que el tipo queratinizante presenta la formación de perlas de queratina (revisado por Benda *et al*, 1994).

Anteriormente, el diagnóstico de adenocarcinoma estuvo limitado a aquellos tumores en los que

Etapa IB1: lesiones clínicas de no más de 4 cm en tamaño.

Etapa IB2: lesiones clínicas de más de 4 cm en tamaño.

**- Etapa II**

La etapa II implica que el carcinoma se extiende más allá del cervix uterino, pero no se ha extendido a la pared pélvica. El carcinoma afecta la vagina, pero no llega al tercio inferior.

Etapa IIA: No hay complicación obvia del parametrio, dos tercios de la parte superior de la vagina se encuentran complicados.

Etapa IIB: Complicación obvia del parametrio; pero no a la pared pélvica lateral

**- Etapa III**

La etapa III implica que el carcinoma se ha extendido a la pared pélvica o que el tumor afecta el tercio inferior de la vagina. Todos los casos con hidronefrosis o con insuficiencia renal están incluidos, a menos que se sepa que la hidronefrosis se debe a otra causa.

Etapa IIIA: No hay extensión a la pared pélvica; el tumor se extiende al tercio inferior de la vagina.

Etapa IIIB: Extensión a la pared pélvica o hidronefrosis o insuficiencia renal.

**- Etapa IV**

La etapa IV implica que el carcinoma se ha extendido más allá de la pelvis misma o ha afectado clínicamente la mucosa vesical o rectal.

Etapa IVA: Propagación del tumor a órganos adyacentes (biopsias positivas de la vejiga o del recto)

Etapa IVB: Propagación a órganos distantes.

**1.1.8 Clasificación por tipo histológico**

El conocimiento del origen y comportamiento del carcinoma invasor del cérvix se ha incrementado en los últimos años. Ahora sabemos que el CC se manifiesta en distintas presentaciones histológicas, cuya nomenclatura se basa en su comportamiento y no en algunas características morfológicas universales que definen al cáncer (Tabla 13).

había una arquitectura glandular identificable. En la nueva clasificación, muchos subtipos de adenocarcinoma todavía presentan características glandulares; sin embargo, ahora dentro del tipo mucinoso existen algunos subtipos que no presentan esas características (Kurman *et al*, 1992). De igual forma, carcinomas con una diferenciación glandular mínima con presencia de mucina intracelular, se aceptan como adenocarcinomas pobremente diferenciados.

El carcinoma endometrioide se asemeja a tumores de origen endometrial, sin mucina intracelular. Debido a su parecido con carcinomas del cuerpo uterino, el carcinoma endometrioide suele presentar problemas en la determinación del sitio primario. El adenoma maligno es un tipo de adenocarcinoma muy difícil de diagnosticar, dado que aunque las células glandulares pueden presentar formas anormales, la atipla celular es mínima. El diagnóstico usualmente se hace posterior a la histerectomía, donde la profundidad de la proliferación glandular es su principal distintivo. Entre otros subtipos de adenocarcinoma de cérvix están los viloglandulares, que son tumores bien diferenciados en los que la fina vasculatura se cubre con epitelio de tipo cervical, endometrial o intestinal (revisado por Benda, 1994). La clasificación del carcinoma adenoescamoso en un principio incluyó tumores con arquitectura glandular y diferenciación escamosa en el mismo tumor. La categoría expandida incluye carcinomas pobremente diferenciados que, con diferenciación celular y producción intracelular de mucina, en ocasiones se les llama carcinomas mucoepidermoides.

El grupo de carcinomas de células pequeñas, aunque numéricamente reducido, es muy particular. Contiene células tumorales pequeñas, con escaso citoplasma, núcleo redondo a ovalado, nucleolo pequeño o ausente y alta

actividad mitótica. Este tipo celular representa menos de 1% de las neoplasias cervicales (Miller *et al*, 1991). Los tumores de células pequeñas más agresivos son los que presentan diferenciación neuroendócrina (Sheets *et al*, 1988; Silva *et al*, 1984).

Algunos estudios indican que existen diferencias en cuanto a pronóstico y supervivencia según el tipo histológico del que se trate. El carcinoma de células escamosas es el de mejor pronóstico (Platz *et al*, 1995). Para el adenocarcinoma se reporta peor pronóstico que para el carcinoma escamoso (Hopkins *et al*, 1991; Drescher *et al*, 1989). Se ha demostrado una supervivencia similar para los dos tipos histológicos en enfermedad localizada, pero una menor supervivencia para el adenocarcinoma en etapas más avanzadas. Para el carcinoma adenoescamoso también se reporta un comportamiento agresivo y en los estudios poblacionales presenta la menor supervivencia, tanto en enfermedad localizada como diseminada (Platz *et al*, 1995).

El carcinoma de células pequeñas también se ha identificado como uno de los grupos de peor pronóstico (Gersell *et al*, 1988; Van Nagell *et al*, 1988), aunque los estudios más recientes indican que los tumores neuroendócrinos de células pequeñas en realidad tienen el peor de los pronósticos.

La información obtenida del registro histopatológico de neoplasias malignas en México (Tapia *et al*, 1996), señala que la variante histológica más frecuente en México es el carcinoma de células escamosas (91.5%), al que le siguen en orden de importancia el adenocarcinoma (3.7%), el carcinoma adenoescamoso (1.7%) y otras variedades menos frecuentes, entre las que se encuentra el carcinoma de células pequeñas.

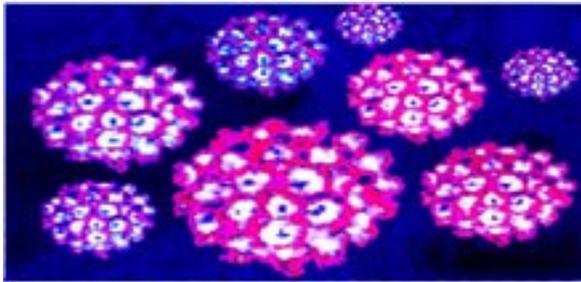
## 1.2 Virus del papiloma humano

### 1.2.1 Estructura y biología molecular de los papilomavirus humanos

Los papilomavirus constituyen un grupo de virus pequeños (Figura 11) de ADN de aproximadamente 55 nm, que inducen tumores epiteliales escamosos (verrugas y papilomas).

Figura 11

#### Virus del papiloma humano

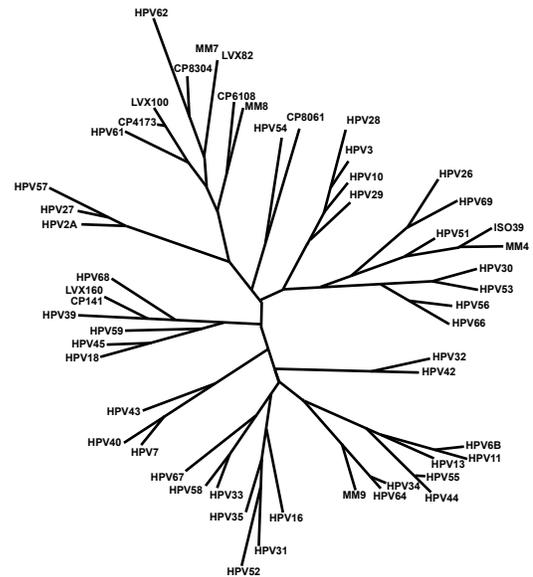


El primero que se describió fue el papilomavirus del conejo común. Posteriormente, se aislaron y caracterizaron papilomavirus en otras especies de vertebrados, incluido el hombre (Baker *et al*, 1991). Han sido identificados y aislados 120 tipos diferentes de papilomavirus humanos (VPH), cada uno de los cuales generalmente guarda relación con entidades patológicas específicas (Burk *et al*, 1999; Zur Hausen; *et al*, 2000) (Figura 12).

Los genomas de papilomavirus son moléculas de ADN de doble cadena, circular, cerradas, que contienen aproximadamente 8000 pares de bases (pb). Al analizar la secuencia de nucleótidos de varios papilomavirus humanos y animales se han encontrado varios segmentos de ADN con las características moleculares conocidas de probables genes estructurales. Estos segmentos de ADN se conocen como marcos de lectura abierta (ORF) nombre que se refiere a la posibilidad de "leer" segmentos

Figura 12

#### Árbol filogenético de virus de papiloma humano



relativamente largos del código genético (400 pb o más) antes de llegar a una señal de terminación. Todos los ORF de los papilomas están ubicados en una de las dos cadenas del ADN; en consecuencia, el ARN mensajero detectable de las células transformadas o productivamente infectadas se copia de una sola de las cadenas de ADN del virus (Diluis *et al*, 1994).

Se han identificado 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) y se expresan en células transformadas y en células basales, no productivas, de las lesiones; los segundos, codifican proteínas de la cápside (L1 y L2) y se expresan únicamente en los queratinocitos diferenciados de la capa superficial de la lesión, donde se producen partículas víricas maduras. 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 (Shah *et al*, 1996).

Los marcos de lectura abierta codifican la síntesis de las proteínas específicas correspondientes o llevan la información genética para ese proceso. Los productos de los ORF L1 y L2 son componentes estructurales correspondientes a las proteínas mayores (las más abundantes) y menores (las menos abundantes) que forman la cápside icosaédrica que encierra el ADN vírico. Las regiones de expresión “temprana” se expresan sin que haya formación de partículas víricas y al parecer desempeñen funciones importantes relacionadas con la replicación y transformación. Se ha demostrado que E5 y E6 codifican proteínas que intervienen en la transformación celular *in vitro*. La proteína E5 es muy pequeña y está localizada en las membranas nuclear y citoplasmática. Se cree que la proteína E6 se une al ADN y está localizada en el núcleo y las membranas. Tres de los ORF están vinculados con funciones de replicación: el E6 y el E7 intervienen en el control del número de moléculas de ADN vírico en cada célula, y el E1 codifica funciones esenciales para la replicación. El producto del E2 es una proteína que se une al ADN y controla la expresión de E6 y E7. E4 codifica las abundantes proteínas citoplasmáticas que también se expresan en la última fase del ciclo de replicación del virus. Todavía no se ha determinado la función de E3 y E8. El genoma contiene una región de control de aproximadamente 1000 pb, en la que se han identificado secuencias estimuladoras y represoras de la transcripción viral, así como el origen de la replicación (Shah *et al*, 1996).

Los productos de los oncogenes E6 y E7 participan en la inducción y 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. Además, los genes E6 y E7 son necesarios para la inmortalización de queratinocitos humanos por estos tipos virales. Los elementos del DNA que regulan la expresión de los oncogenes virales (promotor e intensificador) se encuentran localizados en la región de control (Crook *et al*, 1991).

### 1.2.2 Propiedades de los virus del papiloma

Los virus del papiloma se encuentran en muchas especies de vertebrados, desde las aves hasta el hombre. Tienen forma icosaédrica y contienen un genoma circular de doble cadena de DNA, sin embargo, ahora se reconoce que están separados de otros miembros de la familia de los papovavirus (como polioma y SV40), en base a sus diferentes características biológicas y genéticas. El DNA circular de los virus de papiloma consta de 8,000 pares de bases (contra 5,000 de los poliomavirus), y el virion mide 55 nm (contra 40 nm del poliomavirus) (Pfister *et al*, 1987).

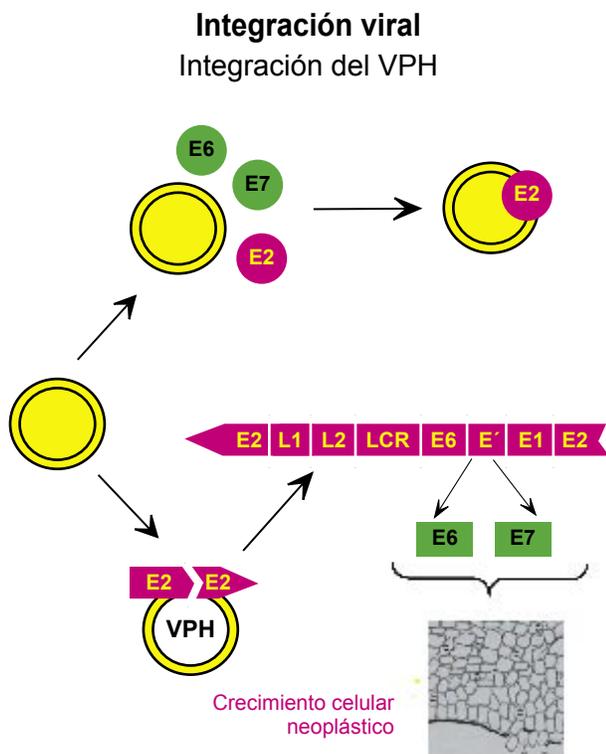
Los virus del papiloma constituyen más de 100 tipos de virus humanos y animales, clasificados por la relación de sus genomas; es decir, la secuencia de nucleótidos en el ADN. Todos los VPH caracterizados se vinculan con lesiones confinadas a las capas epiteliales de la piel o las mucosas oral, faríngea, respiratoria y anogenital. Aproximadamente 40 diferentes tipos infectan el tracto genital y de ellos más de 20 se asocian con cáncer (Burk *et al*, 1999). A pesar de su variedad, todos los virus de papiloma animal y humano parecen compartir una organización genética similar, aunque con diferencias tanto en las funciones de los genes vírales individuales, como en su regulación (Shah *et al*, 1996).

Ahora sabemos que muchos de los virus infectan de manera específica a un cierto subtipo de células epiteliales. Los análisis de secuencias genómicas muestran que los tipos vírales que infectan el mismo epitelio o alguno similar (por

ejemplo VPH-16 comparado con el VPH-18), están más cercanamente relacionados que aquellos que infectan epitelios diferentes (VPH-16 comparado con VPH-11) (Cole *et al*, 1987). De esta manera se observa que la evolución viral está ligada no solamente a la especie que infectan, sino a su tejido blanco específico.

En las células epiteliales infectadas con papiloma (verruga), los genomas del VPH típicamente se replican como plásmidos circulares, no integrados. A su vez, muchos CC contienen fragmentos de DNA del VPH integrados (Cullen *et al*, 1991). (Figura 13) Aunque la integración parece ocurrir al azar en muchos sitios cromosómicos de la célula, los fragmentos virales invariablemente conservan una parte específica del genoma viral (Schneider *et al*, 1989).

**Figura 13**



En la Tabla 14 se muestra una lista de algunas funciones asignadas a las distintas regiones de los VPH. A diferencia de los virus del polio, los marcos abiertos de lectura (ORFs) que pudieran servir para codificar proteínas del VPH, solamente se localizan en una de las dos cadenas del DNA viral. El genoma del VPH puede dividirse en tres regiones: 1) una región reguladora, denominada región larga de control (LCR), que tiene secuencias de control para la replicación y expresión genética de VPH; 2) una región temprana (E) que codifica para proteínas virales involucradas en la replicación del DNA viral, la regulación de la transcripción y la transformación y 3) una región tardía (L) que codifica para las proteínas de la capsida viral L1 y L2. La transcripción genética tardía esta vinculada íntimamente al programa de diferenciación de las células del huésped, células epiteliales planas o queratinocitos. La síntesis y expresión elevadas del DNA viral de los genes

**Tabla 14**

**Función de distintas regiones del genoma del virus del papiloma humano**

Gen	Función
E1	Iniciación de la replicación del DNA
E2	Regulación transcripcional en la replicación del DNA
E4	Proteína no estructural, degrada al citoesqueleto
E5	Proteína transformadora, interactúa con receptores del desarrollo
E6	Proteína transformadora, se une a p53 e induce su degradación
E7	Proteína transformadora, se une a pRB
L1	Proteína de cápside principal
L2	Proteína de cápside secundaria

Tomado: IARC Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans, Vol. 64: Human Papillomaviruses. Lyon, France, IARC 1995.

L1 y L2 sólo ocurre en las capas superiores de la piel o el epitelio plano. Esta división funcional se basa en los estudios genéticos llevados a cabo en el virus de papiloma bovino (BPVI) (Lowy *et al*, 1980). En tejidos con infecciones que producen partículas vírales del VPH (como es el caso de las verrugas), el ARN mensajero se transcribe, tanto de la región temprana como de la tardía del genoma (Baker *et al*, 1987). En infecciones que no producen partículas vírales (como se observa en las células de la capa inferior del epitelio en una verruga), el RNA mensajero sólo se transcribe de la región temprana del genoma.

Los transcritos vírales más abundantes en células de carcinoma se inician en la región no-codificante y terminan en secuencias celulares. Tienen el potencial de codificar cada uno de los ORFs de E6 y E7, así como de productos alternos de E6, llamados E6 (Baker *et al*, 1987; Schneider *et al*, 1989; Smotkin *et al*, 1987). En líneas celulares derivadas de CC no se han detectado productos E6, sólo se han identificado las proteínas E6 y E7 (Banks *et al*, 1987), lo que sugiere que alguna o ambas de estas proteínas están involucradas en el desarrollo del cáncer.

Los principales genes inmortalizantes (transformantes) de los VPH son E6 y E7. Se ha encontrado que E7 es suficiente para transformar cultivos de células inmortalizadas de ratón (Phelps *et al*, 1988). La capacidad de extender la vida de las células de estos cultivos es característica de los VPH de "alto" y no de los de "bajo riesgo" (Barbosa *et al*, 1991). Además E7 es capaz de cooperar con oncogenes ras en la transformación de cultivos primarios de células de rata (Matlashewski *et al*, 1987).

En los tumores de cérvix que contienen secuencias activas de VPH (Figura 12) parece ocurrir una selección por la integridad de la región codificadora de E6-E7 y por la región larga de control (LCR). Las proteínas E6 y E7 de los VPH de alto riesgo son oncoproteínas que contribuyen de manera decisiva a la

transformación celular mediante su efecto sobre proteínas que son críticas en la regulación del ciclo celular. Regularmente se observa que los genes E6-E7 se conservan y expresan en tumores de cuello uterino y las células derivadas de ellos (Schwarz *et al*, 1985; Yee *et al*, 1985). Las proteínas E7 de los virus de "alto riesgo" contribuyen a la progresión carcinogénica, al menos en parte, mediante su interacción con pRB. Como consecuencia de esta interacción ocurre la disociación del complejo formado por pRB y el factor de transcripción E2F-I. Posteriormente, la liberación de E2F-I de estos complejos activa la expresión de ciertos genes lo que permite la progresión del ciclo celular hacia la fase S (inicio de la síntesis de DNA). (Chellappan *et al*, 1992). Por otra parte, la integración del genoma viral al cromosoma hospedero se asocia con el rompimiento de los genes E1 o E2 (Berumen *et al*, 1994). La proteína E2 es un factor regulador muy importante; modula negativamente la transcripción de los genes E6 y E7 (Desaintes *et al*, 1997). Cuando el virus se integra al genoma hospedero suele interrumpirse el gene E2, por lo que ya no se sintetiza una proteína E2 funcional. El resultado es el aumento en la expresión de los genes E6 y E7, ya que su promotor es liberado de la acción inhibitoria de E2. La pérdida de E2 durante la integración se considera el mecanismo mediante el cual la integración promueve la oncogénesis (Hwang *et al*, 1993), aunque se reporta que este requisito no es indispensable en todos los casos (Hecht *et al*, 1995). Se especula que al aumentar el número de las copias del genoma viral, aumenta la expresión de los genes E6 y E7, aún en la ausencia de integración viral (Berumen *et al*, 1994).

El promotor más importante del genoma viral se encuentra localizado en la llamada región larga de control o LCR ("long control region"), que se extiende entre el final de la región tardía (L2) y el inicio de la temprana (E6) y generalmente comprende una décima parte del genoma viral (aproximadamente 800 pb). Una gran variedad

de factores celulares, entre los que se encuentran AP-1, NF1, Oct1, GRE y Sp1, participan en el control de la actividad transcripcional de esta región y regulan la expresión de las proteínas oncogénicas E6 y E7 (García-Carrancá *et al*, 1988; Mack *et al*. 1991).

Aparentemente, la infección por algún tipo de VPH, aun de alto riesgo, no es suficiente por si sola para inducir el desarrollo del carcinoma cervical. Esto se deduce del hecho de que sólo una pequeña fracción de aquellos individuos que están infectados por algún VPH eventualmente desarrolla cáncer. Además, normalmente el intervalo entre la infección viral y la aparición del cáncer invasor puede ser de hasta varias décadas (Bosch *et al*, 2002). Por lo tanto, es claro que la información genética del virus no es suficiente para la progresión maligna y que otros factores deben estar involucrados. Es decir, en una célula infectada se requiere de mutaciones genéticas adicionales para que se desarrolle el cáncer. Esto sugiere que la infección por virus de papiloma debe de actuar sinérgicamente con otros factores. Como se ha mencionado, diversos estudios in vitro han demostrado que los genes E6 y E7 de los VPH tienen la capacidad de inmortalizar cultivos de células primarias (Pirisi *et al*, 1987; Bedell *et al*, 1989), sin embargo, la transformación celular posterior requiere la cooperación de algunos oncogenes, como los de la familia ras (Matlashewski *et al*, 1987; Crook *et al*, 1988). A su vez, algunos estudios muestran que las mutaciones activadoras de los genes de la familia ras, son suficientes para transformar cultivos de células primarias y que se requiere de la cooperación de otros oncogenes para ello. Con esto se propone que algunos eventos relacionados con la activación de la vía de ras, podrían ser necesarios para el desarrollo de un carcinoma de cérvix (Finney, 1993).

### 1.2.3 Taxonomía

El orden taxonómico (Tabla 15) está basado en las similitudes en la secuencia de los genes E6,

E7 y L1 que ayudan a identificar grupos de VPH. En el nivel de diversidad mayor se identifican cinco supergrupos de papilomavirus ( Chan *et al*, 1995) de los cuales tres contienen VPH (supergrupos A, B y E).

### 1.2.4 Caracterización molecular de VPH y distribución de tipos vírales

En contraste con otros virus humanos, los del papiloma no han sido tipificados por métodos serológicos tradicionales, dado que no se cuenta con antisueros que distingan entre los diferentes tipos de VPH. Durante las décadas de los 70 y 80 los VPH eran tipificados mediante hibridación de su ADN bajo distintas condiciones de astringencia. Las cepas aisladas del VPH históricamente fueron clasificadas en tipos, mediante la comparación de su ADN con un grupo de genomas de referencia del VPH (de Villiers *et al*, 1989). Actualmente, se acepta por definición que el DNA de cada tipo difiere en por lo menos 10% de la secuencia nucleotídica de los genes E6, E7 y L1, de aquella de cualquier otro tipo viral conocido. Recientemente, se ha observado que los distintos tipos de HPV presentan variaciones genéticas. Cuando las diferencias van de 10 a 2%, se dice que se trata de un subtipo, y cuando las diferencias son menores a 2%, se considera una variante (Bernard, 1994).

Las variantes "intra-tipo" se definen como aquellos aislados de VPH que varían en menos de 2% respecto al tipo viral de referencia en regiones conservadas del genoma, como E6, E7, L1 y L2 (Bernard *et al*, 1994). Hoy, a través del análisis de una gran cantidad de aislados de VPH obtenidos de diversas partes del mundo, se han definido cuáles son las variantes de los tipos vírales más frecuentes; en particular, de HPV-16 (Ho *et al*, 1991; Ho *et al*, 1993), VPH-18 (Ong *et al*, 1993), VPH-6 y VPH-11 (Heinzel *et al*, 1995), además de otros tipos menos frecuentes (Stewart *et al*, 1996). Con el estudio de variantes se ha llegado a establecer una relación entre los

**Tabla 15**

**Taxonomía del virus del papiloma humano**

Tipo VPH	Super grupo	Origen	Tipo VPH	Super grupo	Origen
VPH-1	E	V:Plantaris	VPH-38	B	Melanoma maligno
VPH-2	A	V. vulgaris	VPH-39	A	PIN
VPH-3	A	V. plana	VPH-40	A	PIN
VPH-4	B	V. vulgaris	VPH-41	E	Verruga diseminada
VPH-5	B	EV	VPH-42	A	Papiloma vulvar
VPH-6	A	Condiloma Acuminado	VPH-43	A	Hiperplasia vulvar
VPH-7	A	V. Butcher-s	VPH-44	A	Condiloma vulvar
VPH-8	B	EV	VPH-45	A	CIN
VPH-9	B	EV	VPH-46		
VPH-10	A	Verruga plana	VPH-47	B	EV
VPH-11	A	Papiloma laringeo	VPH-48	B	CEC
VPH-12	B	EV	VPH-49	B	Verruga plana
VPH-13	A	HEF	VPH-50	B	EV
VPH-14	B	EV	VPH-51	A	CIN
VPH-15	B	EV	VPH-52	A	CIN
VPH-16	A	Cáncer cervical	VPH-53	A	Mucosa cervical
VPH-17	B	EV	VPH-54	A	Condiloma acuminata
VPH-18	A	Cáncer cervical	VPH-55	A	Papulosis B
VPH-19	B	EV	VPH-56	A	CIN
VPH-20	B	EV	VPH-57	A	PSM
VPH-21	B	EV	VPH-58	A	CIN
VPH-22	B	EV	VPH-59	A	VIN
VPH-23	B	EV	VPH-60	B	Quiste epidermoide
VPH-24	B	EV	VPH-61	A	VaIN
VPH-25	B	EV	VPH-62	A	VaIN
VPH-26	A	Verruga vulgaris	VPH-63	E	Mirmecia
VPH-27	A	Verruga vulgaris	VPH-64	A	VaIN
VPH-28	A	Verruga plana	VPH-65	B	Verruga pigmentada
VPH-29	A	Verruga vulgaris	VPH-66	A	Cáncer cervical
VPH-30	A	Cáncer laríngeo	VPH-67	A	VaIN
VPH-31	A	CIN	VPH-68	A	Lesión genital
VPH-32	A	HEF	VPH-69	A	CIN
VPH-33	A	Cáncer cervical	VPH-70	A	Papiloma vulvar
VPH-34	A	Enf. de Bowen-s			
VPH-35	A	Cáncer cervical			
VPH-36	B	Keratosis Actínica			
VPH-37	B	Kerato-acantoma			

Tomado de : Chan *et al*, 1995

EV: Epidermodisplasia verruciforme, CIN: Neoplasia intraepitelial cervical, VIN: Neoplasia intraepitelial vulvar, VaIN: Neoplasia intraepitelial vaginal, PIN: Neoplasia intraepitelial del pene, PSM: Papiloma del seno maxilar, HEF: Hiperplasia epitelial focal, CEC: Carcinoma de células escamosas cutáneo.

virus del papiloma y la geografía e historia de su origen. La hipótesis actual es que las variantes del VPH no se originan en un período corto de forma individual en un paciente, sino que surgen con el hombre y evolucionan mientras se diseminan junto con los grandes movimientos de las poblaciones humanas a través de la historia (Chan *et al*, 1992; Ho *et al*, 1993). Existen ciertas evidencias que sugieren que al menos VPH-16 y VPH-18 tienen sus raíces en África (Ong *et al*, 1993). Los estudios sobre variantes permiten entender parte de la historia evolutiva de los virus de papiloma y resultan ser un modo eficiente de conocer el origen y forma de diseminación de estos virus.

Aunque las cepas aisladas del VPH-16 se encuentran estrechamente relacionadas se han identificado cinco ramas filogenéticas principales de 301 aislados del VPH-16 que fueron colectados en Europa, Asia, África, Norte y Sudamérica (Ho *et al*, 1993). Las ramas se denominaron E (Europea), As (Asiática), AA (Asiática-Americana), Af1 (Africana-1) y Af2 (Africana-2). Recientemente se detectó una sexta rama del VPH-16 que es la NAI (norteamericana) (Yamada *et al*, 1995). Con estos estudios se piensa que ya se han identificado los principales linajes de la diversidad intra-tipo del VPV-16.

### **1.2.5 El ciclo de los VPH en los epitelios en diferenciación**

Los virus del papiloma son especie-específicos e inducen proliferaciones epiteliales o fibroepiteliales benignas de la piel y mucosa en humanos y en varias especies animales. Estos virus tienen un tropismo específico y absoluto por las células epiteliales escamosas y su ciclo productivo completo sólo ocurre en ellas. Se cree que la infección por el VPH empieza en las células basales, que son mitóticamente activas. Después de la infección, el virus puede permanecer latente, replicarse y producir partículas infecciosas o integrarse al genoma

celular. La infección productiva se divide en varias etapas que dependen del estado de diferenciación de las células epiteliales en cuestión. El ciclo completo, que incluye la síntesis del ADN viral, la producción de las proteínas de la cápside viral y el ensamblaje de los viriones, ocurre selectivamente en queratinocitos terminalmente diferenciados (Pfister *et al*, 1987). Las células de la capa basal que proliferan, a pesar de que contienen DNA del VPH, parecen ser poco activas en la expresión de algunas proteínas virales. Aparentemente existen factores celulares que regulan negativamente la transcripción viral en estas células. Esta regulación se libera, cuando las células infectadas migran hacia arriba del epitelio en la capa granulosa, donde sufren un programa de diferenciación hasta que ya no pueden dividirse. En estas células empieza la transcripción activa de secuencias virales tempranas y tardías, se sintetizan proteínas virales y las partículas virales se ensamblan en algunas de las células superficiales (Baker, 1987). Dado que estos virus no se pueden propagar con facilidad en el laboratorio, no han sido estudiados con las técnicas de virología tradicionales. Sólo recientemente se han logrado avances en la propagación de estos virus mediante cultivos organotípicos de células epiteliales (Meyers, 1994). Por este motivo, la mayoría del conocimiento acerca de los virus del papiloma en los últimos 15 años ha provenido de la investigación básica y del análisis y empleo de las secuencias nucleotídicas de los DNA virales clonados.

### **1.2.6 Clasificación de tipos de VPH por riesgo oncogénico**

Expertos internacionales reunidos para evaluar el potencial carcinogénico del VPH concluyeron que los tipos 16 y 18 pueden ser considerados como cancerígenos en humanos (IARC, 1995), los tipos 31 y 33 y los restantes han sido clasificados como probable o posiblemente cancerígenos, ya

que en ese momento la evidencia epidemiológica resultaba limitada o inadecuada. Sin embargo, otros estudios epidemiológicos han demostrado que los tipos 31, 33, 35, 45, 51, 52, 58, y 59 pueden actualmente ser considerados como cancerígenos en humanos (Ngelangel *et al*, 1998; Chichareon *et al*, 1998; Chaouki *et al*, 1998).

Tradicionalmente los tipos de VPH genital han sido subdivididos en tipos de bajo y alto riesgo. Los de bajo riesgo se identifican más comúnmente en verrugas genitales y los de alto riesgo son frecuentemente asociados con el cáncer invasor (Jacobs, 1995). Se ha propuesto una clasificación de tipos de VPH basándose en criterios filogenéticos, sin embargo ésta no ha sido probada epidemiológicamente (Van Ranst *et al*, 1992). No existe consenso sobre la categorización de muchos de los diversos tipos. El número de tipos de VPH clasificados de alto riesgo varía de 13 a 19 y sólo 11 de ellos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58) son consistentemente clasificados como de alto riesgo (Gravitt *et al*, 1998; Davies *et al*, 2001; van den Brule *et al*, 2002).

Muñoz *et al*, 2003 presenta una clasificación epidemiológica de tipos de VPH (Tabla 16)

asociados a cáncer cervical, basada estudios de epidemiología molecular que proveen de estimaciones de riesgo de tipos específicos de VPH en casos y en controles, así como de evidencia del potencial oncogénico de los diferentes tipos de VPH.

Dicho estudio identifica 15 tipos del VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82), tres de ellos considerados como probables (26, 53, 66). Como de bajo riesgo se clasificaron 12 tipos (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81 CP6108), y como riesgo indeterminado tres (34, 57 y 83). De acuerdo a estos resultados cinco tipos que otros habían clasificado como de bajo riesgo o tipos asociados a riesgo indeterminado (26, 53, 66, 73 y 82) deben ser adicionados a la lista de tipos de alto riesgo. Además, se adicionaron a la lista de los VPH de bajo riesgo a los tipos 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108. Existe una alta concordancia entre ambas clasificaciones sólo habiendo discrepancias en los tipos 70 y 73.

### 1.2.7 Historia natural de la infección por el VPH

La infección cervical por el VPH es una enfermedad de transmisión sexual (Burk *et al*,

**Tabla 16**

### Clasificación filogenética y epidemiológica de tipos de virus de papiloma humano

Clasificación Filogenética	Clasificación Epidemiológica	
	Alto riesgo	Bajo riesgo
Alto riesgo	16,18,31,33,35,39,45,51,52 56,58,59,68,82,26*53*66*	70
Bajo riesgo	73	6,11,40,42,43,44,54,61,72,81, CP6108

Tomado de: Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003;348(6): 518-27 \* Probable Alto riesgo.

1996(a); Dillner *et al*, 1996), la más prevalente en el mundo, ya que ocurre en aproximadamente 75% de las mujeres sexualmente activas (McIntosh *et al*, 2000). Es transmitida presumiblemente a través de desgarros microscópicos en la superficie del epitelio cervical durante el acto sexual; las infecciones del canal vaginal son las más frecuentes, sin embargo raramente se transforman en lesiones neoplásicas (Bauer *et al*, 1991), en la región anal suele presentarse en hombres y mujeres que practican sexo anal (Holly *et al*, 2001).

El riesgo de infección por el VPH está significativamente asociado a factores relacionados con la conducta sexual como ser mujer sexualmente activa, joven, con edad temprana de inicio de vida sexual activa, con un número alto de parejas sexuales (Azocar *et al*, 1990; Kenney *et al*, 1994; Ley *et al*, 1991; Baer *et al*, 2000) y éstas a su vez sexualmente promiscuas, así como antecedentes de práctica de sexo anal (Kenney *et al*, 1996; Kjaer *et al*, 1997; Burk *et al*, 1999). Otros factores como el uso de anticonceptivos orales, la presencia de otras enfermedades de transmisión sexual y el tabaquismo influyen también sobre el riesgo de infección por el VPH (Herrero *et al*, 2000). La media de duración de la infección es de 8.2 y 13.5 meses para los tipos no oncogénicos y oncogénicos del VPH respectivamente (Franco *et al*, 1999, Ho *et al*, 1998). Además, la presencia del ADN del VPH se incrementa significativamente de 35.5 a 61% con la severidad de la lesión (CIN I a CIN III) (Grce *et al*, 1997).

La infección por el VPH es poco inmunogénica porque es no productiva (no produce inflamación local característica) y también por los diferentes mecanismos desarrollados por el virus para contrarrestar la respuesta inmune. El ciclo de replicación de los VPH se lleva a cabo dentro de los queratinocitos; los viriones maduros escapan de la superficie epitelial infectada en los queratinocitos que se descaman. De esta manera,

durante la infección hay poca presentación de antígenos virales al sistema inmune por células presentadoras de antígenos profesionales (tanto local, como sistémicamente). La respuesta inmune celular juega un importante papel en el control y curso de la infección por el VPH, esta respuesta varía dependiendo del grado de lesión y el potencial oncogénico del VPH. Existe evidencia de que el VPH interfiere en el ciclo de control celular con la secundaria acumulación de anomalías genéticas. Esto podría explicar la persistencia viral y la progresión de las lesiones (Figura 14), sin embargo, en muchas pacientes, factores secundarios como la respuesta inmune o el tabaquismo juegan un papel importante (Southern *et al*, 1998, Riethmuller *et al*, 2000).

La mayoría de dichas infecciones son transitorias o intermitentes (Wheeler *et al*, 1996, Ho *et al*, 1998), especialmente entre las mujeres menores de 30 años de edad, cerca del 70% desaparecen aproximadamente en un año y 91%, en dos años (Moscicki *et al*, 1998, Schiffman *et al*, 1994) y en un gran porcentaje de las ocasiones no causan ninguna lesión cervical (Evander *et al*, 1995).

El primer paso en el proceso de carcinogénesis cervical es la infección por el VPH seguida por una infección persistente (Schiffman *et al*, 2003) (Figura 15). La persistencia o resolución de esta infección está fuertemente asociada con el tipo de VPH (oncogénico/no oncogénico), carga viral, así como la edad, la conducta sexual (múltiples parejas sexuales) y las condiciones de inmunosupresión de la mujer (Romney *et al*, 1997, Burk *et al*, 1996(b), Kotloffet *et al*, 1998; Ho *et al*, 1995, Burk *et al*, 1999), así como la infección con múltiples tipos de VPH (Ho *et al*, 1998, Sasagawa *et al*, 2001), sin embargo, se ha reportado que factores medio ambientales como el uso de anticonceptivos y tabaquismo podrían estar influyendo también (Brisson *et al*, 1996, Ho *et al*, 1998). Estudios de cohorte han demostrado que la continua presencia de VPH de alto riesgo es necesaria para el desarrollo, mantenimiento y progresión de lesiones de alto

Figura 14

### Historia natural de la infección VPH

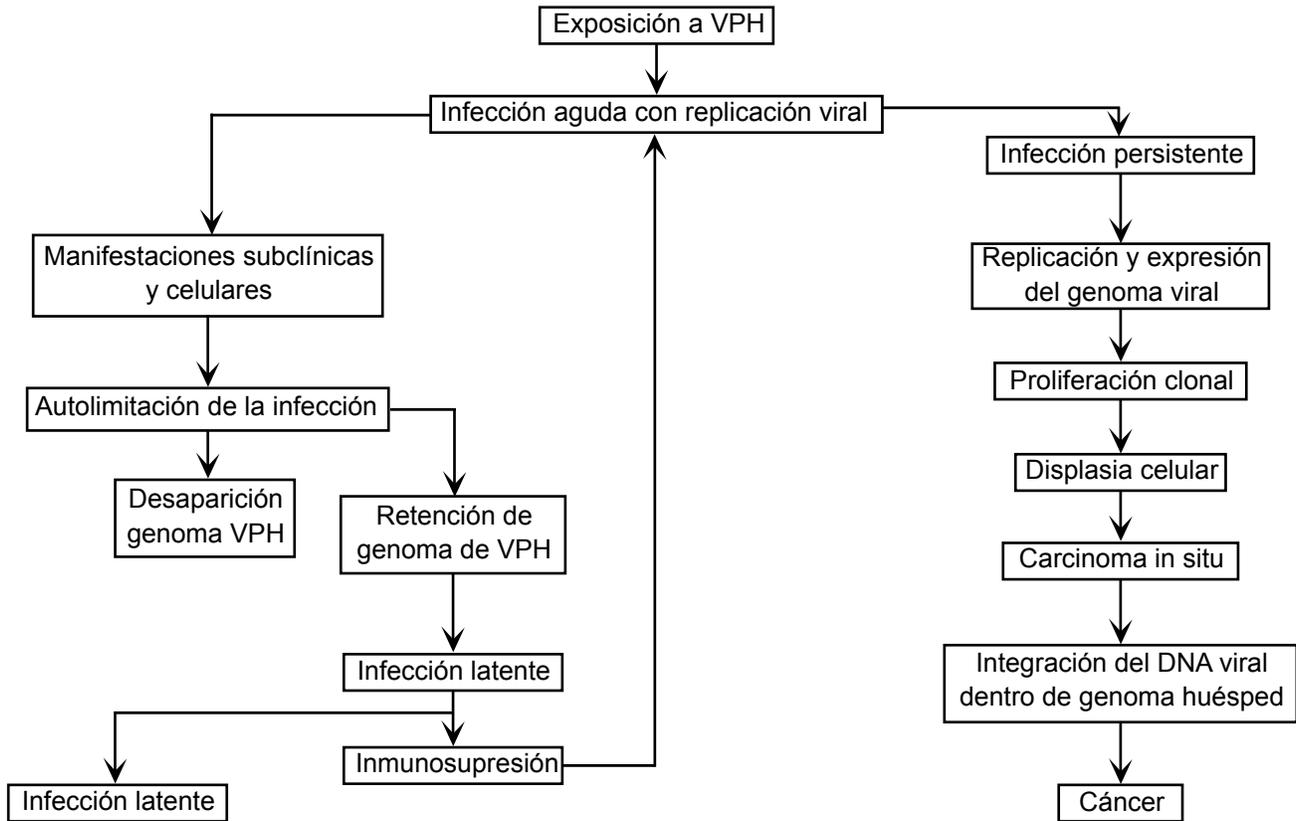
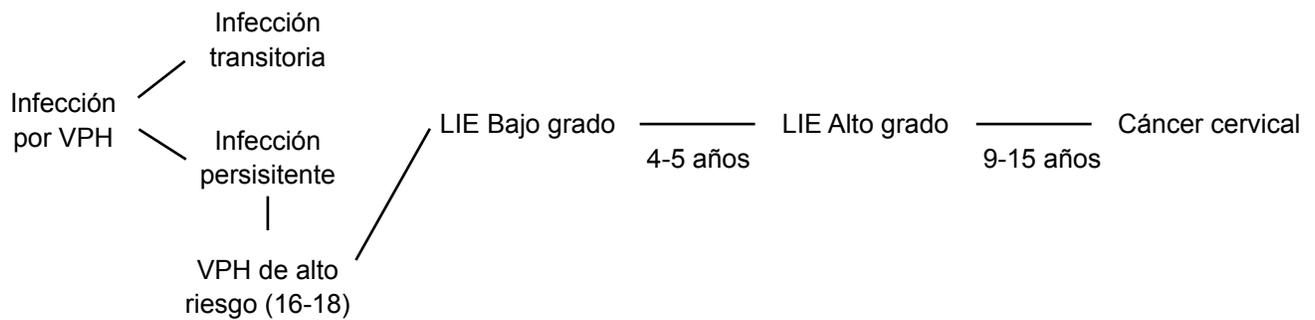


Figura 15

### Participación del VPH en la evolución del cáncer cervical



Fuente: Modificado de alonso P, Lazcano E, Hernández M, Cáncer cervicouterino: diagnóstico, tratamiento y control. Editorial Interamericana, México, 2000 LIE: lesión intraepitelial escamosa

grado (Ho *et al*, 1998; Nobbenhuis *et al*, 1999), además de ser el más significativo predictor de progresión a neoplasia (Chua *et al*, 1996, Cuzick *et al*, 1999a). Una importante proporción de mujeres (15-30 %) con VPH de alto riesgo y quienes al inicio del estudio presentaban una citología normal, desarrollaron NIC 2/ NIC 3 en un periodo de cuatro años (Rozendaal *et al*, 1996 y 2000), en cambio, las positivas a VPH de bajo riesgo, raramente persiste la infección y la probabilidad de progresión es extremadamente baja (Zielinski *et al*, 2001; Manos *et al*, 1999).

Diversos estudios realizados para conocer la persistencia de la infección por el VPH se han realizado en los últimos años (Tabla 17). El tiempo de seguimiento en todos fue superior a cuatro meses y el porcentaje de persistencia varió de 8% en un estudio realizado en Japón, a 68% del realizado en Holanda; la variación en los porcentajes probablemente pueda ser explicada por las diferencias en el diseño del estudio, el tipo de pacientes seleccionadas o las técnicas de detección utilizadas en los diversos

estudios presentados (Saito *et al*, 1995; Van Duin *et al*, 1999).

En la Tabla 18 se presentan los resultados de estudios realizados en la pasada década, que muestran altos porcentajes de regresión de la infección por el VPH (Evander, 1995, Elfgren, 2000). Asimismo, se presentan los porcentajes de progresión de dicha infección, que varían de menos de 10% (Syrjanen, 1992, Pich, 1992) hasta 28% del estudio de Koutsky, 1992. Estudios como el realizado por Remmink, 1995, encontraron no progresión de las lesiones en ausencia del VPH o en presencia de VPH de bajo riesgo.

### 1.2.8 Mecanismos de carcinogénesis del VPH

En la Figura 16 se muestran los posibles mecanismos de carcinogénesis que están presentes en la transición de la infección por el VPH al cáncer cervical. Aunque la mayoría

**Tabla 17**

#### Porcentaje de persistencia de infección por virus de papiloma humano

Autor/País/ Año	Método de detección	Población de estudio	Edad (años)	Tiempo de seguimiento (meses)	% de persistencia
Van Duin, Holanda, 1999	S/D	+ VPH	S/D	S/D	68
Coker, EUA, 1999	HC	Mujeres jóvenes	S/D	4.5	65
Kjaer, Dinamarca, 1999	PCR	+ VPH	S/D	24	50
Kotloff, EUA, 1998	PCR	Estudiantes	17-44	9	< 50
Fairley, Australia, 1995	PCR	+ VPH	37± 10	12	45
Hinchcliffe, 1995	PCR	Citología negativa	18-35	4	44
Hildesheim, EUA, 1994	PCR	Citología negativa	< 25	14.9	41
Moscicki, EUA, 1998	Dot blot	+ VPH	S/D	12	40
Ho, EUA, 1998	PCR	Estudiantes	20 ± 3	6-40	30
Smith, EUA, 1997	PCR	Mujeres postmenopáusicas	45-64	24	28
Evander, Suecia, 1995	PCR	Mujeres jóvenes	19-25	11-37	20
Meijer, Holanda, 1998	PCR	Citología normal	20-54	3-69	15
Kotloff, EUA, 1998	PCR	Citología normal	18-40	16	14
Saito, Japón, 1995	PCR E6	+ VPH 16-18	17-68	12-48	8

**Tabla 18**

**Porcentaje de regresión y progresión de infección por Virus del papiloma humano**

	n	Seguimiento (meses)	% de Regresión	% de Progresión
Kitchener, 1991	82	18	21.4%	9.7%
Carmichael, 1991	525	54	77.3%	7.8%
Montz, 1992	91	9	78.3%	3.4%
Pich, 1992	24	2-65	37.5%	4.2%
Syrjanen, 1992	487	70	66.7%	6.3%
Koutsky, 1992	241	25	s/d	28%
Hildesheim, 1994	393	14	68%	s/d
Evander, 1995	276	17-37	80%	s/d
Kotloff, 1998	84	16	38%	s/d
Moscicki, 1998	618	24	70%	15.7%
Elfgren, 2000	500	60	92%	s/d

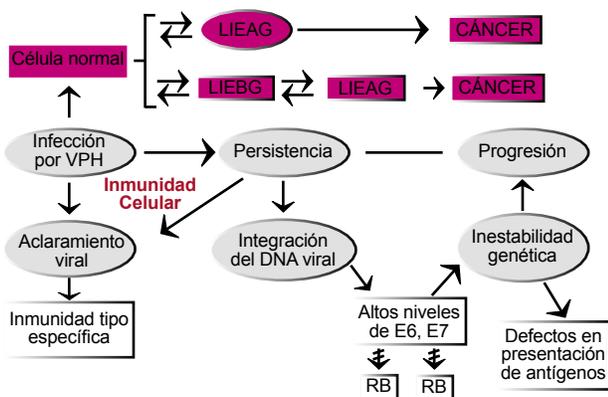
Adaptado de : Syrjanen K. Natural History of Low Grade SIL Lesions. In Screening of Cervical Cancer for Whom, Why and How, 2<sup>nd</sup> International Congress of Papillomavirus in Human Pathology, Paris 1994. Monsonego Ed

de las infecciones por el VPH son transitorias y subclínicas, la progresión está fuertemente relacionada con la persistencia del DNA viral. Este proceso lleva frecuentemente a la disrupción viral en las regiones E1/E2 y a la

integración dentro de la célula del DNA viral. La disrupción de E2 libera los promotores virales E6/E7 e incrementa la expresión de esos genes transformadores. Probablemente la infección con VPH de alto riesgo actúa como un detonador de la cascada de eventos en los que los mecanismos de reparación o corrección de la duplicación celular, mediados por las proteínas p53 y del retinoblastoma (RB) son inutilizadas alterando el ciclo celular (Heilmann *et al*, 2002; Bosch *et al*, 2002).

**Figura 16**

**Posibles mecanismos de carcinogénesis del VPH**



Tomado de: Bosch FX, Lorincs A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer, J Clin Pathol. 2002 Apr;55(4):244-65

**1.2.9 Epidemiología de la infección por el VPH**

Las infecciones genitales por el VPH son consideradas como la más frecuente de las infecciones sexualmente trasmisibles. Los numerosos y diversos estudios realizados muestran un amplio rango de prevalencia del VPH dependiendo de la población de estudio, las técnicas de muestreo, los métodos de estudio y la sensibilidad de los instrumentos, así como de los métodos de detección y las diferencias en la expresión viral, que pueden explicar las diferencias existentes en la prevalencia

reportada ( Kataja *et al*, 1993; Reid *et al*, 1993). Las técnicas moleculares para la identificación del DNA del VPH son ahora altamente sensibles y específicas. La determinación del VPH en la mayoría de los estudios efectuados en la última década (Goldsborough *et al*, 1992) fue realizada a través de la prueba de reacción de polimerasa en cadena (PCR).

El pico más alto de la prevalencia de infección por el VPH se presenta entre los 20-25 años de edad, después decrece, presumiblemente porque después de esa edad se adquiere inmunidad celular, aunque otros factores como cambios en la conducta sexual pueden ser importantes (Schiffman *et al*, 1994, Grce *et al*, 1997, Figueroa, 1995). La prevalencia de infección por el VPH después de la tercera década de la vida varía de 5 a 15% (Bosch *et al*, 1997), pudiendo presentar un nuevo pico de prevalencia después de los 65 años de edad (Cuzick *et al*, 1999(b); Herrero *et al*, 2000).

#### **1.2.9.1 Prevalencia del VPH en mujeres con y sin patología cervical**

La participación del VPH es determinante en el desarrollo del cáncer cervical y en la actualidad sabemos que en más de 99% de los tumores del cérvix se detecta la presencia de secuencias virales de algún tipo de VPH (Walboomers *et al*, 1999). Estudios realizados, tanto en países desarrollados como en países en desarrollo han mostrado también que el VPH está relacionado con las lesiones precursoras con la misma magnitud que con los estadios avanzados del cáncer de cuello (Moreno *et al*, 1995; Liaw K *et al*, 1995; Kjaer *et al*, 1996).

La Tabla 19 resume los estudios más recientes sobre prevalencia global del VPH en cáncer cervical, estudios en los que se han empleado técnicas de PCR para la detección del papilomavirus humano. Las prevalencias se presentan en orden descendente y varían en rangos que van desde prevalencias de 61%

en un estudio realizado en Tailandia hasta 100% en el de Argentina (Siritantikorn *et al*, 1997, Tanon *et al*, 1999). La prevalencia varía también dependiendo de la severidad de la lesión. Por ejemplo, en la Tabla 20 se puede observar que en los estudios realizados en mujeres con citología anormal (CIN II, III o in situ) las prevalencias son menores que las reportadas para las lesiones invasoras, y van desde las consideradas altas (Svare *et al*, 1998) hasta las bajas como la reportada por Gjooen *et al*, 1996, por debajo de 50%.

En la Tabla 21 se presentan las prevalencias reportadas en las mujeres sanas. Se observa que las prevalencias van desde la reportada por Cuzick *et al*, 1999 (a) de 3.3%, hasta 43.4% en el estudio de Zehbe *et al*, 1996, en mujeres suecas.

En la Tabla 22 se presenta la prevalencia del virus del papiloma humano en los estudios de casos y controles realizados recientemente (1995-2002) y que incluyen mujeres de distintas partes del mundo. En el grupo de enfermas de cáncer de cuello uterino la prevalencia del VPH es alrededor de 90%, a excepción de lo reportado por Lertworapreecha *et al*, 1998 y Kubota *et al*, 1999, con prevalencias por debajo de esta cifra. En el grupo de mujeres no afectadas por dicha patología, la prevalencia es menor al veinte por ciento.

#### **1.2.9.2 Prevalencia de VPH 16 en mujeres con y sin patología cervical**

La prevalencia del VPH 16 tanto, en mujeres con cáncer cervical como en quienes presentan neoplasia cervical y en mujeres sanas se presenta en las Tablas 23, 24 y 25, respectivamente. Dicha prevalencia en mujeres afectadas por el cáncer cervical, es en promedio de alrededor de 50%, sin embargo, autores como Nakagawa *et al*, 1999, reportan prevalencias por debajo de esta cifra (32.6%) o Siritantikorn *et al*, que refiere prevalencias de 86%. Caso aparte es el estudio

**Tabla 19**

**Prevalencia global del virus de papiloma humano en cáncer cervical**

Autor/País	No. de participantes	Método de detección	Tipo de lesión	Tipo de muestra	Prevalencia
Van Muyden/Rusia/1999	159	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	100%
Tanon, Argentina/1999	301	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	100%
Samoylova/Rusia/1995	21	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	100%
Walboomers/Worldwide/2000	1000	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	99.7
Nakagawa S/Japón/1999	46	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	96%
Zehbe/Suecia/1997	45	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	95.5%
Bosch/Worldwide/1995	1000	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	93%
Herrero/Costa Rica/2000	? ?	PCR	Cáncer Cervical	Biopsia	88%
Huang/China/1997	40	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	87.5%
Torroella/México/1998	69	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	87%
Lombard/Francia/1998	297	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	83%
Bhattarakosol/Thai/1996	100	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	82%
Sasagawa/Japón/2001	72	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	81%
Paez/Ecuador/1996	47	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	81%
Thomas/Thai/2001	190	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	79%
La Ruche, 1998	13	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	76.9%
Hildesheim/EUA/1999	278	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	75.2%
Paez/Japón/1996	63	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	71%
Naronha/Brasil/1999	155	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	70.3%
Hsu/Taiwan/1997	40	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	70.0%
Munirajan/India/1998	43	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	70%
Cavalcanti/Brasil/1996	230	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	68.5%
Siritantikorn/Thai/1997	23	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	61%

realizado por Huang *et al*, 1997, en China en el que refiere una prevalencia de VPH-16 muy baja (7.5%), pudiendo ser explicado esto en función de la prevalencia más alta de otros tipos.

Respecto a la prevalencia del VPH 16 en mujeres con neoplasia cervical, se observan prevalencias cercanas a 80% (Torroella *et al*, 1998) en algunos estudios, sin embargo, se reportan prevalencias bajas de alrededor del 20% (Sasagawa *et al*, 1997, Takac *et al*, 1998). Lo mismo sucede en el caso de la prevalencia del VPH-16 en mujeres sanas, reportándose prevalencias que van desde 40.9% del estudio

de Astori *et al*, 1999 hasta prevalencias del 1% (Sasagawa *et al*, 1997).

**1.2.9.3 Prevalencia de VPH por grupo de edad**

Por grupos de edad, se observa que la prevalencia de VPH (Tabla 26) es alta en las mujeres jóvenes y va declinando conforme aumenta la edad ( en la mayoría de los estudios), aunque suele puede presentar un segundo pico en las mujeres postmenopáusicas (Kotloff *et al*, 1998; Grce *et al*, 1997, Lazcano *et al*, 2001).

**Tabla 20**

**Prevalencia global del virus de papiloma humano en neoplasia cervical**

Autor y año	Lugar	Población de Estudio	No. de Sujetos	Método de Hibridación	Prevalencia Global
Svare, 1998	Dinamarca	Mujeres citología anormal	126	PCR	100%
Schneider, 1997	Alemania	Mujeres c/CIN II/III	40	PCR	95.0%
Chabaud, 1996	Senegal	Mujeres citología anormal	65	PCR	94.0%
Herrington, 1995	Inglaterra	Mujeres c/CIN II/III	38	PCR	92.0%
Liaw, 1995	Taiwan	Mujeres c/CIN II/III	48	PCR	91.7%
Tabrizi, 1999	Australia	Mujeres c/CIN II/III	460	PCR	89%
Herrero, 2000	Costa Rica	Mujeres c/CIN II/III	128	PCR	89%
Sasagawa, 1999	Japón	Mujeres c/CIN II/III	101	PCR	86.1%
Ratray, 1996	Jamaica	Mujeres c/CIN II/III	66	PCR	86.3%
Kalantari, 1997	Suecia	Mujeres c/CIN III/in situ	95	PCR	84.2%
Torroella, 1998	México	Mujeres c/CIN III	24	PCR	83%
Burger, 1996	E.U.A	Mujeres c/CIN III/in situ	180	PCR	85.6%
La Ruche, 1998	Africa	Mujeres c/CIN II/III	60	PCR	81.7%
Riethmuller, 1999	Francia	Mujeres citología anormal	130	PCR	81.6%
Cope, 1997	E.U.A	Mujeres con y sin patología cervical	97	PCR	81.0%
Kalantari, 1997	Suecia	Mujeres c/CIN II/III	305	PCR	78.7%
Remmink, 1995	Holanda	Mujeres citología anormal	342	PCR	77.8%
Sasagawa, 2001	Japón	Mujeres c/CIN II/III	137	PCR	76%
Tachezy, 1999	Checoeslovaquia	Mujeres c/CIN II/III	389	PCR	58.0%
Chan, 1996	China	Mujeres c/CIN II/III	35	PCR	57.1%
Thomas/2001	Tailandia	Mujeres c/CIN II/III	79	PCR	57%
Siritantikorn/1997	Tailandia	Mujeres c/CIN II/III	57	PCR	46%
Chan, 1999	China	Mujeres citología anormal	332	PCR	68.3%
Cuzick, 1999(a)	R. Unido	Mujeres c/CIN III/in situ	34	PCR	46.5%
Grce, 1997	Croacia	Mujeres citología anormal	379	PCR	43.0%
Del Mistro, 1998	S/D	Mujeres citología anormal	75	PCR	42.6%
Wideroff, 1998	E.U.A	Mujeres citología anormal	251	PCR	42%
Gjoen, 1996	Noruega	Mujeres c/CIN II/III	222	PCR	41.4%

**1.2.9.4 Prevalencia del tipo de VPH por grupo de edad**

Con relación a la prevalencia de tipos de VPH por grupos de edad, se observa que dicha prevalencia decrece con la edad, especialmente en el VPH 16 como se observa en la Tabla 27, pudiéndose explicar dicho fenómeno en función del desarrollo de inmunidad contra tipos específicos con el avance de la edad o por un

efecto de cohorte asociado con la reciente diseminación de la infección en la población debida a los cambios en la conducta sexual (Matos *et al*, 2003; Muñoz *et al*, 2003).

**1.2.9.5 Prevalencia en casos y en controles por tipo de VPH**

En 1995, la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC) concluyó que

**Tabla 21**

**Prevalencia global del virus de papiloma humano en mujeres sanas**

Autor y año	Lugar	Población de Estudio	No. de Sujetos	Método de Hibridación	Prevalencia Global
Zehbe, 1996	Suecia	Mujeres c/citología normal	83	PCR	43.4%
Smith, 1997	E.U.A	Mujeres c/citología normal	105	PCR	38.1%
Gjooen, 1996	Noruega	Mujeres c/citología normal	101	PCR	33.7%
Svare, 1998	Dinamarca	Mujeres c/citología normal	126	PCR	22%
Richardson, 2000	Canadá	Estudiantes asintomaticas	489	PCR	21.8%
Chaouki, 1998	Marruecos	Mujeres c/citología normal	185	PCR	20.5%
Grce, 1996	Croacia	Mujeres asintomaticas	338	Slot-blot hibrid	19.8%
Franco, 1995	Brasil	Mujeres asintomáticas	718	PCR	18.3%
Deak, 1999	Hungría	Mujeres c/citología normal	1,200	Hybrid Capture	17.4%
Torroella, 1998	México	Mujeres c/citología normal	71	PCR	17%
Serwadda, 1999	Uganda	Estudio de base poblacional	960	Hybrid Capture	16.7%
Chichareon, 1998	Tailandia	Mujeres c/citología normal	261	PCR	15.7%
Kruger-Kjaer, 1998	Dinamarca	Mujeres c/citología normal	994	PCR	15.6%
Kjaer, 1997	Dinamarca	Mujeres c/citología normal	1000	PCR	15.4%
Wideroff, 1998	EUA	Mujeres c/citología normal	806	PCR	15.0%
Lazcano, 2000	México	Mujeres c/citología normal	1,340	PCR	14.5%
Astori, 1999	Senegal	Mujeres c/citología normal	158	PCR	13.9%
Hassen, 1999	Túnez	Mujeres c/citología normal	106	PCR	13.6%
Giuliano, 1999	EUA	Mujeres c/citología normal	971	Hybrid Capture	13.2%
Remesar, 1996	Sudafrica	Mujeres c/citología normal	192		13.0%
de Roda, 1995	Holanda	Mujeres c/citología normal	3,948	PCR	10.9%
Muñoz, 1996	Brasil España Colombia	Controles sanos	810	PCR	10.5%
Clavel, 1998	Francia	Mujeres que asisten clínica DOC	1028	Hybrid Capture	10.5%
Ngelangel, 1998	Filipinas	Mujeres c/citología normal	381	PCR	9.2%
Sasagawa, 2001	Japón	Mujeres c/citología normal	1562	PCR	8.6%
Okesala, 2000	Africa	Mujeres c/citología normal	861	PCR	8.0%
del Mistro, 1998		Mujeres c/citología normal	129	PCR	7.7%
Rozendaal, 1996	Holanda	Mujeres del programa DOC	1622	PCR	6.0%
Dillner, 1999	Suecia	Mujeres c/citología normal	1,029	PCR	5.7%
Siritantikorn, 1997	Tailandia	Mujeres c/citología normal	102	PCR	5.0%
Ramael, 1995	Bélgica	Mujeres c/citología normal	200	PCR	4.0%
Cuzick, 1999(a)		Mujeres c/citología normal	2,855	PCR	3.3%

**Tabla 22**

**Prevalencia del virus de papiloma humano en estudios de casos y controles**

Autor y año	País	No. de Casos	No. de Controles	Método de detección	Tipo de VPH	Prevalencia en los casos	Prevalencia en los controles
Tanon,1999	Argentina	102	199	PCR	Global	100%	43%
Rolon,2000	Paraguay	106	91	PCR	Global	98.1%	20%
Chaouki, 1998	Marruecos	175	176	PCR	Global	97.1%	21.6%
Bayo,2002	Mali	65	12	PCR	Global	96.9	33.3
Chichareon, 1998	Tailandia	339	261	PCR	Global	96.5%	15.7%
Ngelangel, 1998	Filipinas	331	381	PCR	Global	96.4%	9.2%
Santos, 2001	Perú	171	175	PCR	Global	95.3	17.7
Liaw, 1995	Taiwan	88	261	PCR	Global	92%	9%
Olsen,1995	Noruega	103	234	PCR	Global	91%	15%
Gjooen, 1996	Noruega	103	231	PCR	Global	91%	15%
Ferrera, 1999	Honduras	229	438	PCR	Global	87%	39%
Lertworapreecha,1998	Tailandia	50	50	PCR	Global	74%	6%
Kubota,1999	Japón	236	95	Hybrid C	Global	47.5%	5.3%

**Tabla 23**

**Prevalencia del virus de papiloma humano 16 en cáncer cervical**

Autor/País	No. de Participantes	Método de detección	Tipo de Lesión	Tipo de muestra	Prevalencia VPH-16
Siritantikorn/Thai/1997	23	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	86%
Samoylova/Rusia/1995	21	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	85.7%
Sebbelov/Suecia/2000	34	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	82.8%
Zumbach/Rusia/2000	128	S/D	Cáncer cervical	Biopsia	78%
Hsu/Taiwan/1997	40	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	68.0%
Chaouki/Marruecos/1998	152	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	67.7%
Cuzick, Inglaterra, 2000	116	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	66%
van Muyden/Rusia/1999	159	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	64.8%
Virtej/Rumania/1998	28	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	64.3%
Lombard/Francia/1998	297	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	61%
Chichareon/Tailandia/1998	328	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	57.1%
Ylitalo, Suecia,2000	504	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	56%
Labropoulou/Grecia/1997	S/D	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	56%
Munirajan/India/1998	43	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	53%
Torroella/México/1998	69	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	52%
Bosch/Worldwide/1995	1000	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	50%
Hernández, México,1997	88	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	48.9%
Lertworapreecha/Tailandia/1998	50	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	48.6%
Bhattarakosol/Thai/1996	100	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	42.7%
Woodman/Reino Unido/1996	93	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	42%
Hwang/Corea/1999	41	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	36.5%
Ngelangel,Filipinas, 1998	323	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	36.3%
Nakagawa S/Japón/1999	46	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	32.6%
Huang/China/1997	40	PCR	Cáncer cervical	Biopsia	7.5%

**Tabla 24**

**Prevalencia de virus de papiloma humano 16 en mujeres con neoplasia cervical**

Autor, Lugar y año	Población de estudio	No. de Sujetos	Método de Hibridación	Prevalencia Global
Torroella/México/1998	Mujeres c/CIN III	24	PCR	79%
Londesborough, R.Unido,1996	Mujeres c/CIN III	64	PCR	70.3%
Siritantikorn/Thai/1997	Mujeres c/CIN III	57	PCR	69%
Chang, Taiwan, 1997	Mujeres c/CIN III	53	PCR	64.2%
Burger, R. Unido, 1996	Mujeres c/CIN III	180	PCR	56.7%
Hernández,México,1997	Mujeres c/CIN III	60	PCR	48.3%
Schneider, Alemania, 1997	Mujeres c/CIN III	40	PCR	47.5%
Kalantari,Suecia,1997	Mujeres c/CIN III	95	PCR	46.3%
Herrington, R.Unido, 1995	Mujeres c/CIN III	26	PCR	46.2%
Flannelly, Escocia, 1995	Mujeres c/CIN III	31	PCR	45.2%
Cuzick, R. Unido, 1995	Mujeres c/CIN III	81	PCR	44.4%
Rattray, Jamaica,1996	Mujeres c/CIN III	39	PCR	35.9%
Saito, Japón, 1995	Mujeres c/CIN III	32	PCR	31.3%
Gjooen, Noruega, 1996	Mujeres c/CIN III	222	PCR	29.3%
Grce, Croacia, 1997	Mujeres c/CIN III	50	PCR	26%
Chan, China, 1996	Mujeres c/CIN III	35	PCR	25.7%
La Ruche, Africa,1998	Mujeres c/CIN III	60	PCR	25%
Sasagawa,Japón,1997	Mujeres c/CIN III	52	PCR	25%
Takac, Eslovenia	Mujeres c/CIN II-III	505	In situ Hybry	16.2%

había suficiente evidencia epidemiológica para clasificar como carcinógenos humanos a los tipos de VPH 16-18, sin embargo esa evidencia era limitada o inadecuada para cualquiera del resto de los subtipos. Muñoz *et al*, 2003. analizo información de 11 estudios realizados en nueve países con distinta incidencia de cáncer cervical, concluyendo que en más de 95% de los tumores del cérvix se detecta la presencia de secuencias virales de algún tipo de VPH, principalmente de los tipos 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 y 35 que en conjunto representan 95% de la prevalencia en los carcinomas de células escamosas positivos al VPH (Muñoz *et al*, 2003). Los tipos más frecuentes entre los controles en dicho estudio fueron 16, 18, 45, 31, 58, 35, 6, 11, 52, 56 (Tabla 28).

**1.2.9.6 Prevalencia por tipo histológico**

Resultados de diversos estudio realizados en países como Marruecos (Chaouki *et al*, 1998), Filipinas (Ngelangel *et al*, 1998) y Tailandia (Chichareon *et al*, 1998), para conocer la prevalencia global del VPH y la del VPH-16 en diversos tipos histológicos, reportan prevalencias diferentes, según se trate de un adenocarcinoma o de un carcinoma de células escamosas (Tabla 29). Se observa que en dichos estudios predomina el carcinoma escamoso y que la prevalencia global del VPH se ubica alrededor del 95%, la prevalencia del VPH-16 en estos va de 40.2% a 66.2%. En el adenocarcinoma, la prevalencia del VPH se presenta en el rango de 89.7-100% y de VPH-16 de 24.2-61.5%.

**Tabla 25**

**Prevalencia del virus de papiloma humano 16 en mujeres sanas**

Autor/ Lugar / año	Población de estudio	No. de Sujetos	Método de Hibridación	Prevalencia Global
Astori/Senegal/1999	Mujeres c/citología normal	158	PCR	40.9%
Flannelly, Escocia,1995	Mujeres c/citología normal	67	PCR	40.1%
Chang, Taiwan,1997	Mujeres c/citología normal	72	PCR	23.6%
Alexandrova/Rusia/1999	Mujeres c/citología normal	309	PCR	21%
Liaw, EUA,1999	Mujeres c/citología normal	1056	PCR	20.2%
Gjooen, Noruega, 1996	Mujeres c/citología normal	101	PCR	13.9%
Hernández,México,1997	Mujeres c/citología normal	204	PCR	13.2%
Young, Canadá, 1997	Mujeres c/citología normal	530	PCR	12.1%
Ferrara/Honduras/1999	Mujeres c/citología normal	438	PCR	10.9%
Kotloff,EUA ,1998	Mujeres c/citología normal	414	PCR	7.7%
Cope, E.U.A, 1997	Mujeres c/citología normal	596	PCR	7.7%
Karaloglu, Turquía, 1996	Mujeres c/citología normal	14	PCR	7.1%
Agorastos, Grecia, 1995	Mujeres c/citología normal	226	PCR	6.6%
Olsen, Noruega,1995	Estudio base poblacional	221	PCR	6.3%
Guney, Turquía, 1997	Mujeres c/citología normal	21	PCR	4.8%
Chichareon,Tailandia,1998	Mujeres c/citología normal	261	PCR	4.6%
Chaouki,Marruecos,1998	Mujeres c/citología normal	185	PCR	4.3%
Woodman,1998	Mujeres c/citología normal	2011	PCR	4.0%
Rozendaal,Holanda,1996	Mujeres del programa DOC	1622	PCR	1.8%
Dillner, Suecia,1999	Mujeres del programa DOC	1029	PCR	1.5%
La Ruche, Africa,1998	Mujeres c/citología normal	391	PCR	1.5%
Ramael, Bélgica, 1995	Mujeres del programa DOC	200	PCR	1.5%
Ngelangel,Filipinas,1998	Mujeres c/citología normal	381	PCR	1.3%
Sasagawa,Japón,1997	Mujeres c/citología normal	778	PCR	1.0%

**Tabla 26**

**Prevalencia del virus de papiloma humano por grupos de edad**

Autor, Lugar y año	No. de Sujetos	Grupos de edad	Método de Hibridación	Prevalencia Global (%)
Kotloff, EUA, 1998	414	< 20	PCR	32.4
		20-24		37.3
		25-29		18.9
		> 30		25.9
Grce, Croacia, 1997	379	< 20	PCR	68.3
		21-30		41.3
		31-40		33.3
		41-50		33.3
Kalantari, Suecia, 1997	376	> 51		63.2
		≤ 24		88
		25-34		82
		35-44		86
		45-54		81
Gjoen, Noruega, 1996	222	55-64	PCR	88
		65-74		100
		20-24		23.1
		25-29		23.1
		30-34		13
de Roda, Holanda, 1995	3,948	35-39	PCR	8.3
		40-45		11.1
		15-19		17.2
		20-24		20.8
		25-29		13.7
Figuroa, Jamaica, 1995	202	30-34		9.7
		35-39		6.8
		40-49		6.7
		15-19		39
Lazcano, México/2001	1340	20-24	PCR	33
		25-29		31
		> 30		17
		≤ 25		16.7
		25-34		9.4
		35-44		3.7
		45-54		12.3
		55-64		15
		65 y +		23

**Tabla 27**

Prevalencia por tipo de virus de papiloma humano, según grupo de edad												
Tipos de VPH	Casos						Controles					
	≤ 34		35-49		≥ 50		≤ 34		35-49		≥ 50	
	No.	% de Infeccionadas	No.	% de Infeccionadas	No.	% de Infeccionadas	No.	% de Infeccionadas	No.	% de Infeccionadas	No.	% de Infeccionadas
16	175	64.1	417	60.0	433	56.2	12	28.6	29	24.8	29	29.0
18	33	12.1	113	16.3	114	14.8	0	0.0	14	12.0	12	12.0
45	14	5.1	54	7.8	34	4.4	4	9.5	6	5.1	8	8.0
31	11	4.0	33	4.7	29	3.8	5	11.9	5	4.3	7	7.0
52	1	0.4	11	1.6	34	4.4	0	0.0	3	2.6	3	3.0
33	8	2.9	27	3.9	29	3.8	3	7.1	2	1.7	4	4.0
58	3	1.1	15	2.2	26	3.4	2	4.8	3	2.6	6	6.0
35	6	2.2	7	1.0	21	2.7	2	4.8	4	3.4	4	4.0
59	1	0.4	10	1.4	12	1.6	0	0.0	0	0.0	2	2.0
51	1	0.4	10	1.4	9	1.2	1	2.4	4	3.4	1	1.0
56	0	0.0	6	0.9	10	1.3	2	4.8	2	1.7	3	3.0
39	0	0.0	5	0.7	11	1.4	0	0.0	0	0.0	1	1.0
73	0	0.0	4	0.6	6	0.8	1	2.4	1	0.9	0	0.0
82	1	0.4	0	0.0	5	0.6	1	2.4	1	0.9	0	0.0
26	1	0.4	0	0.0	4	0.5	0	0.0	0	0.0	0	0.0
66	1	0.4	3	0.4	5	0.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0
68	0	0.0	2	0.3	1	0.1	1	2.4	0	0.0	2	2.0
53	1	0.4	1	0.1	1	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0
6	2	0.7	4	0.6	3	0.4	4	9.5	4	3.4	5	5.0
81	0	0.0	0	0.0	2	0.3	1	2.4	2	1.7	5	5.0
70	0	0.0	0	0.0	2	0.3	0	0.0	5	4.3	2	2.0
Otros	2	0.7	7	1.0	5	0.6	7	16.7	13	11.1	13	13.0
X*+	30	11.0	35	5.0	46	6.0	7	16.7	32	27.4	15	15.0
Total No. Mujeres Infeccionadas	273	100.0	695	100.0	771	100.0	42	100.0	117	100.0	100	100.0

\*Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003;348(6):518-27

**Tabla 28**

**Prevalencia en casos y en controles por tipo de virus de papiloma humano**

<i>Infecciones con un solo tipo de VPH</i>					<i>Infecciones con múltiples tipos de VPH</i>				
Tipo de VPH	Casos		Controles		Tipo de VPH	Casos		Controles	
	No.	% de todas las infectadas	No.	% de todas las infectadas		No.	% de todas las infectadas	No.	% de todas las infectadas
16	950	54.6	63	24.3	16 y 18	36	2.1	3	1.2
18	192	11.0	19	7.3	16 y 33	9	0.5	0	0.0
45	77	4.4	9	3.5	16 y 31	6	0.3	1	0.4
31	59	3.4	11	4.2	16 y 45	3	0.2	0	0.0
52	38	2.2	4	1.5	16 y 51	3	0.2	0	0.0
33	35	2.0	4	1.5	16 y 56	2	0.1	0	0.0
58	34	2.0	6	2.3	16 y 58	2	0.1	0	0.0
35	24	1.4	7	2.7	16 y 66	2	0.1	0	0.0
59	20	1.2	1	0.4	16 y 6	2	0.1	0	0.0
51	13	0.7	4	1.5	16 y 73	2	0.1	0	0.0
56	11	0.6	5	1.9	16 y otros	5	0.3	2	0.8
39	9	0.5	0	0.0					
73	6	0.3	1	0.4	18 y 45	9	0.5	1	0.4
82	5	0.3	0	0.0	18 y 33	4	0.2	0	0.0
26	3	0.2	0	0.0	18 y 52	3	0.2	1	0.4
66	3	0.2	0	0.0	18 y 26	2	0.1	0	0.0
68	2	0.2	1	0.4	18 y 58	2	0.1	0	0.0
HR*	2	0.1	0	0.0	18 y otros	2	0.1	1	0.4
53	1	0.1	0	0.0					
6	1	0.1	6	2.3	31 y 33	3	0.2	0	0.0
81	1	0.1	6	2.3	31 y 52	2	0.1	0	0.0
11	1	0.1	2	0.8	31 y otros	2	0.1	4	1.5
43	0	0.0	3	1.2					
40	0	0.0	2	0.8	33 y 35	3	0.2	1	0.4
42	0	0.0	1	0.4	33 y 58	3	0.2	0	0.0
44	0	0.0	1	0.4	33 y otros	2	0.1	1	0.4
54	0	0.0	3	1.2					
61	0	0.0	1	0.4	45 y 43	2	0.1	1	0.4
70	0	0.0	4	1.5	45 y otros	5	0.3	5	1.9
72	0	0.0	4	1.5					
CP6108	0	0.0	1	0.4	6 y 11	1	0.1	4	1.5
X*	111	6.4	54	20.8					
					Otras infecciones dobles	10	0.6	4	1.5
					Infecciones triples	11	0.6	5	1.9
					Infecciones cuádruples	3	0.2	1	0.4
					Infecciones quintuples	0	0.0	1	0.4
Total de mujeres c/ infección simple	1598	91.9	223	86.1	Total de mujeres c/ infección múltiple	141	8.1	36	13.9

\*Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003;348(6):518-27

**Tabla 29**

<b>Prevalencia del virus del papiloma humano según tipo histológico</b>					
Autor, Lugar y año	Tipo Histológico	No. de Sujetos	Método de Hibridación	Prevalencia Global	Prevalencia VPH-16
Ngelangel, Filipinas 1998	Adenocarcinoma	33	PCR	100%	24.2%
	Carcinoma escamoso	323		93.8%	40.2%
Chaouki, Marruecos, 1998	Adenocarcinoma	13	PCR	92.3%	61.5%
	Carcinoma escamoso	139		95%	66.2%
Naronha, Brasil, 1999	Adenocarcinoma	155	PCR	70.3%	60.4%
Chicharoen, Tailandia, 1998	Adenocarcinoma	39	PCR	89.7%	33.3%
	Carcinoma escamoso	338		95.3%	57.1%
Santos, Perú, 2001	Adenocarcinoma	25	PCR	92.0%	78.3%
	Carcinoma escamoso	173		95.3%	54.9%
Thomas, Tailandia, 2001	Adenocarcinoma	42	PCR	99.9%	33.3%
	Carcinoma escamoso	190		100%	60.0%

### 1.3. El virus del papiloma humano en la etiología del cáncer cervical

#### 1.3.1 VPH y cáncer cervical (Evolución histórica)

Las descripciones más antiguas que mencionan posibles infecciones asociadas con el VHP en condilomas clásicos (verrugas exofíticas) en los genitales externos, tanto de hombres como de mujeres, datan de la era de los romanos. En el siglo pasado se observó que, en ocasiones, las verrugas genitales se convertían en carcinomas de células escamosas de manera extraña, en vulva y pene. Comúnmente se interpretaba que este evento no estaba relacionado con algún agente infeccioso, a pesar de que la naturaleza infecciosa de las verrugas fue reconocida por Ciuffo en 1907, cuando el mismo se indujo la formación de verrugas después de auto-inocularse extractos de verrugas libres de células. En 1922 Lewandowsky y Lutz

describieron una condición hereditaria muy extraña, la epidermodisplasia verruciforme, caracterizada por verrugas atípicas que cubrían largas áreas de la piel. En 1936 dos patólogos húngaros, Balo y Korpassy, trataron de establecer una posible relación entre ciertos tipos de cáncer y cierto tipo de verrugas, en material de autopsias (revisado por Zur Hausen, 1977). La naturaleza infecciosa de estas verrugas fue demostrada por Jablonska *et al*, 1972, también por la auto-inoculación de extractos libres de células. Para 1967 había suficiente evidencia epidemiológica para postular que un agente infeccioso estaba relacionado con la ocurrencia de CC (Martín *et al*, 1967). Sin embargo, no fue sino hasta la década de los 70' cuando se reconoció que los HPV podrían tener un papel en el desarrollo de las neoplasias cervicales (zur Hausen, 1977). El DNA del primer HPV genital que se describió fue el del VPH 6 (Gissman *et al*, 1980), el cual se detectó en una verruga genital (condiloma acuminado), posteriormente se clono y caracterizó. Esto permitió primero, el

aislamiento del DNA de un VPH muy relacionado (VPH-I I) en papilomas de laringe y de verrugas genitales; y después, el DNA de dos tipos vírales lejanamente relacionados, el HPV-16 y el HPV-18, directamente de biopsias de cáncer de cérvix (Durst *et al*, 1983; Boshart *et al*, 1984). A pesar de que en 1976 él propio zur Hausen ya había postulado que los VPH podrían tener algún papel importante en el desarrollo del cáncer anogenital, fue el aislamiento del DNA de los VPH tipos 16 y 18 lo que dio la base para los estudios experimentales que lo confirmaron.

A pesar de conocerse que el VPH es un agente sexualmente transmitido, responsable de la transformación neoplásica en el cuello uterino, los primeros resultados de estudios que exploraban la asociación entre éste y el cáncer de cuello uterino consistieron en series clínicas, a menudo muy limitadas, en las que se determinaba la presencia de alguno de los marcadores vírales en muestras celulares o de tejido neoplásico. Este tipo de informes aparecían en su mayoría sin mayor información sobre las características de las pacientes y a menudo sin datos suficientes del grupo control. Las técnicas de detección de los marcadores vírales evolucionaron muy rápidamente, pero hasta finales de la década de los 80 no se publicaron estudios de validación que permitieran conocer los límites de algunas de las técnicas utilizadas hasta entonces (Goldsborough *et al*, 1992).

La detección de marcadores vírales de VPH puede realizarse mediante descripciones morfológicas (citología), técnicas de inmunohistoquímica (tinciones con marcadores del tipo de la oxidasa-peroxidasa sobre preparaciones histológicas, o sobre otros soportes tras un proceso de extracción de ADN). La sensibilidad y especificidad de cada uno de estos métodos son muy variables, y rápidamente se aceptó que las técnicas de hibridación constituían el método más fiable para la realización de estudios epidemiológicos

que versaban sobre lesiones neoplásicas. No obstante, también esta tecnología evolucionó muy rápidamente, describiéndose nuevas variantes de los métodos. El procedimiento de ampliación de secuencias específicas de ADN mediante reacciones de polimerización en cadena (Polymerase Chain Reaction, PCR) permitió aumentar considerablemente el nivel mínimo de detección de ADN viral de las técnicas de hibridación, por lo que se ha convertido en un instrumento importante para la investigación epidemiológica (Goldsborough *et al*, 1992), en particular en el estudio de la asociación entre VPH y cáncer cervical.

En términos de salud pública, el descubrimiento de que el cáncer cervical es una rara consecuencia de una infección por VPH es equiparable en importancia al descubrimiento de la asociación entre el tabaco y el cáncer de pulmón o entre infecciones crónicas con virus de la hepatitis C y riesgo de cáncer de hígado (Bosch *et al*, 2002).

### **1.3.2 El rol del VPH en la etiología del cáncer cervical**

La investigación sobre la etiología del cáncer cervical ha avanzado de manera importante en las últimas tres décadas; así, para el año 2000 se había completado ya la evidencia epidemiológica que sustenta dicha asociación. Esta incluía una amplia serie de estudios entre los que se cuentan los de prevalencia, estudios de casos y controles y cohortes, investigaciones sobre historia natural y, más recientemente estudios de intervención aleatorizados. Confirmando a través de los resultados de dichos estudios la fuerte y específica asociación entre la infección por VPH y cáncer cervical (Bosch *et al*, 1995, Walboomers *et al*, 1999, Herrero *et al*, 2000) cumple con los criterios de causalidad (fuerza, consistencia, especificidad, gradiente dosis/respuesta, plausibilidad, coherencia, evidencia experimental y analogía) propuestos por Hill (Bosch *et al*, 2002).

Los estudios realizados por Bosch *et al*, 1992; Muñoz *et al*, 1992, que incluyeron cuatro estudios de casos y controles (dos sobre cáncer *in situ* y dos sobre cáncer invasor), realizados simultáneamente en nueve provincias de España y en Cali, Colombia, contribuyeron notablemente a establecer la naturaleza y la fuerza de la asociación entre el cáncer cervical y el VPH. En este estudio, para el carcinoma invasor, el riesgo relativo fue 46,2 (IC95%=18,5-115,1) en España y 15,6 (IC95%=6,51-34,7) en Colombia; para el carcinoma *in situ* 56,9 (IC95%=24,8-130,6) en España y 15,5 (IC95%=8,2-29,4) en Colombia. Esta fuerte asociación fue específica para los tipos 16, 18, 31, 33, 35. El estudio realizado en Brasil (Eluf-Neto *et al*, 1994) ha mostrado que el riesgo de cáncer de cuello uterino para las mujeres infectadas por el VPH es de 37.1 (IC95%=19,5-70,4), comparadas con las no infectadas.

La prevalencia del VPH varía de 22% a 100% según los diferentes trabajos publicados en más de 30 series de CIN y cáncer cervical (IARC, 1995). En los estudios más recientes, y particularmente en aquellos que utilizan el método de PCR, las prevalencias se aproximan a 100% (Walboomers *et al*, 1999).

Bosch *et al*. 1995, utilizando un protocolo estandarizado y analizando un total de 1,000 biopsias con diagnóstico histológico de cáncer de cuello uterino en un total de 22 países, y utilizando la técnica de PCR en un laboratorio centralizado, identificó la presencia de ADN del VPH en un 95% de los casos, encontrándose el VPH 16 en 54 %, el VPH 18 en 14%, el VPH 45 en 9% y el VPH31 en 6% de los casos positivos para el VPH. El VPH 16 fue más frecuente en todos los países, excepto en Indonesia, donde el más común fue el 18. El tipo 45 fue encontrado en el oeste de África; los tipos 39 y 59 fueron detectados exclusivamente en Latinoamérica. El tipo 16 fue más frecuente para los cánceres de células escamosas y el 18 para el adenocarcinoma. El 7% de los casos

que fueron negativos para el VPH, en este primer análisis, han sido recientemente de re-analizados usando diferentes variantes para la detección viral y asegurando la buena calidad de los tejidos. Como resultado de este segundo análisis la prevalencia del VPH ha aumentado de 93,0% a 99,8% (Walboomers *et al*, 1999), sugiriendo que el VPH es probablemente una causa necesaria para el cáncer de cuello. En estos estudios se sugiere que las variaciones geográficas entre los diferentes virus y subtipos del papiloma humano podrían explicar en parte las variaciones geográficas encontradas en la incidencia del cáncer de cuello uterino.

En el estudio multicéntrico coordinado en la IARC se encontró que el riesgo global para todos los países es de 60,2 para las mujeres infectadas por el virus del papiloma humano, comparadas con aquellas que no presentaban la infección. Los resultados de este estudio correspondientes a Marruecos (Chaouki *et al*, 1998), Filipinas (Ngelangel *et al*, 1998) y Tailandia (Chichareon *et al*, 1998) han sido publicados y el riesgo relativo para el papilomavirus ha sido de 61.6 (IC95%=292-130.0) en Marruecos, de 156 (IC95%=87-280) en Filipinas y de 119 (IC95%=64-222) en Tailandia, respectivamente.

Muñoz *et al*, 2003, con datos de 11 estudios de casos y controles de nueve países, reporta los datos que se presentan en la Tabla 30; la magnitud de las razones de momios mostradas sugiere que la asociación entre el VPH y el cáncer cervical es una de las más fuertes entre las relacionadas con cancerígenos en humanos.

Estudios realizados, tanto en países desarrollados como en países en desarrollo han mostrado también que el VPH está relacionado con las lesiones precursoras con la misma magnitud que con los estadios avanzados del cáncer de cuello (Schiffman *et al*, 1993; Olsen *et al*, 1996; Moreno *et al*, 1995; Liaw *et al*, 1995; Kjaer *et al*, 1996).

**Tabla 30**

Riesgo de cáncer cervical por tipo de VPH					
Tipo	OR	(95%CI)*	Tipo	OR	(95%CI)*
16	434.5	(278.2-678.7)	35	73.8	(26.4-206.5)
18	248.1	(138.1-445.8)	59	419.2	(54.2-3242.4)
45	197.6	(91.7-425.7)	51	66.5	(20.0-221.0)
31	123.6	(53.5-286.0)	56	45.1	(14.0-145.3)
52	200.0	(67.8-590.1)	73	106.4	(11.4-991.8)
33	373.5	(46.7-2985.8)	68	53.7	(4.4-650.1)
58	114.8	(45.1-292.6)	6	4.3	(4.4-650.1)
11	11.2	(1.0-128.0)	81(cp8304)		

\*OR ajustado por edad y centro. Tomado de: Muñoz N., Bosch FX., *et al.* NEJM 2003

A partir de los estudios publicados hasta el momento, Parkin *et al.*, 1999 han estimado la fracción de cáncer cervical que puede ser atribuible al VPH, según esta estimación, el VPH sería responsable de 81% de los cánceres que ocurren en los países desarrollados y del 90% en países en desarrollo. En otras palabras, el virus del papiloma humano sería responsable de 67.500 casos de cáncer cervical en países desarrollados y de 259.500 casos en los países subdesarrollados.

### 1.3.3 Cofactores de VPH

Antes de la introducción de las técnicas para determinar la presencia del ADN del VPH, los estudios epidemiológicos identificaron una serie de factores llamados de “de riesgo”, con mayor prevalencia en los casos diagnosticados de cáncer cervical que en el grupo de comparación. Este es el caso de diferencias en el comportamiento sexual y de reproducción, el uso de anticonceptivos orales, el hábito de fumar, la historia de infecciones de transmisión sexual, sobre todo por el herpesvirus tipo 2. Sin embargo, tanto los parámetros que miden conducta sexual asociados a cáncer cervical como el resto de los llamados “factores de riesgo” han sido reevaluados después de la introducción de dichas técnicas. Así, se afirma que variables como número de parejas

sexuales o edad de inicio de vida sexual activa sólo reflejan la probabilidad de exposición al VPH o la edad a la primera exposición al VPH, respectivamente. Una vez establecido que el factor etiológico central del cáncer cervical es el VPH se ha replanteado el papel que juegan el resto de los llamados factores de riesgo.

En la mayoría de los estudios de casos y controles que se realizan actualmente se incluye un análisis separado, o se restringe el análisis a las mujeres VPH positivas (casos y controles) para poder estimar la contribución de factores adicionales al VPH en la etiología del cáncer cervical (Kjaer *et al.*, 1996, Deacon *et al.*, 2000). Esto es, para conocer cómo otros factores en conjunción con el VPH modulan el riesgo de transición de infección cervical por el VPH a cáncer. Dos tipos de cofactores pueden ser importantes:

- **Factores ambientales** que pueden modular el efecto del VPH: Factores hormonales como el uso prolongado de anticonceptivos orales o la multiparidad, las infecciones de transmisión sexual diferentes al VPH, el tabaquismo, los factores nutricionales y los factores relacionados con la conducta sexual (Tabla 31), así como otros mencionados en la literatura, por ejemplo, los socioeconómicos.
- **Factores no ambientales** entre los que

**Tabla 31**

**Cofactores de VPH asociados a cáncer cervical en mujeres VPH positivas. Resultados del estudio multicentrico de casos y controles**

<b>Cofactor</b>	<b>No. de Casos</b>	<b>No. de Controles</b>	<b>OR (IC 95%)</b>
<b>Paridad</b>			
Nulípara	57	24	1.0
1-2	279	59	1.81(1.31-2.52)
3-4	450	70	2.55(1.95-3.34)
5-6	353	48	2.83(2.02-3.96)
≥ 7	534	52	3.82(2.66-5.48)
p de tendencia	-	-	<0.0001
<b>Uso de Aos</b>			
Nunca	1071	163	1.0
Alguna vez	605	92	1.42(0.99-2.04)
<b>Uso de Aos</b>			
Nunca	978	152	1.0
1	110	28	0.67(0.41-1.08)
2-4	156	31	0.80(0.51-1.24)
5-9	156	12	2.82(1.46-5.42)
≥10	172	14	4.03(2.09-7.79)
p de tendencia	-	-	<0.001
<b>Tabaquismo (status)</b>			
Nunca	1265	218	1.0
Alguna vez	409	36	2.08(1.33-3.27)
Fumadora	134	14	1.80(0.95-3.44)
Exfumadora	275	22	2.30(1.31-4.04)
<b>Tabaquismo (No. de cigarrillos x día)</b>			
Ninguno	1265	218	1.0
1-5	181	17	1.89(1.05-3.41)
≥ 6	211	18	2.23(1.18-4.20)
p de tendencia	-	-	N S
<b>Seropositividad a HSV-2</b>			
Negativo	601	115	1.0
Positivo	497	49	2.00(1.33-3.00)
<b>Seropositividad a C. trachomatis</b>			
Negativo	225	45	1.0
Positivo	205	16	2.1(1.1-4.0)
<b>Seropositividad a C. trachomatis (títulos)</b>			
Bajo	56	7	1.0
Intermedio	94	8	1.4(0.6-3.3)
Alto	55	1	2.7(1.2-5.9)
p de tendencia	-	-	0.01

Tomado de: Castellsague X, Bosch FX, Munoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. Virus Res 2002 Nov;89(2):191-9(b)

podemos mencionar a los relacionados con la respuesta inmune del huésped y aquellos relacionados con el virus, tales como el tipo y variantes del VPH, carga e integración viral.

Estos cofactores podrían, probablemente, ser más importantes para estimular la progresión de las lesiones infecciosas a lesiones preneoplásicas (NIC III) que para la progresión de estas lesiones al cáncer invasor (Moreno *et al*, 1995).

### 1.3.3.1 Factores ambientales

El papel que juegan las hormonas exógenas ha sido sugerido en diferentes estudios, y se ha concluido que el uso prolongado de anticonceptivos orales (AOs) sería un factor de riesgo para el cáncer de cuello uterino (Vessey *et al*, 1983, OMS, 1985, Brinton *et al*, 1986). Los estudios realizados en España, Colombia y Brasil, han encontrado sólo diferencias significativas entre las mujeres casos y las controles infectadas por el VPH para el uso y la duración de uso de anticonceptivos orales (AOs). El descubrimiento de este efecto en las mujeres positivas para el VPH y no en las negativas parece indicar que el efecto más probable de los (AOs) es promover la transición de la infección crónica por el VPH a la neoplasia cervical. (Eluf-Neto *et al*, 1994; Bosch *et al*, 1992; Muñoz *et al*, 1993).

Aunque el cáncer de cérvix no se considera, por lo general, como un tumor hormonodependiente, se ha demostrado la presencia de altos niveles de receptores hormonales (en los núcleos de fibroblastos del estroma subyacente al epitelio displásico) para estrógenos y progesterona, tanto en tejido normal como en neoplásico (Monsonogo *et al*, 1991; Hunter *et al*, 1987; Twiggs *et al*, 1987). Lo que sugiere que estas hormonas podrían actuar indirectamente en células epiteliales infectadas por el VPH.

Las hormonas sexuales (estrógenos y progesterona) pueden jugar un rol distinto en

la persistencia de infección por VPH que en propiamente el CC (Moreno *et al*, 2002). Brabin *et al*, 2002 demostró que los AOs pueden aumentar la inmunidad local en adolescentes (entre quienes es frecuente la disfunción menstrual y la media de concentración de estrógenos es menor a la de las mujeres mayores), por lo que la regulación de ciclo menstrual con el uso de AOs puede mejorar la inmunidad local (las concentraciones de IgA son altas en mujeres que usan AOs) permitiendo esto una mejor respuesta contra el VPH, disminuyendo el riesgo de CC más adelante.

Sin embargo, se ha demostrado una activación de la transcripción en la región de control del VPH en respuesta a estrógenos exógenos. Los AOs parecen aumentar la actividad transformadora de los oncogenes del VPH e interferir en la resolución eficiente de las lesiones causadas por el virus en el cérvix de las mujeres jóvenes (Kjellberg *et al*, 2000, Haverkos *et al*, 2000).

Recientemente, la IARC presentó los resultados de un estudio multicéntrico que incluyó 1768 casos y 262 controles positivos a VPH, concluyendo que el uso de AOs es un cofactor que incrementa cuatro veces el riesgo de cáncer cervical (RM= 4.48 IC 95% 2.24-9.36) con el uso de AOs (Tabla 31) por más de 10 años (Moreno *et al*, 2002).

Sin embargo, dichos resultados no son enteramente consistentes, ya que estudios realizados en mujeres con lesiones preneoplásicas (NIC), como los realizados en Dinamarca y en Estados Unidos (Schiffman *et al*, 1993; Kjaer *et al*, 1998) y otros realizados en diferentes poblaciones, no encontraron esta asociación (Lacey *et al*, 1999, Deacon *et al*, 2000). Incluso Celantano *et al*, 1987 y Becker *et al*, 1994 reportan un efecto protector de los AOs.

La dificultad para estimar el efecto del uso de AOs proviene del hecho de que esta variable está

altamente asociada con otros factores de riesgo como actividad sexual e historia de detecciones de Pap. La revisión de la evidencia de que existe asociación entre AOs y cáncer cervical realizada por la IARC concluyó que sesgos relacionados con conducta sexual, detección y otros factores como combinaciones de hormonales y dosis empleadas, así como prevalencia de uso de AOs diferentes, podrían ser posibles alternativas para explicar estos resultados no consistentes (IARC,1999).

La multiparidad ha sido consistentemente reportada en las últimas décadas como asociada a cáncer cervical (Boyd *et al*, 1964, Brinton *et al*, 1989, Parazzini *et al*, 1989), sin embargo, los resultados de dichos estudios son limitados porque no contaban con los medios para la detección del VPH por lo que no era posible determinar si multiparidad era un factor de riesgo independiente del VPH. En los estudios más recientes, tomando en cuenta el papel central del VPH en la etiología del CC (Muñoz *et al*, 1992; Bosch *et al*, 1992; Eluf-Neto *et al*, 1994, Schiffman *et al*, 1993, Kjaer *et al*, 1996, Parazzini *et al*, 1998) se ha encontrado una importante asociación entre multiparidad y CC (tanto invasor como *in situ*) entre las mujeres VPH positivas, considerando a la multiparidad como un cofactor que modula la acción del VPH.

Las hipótesis a través de las cuales se ha tratado de explicar la relación entre multiparidad y CC están relacionadas principalmente con el trauma obstétrico, cambios hormonales e inmunosupresión durante el embarazo. Las neoplasias aparecen con mayor frecuencia en el labio anterior del cérvix, zona donde el traumatismo obstétrico es más intenso (Richard *et al*, 1967). La reducción del riesgo asociada al antecedente de cesárea sugiere que el traumatismo que se produce durante el parto vaginal ejerce un efecto sobre el riesgo de CC. Además, en modelos animales se ha observado que las heridas pueden estimular la carcinogénesis y favorecer el acceso de agentes

infecciosos como el VPH a las capas basales de los epitelios (Yuspa *et al*, 1988). Los cambios hormonales que se dan durante el embarazo (incremento progresivo en las concentraciones sanguíneas de estrógenos y progesterona) pudieran ser responsables de alteraciones en la unión escamocolumnar (zona de transformación), produciendo ectopia cervical y manteniendo la zona de transformación sobre el exocervix por muchos años en las mujeres con gran número de embarazos, facilitando con esto la directa exposición al VPH (Singer *et al*, 1975, Autier *et al*, 1996). Así mismo, el embarazo provoca un estado de inmunosupresión que podría aumentar la susceptibilidad del organismo a los agentes infecciosos (Schneider *et al*, 1987).

Los resultados del estudio multicéntrico de la IARC (Muñoz *et al*, 2002) corroboran lo encontrado en los estudios mencionados anteriormente y muestran una directa asociación entre el número de partos y el carcinoma de células escamosas (RM= 3.8 I.C. 2.7-5.5 en las mujeres con siete o más partos, comparadas con las nulíparas (Tabla 31). Sin embargo, no hubo asociación significativa entre el riesgo de adenocarcinoma y el número de partos en este estudio.

El posible papel que juegan otras infecciones de transmisión sexual (ITS) en la etiología del cáncer de cuello uterino no está claro todavía. Es evidente que las mujeres con múltiples compañeros sexuales tienen un aumento de riesgo a la exposición de otras ITS. La coexistencia de otras infecciones de transmisión sexual puede ser facilitada por la erosión epitelial causada por la infección del VPH. La infección por *Chlamydia trachomatis* (CT) ha sido postulada como un posible factor de riesgo para CC por varios investigadores de (Koutsky *et al*, 1992; Sanjose *et al*, 1994; Schiffman *et al*, 1995).

La infección con CT es la más común de las infecciones de transmisión sexual de origen

bacteriano. Aunque la mayoría de estas infecciones cursan asintomáticas pueden ser causa de enfermedad inflamatoria pélvica o de uretritis, cervicitis. Ese proceso inflamatorio está asociado con atipia metaplásica de la zona de transformación del cérvix (Kiviat *et al*, 1985). La prevalencia de CT es más alta entre mujeres con anormalidades citológicas, comparadas con aquellas que presentan citología normal (Lehmann *et al*, 1999). Los mecanismos propuestos para explicar cómo la CT pudiera estar implicada en el desarrollo del cáncer cervical estarían relacionados con el hecho de que en la infección por CT es producido óxido nítrico en altas concentraciones por prolongados períodos durante la respuesta inflamatoria (con infiltrado de macrófagos) promoviendo la oxidación celular y, como consecuencia, daño a nivel del ADN (Liaudet *et al*, 2000). Esto permite concluir que la infección por CT puede actuar como un cofactor del VPH en el proceso carcinogénico a través del proceso inflamatorio o modulando la respuesta inmune del huésped (Gravitt *et al*, 2001; Tamim *et al*, 2002).

La seropositividad para CT en mujeres fue un factor de riesgo para las CIN III en Cali, Colombia y en España: en ambos países el riesgo de CIN III se incrementa conforme aumentan los títulos de anticuerpos contra CT (de Sanjosé *et al*, 1994). También se ha observado una asociación estadísticamente significativa entre los títulos de anticuerpos detectados para la CT en los hombres y el cáncer cervical en España (RM= 2.6; 95% IC= 1.1-4.6) y Cali (RM= 2.5; 95% IC= 1.5-4.4), después de ajustar por la presencia del VPH (de Sanjosé *et al*, 1994). Diversos estudios más recientes apoyan estos resultados. Antilla *et al*, 2001; Wallin *et al*, 2002 y Smith *et al*, 2002(b) reportan una asociación entre CT y CC. Y en el estudio multicéntrico realizado por la IARC, las mujeres con títulos altos de seropositividad a CT (Tabla 31) tienen casi tres veces más riesgo de presentar CC que aquellas que tienen títulos bajos (Castellsague *et al*, 2002 b).

Una interacción significativa ha sido encontrada entre el VPH y el virus humano de inmunodeficiencia adquirida (VIH). Las mujeres (y hombres) que han estado expuestos al VIH tienen más probabilidad de ser VPH positivas (vos) y desarrollar neoplasias (Suarez *et al*, 2003) en las que el VPH tiene un papel etiológico (Chin-Hong *et al*, 2002; de Sanjosé *et al*, 2002), además de presentar una más rápida y agresiva evolución de la enfermedad (Weissenborn *et al*, 2003) y un alto número de carcinomas invasores (Chopra *et al*, 1997). El estadio de la neoplasia (cervical o anal) está relacionado con la intensidad de la inmunosupresión, siendo medida por el valor de CD4+ (Frisch *et al*, 1997; IARC, 1995).

La seropositividad a Herpes virus simple-2 (HVS-2) ha sido asociado con un incremento en el riesgo CC (Zur Hausen *et al*, 1982, Castellsague *et al*, 2002 b). Diversos estudios han postulado que infecciones de transmisión sexual, especialmente infecciones virales, como es el caso de HVS-2, actúan de manera sinérgica con el VPH en el proceso carcinogénico que da lugar al CC (Schmauz *et al*, 1989; Smith *et al*, 2002 (a); Chan *et al*, 2001). En relación con la infección por citomegalovirus (CMV) algunos estudios sugieren que una infección genital concurrente con CMV y VPH puede incrementar el riesgo de CC (Shen *et al*, 1993; Smith *et al*, 2002 a). Sin embargo, Baldauf *et al*, 1996 afirma que por sí solas las infecciones por HVS y CMV no muestran estar asociadas a CC, sino que son cofactores de VPH 16, 18 en la etiología del CC.

En ausencia de patógenos específicos, las vaginitis bacterianas y la inflamación cervical han sido propuestos como posibles cofactores para lesiones cervicales de alto grado en mujeres VPH positivas (Greenberg *et al*, 1999). Se ha reportado niveles elevados de citoquinas inflamatorias IL-6 y IL-8 asociados a neoplasia cervical (Tjiong *et al*, 1999) lo que hace plausible dicha asociación (Castle *et al*, 2001).

La evidencia de que fumar incrementa el riesgo de presentar cáncer cervical se ha ido acumulando a lo largo de los últimos 25 años. No está claro el papel que puede jugar el tabaco en la etiología del cáncer de cuello uterino, sin embargo, el fumar cigarrillos podría estar asociado al riesgo de infección por el VPH como consecuencia de la correlación existente entre fumar y ciertos comportamientos de conducta sexual (Schiffman *et al*, 1987; Winkelstein *et al*, 1990).

Los resultados de diversos estudios han sido contradictorios debido seguramente a que no todos los estudios habían controlado por el efecto de la infección por VPH. Por ejemplo, en el llevado a cabo en España, Colombia y Brasil, no se ha encontrado un efecto independiente para el hábito de fumar (Muñoz *et al*, 1992, Eluf Neto *et al*, 1994) y otros estudios reportan un riesgo superior para las mujeres que fumaban de forma habitual y eran positivas al VPH (Kjaer *et al*, 1996; Ngelangel *et al*, 1998; Chichareon *et al*, 1998; Ylitalo *et al*, 1999, Castellsague *et al*, 2002(b); Plummer *et al*, 2003). Por otro lado, está demostrado que los cigarrillos contienen cancerígenos organodependientes y sus metabolitos han sido detectados en la mucosa cervical (Schiffman *et al*, 1987). Hasta el momento la hipótesis del efecto cancerígeno del tabaco sobre el cuello uterino no puede ser excluida, sobre todo tomando en cuenta que en la actualidad, cada vez se incrementa más el número de mujeres jóvenes que fuman de manera habitual (Plummer *et al*, 2003).

Algunos factores dietéticos están fuertemente relacionados con los cánceres epiteliales y está comprobado que una dieta rica en frutos frescos y legumbres tiene un efecto protector para los cánceres de cavidad oral, estómago, y colon-recto. El efecto protector ha sido también señalado para los cánceres de laringe, páncreas, mama y vejiga.

Consecuentemente, algunos estudios han evaluado los alimentos y nutrientes como

posibles cofactores para el cáncer cervical (Wassertheil *et al*, 1981; Butterworth *et al*, 1992; Liu *et al*, 1993; Castle *et al*, 2003). En general, la asociación entre diferentes alimentos y nutrientes con el CC es de pequeña magnitud e inconsistente. Ciertos estudios han encontrado una ingesta más baja de vitamina C y carotenos en los casos de cáncer de cuello que en los controles (Romney *et al*, 1985; Potischman *et al*, 1996). Giuliano *et al*, 1997, exploró la asociación entre concentraciones circulantes de antioxidantes y persistencia de infección con el VPH, encontrando que dichas sustancias tienen un efecto protector en relación con la severidad de las lesiones (mientras más bajas sean las concentraciones de antioxidantes más grave es la lesión). Así mismo, Butterworth *et al*, 1982 plantea que la carencia de ácido fólico puede estar asociada a CC en las mujeres que usan AOs.

Insuficiente ingesta de Vitamina A, riboflavina y folatos se reporta asociada a un incremento en el riesgo de CC (Palan *et al*, 1979; Liu *et al*, 1993). Sin embargo, estudios más recientes (Goodman *et al*, 2000, Sedjo *et al*, 2003) presentan resultados no concluyentes que necesitan ser confirmados.

Además, se deben de tener en cuenta las limitaciones metodológicas de los estudios nutricionales (por ejemplo, las dificultades para controlar el sesgo de memoria en los recuerdos de la dieta) o el hecho de que sólo algunos de los estudios publicados hasta ahora hayan controlado el efecto de la infección del VPH (Bosch *et al*, 1989). Estas observaciones deben de interpretarse como todavía provisionales y ameritan futuras investigaciones .

Diversos estudios epidemiológicos realizados en las últimas tres décadas concuerdan con el hecho de que el riesgo de CC está fuertemente influenciado por factores relacionados con la conducta sexual como número de parejas sexuales, edad de inicio de vida sexual activa

y conducta sexual de la pareja (Schiffman *et al*, 1995; Franco *et al*, 1997; Thomas *et al*, 2001); sin embargo una vez establecida la relación causal entre el VPH y CC, dichos factores se convierten en sustitutos para medir la exposición al factor de riesgo. Por lo que teniendo en cuenta el rol central del VPH, entre mujeres VPH positivas, el incremento en el número de parejas sexuales no aumenta el riesgo de CC porque la exposición clave ya habría ocurrido antes (Eluf Neto *et al*, 1994; Schiffman *et al*, 1993; Kjaer *et al*, 1996; Muñoz *et al*, 1993; Kjellberg *et al*, 1999). Sin embargo, la edad de inicio de vida sexual activa y la edad al primer matrimonio, ambas medidas substitutas de edad a la primera infección con el VPH, permanecen como factores de riesgo independientes del VPH, probablemente debido a que existe un período en el que se incrementa la susceptibilidad al VPH en la zona de transformación del cérvix alrededor de la menarca (Chaouki *et al*, 1998), o que la cicatrización del cérvix en ese período (como consecuencia del trauma cervical durante el parto o la presencia de otras infecciones de transmisión sexual) son situaciones de alto riesgo para que una infección por el VPH se establezca como persistente (Bosch *et al*, 2002).

En relación con el comportamiento sexual masculino, se ha encontrado que el varón ejerce un papel no sólo como vector o transmisor de la infección por el VPH, sino que, en ocasiones, se ve también afectado, a grado tal que diversos estudios han encontrado una correlación significativa entre la incidencia o mortalidad por CC y la correspondiente incidencia y mortalidad por cáncer de pene y otros del tracto genitourinario en hombres (Smith *et al*, 1980; Li *et al*, 1982; Franco *et al*, 1988; Bosch *et al*, 1994).

Actualmente se sabe que la promiscuidad del compañero sexual es un factor de riesgo importante en la etiología del CC, aunque esta relación es variable según el tipo de población en que se haya realizado el estudio. Así, en el

estudio llevado a cabo en Colombia y España (Bosch *et al*, 1996; Muñoz *et al*, 1996), áreas de alta y baja incidencia de CC respectivamente, la prevalencia del VPH en el pene estaba fuertemente relacionada con el número de parejas sexuales y la frecuencia con la que tenían contactos con trabajadoras del sexo comercial. Las diferencias en relación al comportamiento del compañero sexual hacen pensar que en los países donde el riesgo de presentar CC es muy alto, y donde, por consiguiente, el número de relaciones extraconyugales y el número de contactos con prostitutas es elevado, las diferencias en la promiscuidad del compañero sexual entre los casos y los controles son menos apreciables como se observó en el estudio realizado por Bosch *et al*, 1996 en el que la detección VPH fue un factor de riesgo para el CC en España pero no en Colombia. Ello sugiere que, en áreas de alta incidencia de CC, la probabilidad de exposición al VPH en jóvenes es muy alta; consecuentemente, las jóvenes que han tenido contactos sexuales con un número limitado de compañeros sexuales pueden tener un alto riesgo de presentar infección por el VPH. Mientras que en poblaciones de riesgo bajo, donde la prevalencia es pequeña, una mujer que haya tenido sólo una pareja sexual podría tener un aumento del riesgo si su pareja sexual fuera altamente promiscua y tuviera, por tanto, un alta probabilidad de ser portadora del VPH (Bosch *et al*, 1996; Muñoz *et al*, 1996; Kjellberg *et al*, 1999). Además, estudios llevados a cabo por la IARC han encontrado recientemente que la circuncisión está asociada con una reducción del riesgo de infección genital por el VPH en los hombres, y con un riesgo menor de CC en mujeres con parejas circuncidadas (Castellsague *et al*, 2002a).

En una revisión reciente de diversas publicaciones sobre la relación entre nivel socioeconómico y cáncer cervical (Faggiano *et al*, 1997) se reportó un consistente incremento de la incidencia de dicha patología conforme decrece el nivel socioeconómico, medido a

través de indicadores como nivel de educación y ocupación (indicadores indirectos de exposición a factores de riesgo biológicamente más significativos como las prácticas sexuales, la exposición al tabaco, diversos factores higiénicos, dietéticos, acceso a servicios de salud.

Un meta-análisis reciente, que explora también la relación entre inequidad social y el cáncer cervical, encontró un incremento en el riesgo de cáncer cervical de 100% entre clase social alta y baja, y de 60% para displasia y cáncer *in situ*. Dicho incremento se presenta en todas las regiones, aunque es más alto en Sudamérica, África y algunas regiones de Asia que en Europa. Esto probablemente refleje la relación existente entre clase social y los factores relacionados con la exposición al VPH (estilos de vida) o la posibilidad o no de acceso a programas adecuados de detección oportuna de cáncer cervical (Parikh *et al*, 2003).

### 1.3.3.2 Factores no ambientales

La inmunosupresión, ya sea primaria o inducida por tratamientos médicos, implica un elevado riesgo de infecciones virales que incluyen al VPH (Matas *et al*, 1975a; Schneider *et al*, 1983) y de desarrollar enfermedades neoplásicas (Matas *et al*, 1975b). Halpert *et al*, 1986, evaluó pacientes inmunosuprimidas por trasplante renal encontrando un aumento en el riesgo de CC, datos corroborados por Maclean *et al*, 1986. Sin embargo, estos resultados son difíciles de interpretar puesto que dichas pacientes se encontraban bajo estricta vigilancia médica y, por tanto, es probable que se les hubiera sometido a más pruebas diagnósticas que al grupo control.

Las pacientes con cáncer pueden tener un mayor riesgo de CC debido a la inmunosupresión inducida, ya sea por la enfermedad en sí misma o por algunos de los agentes quimioterapéuticos prescritos para su tratamiento. Kaldor *et al*, 1987, reportó un aumento en el riesgo de CC en una

cohorte de pacientes tratadas con radioterapia, sin embargo, no se han realizado estudios que confirmen la presencia de este mayor riesgo una vez ajustado por la presencia del VPH y otras posibles variables confusoras.

El embarazo se considera un período transitorio de inmunosupresión (Sethi *et al*, 1998) en ese contexto, aunque la influencia del embarazo sobre el curso de la infección con el VPH de alto riesgo no está del todo establecida, desde la década de los 80 se ha estudiado esta asociación.

Los principales mecanismos por los que se considera que las mujeres embarazadas son más vulnerables a la infección por VPH están relacionados con ciertas características del epitelio y del sistema inmune que cambian durante los estados de gravidez (Fife *et al*, 1996; Chang *et al*, 1996).

- Disminución en la actividad de linfocitos “T”
- Efecto de hormonas esteroides durante el embarazo
- Estimulación de la transcripción y proliferación del VPH por la presencia del 17 beta-estradiol.

La información existente alrededor de la asociación entre embarazo e infección por el VPH es compleja de interpretar, ya que, mientras diversos estudios han reportado un incremento en el riesgo de CC conforme aumenta el número de embarazos (La Vecchia *et al*, 1986; Brinton *et al*, 1987; Muñoz *et al*, 2002), algunos otros concluyen que el embarazo no tiene un efecto sobre las lesiones precursoras de CC (Jain *et al*, 1997). En contraste, se han encontrado prevalencias altas del VPH de alto riesgo en mujeres embarazadas (Saito *et al*, 1995; Morrison *et al*, 1996; Fife *et al*, 1999; Nobbenhuis *et al*, 2002). Sin embargo, otros estudios no han encontrado diferencias en la prevalencia del VPH entre embarazadas y no embarazadas (Peng *et al*, 1990; Kemp *et al*, 1992). Mientras

que estudios como el de Yost *et al*, 1999 reportan altas tasas de regresión de displasias cervicales en el posparto.

Los HLA comprenden una familia de genes dentro del complejo mayor de histocompatibilidad, localizados en el brazo corto del cromosoma seis en humanos. Las moléculas de HLA son responsables de la presentación de antígenos extraños al sistema inmune y juegan un papel importante en el reconocimiento y la subsecuente limpieza de las células infectadas por el VPH. Las alteraciones en su expresión pueden afectar la vigilancia inmunológica contra los tumores. Estos genes se dividen en Clase I y II. Las moléculas de Clase I llamadas HLA-A, HLA-B y HLA-C son proteínas de membrana involucradas en la presentación antigénica y juegan un papel importante en la respuesta inmune antitumoral. Las moléculas HLA I, se expresan en la superficie de las células nucleadas así como en las plaquetas y exponen péptidos virales en la superficie celular, permitiendo que las células infectadas sean reconocidas como blancos por los LTC (CD8+), los cuales a su vez son llamados de los capilares vasculares por citocinas secretadas por las células infectadas (Tanaka *et al*, 1988). Las moléculas de Clase II (DR, DQ y DP) son típicamente expresadas en células del sistema inmune (macrófagos y linfocitos) e importantes en la regulación de la respuesta inmune, ya que a través de esto se inicia la respuesta inmune mediada por células. Tanto los genes clase I como II son altamente polimórficos.

Las infecciones virales son primariamente intracelulares, y los antígenos virales escapan al alcance de los anticuerpos. La respuesta humoral es importante sólo para infecciones virales productivas, en las que las partículas virales salen al espacio extracelular por exocitosis o durante la lisis celular por efecto del propio virus o, las células citotóxicas del paciente. En el espacio extracelular las partículas virales son atrapadas por linfocitos B con receptores (anticuerpos de

membrana), específicos para algunos epítopos de las proteínas virales. Una vez en el receptor, el antígeno es internalizado por endocitosis y digerido en el lisosoma para producir pequeños péptidos que se unen a moléculas de Clase II, del complejo principal de histocompatibilidad (HLA II). Posteriormente, los péptidos son presentados en la superficie celular para ser reconocidos por linfocitos T cooperadores CD4+ (Tc2). Una vez activados, los linfocitos Tc2 estimulan a los linfocitos B para producir anticuerpos neutralizantes contra las partículas virales, los cuales juegan un papel muy importante para evitar la diseminación de la infección.

La mayoría de los estudios epidemiológicos que han evaluado el rol que juega la variación genética de los genes de HLA en la patogénesis del cáncer cervical se han enfocado a los de Clase II, los más frecuentemente estudiados son los siguientes grupos de alelos/haplotipos: 1) DQB1\*03 alelos DQB1\*0301, DQB1\*0302, DQB1\*0303 2) alelos DRB1\*1501 y DRB1\*0602 y 3) DRB1\*13 y DRB1\*0603. El primero de los dos grupos de alelos listados, ha sido asociado con un incremento de riesgo de presentar CC, el último parece tener un efecto protector.

Hildesheim *et al*, 2002 realizaron una extensa revisión de los principales resultados de dichos estudios concluyendo que los más consistentes reportan que las mujeres que presentan los alelos DRB1\*13 y/o DRB1\*0603 están protegidas contra el CC con una RM= 0.3-0.4 (Apple *et al*, 1994; Sastre *et al*, 1996). En relación con los alelos DQB1\*03 se encontró que existe evidencia de incremento en el riesgo de CC en quienes presentan dichos alelos, aunque sólo en 41% del total de los estudios revisados esta evidencia es estadísticamente significativa (Sanjeevi *et al*, 1996; Helland *et al*, 1994; Cuzick *et al*, 2002). En el caso de alelos DRB1\*1501 y DRB1\*0602. Apple *et al*, 1994 reporta un incremento de en el riesgo (RM=2.9) con la presencia de dichos alelos. Sin embargo otros estudios no encontraron una asociación

significativa entre la presencia de los alelos DRB1\*1501 y DRB1\*0602 y CC (Montoya *et al*, 1998; Brady *et al*, 1999; Ferrara *et al*, 1999; Wang *et al*, 2001).

En dicha revisión, además, se señala que un hecho a tomar en cuenta por su importancia es el de que los alelos de la Clase II son los más consistentemente asociados con CC, específicamente aquellos que confieren protección. Esto al parecer sugiere que los alelos protectores son más fácilmente detectables en estudios epidemiológicos que los que confieren riesgo. Y que, basado en la información disponible, plantea que tal vez un HLA capaz de reconocer, unir y presentar eficientemente un antígeno del VPH al sistema inmune sea suficiente para reducir el riesgo de CC.

Diversos estudios describen un fenotipo característico (poliformismo de la proteína p53) que predispone para el desarrollo de carcinomas en pacientes infectadas por el VPH. Las pacientes que lo presentan son homocigotas para el alelo Arginina en el codón 72 y tienen siete veces más probabilidad de desarrollar cáncer cervical que los homocigotos de Prolina en el mismo codón 72 (Matsumoto *et al*, 2000; Pergoraro *et al*, 2000; de Araujo *et al*, 2003).

Los distintos tipos de VPH son definidos con base en la variación en regiones específicas del genoma viral. Variaciones mayores a 10% define un tipo de VPH. Cuando las variaciones van de 2 a 10%, se dice que se trata de un subtipo, y cuando las diferencias son menores a 2%, se considera una variante (Bernard *et al*, 1994).

Las variantes "intra-tipo" se definen como aquellos aislados de VPH que varían en menos de 2% respecto al tipo viral de referencia en regiones conservadas del genoma, como E6, E7, L1 y L2 (Bernard *et al*, 1994). En la actualidad, a través del análisis de una gran cantidad de aislados de VPH obtenidos de diversas partes del mundo, se han definido cuáles son las

variantes de los tipos virales más frecuentes; en particular, de HPV-16 (Ho *et al*, 1993; Ho *et al*, 1991), HPV-18 (Ong *et al*, 1993), HPV-6 y HPV-11 (Heinzel *et al*, 1995), además de otros tipos menos frecuentes (Stewart *et al*, 1996). Las variantes del VPH-16 han sido las más extensamente estudiadas; se han identificado cinco ramas filogenéticas principales (Ho *et al*, 1993). Las ramas se denominaron E (Europea), As (Asiática), AA (Asiática-Americana), Af1 (Africana-1) y Af2 (Africana-2). Recientemente se detectó una sexta rama de VPH-16 que es la NAI (Norteamericana) (Yamada *et al*, 1995).

Con el estudio de variantes se ha llegado a establecer una relación entre los virus de papiloma y la geografía e historia de su origen, estableciéndose que en la distribución de las variantes de VPH hay una importante variación geográfica (Heinzel *et al*, 1995; Stewart *et al*, 1996). La hipótesis actual es que las variantes de HPV no se originan en un período corto de forma individual en un paciente sino que surgen con el hombre y evolucionan mientras se diseminan junto con los grandes movimientos de las poblaciones humanas a través de la historia (Chan *et al*, 1992; Ho *et al*, 1993). Existen ciertas evidencias que sugieren que al menos los VPH-16 y VPH-18 tienen sus raíces en África (Ong *et al*, 1993).

Un extenso número de estudios epidemiológicos se han llevado a cabo para evaluar la asociación entre variantes del VPH y CC (Xi *et al*, 1997; Terry *et al*, 1997; Zehbe *et al*, 1998; Nindl *et al*, 1999; Bible *et al*, 2000; Zehbe *et al*, 2001), sin embargo, los resultados de estos estudios son conflictivos dada la homogeneidad de las poblaciones estudiadas (casi todas europeas) y a que, por lo tanto, predominaron de manera importante las variantes Europeas que son las de bajo riesgo. Cuando se diversificaron las poblaciones estudiadas (Norte y Latinoamérica) se ha evaluado el riesgo asociado a variantes no europeas y se ha podido demostrar un aumento de 2 a 9 veces más riesgo de CC con

la presencia de dichas variantes (Xi *et al*, 1997; Villa *et al*, 2000; Matsumoto *et al*, 2000; Berumen *et al*, 2001; Hildesheim *et al*, 2002).

La persistencia de infección por el VPH de alto riesgo oncogénico es esencial en el desarrollo del CC. La carga viral a sido considerada un indicador sustituto de persistencia (Schlecht *et al*, 2003). Una alta carga viral, resultado de una infección productiva con altos niveles de replicación viral, quizá apoye dicha persistencia. Los estudios que han medido carga viral muestran que existe un incremento en el riesgo de CC en relación con una alta carga viral (Brisson *et al*, 1996; Cuzick *et al*, 1994; Ho *et al*, 1998; Sun *et al*, 2002), sin embargo, no

siempre resulta ser un fuerte predictor del riesgo de CC (Lorincz *et al*, 2002). No obstante, estas investigaciones presentan algunas limitaciones metodológicas ya que cuantificaron carga viral de manera cruda por hibridación in situ (usando generalmente Hybrid Capture II) que estima carga viral a través de la intensidad de la señal y no por PCR (Ylitalo *et al*, 2000; Gravitt *et al*, 2003).

Aunque actualmente se debate la importancia biológica de la integración y carga viral asociadas a CC, los datos disponibles son difíciles de interpretar dadas las limitaciones metodológicas que tienen la mayoría de los estudios efectuados hasta ahora (Wang *et al*, 2003).

## Capítulo 2. Planteamiento del problema, preguntas de investigación y objetivos

El presente trabajo hace una revisión del papel que juega el virus del papiloma humano (VPH) en la etiología del cáncer cervical desde una perspectiva de salud pública. En este capítulo se presentan el planteamiento del problema, las preguntas de investigación y los objetivos de dos trabajos de investigación realizados por la autora, en los que se trata de dar respuesta a algunas interrogantes en relación con dicho papel.

### 2.1 Determinación del virus de papiloma humano 16/18 en México, utilizando Reacción en cadena de la polimerasa fluorescente múltiple en biopsias de mujeres con neoplasia cervical.

La infección por virus del papiloma humano (VPH) del tracto genital es una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) más comunes en el mundo (Burk *et al*, 1999) En la actualidad ha sido ampliamente documentado el hecho de que la participación del VPH es determinante en el desarrollo del cáncer cervical (Murthy *et al*, 2000) y que en más de 99% de los tumores cervicales se detecta la presencia de secuencias virales de algún tipo del VPH, principalmente de los tipos 16, 18, 31, 33 y 45 (Walboomers *et al*, 1999). Si bien el VPH es un agente causal necesario en el cáncer cervical (Bosch *et al*, 2002), existen diferencias en el poder oncogénico entre distintos tipos virales. De acuerdo con su poder oncogénico, los genotipos del VPH han sido catalogados como de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82) y de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81) (Muñoz *et al*, 2003). Los tipos 16 y 18 son los más frecuentes y ocasionan 50 y 20% de los tumores cervicales, respectivamente (Bosch *et al*, 2003; Hernández *et al*, 1997).

Se han desarrollado numerosos métodos de RCP para detectar y cuantificar el VPH en especímenes clínicos; sin embargo, dichos métodos requieren de muchas

horas de trabajo, son poco sensibles y no necesariamente apropiados para la detección del VPH a nivel poblacional; además, presentan una baja eficiencia en la detección de infecciones múltiples, especialmente cuando la coinfección con diversos subtipos del VPH está presente en bajas concentraciones (Chan *et al*, 2002). Asimismo, sus resultados pueden ser afectados por factores como: condiciones de fijación, preparación de la muestra, integridad del tejido, entre otros (Herrington *et al*, 1995). La utilización de una prueba múltiple de reacción en cadena de la polimerasa altamente sensible y específica desarrollada por un laboratorio internacional permite la detección simultánea de productos de la amplificación de los marcos de lectura de las regiones L1, E6, E7 para tipos específicos del VPH en tiempo real y es capaz de detectar menos de 10 copias de su material genómico, con la ventaja de que no existe la posibilidad de un entrecruzamiento con otros tipos de virus y puede realizarse en menos tiempo que los RCP convencionales (Tadeo *et al*, 2001).

La búsqueda y tipificación del VPH no responde a un mero interés académico, sino que resulta de gran importancia para distinguir los casos con mayor riesgo para desarrollar cáncer cervical, dada la fuerte asociación de algunos tipos específicos del VPH con los tumores malignos (Elfgren *et al*, 2000). El presente estudio se propuso investigar la prevalencia de los VPH-16 y 18 en mujeres mexicanas con lesiones cervicales preinvasoras e invasoras y nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la prevalencia de los VPH-16 y 18 en mujeres con lesiones cervicales preinvasoras e invasoras de distintas regiones de México?

#### Objetivo General:

Conocer la prevalencia de los VPH-16 y 18 en mujeres de distintas regiones de México con lesiones cervicales preinvasoras e invasoras.

## 2.2 Frecuencia, tipos y cofactores del VPH en la etiología de la neoplasia cervical en mujeres mexicanas

El cáncer cervical (CC) es el tipo más común de neoplasia entre las mujeres en México. Se estima que cada año se presentan más de 35,000 nuevos casos, con una tasa de incidencia estimada de 44.4 por cada 100,000 mujeres (Parkin *et al*, 1999).

Múltiples estudios epidemiológicos ha identificado el ADN del virus del papiloma humano en prácticamente todos los tumores cervicales (Walboomers *et al*, 1999). Además, las mujeres infectadas con VPH de alto riesgo oncogénico, tienen 40 a 180 veces mayor riesgo de desarrollar neoplasia intraepitelial cervical de alto grado (NIC) (Olsen *et al*, 1995; Herrero *et al*, 2000), que es el precursor inmediato para el CC (Lorincz *et al*, 1992).

Estos riesgos, sin embargo, podrían triplicarse en respuesta a la presencia de infección persistente por el VPH, que puede constituir el eslabón primario en el desarrollo del proceso de cancerígeno a nivel cervical (Nobbenhuis *et al*, 1999). En este contexto, existe amplia evidencia que indica que la infección por el VPH ha aumentado cada vez más y ahora se estima que es una de las ITS más frecuentes en el mundo (Koutsky *et al*, 1997). Hay pruebas de que el VPH es una causa necesaria (aunque no suficiente) para el desarrollo de neoplasia cervical (Walboomers *et al*, 1999) y que la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) oficialmente ha designado la infección VPH como un agente de cancerígeno (IARC, 1995). Sin embargo, la infección por el VPH no siempre induce anomalías celulares en el cuello uterino (Kjellberg *et al*, 1999) pudiendo sugerir esto que otros factores juegan un papel importante en el desarrollo de la neoplasia cervical.

Durante décadas diversos cofactores del VPH se han asociado con un incremento en el riesgo

de lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) y cáncer cervical invasor, sin embargo, éstos no han sido claramente definidos. Entre los posibles cofactores estarían el comportamiento sexual, dado que el CC es más común entre las mujeres con múltiples compañeros sexuales o que iniciaron la actividad sexual en una temprana edad, y cuyos compañeros sexuales tienen a su vez múltiples compañeros (todas ellas, medidas sustitutas que reflejan la probabilidad de exposición y adquisición del VPH); factores hormonales tales como elevada paridad y uso de anticonceptivos orales; exposición a agentes químicos contenidos en los cigarrillos; otras ITS diferentes a VPH (*Chlamidia trachomatis* (CT), HVS-2); deficiencias de micronutrientes y estado de inmunosupresión inducido por VIH entre otros (Kjaer *et al*, 1998; Kjellberg *et al*, 1999; Muñoz *et al*, 2002; Moreno *et al*, 2002; Castellsague *et al*, 2002).

El presente trabajo se propuso investigar el papel del VPH y otros factores de riesgo asociados con la presencia lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado (LIEBG y LIEAG) y cáncer invasor en mujeres VPH positivas de Morelos, México, una región de alta incidencia y mortalidad por CC. Por lo que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los cofactores que además del VPH están asociados con la presencia de lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado y cáncer invasor en mujeres VPH positivas de Morelos, México?

### Objetivo General:

Conocer los tipos del VPH presentes en mujeres positivas a este virus y evaluar la magnitud de la asociación de los cofactores que además del VPH están asociados con la presencia de lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado (LIEBG y LIEAG) y cáncer invasor.

**Objetivos específicos:**

Conocer los tipos del virus de papiloma humano presentes en mujeres positivas a este virus en el Estado de Morelos

Evaluar la magnitud de la asociación entre el VPH y la presencia de LIEBG, LIEAG y cáncer invasor en las mujeres de Morelos

Evaluar la magnitud de la asociación entre otros cofactores además del VPH y la presencia de LIEBG, LIEAG y cáncer invasor en las mujeres de Morelos.

## Capítulo 3. Metodología

### 3.1 Determinación del virus de papiloma humano 16/18 utilizando reacción en cadena de la polimerasa fluorescente múltiple en biopsias de mujeres mexicanas con neoplasia cervical.

Se desarrolló un estudio multicéntrico en mujeres derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de nueve entidades federativas: Guerrero, Morelos, Chiapas, Quintana Roo, Durango, Estado de México, Michoacán, Zacatecas y Colima, agrupadas en dos regiones (Figura 17): norte/occidente (Durango, Zacatecas, Michoacán, Colima y Guerrero) y centro/sur (Morelos, Estado de México, Chiapas y Quintana Roo) entre mayo de 1998 y junio de 2000.

**Figura 17**

**Distribución regional de las entidades federativas participantes en el estudio sobre la determinación del virus del papiloma Humano 16/18 utilizando reacción en cadena de la polimerasa fluorescente múltiple en biopsias de mujeres mexicanas**



#### Población estudiada

Los casos se obtuvieron de los servicios de ginecología y oncología de los hospitales de las delegaciones del IMSS participantes en el estudio. Se colectaron dos tipos de casos:

a) Mujeres con confirmación histológica de lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado, y b) Mujeres con cáncer cervical invasor, histológicamente confirmado, a quienes no se les hubiera realizado ningún tratamiento previo (crioterapia, laserterapia y/o conización). Se obtuvieron 194 biopsias de mujeres con lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (LIEAG), y 47 con cáncer invasor. Los criterios de exclusión para participar en el estudio fueron: embarazo en el momento del estudio e incompetencia mental.

#### Recolección de la información

A las mujeres participantes se les aplicó un cuestionario estandarizado para coleccionar la información necesaria, los cuales fueron aplicados por entrevistadores previamente entrenados, e incluían preguntas sobre variables sociodemográficas: edad y entidad federativa de residencia. El instrumento incluyó también preguntas sobre potenciales factores de riesgo: historia sexual, reproductiva y prácticas relacionadas con el tabaquismo.

Un médico entrenado para tal fin realizó una revisión ginecológica a las mujeres participantes con la finalidad de examinar el cuello del útero. Se procedió luego a la toma de biopsia guiada por colposcopia, misma que se colocó en tubo de 2 ml (sin formol y sin ningún otro *buffer*). La muestras se conservaron a menos 20 °C hasta su envío al laboratorio.

Todas las participantes firmaron una carta de consentimiento informado, de acuerdo con las recomendaciones de los Comités de Ética de las instituciones participantes.

#### Detección del VPH

La detección del ADN del VPH y su tipificación se realizó en Filadelfia, EUA utilizando RCP fluorescente múltiple que permite la detección simultánea de productos de la amplificación de

los marcos de lectura de las regiones L1, E6, E7 para tipos específicos del VPH en tiempo real, usando tres fluoróforos y el ABI PRISM 7700 Sequence Detection System Instrument.

### **Análisis estadístico**

Se realizó en primera instancia un análisis exploratorio para buscar congruencia entre los datos, consistencia en la información de la población en estudio y la identificación de valores aberrantes. Asimismo se realizó un análisis univariado y bivariado para la descripción de las variables, a las de tipo continuo se les calculó medidas de tendencia central y de dispersión; para las categóricas se calcularon las proporciones o frecuencias relativas correspondientes a cada una de las categorías mediante el paquete estadístico STATA para Windows V7.0

### **3.2 Frecuencia, tipos y cofactores del VPH en la etiología de la neoplasia cervical en mujeres mexicanas**

#### **Diseño del estudio**

Estudio transversal de base poblacional, llevado a cabo entre febrero 1997- diciembre de 1999, en una muestra de mujeres sexualmente activas, con por lo menos un año de residencia en el estado de Morelos, México.

#### **Población estudiada**

El estado de Morelos se localiza en la región central de México y tiene 1,555,296 habitantes, de los cuales 479,123 son mujeres entre las edades de 15 y 90 años. Las unidades muestrales (viviendas) se eligieron aleatoriamente del Marco Muestral de Viviendas del Estado de Morelos. Las viviendas elegidas fueron visitadas por entrevistadoras calificadas que hicieron una lista de todas las mujeres residentes. De esa lista se eligió únicamente una mujer sexualmente activa. En caso de que hubiera más de una mujer en el

hogar, en el rango de edad establecido, la de mayor edad se incluyó en el estudio.

Para los fines del presente estudio se incluyeron exclusivamente mujeres VPH positivas que fueron previamente identificadas en el estudio basal (Lazcano *et al*, 2001). Los casos constituyen una muestra de todos los presentados en una población que fue claramente identificada y definida al inicio del estudio. Se definió como caso todas aquellas mujeres VPH positivas que presentaran algún grado de lesión cervical (LIEBG y LIEAG) y cáncer cervical invasor, dichos casos fueron diagnosticados por medio de citología cervical, colposcopia y confirmados a través de histopatología. El grupo de comparación lo constituyeron aquellas mujeres que, sin presentar algún tipo de lesión fueron VPH positivas.

#### **Criterios de inclusión y de exclusión**

Los criterios de la inclusión fueron: mujeres residentes en Morelos por más de un año, sexualmente activas. Los criterios de la exclusión para la participación en el estudio fueron: embarazo actual, histerectomía o conización previas e incompetencia mental. Todas las participantes firmaron una carta de consentimiento informado, según recomendaciones de los Comités de Ética y Bioseguridad del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP).

#### **Recolección de información**

A las mujeres participantes se les aplicó un cuestionario estandarizado para coleccionar la información necesaria. Los cuestionarios fueron aplicados por entrevistadores previamente entrenados, e incluían preguntas sobre variables sociodemográficas: edad y tiempo de residencia en el estado de Morelos; escolaridad de las mujeres y estado civil. El instrumento incluyó también preguntas sobre potenciales factores de riesgo: historia sexual, reproductiva y ginecológica; planificación familiar y prácticas relacionadas con el tabaquismo.

## Examen clínico y colección de especímenes

Se hizo un examen ginecológico a cada mujer participante; una enfermera especialmente entrenada les realizó examen pélvico para detectar cualquier anormalidad; quienes las presentaron fueron referidas a la clínica de colposcopia para el diagnóstico y tratamiento finales. Para la toma de muestra de células cervicales se utilizaron una espátula de Ayre y un citobrush para coleccionar células exo y endocervicales, respectivamente, mismas que fueron colocadas en una laminilla y fijadas inmediatamente después. Para el análisis del VPH fueron coleccionadas células adicionales; se usó un hisopo de algodón para tomar una muestra de exocervix; el citobrush fue insertado en el canal endocervical y girado 180°. Ambos instrumentos fueron colocados en un tubo cónico con 10 ml de solución PBS y depositados en refrigeradores en el sitio de colección para ser enviados diariamente al laboratorio en el INSP donde fueron congelados a -70°.

## Determinación del VPH

Para la determinación del VPH se utilizó un ensayo de tirillas de nylon (*Strip assay*) empleando un formato de hibridación reversa descrito por Gravitt *et al*, 1998. Brevemente, la amplificación del DNA del VPH se llevó a cabo empleando iniciadores estandarizados biotinizados *L1 PGMY* descrito previamente (Gravitt *et al*, 2000). Para verificar la adecuación de las muestras, se coamplificó un fragmento del gen  $\beta$ -globina con iniciadores BGH20 y BPCO4. Para la tipificación del VPH, los productos de la RCP fueron hibridados a sondas inmovilizadas sobre tirillas de nylon. Cada tirilla contiene 29 líneas de sondas, 27 sondas específicas para genotipos del VPH asociados a cáncer y dos para concentraciones altas y bajas de genes de la prueba de  $\beta$ -globina. Los marcadores de hibridación fueron detectados usando una enzima conjugada con un sustrato colorimétrico. La interpretación de las

tirillas se hizo con ayuda de un patrón de acetato con las posiciones de cada sonda específica.

Los resultados de la hibridación fueron leídos por dos revisores en forma independiente. Las posibles discrepancias en los resultados de ambos se resolvió en una revisión conjunta. Treinta y tres especímenes (2.4%) fueron considerados no satisfactorios y excluidos del análisis. Los tipos del VPH considerados asociados a CC para el presente análisis, incluyeron los tipos 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 y MM9. Igualmente, los tipos del VPH no asociados a CC fueron el 6, 11, 40, 42, 54, 55, 57, MM 4, MM 7, MM8. La clasificación de los tipos del VPH se basó en el análisis de alineación del gen E6, así como en las estimaciones de riesgo obtenidas para varios tipos del VPH en un estudio de casos y controles multicéntrico llevado a cabo por la Agencia internacional de investigación sobre cáncer (Muñoz *et al*, 2003).

## Análisis de datos

Se realizó un análisis exploratorio para buscar congruencia entre los datos, consistencia en la información de la población en estudio e identificar los valores aberrantes. Cuando se identificaron inconsistencias en la información proporcionada por las mujeres o valores aberrantes fuera del rango de lo plausible los datos correspondientes se transformaron en valores *missing*.

Se llevó a cabo una descripción general de las variables: Las variables medidas en una escala continua se exploraron en su distribución original, se calcularon medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar), Para las variables categóricas se calcularon proporciones o frecuencias relativas correspondientes a cada una de las categorías.

En el análisis bivariado, para las variables dicotómicas y categóricas se calcularon razones

de momios crudas y ajustadas por edad, con intervalos de confianza al 95% y pruebas de ji cuadrada.

Por último, mediante regresión logística se construyó un modelo multivariado en el que se incluyeron inicialmente todas las variables que fueron consideradas conceptual o estadísticamente importantes para evaluar

la asociación entre infección por el VPH y la neoplasia cervical, así como los posibles cofactores que intervienen. Posteriormente, mediante regresión paso a paso se fueron eliminado las variables que no contribuyeron significativamente e explicar el fenómeno. Se obtuvieron razones de momios e intervalos de confianza de 95 %, el programa STATA 7 se empleó para el análisis estadístico.

## Capítulo 4. Resultados

### 4.1 Determinación del virus de papiloma humano 16/18 en México, utilizando reacción en cadena de la polimerasa fluorescente múltiple en biopsias de mujeres con neoplasia cervical.

Se incluyeron en el estudio 241 casos, 194 neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC II,III) y 47 cánceres invasores. La Tabla 32 describe las características sociodemográficas y reproductivas de las mujeres participantes en el estudio. La media de edad de los casos

invasores fue de 51.5 años (DE=12.2) años, la de los casos con NIC II,III fue de 43.2 años (DE=11.2). Por región de procedencia, 58.8 % de las mujeres con NIC II, III proceden de la región Norte/Occidente y más de 70% de los casos invasores habitan en la región Centro/Sur. La edad de inicio de vida sexual activa en los casos con NIC II, III fue entre los 17 y 19 años de edad (38%) contra lo que sucede en los casos invasores en los que alrededor de 50% de las mujeres inician vida sexual antes de los 16 años. En nuestro estudio, cerca de 50% de las mujeres

**Tabla 32**

#### Características sociodemográficas y reproductivas de las mujeres participantes en el estudio de virus de papiloma humano 16-18 en México

Características	NIC II, III <i>n</i> =194		CANCER <i>n</i> =47	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<b>Edad en años</b>				
<25	5	2.4	0	0
25-34	45	23.1	2	4.8
35-44	66	34.1	14	28.7
45-54	45	23.4	12	26.4
55-64	25	12.8	11	22.7
≥ 65	8	4.2	8	17.4
<b>Región</b>				
Norte/Occidente	114	58.8	14	29.8
Centro/Sur	80	41.2	33	70.2
<b>Edad de inicio de vida sexual activa</b>				
≥ 20	58	30.0	12	25.8
17-19	74	38.0	13	28.1
≤ 16	62	32.0	22	46.1
<b>Número de parejas sexuales</b>				
1	138	71.2	26	55.7
≥ 2	56	28.8	21	44.3
<b>Número de embarazos a término</b>				
0-1	27	13.7	3	5.4
2-3	67	34.4	9	20.4
≥ 4	100	51.9	35	74.3
<b>Uso de anticonceptivos orales</b>				
No	164	84.3	43	91.6
Si	30	15.7	4	8.4
<b>Tabaquismo</b>				
No	169	87.2	41	88.0
Si	25	12.8	6	12.0

\* Virus de papiloma humano. <sup>1</sup>LIEBG: Lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado, <sup>2</sup>LIEAG: Lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado

con cáncer invasor refieren haber tenido más de una pareja sexual. El 51.9 de las participantes con NIC II,III reportaron haber tenido cuatro o más embarazos a término contra el 74.3 % de quienes presentaron cáncer invasor. El uso de anticonceptivos orales fue reportado en el 15.7 y el 8.4 % de los casos de NIC II, III e invasor respectivamente. Más del 80% de las mujeres participantes (tanto en NIC II, III como en cáncer invasor) reportó nunca haber fumado.

La prevalencia del VPH-16 (Tabla 33, Fig. 18) en casos invasores fue de 64.3% (9/14) en la región norte-occidente (Durango, Zacatecas, Michoacán, Colima, Guerrero) vs 39.4% (13/

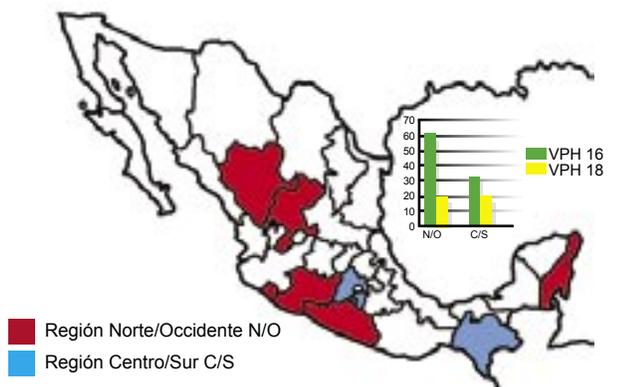
**Tabla 33**

Frecuencia (%) de los virus de papiloma humano 16 y 18 en cáncer invasor, por región, en mujeres mexicanas, 2000					
Región	N	VPH-16		VPH-18	
		n	(%)	n	(%)
Norte/Occidente*	14	9	64.3	3	21.4
Centro/Sur**	33	13	39.4	7	21.2

\*Norte/Occidente= Durango, Zacatecas, Michoacán, Colima, Guerrero  
 \*\*Centro/Sur= Morelos, Estado de México, Chiapas, Quintana Roo

**Figura 18**

Distribución regional de la frecuencia del virus de papiloma humano 16 y 18 en mujeres mexicanas con cáncer invasor



33) de la región centro-sur (Morelos, Estado de México, Chiapas, Quintana Roo). La prevalencia de VPH-18 no observó diferencias entre regiones (21.4% 3/14 vs 21.2% 7/13, respectivamente).

La prevalencia de VPH-16 (Tabla 34, Fig. 19) en casos con NIC II, III fue mayor en la región centro-sur en relación con la norte-occidente (33.7% vs 29.0%, respectivamente).

**Tabla 34**

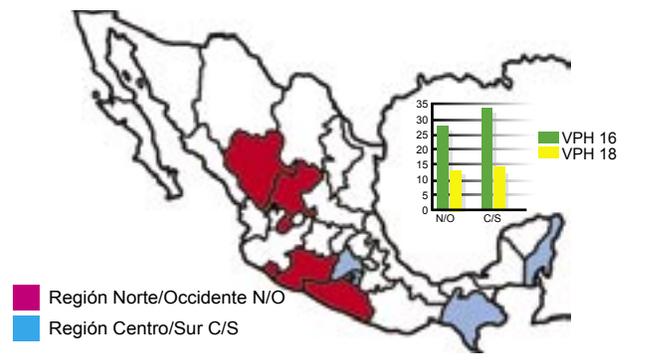
Frecuencia (%) de los virus de papiloma humano 16 y 18 en la neoplasia intraepitelial cervical II,III, por región, en mujeres mexicanas, 2000

Región	N	VPH-16		VPH-18	
		n	(%)	n	(%)
Norte/Occidente*	114	33	29.0	15	13.2
Centro/Sur**	80	27	33.7	12	15.0

\*Norte/Occidente= Durango, Zacatecas, Michoacán, Colima, Guerrero  
 \*\*Centro/Sur= Morelos, Estado de México, Chiapas, Quintana Roo

**Figura 19**

Distribución regional de la frecuencia del virus de papiloma humano 16 y 18 en mujeres mexicanas con NIC II,III



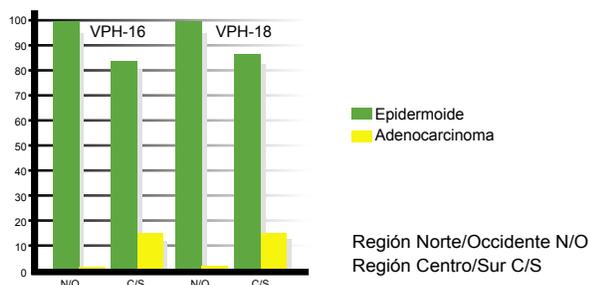
La prevalencia del VPH-18 en este tipo de lesiones no muestra diferencias entre regiones (13.2% para la región norte-occidente y 15%

para la centro-sur). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de los VPH 16 y 18 entre regiones, debido posiblemente al tamaño de la muestra.

En relación con la distribución por tipo histológico de los VPH 16 y 18 (Figuras 20 y 21) se observa que en las mujeres con cáncer invasor de la región Norte/Occidente, el carcinoma epidermoide es el único que se presenta, tanto en el caso del VPH 16 como en el VPH 18. En la región Centro/Sur en relación al tipo 16, aunque el tipo epidermoide es el más frecuente, el adenocarcinoma también está presente (84.6% vs 15.4% respectivamente), guardando proporciones parecidas en el caso del VPH 18 (85.7 % vs 14.3%). En las mujeres con NIC II, III de la región Norte/Occidente, el tipo epidermoide representa 84.8 % contra 15.2% de los adenocarcinomas en los positivos a VPH 16. En la región Centro/Sur la distribución es muy parecida a la anterior (88.9% vs 11.1%, respectivamente). En las positivas a VPH 18 de la región Norte/Occidente la proporción de adenocarcinomas se incrementa representando 20% de los tumores en dicha región contra lo que sucede en la región Centro/Sur en donde en las mujeres con NIC II, III no presentan adenocarcinomas.

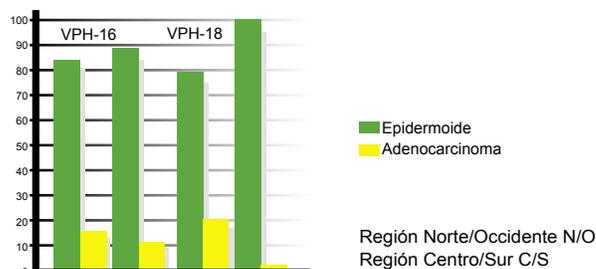
**Figura 20**

**Distribución regional del virus de papiloma humano 16 - 18 por tipo histológico en mujeres mexicanas con cáncer cervical invasor**



**Figura 21**

**Distribución regional del virus de papiloma humano 16 - 18 por tipo histológico en mujeres mexicanas con neoplasia intraepitelial cervical II-III**



## 4.2 Frecuencia, tipos y cofactores del VPH en la etiología de la neoplasia cervical en mujeres del Estado de Morelos

### 4.2.1 Características sociodemográficas y reproductivas

En el presente estudio, 30.3% de las mujeres VPH positivas sin lesión cervical tenían menos de veinticinco años de edad, contra lo que ocurre en las que presentaban LIEAG/CC, en quienes las menores de veinticinco años representaban 2.5%. El grupo de edad más afectado en las LIEAG/CC es el de las mujeres entre 35 y 44 años de edad (51.2%). Alrededor de 80% de las mujeres VPH positivas sin lesión cervical y con LEIBG habían cursado más de 10 años de educación formal contra lo que sucede en las mujeres con LIEAG/CC en quienes solo el 29.3% la habían cursado.

En relación con el estado civil, en este estudio un importante porcentaje de mujeres sin lesión y LIEBG, respectivamente y 53.7% en las LIEAG/CC). El lugar de residencia de las mujeres sin lesión y de quienes presentaban LIEBG fue predominantemente de tipo urbano (91.5% y 85.0%, respectivamente) en comparación con las que presentaban LIEAG/CC quienes

predominantemente residían en el medio rural. Con respecto al tabaquismo menos del 20% de las mujeres participantes reportaron haber fumado al menos 100 cigarrillos en la vida (Tabla 35).

En relación con las características reproductivas de las participantes del estudio, la edad de inicio de vida sexual activa estuvo por debajo de los 16 años en alrededor de 40% de las mujeres participantes. El 65% de quienes presentaron LIEAG/CC reportaron haber tenido más de dos parejas sexuales durante su vida contra lo

reportado por las mujeres con citología normal (40.6%). La mayoría de las mujeres participantes reportó haber estado embarazada alguna vez, y más de 50% de las mujeres LIEAG/CC dijo haber tenido cinco o más embarazos a término. El porcentaje de abortos y de cesáreas en esta población fue menor a 10% en todos los casos. El antecedente de otras infecciones de transmisión sexual fue reportado en más de 80% de las mujeres con LIEBG y LIEAG/CC. El uso de anticonceptivos orales fue bajo en las mujeres participantes, ya que menos de 20% de ellas había usado anticonceptivos orales (Tabla 36).

**Tabla 35**

**Características sociodemográficas de las mujeres VPH\* positivas del estado de Morelos, México**

Características	VPH+ Citología Normal <i>n</i> =165		VPH+ LIEBG <sup>1</sup> <i>n</i> =40		VPH+ LIEAG <sup>2</sup> /CC <i>n</i> =41	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<b>Edad en años</b>						
<25	50	30.3	6	15.0	1	2.5
25-34	26	15.8	15	37.5	11	26.8
35-44	10	6.0	9	22.5	21	51.2
45-54	22	13.3	3	7.5	2	4.9
55+	57	34.6	7	17.5	6	14.6
<b>Educación (años)</b>						
<=9	19	11.5	7	17.5	29	70.7
>=10	146	88.5	33	82.5	12	29.3
<b>Estado Civil</b>						
Casada/unión libre	121	73.4	25	62.5	22	53.7
Soltera/divorciada	22	13.3	12	30.0	10	24
Viuda	22	13.3	3	7.5	9	21.9
<b>Lugar de residencia</b>						
Urbana	151	91.5	34	85.0	16	39.0
Rural	14	8.5	6	15.0	25	61.0
<b>Tabaquismo (al menos 100 cigarrillos en la vida)</b>						
No	147	89.0	32	80.0	36	87.8
Sí	18	11.0	8	20.0	5	12.2

\*Virus de papiloma humano. <sup>1</sup>LIEBG: Lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado, <sup>2</sup>LIEAG Lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado

**Tabla 36**

<b>Características reproductivas de las mujeres VPH* positivas del estado de Morelos, México</b>						
<b>Características</b>	<b>VPH+ Citología Normal n=165</b>		<b>VPH+ LIEBG<sup>1</sup> n=40</b>		<b>VPH+ LIEAG<sup>2</sup>/CC n=41</b>	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
<b>Edad de inicio de vida sexual</b>						
>=16	90	54.6	28	70.0	21	51.2
<=15	75	45.4	12	30.0	20	48.8
<b>Número de parejas sexuales</b>						
1	98	59.4	25	62.5	14	35.0
>=2	67	40.6	15	37.5	26	65.0
<b>Número de embarazos a término</b>						
0-4	116	70.3	26	65.0	17	41.5
>=5	49	29.7	14	35.0	24	58.5
<b>Número de abortos</b>						
Ninguno	123	74.6	29	72.5	35	85.4
Uno	25	15.1	8	20.0	3	7.3
+ de uno	17	10.3	3	7.5	3	7.3
<b>Antecedentes de infecciones de transmisión sexual</b>						
No	161	97.6	6	15.0	3	7.3
Sí	4	2.4	34	85.0	38	92.7
<b>Uso de anticonceptivos orales</b>						
No	133	80.6	32	80.0	38	92.7
Sí	32	19.4	8	20.0	3	7.3
<b>Uso de condón</b>						
Nunca	154	93.3	33	82.5	39	95.1
Alguna vez	11	6.7	7	17.5	2	4.9

\*Virus de papiloma humano. <sup>1</sup>LIEBG: Lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado, <sup>2</sup>LIEAG Lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado

#### 4.2.2 Frecuencia por tipo del VPH en mujeres de Morelos

En la Tabla 37 se describe la frecuencia por tipo del VPH en las mujeres de participantes. Un total de 24 diferentes tipos del VPH fueron identificados. En primer termino se presentan las prevalencias

en quienes presentaron una infección simple (con un solo tipo de VPH). Un total de 166 (81.0%) de las 205 VPH positivas con citología normal y LIEBG presentaban una infección simple LIEAG/CC. En aquellas mujeres sin lesión y en las que presentaban LIEBG, el VPH 16 fue el más prevalente (16.1%) seguido

**Tabla 37**

**Distribución porcentual por tipo de VPH en mujeres del estado de Morelos, México**

	VPH+ Citología Normal/LIEBG n=205*		VPH+ LIEAG/Cáncer n=41**						
VPH-6	5	2.4	0	0	18-39-11	1	0.5	0	0
VPH-11	11	5.4	0	0	18-51-mm7	1	0.5	0	0
VPH-16	33	16.1	22	53.6	18-55	1	0.5	0	0
VPH-18	12	5.8	0	0	31-39	1	0.5	0	0
VPH-31	12	5.8	1	2.4	31-39-66	1	0.5	0	0
VPH-33	10	4.9	2	4.9	31-45mm7	1	0.5	0	0
VPH-35	1	0.5	0	0	31-52	1	0.5	0	0
VPH-39	8	3.9	0	0	31-53	1	0.5	0	0
VPH-45	3	1.5	0	0	31-56	1	0.5	0	0
VPH-51	8	3.9	0	0	31-58	1	0.5	0	0
VPH-52	6	2.9	0	0	33-35	0	0	1	2.4
VPH-53	20	9.8	0	0	33-54	1	0.5	0	0
VPH-54	3	1.5	0	0	33-68	1	0.5	0	0
VPH-55	2	1.0	0	0	35-52	1	0.5	0	0
VPH-56	4	1.9	0	0	35-52-59-mm4	1	0.5	0	0
VPH-58	11	5.4	0	0	33-54-57	1	0.5	0	0
VPH-59	1	0.5	0	0	39-54-mm7	1	0.5	0	0
VPH-66	6	2.9	0	0	39-66-68	1	0.5	0	0
VPH-68	1	0.5	0	0	45-51-53	1	0.5	0	0
MM7	7	3.4	0	0	45-52	1	0.5	0	0
MM8	2	1.0	0	0	45-58	1	0.5	0	0
					45-66	1	0.5	0	0
<b>Total Simple</b>	<b>166</b>	<b>81.0</b>	<b>25</b>	<b>61.0</b>	51-52-68	1	0.5	0	0
16-18	3	1.5	11	27.0	51-mm4	1	0.5	0	0
16-45	1	0.5	0	0	51-mm9	0	0	1	2.4
16-51	1	0.5	0	0	52-6	1	0.5	0	0
15-52-53-mm7	1	0.5	0	0	53-mm4	1	0.5	0	0
16-54	0	0	1	2.4	53-mm7	1	0.5	0	0
16-56	0	0	1	2.4	54-55	0	0	1	2.4
16-66-54	1	0.5	0	0	54-mm7	1	0.5	0	0
18-31	1	0.5	0	0	56-mm7	1	0.5	0	0
18-31-45-6	1	0.5	0	0	58-6	1	0.5	0	0
18-33	1	0.5	0	0					
					<b>Total Múltiple</b>	<b>39</b>	<b>19.0</b>	<b>16</b>	<b>39.0</b>

\*Mujeres VPH positivas, de un total de 1411 mujeres con citología normal y lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (LIEBG), y 41VPH positivas de 52 mujeres con lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado y cáncer invasor.

por el VPH 53, 18, 31 y el 58; asimismo, en quienes presentaban LIEAG/CC el tipo 16 fue también el más frecuente, con una prevalencia

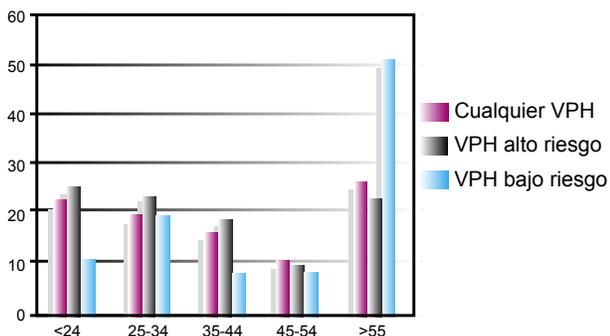
del 53.6%, siguiéndolo en frecuencia el VPH 33 y el 31. En relación a las infecciones múltiples, la combinación más frecuente fue la del VPH

16 y 18 (1.5 % y 27.0% en mujeres sin lesión y LIEBG y LIEAG/CC respectivamente), presentándose 41 combinaciones además de la anterior. La prevalencia global de infecciones con múltiples tipos del VPH en las mujeres con citología normal y LIEBG fue de 19% y de 39% en quienes presentaban LIEAG y cáncer).

La distribución por grupo de edad de los VPH se presenta en la Figura 22. La presencia de infección por cualquier tipo de VPH se detecto en el 23.2% de las mujeres menores de 25 años, dicha presencia decrece conforme aumenta la edad siendo de 10.9% en las de 45 a 54 años para después volverse a incrementar en las mayores de 55 años (28.5%). Cuando el análisis se restringe a los VPH asociados a cáncer (de alto riesgo) la distribución es muy parecida a la anterior ya que, decrece con la edad para después volver a incrementarse en las mayores de 55 años. Los VPH de bajo riesgo presentan una distribución irregular ya que la prevalencia es de 11.4% en el primer grupo, aumenta en el de 25 a 34 años para después disminuir y de nuevo alzarse hasta alcanzar más de 50 % de todas las infecciones de este tipo. En relación con la distribución de los principales tipos del VPH por grupo de edad en las mujeres con

**Figura 22**

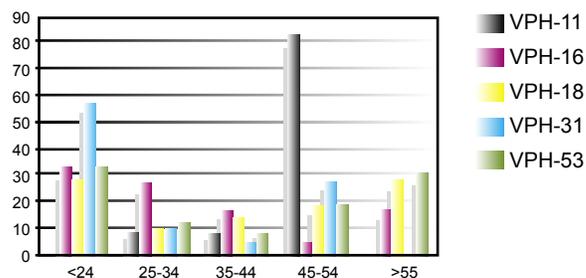
**Distribución porcentual por grupos de edad y tipo del virus de papiloma humano en mujeres del estado de Morelos, México**



citología normal y LIEBG (Figura 23) se observa que los más frecuentes fueron los tipos 11, 16, 18, 31 y 53. El VPH 16 está presente en todos los grupos de edad, siendo más frecuente entre las mujeres más jóvenes, el VPH 11 es más frecuente en el grupo de 45 a 54 años de edad y no está presente en las edades extremas (< 24 y > de 55). En quienes presentan LIEAG y cáncer los tipos de VPH más frecuentes son el 16,18,31 y 33. El VPH 16 se presenta en todos los grupos de edad, llamando la atención el hecho de que el VPH 31 se presenta exclusivamente en mujeres menores de 35 años (Figura 24).

**Figura 23**

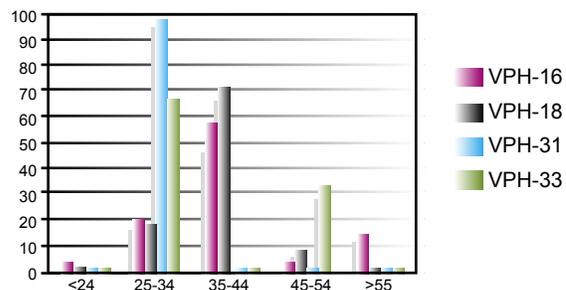
**Distribución porcentual por grupos de edad y principales tipos del virus de papiloma humano en mujeres con citología normal y LIEBG del estado de Morelos, México**



LIEBG= Lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado

**Figura 24**

**Distribución porcentual por grupos de edad y principales tipos del virus de papiloma humano en mujeres con LIEAG y cáncer del estado de Morelos, México**



LIEAG= Lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado

#### 4.2.3 Virus de papiloma humano asociado a neoplasia cervical

En la Tabla 38 se observa que conforme aumenta la gravedad de la lesión aumenta también el porcentaje de mujeres con presencia de VPH de alto riesgo (69.7% en quienes presentan citología normal contra 97.5% en LIEAG/CC). El riesgo de presentar LIEBG y LIEAG/CC si se tiene una infección con VPH de alto riesgo aumenta también con la severidad de la lesión, así, quienes presentan una infección con estos virus tienen trece veces más riesgo de desarrollar LIEBG que quienes se infectan con VPH de bajo riesgo (RM= 13.4 IC 7.7.-23.5) y treinta y siete veces mayor riesgo de presentar LIEAG/CC (RM= 37.8 IC 17.1-83.5). Las infecciones de tipo simple (con un solo tipo del VPH) representan 81.8 % del total de las infecciones en las mujeres con citología normal disminuyendo esta proporción en las LIEAG/CC (61.0%) sucediendo lo contrario en las infecciones múltiples, ya que en las LIEBG dichas infecciones representan 22.5% contra 39% en las LIEAG/CC. Existe

seis veces mayor riesgo de presentar LIEBG y LIEAG/CC si se tiene una infección de tipo múltiple en relación con quienes no la presentan (RM= 6.1 IC 2.5-14.8). La prevalencia del VPH 16 en las LIEAG/CC es de 85.3% y su presencia aumenta considerablemente el riesgo de presentar LIEAG/CC (RM= 118.3 IC 46.8-299.2) en relación con quienes no lo tienen. Lo mismo sucede respecto al VPH 33, ya que el riesgo es casi 10 veces mayor (RM= 9.8 IC 2.3-41.0) en quienes lo presentan, en relación con quienes no lo presentan.

#### 4.2.4 Asociación entre factores de riesgo y lesiones de bajo grado

Los factores asociados con la presencia de lesiones de bajo grado en las mujeres VPH positivas (Tabla 39), incluyeron el estado civil; las mujeres solteras o sin una pareja estable tenían tres veces más riesgo de presentar neoplasia cervical (RM 2.9 I.C. 95% 1.7-5.1), en relación con las mujeres casadas. Asimismo, las mujeres que reportaron cinco o más partos

**Tabla 38**

#### Virus de papiloma humano asociado a neoplasia cervical en mujeres del Estado de Morelos

Tipos de VPH	VPH + <sup>1</sup> Citología normal (165)		VPH + <sup>2</sup> LIEBG (40)	VPH + <sup>2</sup> LIEAG/ Cáncer invasor (41)	
	(%)	(%)	RM (IC)	(%)	RM(IC)
Alto riesgo	69.7	92.5	13.4 (7.7-23.5)	97.5	37.8 (17.1-83.5)
Simple	81.8	77.5	6.1(3.6-10.4)	61.0	2.8 (2.4-3.9)
Multiple	18.1	22.5	6.1(2.5-14.8)	39.0	6.3 (4.0-10.0)
VPH 16	13.9	42.5	29.5 (13.6-64.2)	85.3	118.3 (46.8-299.2)
VPH 18	9.1	15.0	8.3 (2.9-23.7)	27.0	16.3 (5.5-47.8)
VPH 31	10.9	7.5	2.3 (0.6-8.9)	2.4	2.2 (0.2-19.1)
VPH 33	7.3	2.5	1.5 (0.1-12.6)	7.3	9.8 (2.3-41.0)

<sup>1</sup> Incluye VPH no asociados a cáncer HPV 6, 11, 40, 42, 54, 55, 57, MM4, MM7 and MM8 y asociados a cáncer: VPH 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 and MM9 <sup>2</sup> Incluye VPH 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 and MM9 <sup>3</sup> RM ajustada por edad, estado civil, No. de hijos, No. de parejas sexuales, edad de inicio de vida sexual, educación

vaginales presentaban tres veces más riesgo de lesiones de bajo grado (RM 3.2 I.C. 95% 1.8-5.8) en comparación con quienes presentaron menos de cinco. La historia de uso de anticonceptivos orales pudiera ser un factor protector para la presencia de LIEBG (RM= 0.8 I.C. 95% 0.4-1.6). El haber fumado al menos 100 cigarrillos durante la vida aumenta el riesgo de presentar lesiones de bajo grado en relación con quienes nunca han fumado (1.8 I.C. 95% 0.9-3.6).

#### 4.2.5 Asociación entre factores de riesgo y lesiones de alto grado y cáncer cervical.

Entre los factores asociados con la presencia de lesiones de alto grado y el cáncer cervical en el análisis de regresión logística (Tabla 40), estuvo el nivel educativo, ya que aquellas mujeres con menos de 10 años de educación formal tuvieron seis veces más riesgo presentar

**Tabla 39**

<b>Factores de riesgo para LIEBG* en mujeres VPH + del Estado de Morelos</b>			
	<b>Control (n=165)</b>	<b>Caso (n=40)</b>	<b>RM<sup>1</sup> (IC 95%)</b>
<b>Edad en años</b>			
<25	50	6	1.0
25-34	26	15	1.2 (0.3-4.4)
35-44	10	9	0.3 (0.1-1.2)
45-54	22	3	0.1 (0.02-0.6)
55+	57	7	0.09 (0.02-0.4)
<b>Educación (años)</b>			
>=10	17	7	1.0
<=9	146	33	0.7 (0.39-1.5)
<b>Estado Civil</b>			
Casada/unión libre	121	25	1.0
Soltera/divorciada/viuda	22	12	2.9 (1.7-5.1)
<b>Edad de inicio de vida sexual</b>			
>=16	90	28	1.0
<=15	75	12	1.2 (0.7-2.0)
<b>Número de parejas sexuales</b>			
1	98	25	1.0
>=2	67	15	1.4 (0.8-2.4)
<b>No. embarazadas a término</b>			
0-4	116	26	1.0
>=5	49	14	3.2 (1.8-5.8)
<b>Uso de anticonceptivos orales</b>			
No	133	32	1.0
Sí	32	8	0.8 (0.4-1.6)
<b>Uso de condón</b>			
Nunca	154	33	1.0
Alguna vez	11	7	2.2 (1.0-4.5)
<b>Tabaquismo (al menos 100 cigarrillos en la vida)</b>			
No	147	32	1.0
Sí	18	8	1.8 (0.9-3.6)=

<sup>1</sup> LIEAG: Lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado. <sup>1</sup>RM ajustada por edad, estado civil, número de hijos, número de parejas sexuales, edad de inicio de vida sexual, educación

LIEAG/CC (RM 6.7 IC 95% 3.6-12.5), en relación con aquellas que cursaron más de diez años. De la misma manera, las solteras o sin pareja estable, tuvieron tres veces mayor riesgo de presentar lesiones de alto grado y CC, en relación con las mujeres casadas (RM 3.6 IC 95% 1.8-7.1). El reportar más de dos parejas sexuales aumentó el riesgo de presentar LIEAG/CC (RM IC 2.5 95%1.3-4.8), en relación con quienes se definieron como monógamas.

Asimismo, las mujeres que reportaron cinco o más partos vaginales tuvieron casi cinco veces mayor riesgo de presentar LIEAG/CC (RM 4.6 I.C. 95% 2.3-9.3), en comparación con quienes presentaron menos de cinco. La historia de uso de anticonceptivos orales es un factor protector para la presencia de LIEAG/CC (RM 0.2 IC 95% 0.08-0.7); el hábito tabáquico se asoció positivamente con el riesgo para lesiones de alto grado (RM 1.3 IC 95% 0.3-4.8).

**Tabla 40**

**Factores de riesgo para LIEAG\*/Cáncer cervical en mujeres VPH positivas del Estado de Morelos**

	VPH + sin (n=165)	VPH + con (n=40)	RM <sup>1</sup> (IC 95%)
<b>Edad en años</b>			
<25	50	6	1.0
25-34	26	15	1.2 (0.3-4.4)
35-44	10	9	0.3 (0.1-1.2)
45-54	22	3	0.1 (0.02-0.6)
55+	57	7	0.09 (0.02-0.4)
<b>Educación (años)</b>			
>=10	19	7	1.0
<=9	146	33	0.7 (0.39-1.5)
<b>Estado Civil</b>			
Casada/unión libre	121	25	1.0
Soltera/divorciada/viuda	22	12	2.9 (1.7-5.1)
<b>Edad de inicio de vida sexual</b>			
>=16	90	28	1.0
<=15	75	12	1.2 (0.7-2.0)
<b>Número de parejas sexuales</b>			
1	98	25	1.0
>=2	67	15	1.4 (0.8-2.4)
<b>No. embarazadas a término</b>			
0-4	116	26	1.0
>=5	49	14	3.2 (1.8-5.8)
<b>Uso de anticonceptivos orales</b>			
No	133	32	1.0
Sí	32	8	0.8 (0.4-1.6)
<b>Uso de condón</b>			
Nunca	154	33	1.0
Alguna vez	11	7	2.2 (1.0-4.5)
<b>Tabaquismo (al menos 100 cigarrillos en la vida)</b>			
No	147	32	1.0
Sí	18	8	1.8 (0.9-3.6)=

<sup>1</sup> LIEAG: Lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado. <sup>1</sup>RM ajustada por edad, estado civil, número de hijos, número de parejas sexuales, edad de inicio de vida sexual, educación

## Capítulo 5. Discusión

En términos de salud pública, uno de los más importantes descubrimientos de los últimos 20 años ha sido el reconocimiento de que el cáncer cervical es consecuencia de una infección persistente con el VPH. Este hallazgo se iguala en importancia con el descubrimiento de la asociación causal entre el fumar cigarrillos y el cáncer de pulmón o entre el virus de la hepatitis C y cáncer de hígado. El importante cuerpo de conocimientos alrededor del tema, que incluye desde estudios de prevalencia, de casos y controles e investigaciones sobre la historia natural ( estudios de seguimiento), dejan claro que la infección con el VPH precede el desarrollo del CC y confirman que la transmisión sexual es la vía de adquisición del VPH (Bosch *et al*, 2002).

En México, el cáncer cervical representa la primera causa de muerte por tumores malignos entre las mujeres y tiene una de las tasas de incidencia más altas del continente americano (Lazcano *et al*, 1999). La infección con el Virus de Papiloma Humano (VPH) es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes en el mundo, en México, al igual que en muchos países, el VPH 16 es detectado en alrededor de la mitad de las neoplasias cervicales y el cáncer invasor (Hernández *et al*, 1997). La frecuencia del VPH 16 en cáncer invasor observada en este trabajo es consistente con lo reportado en investigaciones previas (Tonon *et al*, 1999; Takac *et al*, 1998). Estas prevalencias se encuentran dentro del intervalo de variación mundial que va desde 35.9% (Hwang *et al*, 1999) hasta 82.8%, reportado por Sebbelov *et al*, 2000, en mujeres danesas, o la encontrada por Bosch *et al*, 1995 en el estudio mundial de prevalencia del VPH, que documenta prevalencias para el VPH-16 en mujeres de Centro y Sudamérica de entre 34.7 a 59.6%.

La frecuencia del VPH-16 detectada en las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado en este trabajo es similar a la de diversos estudios realizados en los últimos años (Hwang

*et al*, 1999; Torroella-Kouri *et al*, 1998), aunque menor a la informada en otras investigaciones hechas en México (Hernández *et al*, 1997; Montoya *et al*, 2001).

La prevalencia del VPH-18 en CC en nuestro estudio, coincide con lo encontrado por Chichareon *et al*, 1998 y Ngelangel *et al*, 1998 quienes reportan prevalencias de 21.3% y 22.2% respectivamente, en cáncer cervical; sin embargo, en otros estudios se documentan prevalencias más bajas, como la encontrada por Hernández *et al* (6.7%) en un estudio efectuado en México o la reportada por Lo *et al*, 2002, en China. En LIEAG se reportan prevalencias de VPH-18 inferiores o similares a las documentadas en el presente artículo (Chichareon *et al*, 1998; Ferrara *et al*, 1999).

Se observó un aumento proporcional de la frecuencia del VPH 16 y 18 conforme aumentó la gravedad de la lesión, coincidiendo con lo encontrado por Ferrara *et al*, 1999, en un estudio llevado a cabo en Honduras y con lo reportado por Torroella *et al*, 1998, en México.

En la región norte/occidente de México, los VPH 16 y 18 son responsables de alrededor de 80% de los casos de CC y de alrededor de 60% de los casos en la región centro/sur; este hecho tendría importantes implicaciones en la implantación de estrategias de control basadas en las vacunas contra VPH ya que la elaboración de una vacuna que incluya a estos dos tipos de VPH podría prevenir una importante proporción de los casos de CC (Chichareon *et al*, 1998; Franceschi *et al*, 2003; Muñoz *et al*, 2004).

La elevada prevalencia de VPH 16 y 18 en la región norte/occidente, en comparación con la de la región centro/sur, que es la que presenta las tasas más altas de mortalidad por cáncer cervical en México (11 x 100,000 mujeres), pudiera sugerir la presencia predominante de otros tipos del VPH en dicha región. Este hallazgo es relevante si se considera que la prevención

primaria de esta patología debe incidir no sólo en los tipos 16 y 18 sino, en otros reportados como oncogénicos (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82) (Muñoz *et al*, 2003).

En México, la variante histológica más frecuente del CC es el carcinoma de células escamosas, al que le siguen en orden de importancia el adenocarcinoma (Tapia *et al*, 1996). En nuestro estudio, la frecuencia de VPH 16 y del 18 no muestra diferencias por tipo histológico contrario a lo que reportan Zehbe *et al*, 1997; Andersson *et al*, 2003; Vizcaino *et al*, 1998, que reportan que el tipo 16 esta frecuentemente asociado al carcinoma escamoso y el tipo 18 con el adenocarcinoma, sin embargo, la baja prevalencia de adenocarcinomas en nuestro estudio, en relación a la del de células escamosas limita la posibilidad de poder detectar diferencias reales tanto por tipo de VPH como por regiones, tal y como sucedió en un estudio realizado en Brasil (Robelo *et al*, 2003).

Una posible limitación de este estudio es que no tiene representatividad nacional ya que, aunque se trato de un estudio multicentrico que abarco distintas regiones de la República Mexicana, no tuvo base poblacional.

Estos resultados confirman el papel central del VPH 16 y del 18 en la etiología del cáncer cervical en México, así como su posible contribución en la alta incidencia de éste en nuestro país, además de destacar la utilidad de la prueba de la RCP fluorescente múltiple, por ser altamente específica y capaz de detectar menos de 10 copias de material genómico del ADN del VPH en cualquiera de las regiones virales, lo que garantizaría una mayor sensibilidad y especificidad de dicha prueba.

En relación con el estudio sobre tipos, frecuencia y cofactores del VPH en mujeres de Morelos, éste es el primero de base poblacional que se realiza en México, en el que se restringe el análisis a las mujeres VPH positivas. Con base en lo reportado por Lazcano *et al*, 2001, se

implementó una estrategia en la que el análisis se restringió exclusivamente a las mujeres VPH positivas, tanto aquellas sin lesiones como quienes presentaban LIEBG, LIEAG y cáncer, con la finalidad de poder estimar la contribución de factores adicionales al VPH en la etiología del cáncer cervical. Creemos que dicha estrategia de análisis, que ya ha sido previamente reportada (Santos *et al*, 2001), fue adecuada dado que al incluir en el análisis a mujeres VPH negativas y positivas se corre el riesgo de que, probablemente, una pequeña proporción de los casos sean falsos negativos, y a que la gran mayoría de los controles no sean portadores del VPH y, por lo tanto, sin riesgo de presentar CC, además de que, al incluir casos y controles VPH negativos, se pudiera estar subestimando la influencia del resto de los cofactores. Sin embargo, una desventaja relacionada con dicha estrategia es que el reducido número de mujeres VPH positivas incluidas en el presente estudio restaría posibilidades de detectar asociaciones estadísticamente significativas.

Diversos estudios de epidemiología molecular sugieren que la carcinogénesis cervical es precedida por tres elementos básicos: infección persistente con tipos del VPH de alto riesgo, progresión a una lesión intraepitelial de alto grado y, finalmente, progresión a una etapa invasora (Crum *et al*, 2000; Bosch *et al*, 2002. Basados en diversos estudios de casos y controles realizados para evaluar la asociación entre el VPH y la neoplasia cervical en poblaciones con incidencia baja y alta de cáncer cervical, se ha reconocido la presencia del ADN de algún tipo de VPH en cerca de 100 % de los casos, sobre todo en aquellos que han utilizado pruebas de la RCP de alta sensibilidad (Schiffman *et al*, 1993; Bosch *et al*, 1995; Liaw *et al*, 1995, Walboomers *et al*, 1999).

La frecuencia global de la infección con el VPH en los diversos estudios varia en función de distintos factores como, por ejemplo, la sensibilidad de los métodos de identificación y tipificación del VPH

utilizados y la pertenencia étnica o geográfica; sin embargo, existe consenso en relación con que el porcentaje más alto de infecciones por el VPH ocurre en las lesiones de alto grado, que los virus de alto riesgo están relacionados con la progresión de las lesiones y que el VPH 16 es el más común (Bosch *et al*, 1995; Nam *et al*, 2003; Schlecht *et al*, 2001; Muñoz *et al*, 2004). El presente estudio, realizado en el estado de Morelos, en mujeres VPH positivas, muestra que el VPH 16 es el que proporcionalmente se presenta con más frecuencia, tanto en citología normal y LIEBG (16.1%) como en las LIEAG y cáncer (53.6%), seguido por los VPH 53, 18, 31, 58, 33, 51 en el primer grupo y por el 33 y el 31 en el segundo, respectivamente, coincidiendo con lo reportado por Matsukura *et al*, 2001; Jacobs *et al*, 2000; Liaw *et al*, 1999 y contrastando con lo encontrado por Liaw *et al*, 1999 en relación con la presencia de los VPH 51, 52, 56 o 58 en 39.7% de las mujeres con LIEAG y cáncer, ya que en nuestro estudio dichos tipos de VPH de alto riesgo no fue observada en lesiones de alto grado y cáncer y sí en quienes presentaban citología normal y LIEBG, además, en este grupo se detectó una alta prevalencia del VPH 53 (9.8%) como reportan también Nam *et al*, 2003, llamando esto la atención, debido a que el VPH 53 es un tipo de probable alto riesgo, relacionado generalmente con LIEAG y cáncer (Muñoz *et al*, 2003). Esto podría explicarse en función de la similitud que hay en relación con los factores de riesgo para la adquisición de la infección, tanto de los VPH de bajo como de alto riesgo (Fife *et al*, 2003). Este hecho es preocupante dado que ha sido reportado que las mujeres con citología normal infectadas con VPH de alto riesgo tienen aproximadamente 100 veces más riesgo de desarrollar LIEAG que quienes no fueron infectadas (Rozendaal *et al*, 1996).

Por lo que, considerando que las lesiones de bajo grado y aquellas que presentan citología normal, que son positivas para el VPH 16 y otros tipos de alto riesgo -como es el caso de

las participantes del presente estudio -, tienden a progresar a lesiones más severas, las líneas de investigación en relación al VPH deberán de estar orientadas hacia dichas mujeres, que se identifican como de alto riesgo para desarrollar el cáncer cervical (Liaw *et al*, 1999; Rozendaal *et al*, 1996).

En el presente estudio llama la atención la ausencia del VPH 18 en las LIEAG y cáncer, así como de otros tipos de VPH de alto riesgo, a excepción del 16, 31 y 33, contrario a lo referido por otros autores (Santos *et al*, 2001; Franceschi *et al*, 2003; Muñoz *et al*, 2004) que reportan la presencia de otros tipos del VPH de los clasificados como oncogénicos o de alto riesgo como por ejemplo los tipos 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59. Una posible explicación de este hecho pudiera estar relacionada con baja prevalencia de este tipo del VPH en el estado de Morelos.

En términos generales, los tipos del VPH reportados en el presente estudio son consistentes con la distribución del VPH mostrada a nivel mundial (Muñoz *et al*, 2003; Clifford *et al*, 2003).

Los VPH de alto riesgo, filogenéticamente relacionados, se agrupan alrededor del VPH 16 (31, 33, 35, 52, 58 y 67) y del VPH 18 (39, 45, 59 y 68) en su mayoría (Liaw *et al*, 2001; Stoler, 2003). El primero es más común en LIEAG y cáncer que en LIEBG o citología normal, coincidiendo con lo encontrado en este estudio y lo reportado en la literatura (Fife *et al*, 2001; Matsukura *et al*, 2001). Los relacionados con el segundo grupo, en nuestro estudio, sólo se presentaron en LIEBG o citología normal, acorde con lo reportado por Matsukura *et al*, 1995; Ho *et al*, 1998. Este grupo ha sido frecuentemente asociado con adenocarcinoma y es poco frecuente en lesiones de tipo escamoso como es el caso del presente estudio (Stoler, 2003), por lo que, algunos autores cuestionan el rol que juega el VPH 18 como tipo de alto riesgo en las lesiones de tipo escamoso (Kalantari *et al*, 1997).

Recientemente, diversos estudios han reportado que el VPH 18 está asociado con la progresión rápida a etapas preinvasoras del CC y a un peor pronóstico (Burger *et al*, 1996, Schwartz *et al*, 2001), sugiriendo que los cambios citológicos detectados después de la infección por el VPH 18 pudieran estar subestimando la severidad de la enfermedad subyacente (Kurman *et al*, 1988; Woodman *et al*, 2003).

Los VPH 6 y 11 son usualmente reportados como de bajo riesgo y asociados a condiloma (Matsukura *et al*, 1995 y 2001; Sasagawa *et al*, 2001); en este estudio se presentan exclusivamente en LIEBG o citología normal.

Aunque la detección de infecciones por múltiples tipos del VPH ha sido previamente reportada (Franco *et al*, 1999; Ho *et al*, 1998) se sabe poco acerca de la frecuencia de la coinfección y de si ciertos tipos de VPH tienen mayor o menor probabilidad de adquirirse al mismo tiempo (Rousseau *et al*, 2003 a). Aunque estudios *in vitro* y epidemiológicos sugieren que la respuesta inmune humoral es tipo específica (Myers *et al*, 1996) no se han reportado estudios sobre lo que pasa en relación con las infecciones múltiples.

Entre los posibles predictores de la coinfección con múltiples del VPH se incluyen el número elevado de parejas sexuales recientes, edad menor a treinta años, antecedentes de algunas infecciones de transmisión sexual, y temprano inicio de vida sexual activa (Rousseau *et al*, 2003 b). En nuestro estudio, la prevalencia de infecciones múltiples con el VPH fue de 19% en las mujeres con citología normal y LIEBG, y de 39% en quienes presentaban LIEAG y cáncer, lo cual es comparable con lo reportado por Herrero *et al*, 2000 y Matos *et al*, 2003, y más alta que las referidas por Cho *et al*, 2003; Schellekens *et al*, 2004; Lee *et al*, 2003; Matsukura *et al* 2004. Dicha prevalencia aumenta con la gravedad de la lesión (Kalantari *et al*, 1997) y pudiera estar relacionado también con la edad, como lo reportan Cho *et al*, 2003 y Rousseau *et al*, 2003

y contrario a lo encontrado por Sasagawa *et al*, 2001 quienes observaron que la prevalencia decrece con la severidad de la lesión. Las diferencias existentes en los métodos para la colección de especímenes a estudiar, en las características tanto sociodemográficas como de conducta sexual de las mujeres participantes y en los métodos de laboratorio utilizados para detección y tipificación del VPH, podrían posiblemente explicar estas discrepancias.

Los VPH de alto riesgo predominaron en este tipo de infecciones, siendo la combinaciones más frecuentes las de los tipos 16-18, 16-45 y 18 y 31, en concordancia con lo reportado por Rousseau *et al*, 2003; Kalantari *et al*, 1997. En el presente estudio, más de 50% de las infecciones múltiples presentaban dos tipos de VPH, 25.6% tres y 7.6% cuatro.

Los factores de riesgo para persistencia de la infección con el VPH según lo reportado por Ho *et al*, 1998 están relacionados ser mujer adulta y presentar infección con múltiples tipos de VPH y con tipos de alto riesgo. La asociación entre un infección persistente y múltiples tipos de VPH sugiere que las mujeres que presentan infecciones múltiples pueden tener ciertas características, por ejemplo, una respuesta inmune deficiente para el VPH, que las predispone a una infección persistente; de hecho, las mujeres inmunodeprimidas por el VIH tienen un importante incremento del riesgo de infección con múltiples tipos de VPH (Maiman, 1998; Vermund *et al*, 1991), o estar relacionado con características de conducta sexual no conocidas (Cho *et al*, 2003) .

Aunque se ha reportado que el presentar infecciones con múltiples tipos del VPH no confiere mayor riesgo de presentar CC que quienes presentan infección con un solo tipo de VPH (Muñoz *et al*, 2003; Franceschi *et al*, 2003) en nuestro estudio, el riesgo de presentar CC se duplica entre quienes presentan una infección con múltiples tipos de VPH en relación

con quienes presentaban un solo tipo de VPH, hecho que concuerda con los resultados de estudios previos que sugieren que la presencia simultánea de múltiples tipos de VPH contribuye al desarrollo o progresión de la neoplasia cervical (Fife *et al*, 2001; Van der Graaf *et al*, 2002; Rousseau *et al*, 2003).

Dado que nuestro estudio es de tipo transversal no podemos saber si las infecciones múltiples que se presentaron son concurrentes o secuenciales. Ni saber si estaban presente antes de iniciar el estudio, ya que la infección por el VPH es generalmente transitoria (Thomas *et al*, 2002). El profundizar en el papel que juegan las infecciones múltiples en relación con el riesgo de presentar cáncer cervical va a ser muy importante en el futuro, sobre todo en el contexto de la elaboración de vacunas contra el VPH.

La distribución por edad de la infección por el VPH debe ser estudiada en el contexto de los cambios en los patrones culturales y en especial de lo relacionado con los cambios en las conductas sexuales y reproductivas de esta población. Las mujeres jóvenes en la actualidad tienen mayor acceso a la educación y al trabajo y tienden en su mayoría a iniciar vida sexual y ha tener hijos de manera más tardía que las de mayor edad. Diversos estudios reportan que la prevalencia de la infección con el VPH fue alta en las menores de 25 años (Jacobs *et al*, 2000; Burk *et al*, 1996). En el presente estudio observamos también dicho fenómeno, llamando la atención además el hecho de que en dichas infecciones predomine importantemente los tipos del VPH de alto riesgo. Pudiendo interpretarse dichos resultados como un indicador de la transmisión sexual del virus, ya que la alta prevalencia coincide con la iniciación de la actividad sexual. La detección de ADN del VPH en las mujeres entre treinta y cinco y cuarenta y cuatro años de edad fue baja, para después incrementarse consistentemente después de los cuarenta y cinco años hasta llegar a su máximo en las mayores de sesenta y cinco años. En este

segundo pico de infección, aunque los tipos del VPH de alto riesgo están presentes, es notable el incremento de los tipos no asociados a cáncer, especialmente el VPH 11. Ya se había reportado con anterioridad el decremento con la edad de la frecuencia de la infección con el VPH (Melkert *et al*, 1993; Burk *et al*, 1996; Matos *et al*, 2003) como sucede en nuestro estudio, al igual que el incremento en las de mayor edad (Herrero *et al*, 2000; Cuzick *et al*, 1999 b). El segundo pico de esta curva bimodal podría tener dos explicaciones: la primera está relacionada con el efecto de cohorte (alta exposición al VPH de las mujeres de mayor edad cuando fueron jóvenes y la segunda, relacionada con la reactivación de una infección por el VPH latente debida a una reducción de la respuesta inmune o factores hormonales asociados con la edad (Lazcano *et al*, 2001).

El factor más fuertemente asociado con el desarrollo de LIEG y cáncer cervical invasor en el presente estudio, es la infección con el VPH especialmente el tipo 16 y en general los clasificados como de alto riesgo ya que su presencia incrementa importantemente el riesgo de presentarlos. El riesgo de presentar CC se incrementa casi cuarenta veces entre quienes presentan una infección por VPH de alto riesgo y 100 veces mayor en quienes tienen VPH 16, en relación a quienes no los presentaban. Estos resultados son acordes con los reportados por Bosch *et al*, 2001 y Muñoz *et al*, 2003 tomando como base el estudio multicéntrico de la IARC, en donde se observan riesgos muy elevados de presentar CC asociado a la presencia de VPH de alto riesgo (RM= 50 a 150).

El que sólo una pequeña proporción de mujeres con infección por el VPH eventualmente progresen hacia neoplasia cervical indica que existen posibles cofactores que contribuyen a aumentar el riesgo de malignidad. Una vez establecido que el factor etiológico central del cáncer cervical es el VPH se hace necesario indagar el papel que juegan dichos cofactores (Castellsague *et al*, 2002 b).

El área geográfica en donde se realizó el presente estudio, el estado de Morelos, es un estado predominantemente urbano, donde una importante proporción de la población es de bajos recursos económicos y sólo un porcentaje muy pequeño de las mujeres que participan en el estudio es fumadora. La mayoría de dichas mujeres se definen como monógamas (más del 60%) y es reconocida una alta paridad entre ellas (alrededor de 35% de las mujeres tiene cinco o más hijos). Dicho estado se caracteriza además por ser un área de alta incidencia de CC.

VARIABLES TALES COMO EDUCACIÓN, OCUPACIÓN O INGRESO HAN SIDO TRADICIONALMENTE UTILIZADOS EN SALUD PÚBLICA EN LA IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS DE ALTO RIESGO PARA CIERTAS PATOLOGÍAS. DIVERSAS EVIDENCIAS PRUEBAN QUE EL CÁNCER CERVICAL PODRÍA CONSIDERARSE UNA ENFERMEDAD DE LA POBREZA, ASÍ, LAS TASAS DE MORTALIDAD POR ESTA PATOLOGÍA SON MÁS ALTAS EN LAS POBLACIONES DE BAJO NIVEL SOCIOECONÓMICO (Sloggett *et al*, 1994) y tasas de incidencia altas por CC son frecuentes en mujeres que viven en países pobres (Soe *et al*, 1992). La relación entre factores socioeconómicos y cáncer cervical ha sido explorada con anterioridad, Sanjosé *et al*, 1996 encontró que las mujeres que no asistieron a la escuela tuvieron tres veces más riesgo de presentar CC que quienes sí lo hicieron, datos que concuerdan con lo reportado en el presente estudio, en el que a pesar de que sólo se está utilizando uno de los indicadores empleados para construir nivel socioeconómico, como es el caso de la escolaridad, sí refleja las diferencias existentes en el riesgo de presentar CC en nuestro país. Aunque ahora se sabe que dicho riesgo está directamente relacionado con la presencia de ADN del VPH, el nivel de escolaridad podría estar mediando las actividades de prevención contra el CC que realizan las mujeres (Matos *et al*, 2003). Recientemente (Faggiano *et al*, 1997) un meta-análisis que exploró la relación entre inequidad social y el cáncer cervical, encontró un incremento en el riesgo de cáncer cervical de 100% entre clase social alta y baja,

y de 60% para displasia y cáncer *in situ*. Dicho incremento se presenta en todas las regiones, aunque es más alto en Sudamérica, África y algunas regiones de Asia que en Europa. Esto probablemente refleje la relación existente entre clase social y los factores relacionados con la exposición al VPH (estilos de vida) como el tabaquismo, las conductas sexuales de riesgo o la posibilidad o no de acceso a programas adecuados de detección oportuna de cáncer cervical (Parikh *et al*, 2003).

DIVERSOS ESTUDIOS EPIDEMIOLÓGICOS REALIZADOS EN LAS ÚLTIMAS TRES DÉCADAS CONCUERDAN CON EL HECHO DE QUE EL VPH ES SEXUALMENTE TRANSMISIBLE Y QUE EL RIESGO DE CC ESTÁ FUERTEMENTE INFLUENCIADO POR FACTORES RELACIONADOS CON LA CONDUCTA SEXUAL COMO EL NÚMERO DE PAREJAS SEXUALES, EDAD DE INICIO DE VIDA SEXUAL ACTIVA Y CONDUCTA SEXUAL DE LA PAREJA (Schiffman *et al*, 1995; Franco *et al*, 1997; Thomas *et al*, 2001); sin embargo una vez establecida la relación causal entre el VPH y CC, dichos factores se convierten en sustitutos para medir la exposición al factor de riesgo. Por lo que, teniendo en cuenta el rol central del VPH, entre mujeres VPH positivas el incremento en el número de parejas sexuales no aumenta el riesgo de CC (Eluf Neto *et al*, 1994; Schiffman *et al*, 1993; Kjaer *et al*, 1996; Muñoz *et al*, 1993; Kjellberg *et al*, 1999), concordando con lo reportado por el presente estudio. La posible explicación a esto estaría relacionada con el hecho de que exposición clave habría ocurrido antes. En este estudio, como en otros realizados en otras partes del mundo (Franceschi *et al*, 2003), sólo una proporción muy pequeña de mujeres reportan más de una pareja sexual durante la vida, lo que limita seriamente la posibilidad de detectar asociaciones estadísticamente significativas entre el número de parejas sexuales y el CC.

Aunque desafortunadamente en nuestro estudio no se cuenta con información relacionada con comportamiento sexual masculino, se ha encontrado que el varón ejerce un papel no sólo

como vector o transmisor de la infección por el VPH, sino que, en ocasiones, se ve también afectado, a grado tal que diversos estudios han encontrado una correlación significativa entre la incidencia o mortalidad por CC y la correspondiente incidencia y mortalidad por cáncer de pene y otros del tracto genitourinario en hombres (Smith *et al*, 1980; Li *et al*, 1982; Franco *et al*, 1988; Bosch *et al*, 1994). Además, estudios llevados a cabo por la IARC han encontrado recientemente que la circuncisión está asociada con una reducción del riesgo de infección genital por el VPH en los hombres, y con un riesgo menor de CC en mujeres con parejas circuncidadas (Castellsague *et al*, 2002a).

Los factores hormonales endógenos, como el embarazo, parecen estar implicados en la presencia de la neoplasia cervical. La multiparidad ha sido consistentemente reportada en las últimas décadas como asociada a cáncer cervical (Boyd *et al*, 1964; Brinton *et al*, 1989) sin embargo, no fue sino hasta que se estableció que el VPH es el factor etiológico principal del CC cuando se le consideró como un cofactor que modula la acción del VPH (Muñoz *et al*, 2002; Castellsague *et al*, 2002 b) respaldando esto los resultados del presente estudio, que muestran como el riesgo de presentar LIEBG es tres veces mayor en quienes presentaron más de cinco partos vaginales, que entre quienes tuvieron menos, observándose este mismo fenómeno en las LIEAG y CC. Las hipótesis a través de las cuales se ha tratado de explicar la relación entre multiparidad y CC están relacionadas principalmente con el trauma obstétrico debido a los partos vaginales (Singer *et al*, 1975; Autier *et al*, 1996; Schiffman *et al*, 1995), al efecto de los cambios hormonales durante la vida y en particular en el embarazo, sobre el epitelio del cervix (Auborn *et al*, 1991) y a la prolongada inmunosupresión durante múltiples embarazos (Vermund *et al*, 1992). Otras variables relacionadas, como la cesárea y el aborto no han sido consistentemente asociadas con la presencia de CC (Brinton *et al*, 1989; Bosch *et al*, 1992).

Los factores hormonales exógenos, en particular el uso prolongado de anticonceptivos orales (AO), han sido revisados recientemente en un estudio coordinado por la IARC (Moreno *et al*, 2002) en el cual se reportó que el uso prolongado de AO puede ser un cofactor que incrementa hasta cuatro veces más el riesgo de presentar CC. El mecanismo a través del cual los AO actúan como cofactores del VPH en la etiología del CC no está bien establecida, sin embargo, se ha demostrado una activación de la transcripción en la región de control del VPH en respuesta a estrógenos exógenos. Los AO parecen aumentar la actividad transformadora de los oncogenes del VPH e interferir en la resolución eficiente de las lesiones causadas por el virus en el cérvix de las mujeres jóvenes (Kjellberg *et al*, 2000, Haverkos *et al*, 2000). En el presente estudio, el uso de anticonceptivos orales aparece como un factor protector, esto probablemente relacionado con el hecho que las mujeres que usan AO acuden más frecuentemente a los servicios de detección oportuna del cáncer y por lo tanto tengan mayor probabilidad de ser diagnosticadas. Sin embargo, en este estudio, como en otros realizados en mujeres mexicanas, la prevalencia de uso de AO entre las mujeres participantes es muy baja, lo que hace difícil evaluar asociación entre CC y AO. Además, en la mayoría de los estudios realizados para tal fin, el estimar el efecto de los anticonceptivos orales asociados a CC se dificulta dado que esta variable está íntimamente ligada a otros factores de riesgo relacionados con CC como actividad sexual y los antecedentes de utilización de la prueba de Pap (Franco *et al*, 2001).

La evidencia de que fumar incrementa el riesgo de presentar cáncer cervical se ha ido acumulando a lo largo de los últimos 25 años. No está claro el papel que puede jugar el tabaco en la etiología del cáncer del cuello uterino. La posible explicación de dicha asociación está relacionada con el hecho de que los cigarrillos contienen cancerígenos organodependientes y sus metabolitos han sido detectados en la

mucosa cervical de las mujeres fumadoras (Schiffman *et al*, 1987). Los diversos estudios llevados a cabo para conocer los cofactores del VPH muestran resultados contradictorios; algunos de ellos no han encontrado un efecto independiente para el hábito de fumar, como es el caso de nuestro estudio (Eluf-Neto *et al*, 1994; Muñoz *et al*, 1992), mientras que otros reportan un riesgo superior para las mujeres que fumaban de forma habitual y eran positivas al VPH (Castellsague *et al*, 2002(b), Ylitalo *et al*, 1999; Chichareon *et al*, 1998). Sin embargo, el fumar cigarrillos podría estar asociado al riesgo de infección por el VPH como consecuencia de la correlación existente entre fumar y ciertos comportamientos de conducta sexual (Schiffman *et al*, 1987; Ho *et al*, 1998; Winkelstein *et al*, 1990) hecho que dificulta el determinar si dicha asociación es real o no, dada la imposibilidad de eliminar efectivamente el efecto confusor de la conducta sexual.

El desarrollo de la tecnología para la identificación del ADN del VPH en células exfoliadas del cérvix en los años 80, permitió que los diversos estudios epidemiológicos realizados desde entonces pudieran confirmar la presencia de ADN de VPH en 99.9% de los casos de CC (Walboomers *et al*, 1999). Este desarrollo trajo como consecuencia que las estrategias para la prevención hayan evolucionado rápidamente hacia la incorporación de estas técnicas de identificación y tipificación del VPH como herramientas de tamizaje en CC Bosch *et al*, 2003 b). En nuestro estudio se utilizaron para la detección y cuantificación del VPH para el estudio de la frecuencia del VPH 16 y18 en México, la RCP fluorescente múltiple (Taddeo *et al*, 1998), que tiene la ventaja de ser altamente específico además de su capacidad para detectar menos de 10 copias de ADN del VPH. Para el estudio de las mujeres de Morelos se utilizó un ensayo de tirillas de nylon (*Strip assay*) empleando un formato de hibridación reversa para la determinación del VPH (Gravitt *et al*, 1998), que tienen como ventaja su alta sensibilidad y especificidad con

lo que se minimiza la probabilidad de una mala clasificación.

Aunque el presente estudio es de base poblacional con los consecuentes beneficios en función de la representatividad, una posible limitación de la presente investigación estaría relacionada con el hecho de haber restringido el análisis a las mujeres VPH positivas, ya que hubo una reducción importante en el número de casos haciendo menos eficiente la evaluación de la asociación entre el VPH y el CC y contribuyendo a que las estimaciones hayan sido menos precisas. Por otro lado, aunque se trata de un estudio de tipo transversal con la consecuente ambigüedad temporal, la asociación entre la infección con el VPH y la presencia de la neoplasia cervical es suficientemente fuerte y ampliamente sustentada por diversos estudios epidemiológicos por lo que no existe duda de la relación causal existente entre ambos.

La búsqueda y tipificación del VPH no responde a un mero interés académico, sino que resulta de gran importancia para distinguir los casos con mayor riesgo para desarrollar cáncer cervical, dada la fuerte asociación de algunos tipos específicos de VPH con los tumores malignos, así como también en lo relacionado con el desarrollo de vacunas.

En nuestro estudio, aunque el factor más fuertemente asociado con el desarrollo de LIEBG, LIEG y cáncer cervical invasor es la infección por el virus del papiloma humano, cofactores tales como la multiparidad, el uso de anticonceptivos orales y factores relacionados con la conducta sexual están también asociados. Por esta razón, es necesario realizar estudios longitudinales que evalúen, entre las mujeres mexicanas, la asociación entre los cofactores del VPH y la neoplasia cervical.

El número de tipos del VPH responsables del CC es limitado, en el presente estudio, aunque se detectaron diversos tipos del VPH,

solo los tipos 16, 18, 31 y 33 parecieran estar involucrados en la etiología del CC en las mujeres de Morelos. Por lo que, con mínimas variaciones geográficas, una vacuna que incluya a siete de los más frecuentes tipos de VPH ( 16, 18, 45, 31, 33, 52, y 58) podría prevenir 87% de los casos entre las mujeres vacunadas (Bosch *et al*, 2003 b).

## Capítulo 5. Conclusiones Generales

El cáncer cervical constituye un problema de salud pública en el ámbito mundial especialmente en los países en desarrollo, como es el caso de México.

El cáncer cervical es el tipo más común de neoplasia entre las mujeres en México. Se estima que cada año se presentan más de 35,000 nuevos casos, con una tasa de incidencia estimada de 44.4 por cada 100,000 mujeres.

En relación con la mortalidad general, en México, los tumores malignos ocupan el 2º lugar como causa de muerte y dentro de estos el cáncer cervical ocupa el primer lugar como causa de defunción por neoplasias malignas en mujeres.

La infección con el Virus de Papiloma Humano (VPH) es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes en el mundo, en México, al igual que en muchos países, el VPH-16 es detectado en alrededor de la mitad de las neoplasias cervicales y el cáncer invasor.

Del estudio multicéntrico de prevalencia de los VPH 16 y 18 podemos concluir que la infección por estos tipos de virus juega un papel central en la etiología del cáncer cervical en México, que juntos representan alrededor del 80%

de la prevalencia por tipos del VPH con las consecuentes implicaciones en la elaboración de vacunas contra el virus.

Siendo necesario, además, remarcar la posible contribución de los VPH 16 y 18 en la alta incidencia del CC en nuestro país.

La búsqueda y tipificación de los VPH no responde a un mero interés académico, sino que resulta de gran importancia para distinguir los casos con mayor riesgo para desarrollar CC, dada la fuerte asociación de algunos tipos específicos de VPH y sus variantes con los tumores malignos del cervix. En México, esto resulta especialmente relevante ya que el CC es una patología con una alta incidencia y la primera causa de muerte por tumores malignos en las mujeres.

En las mujeres de Morelos, el factor más fuertemente asociado con el desarrollo de LIEAG y cáncer cervical invasor es la infección por virus del papiloma humano de alto riesgo (especialmente el VPH 16). La presencia de este tipo de infección es observada en prácticamente todos los casos de LIE/cáncer cervical.

El número de tipos del VPH responsables del CC es limitado, en el presente estudio, aunque se detectaron diversos tipos del VPH, solo los tipos 16, 18, 31 y 33 parecieran estar involucrados en la etiología del CC en las mujeres de Morelos.

La implantación de una estrategia en la que el análisis se restringió exclusivamente a las mujeres VPH positivas fue adecuada y permitió estimar la contribución de factores adicionales al VPH en la etiología del cáncer cervical en las mujeres mexicanas.

Cofactores tales como la multiparidad, el tabaquismo, el uso prolongado de anticonceptivos orales y las infecciones con más de un tipo de VPH están asociados con la presencia de LIEAG y cáncer en las mujeres del estado de Morelos.

En países como México, una zona endémica para la infección por el VPH, es necesario realizar estudios para evaluar los factores relacionados con la persistencia de infección por este virus, las infecciones con múltiples tipos del VPH así como de variantes de los mismos, que potencialmente podrían ser prevenidos con vacunas.

Las prioridades en la investigación alrededor del VPH deberán estar centradas en: a) refinamiento de los métodos diagnósticos; b) definición precisa de la incidencia de la infección por el VPH en

la población; c) continuar con la investigación de los riesgos asociados con ciertos tipos de VPH en la progresión de lesiones premalignas a cáncer invasor; d) identificación de factores coexistentes que influirán en la transmisión del VPH y en su rol carcinogénico; e) avances en el tratamiento de la infección por el VPH y en el desarrollo de vacunas, tanto profilácticas como terapéuticas, y f) así como sobre investigaciones alrededor de la eficacia y costo efectividad de los métodos de detección molecular del VPH y su uso en el tamizaje a escala poblacional.

## Capítulo 7. Bibliografía

- Agorastos T, Bontis J, Lambropoulos AF, Constantinidis TC, Nasioutziki M, Tagou C, Katsouyiannopoulos V. Epidemiology of human papillomavirus infection in Greek asymptomatic women. *Eur J Cancer Prev* 1995;4(2): 159-167
- Alexandrova YN, Lyshchov AA, Safronnikova NR, Imyanitov EN, Hanson KP. Features of HPV infection among the healthy attendants of gynecological practice in St. Petersburg, Russia. *Cancer Lett* 1999;145(1-2):43-48
- Alonso P, Lazcano E, Hernández M. *Cáncer cervicouterino: Diagnóstico, tratamiento y control*. México: Editorial Interamericana, 2000.
- Altekruse SF, Lacey JV Jr, Brinton LA, Gravitt PE, Silverberg SG, Barnes WA Jr, Greenberg MD, Hadjimichael OC, McGowan L, Mortel R, Schwartz PE, Hildesheim A. Comparison of human papillomavirus genotypes, sexual, and reproductive risk factors of cervical adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: Northeastern United States. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188(3):657-663
- Andersson S, Rylander E, Larson B, Sigurdardottir S, Backlund I, Sallstrom J, Wilander E. Types of human papillomavirus revealed in cervical adenocarcinomas after DNA sequencing. *Oncol Rep*. 2003;10(1):175-9
- Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikaheimo I, Jellum E, Lehtinen M, Lenner P, Hakulinen T, Narvanen A, Pukkala E, Thoresen S, Youngman L, Paavonen J. Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA*. 2001;285(1):47-51.
- Apple RJ, Erlich HA, Klitz W, Manos MM, Becker TM, Wheeler CM. HLA DR-DQ associations with cervical carcinoma show papillomavirus-type specificity. *Nat Genet*. 1994;6(2):157-162.
- Astori G, Beltrame A, Pipan C, Raphenon G, Botta GA. PCR-RFLP-detected human papilloma virus infection in a group of senegalese women attending an STD clinic and identification of a new HPV-68 subtype. *Intervirol* 1999;42(4):221-227
- Auborn KJ, Woodworth C, DiPaolo JA, Bradlow HL. The interaction between HPV infection and estrogen metabolism in cervical carcinogenesis. *Int J Cancer*. 1991;49(6):867-9.
- Autier P, Coibion M, Huet F, Grivegne AR. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Br J Cancer*. 1996;74(3):488-490.
- Azocar J, Abad SM, Acosta H, Hernandez R, Gallegos M, Pifano E, Blanch R, Kramar A. Prevalence of cervical dysplasia and HPV infection according to sexual behavior. *Int J Cancer*. 1990;45(4):622-665.
- Baken LA, Koutsky LA, Kuypers J, Kosorok MR, Lee SK, Kiviat NB, Holmes KK. Genital human papillomavirus infection among male and female sex partners: prevalence and type-specific concordance. *J Infect Dis* 1995;171(2): 429-432
- Baker CC, Phelps WC, Lindgren V, Braun MJ, Gonda MA, Howley PM. Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cell lines. *J Virol* 1987;61(4):962-971
- Baker TS, Newcomb WW, Olson NH, Cowser LM, Olson C, Brown JC. Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophys J*. 1991;60(6):1445-1456.
- Baldauf J, Dreyfus M, Ritter J, Meyer P, Philippe E, Obert G. A PCR study on the consistence of herpes simplex virus, cytomegalovirus and human papillomavirus DNAs in cervical neoplasia. *Int J Gynecological Cancer* 1992;6(5):389-395.
- Banks L, Spence P, Androphy E, Hubbert N, Matlashewski G, Murray A, Crawford L. Identification of human

- papillomavirus type 18 E6 polypeptide in cells derived from human cervical carcinomas. *J Gen Virol* 1987;68:1351-1359
- Barbosa MS, Vass WC, Lowy DR, Schiller JT. In vitro biological activities of the E6 and E7 genes vary among human papillomaviruses of different oncogenic potential. *J Virol* 1991;65(1):292-298
- Becker TM, Wheeler CM, McGough NS, Stidley CA, Parmenter CA, Dorin MH, Jordan SW. Contraceptive and reproductive risks for cervical dysplasia in southwestern Hispanic and non-Hispanic white women. *Int J Epidemiol* 1994;23(5):913-922.
- Bedell MA, Jones KH, Grossman SR, Laimins LA. Identification of human papillomavirus type 18 transforming genes in immortalized and primary cells. *J Virol* 1989;63(3):1247-1255
- Benda JA. Pathology of cervical carcinoma and its prognostic implications. *Semin Oncol* 1994;21(1):3-11
- Bernard HU, Chan SY, Manos MM, Ong CK, Villa LL, Delius H, Peyton CL, Bauer HM, Wheeler CM. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis* 1994;170(5):1077-1085
- Berumen J, Casas L, Segura E, Amezcua JL, Garcia-Carranca A. 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(5):640-645
- Berumen J, Ordóñez RM, Lazcano E, Salmerón J, Galván SC, Estrada RA, Yunes E, Garcia-Carranca A, Gonzalez-Lira G, Madrigal-de la Campa A. Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(17):1325-1330.
- Bhattachakosol P, Poonnaniti A, Niruthisard S. Detection and typing of human papillomavirus in cervical cancer in the Thai. *J Med Assoc Thai* 1996;79 Suppl 1:S56-64
- Bibbo M, Dytch SB, Alenghat E, Bartels PH, Wied GL. DNA ploidy profiles as prognostic indicators in CIN lesions. *Am J Clin Pathol* 1989;92:261-265
- Bible JM, Mant C, Best JM, Kell B, Starkey WG, Shanti Raju K, Seed P, Biswas C, Muir P, Banatvala JE, Cason J. Cervical lesions are associated with human papillomavirus type 16 intratypic variants that have high transcriptional activity and increased usage of common mammalian codons. *J Gen Virol.* 2000;81:1517-27.
- Bjorge T, Thoresen SO, Skare GB. Incidence, survival and mortality in cervical cancer in Norway, 1956-1990. *Eur J. Cancer* 1993;29A:2291-2299.
- Bosch FX, Munoz N. Human papillomavirus and cervical neoplasia: a critical review of the epidemiological evidence. *IARC Sci Publ.* 1989;(94):135-151.
- Bosch, F.X., Muñoz, N., De Sanjosé, S., Izarzugaza, I., Gili, M., Viladiu, P., Tormo, M.J., Moreo, P., Ascunce, N., Gonzalez, L.C., Tafur, L., Kaldor, J.M., Guerrero, E., Aristizabal, N., Santamaria, M. and Alonso de Ruiz, P. Risk Factors for cervical cancer in Colombia and Spain. *Int J Cancer*, 1992;52:750-758
- Bosch FX, Muñoz, N, De Sanjose, S., Guerrero, E., Ghaffari, AM, Kaldor, J., Castellsagué, X., and Shah KV. Importance of human papillomavirus endemicity in the incidence of cervical cancer an extension of the hypothesis on sexual behavior. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1994;3:375-379.
- Bosch, F.X., Manos, M., Muñoz, N., Sherman, M., Jansen, A., Peto, J., Schiffman, M., Moreno, V., Shah, K.V. and the IBSCC study group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1995;87:796-802

Bosch FX, Castellsague X, Munoz N, de Sanjose S, Ghaffari AM, Gonzalez LC, Gili M, Izarzugaza I, Viladiu P, Navarro C, Vergara A, Ascunce N, Guerrero E, Shah KV. Male sexual behavior and human papillomavirus DNA: key risk factors for cervical cancer in Spain. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88(15):1060-1067.

Bosch, X, Muñoz N, de Sanjose S. Human papillomavirus and other risk factors for cervical cancer. *Biomed Pharmacother* 1997;51(6-7):268-275

Bosch FX, Rohan T, Schneider A, Frazer I, Pfister H, Castellsague X, de Sanjose S, Moreno V, Puig-Tintore LM, Smith PG, Munoz N, zur Hausen H. Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 international papillomavirus conference. *J Clin Pathol.* 2001(3):163-75.

Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55(4):244-265.

Bosch FX, de Sanjose S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;(31)3-13(a)

Bosch FX. Epidemiology of human papillomavirus infections: new options for cervical cancer prevention. *Salud Publica Mex.* 2003;45 Suppl 3:S326-39(b)

Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J* 1984;3(5):1151-1157

Boyd JT, Doll R. A study of the aetiology of carcinoma of the cervix uteri. *Br J Cancer* 1964;18:419-34

Brabin L. Interactions of the female hormonal environment, susceptibility to viral infections, and disease progression. *AIDS Patient Care STDs* 2002;16(5):211-221

Brady CS, Duggan-Keen MF, Davidson JA, Varley JM, Stern PL. Human papillomavirus type 16 E6 variants in cervical carcinoma: relationship to host genetic factors and clinical parameters. *J Gen Virol.* 1999;80:3233-3240.

Brinton LA, Hamman RF, Huggins GR, Lehman HF, Levine RS, Mallin K, Fraumeni JF. Sexual and reproductive risk factors for invasive squamous cell cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1987;79(1):23-30

Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Herrero R, de Britton RC, Gaitan E, Tenorio F, Garcia M, Rawls WE. Parity as a risk factor for cervical cancer. *Am J Epidemiol.* 1989;130(3):486-496.

Brinton, L.A., Huggins, G.R., Lehman, H.F., Levine, R.S., Mallin, K., Savitz, D.A., Rapido, E, Rosenthal, J and Hoover, R. Long-term use of oral contraceptives and risk of invasive cervical cancer. *Int. J Cancer* 1986; 38:339-344

Brisson J, Bairati I, Morin C, Fortier M, Bouchard C, Christen A, Bernard P, Roy M, Meisels A. Determinants of persistent detection of human papillomavirus DNA in the uterine cervix. *J Infect Dis.* 1996;173(4):794-9.

Burger MP, Hollema H, Pieters WJ. Epidemiological evidence of intraepithelial neoplasia without the presence of human papillomaviruses. *B J Cancer* 1996;73(6) :831-836

Burk R, Ho G, Beardsley L, Lempa M, Paters M, Bierman R. Sexual Behavior and partner characteristics are the predominant risk factor for human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis* 1996;174:678-689(a)

Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA, Landesman SH. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996;23(4):333-341(b)

- Burk, RD. Human Papillomavirus and the Risk of Cervical Cancer. *Hosp Pract* 1999;34(12):103-11.
- Burk, RD. Pernicious Papillomavirus infection. *N Engl J Med.* 1999;341:1687-1688.
- Butterworth CE Jr, Hatch KD, Gore H, Mueller H, Krumdieck CL. Improvement in cervical dysplasia associated with folic acid therapy in users of oral contraceptives. *Am J Clin Nutr.* 1982;35(1):73-82.
- Butterworth CE Jr, Hatch KD, Macaluso M, Cole P, Sauberlich HE, Soong SJ, Borst M, Baker VV. Folate deficiency and cervical dysplasia. *JAMA.* 1992 22-29;267(4):528-533
- Carmichael JA. The management of minor degrees of cervical dysplasia associated with the human papillomavirus. *Yale J Biol Med* 1991;64(6):591-597
- Castellsague X, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, de Sanjose S, Eluf-Neto J, Ngelangel CA, Chichareon S, Smith JS, Herrero R, Moreno V, Franceschi S; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med.* 2002;346(15):1105-1112(a).
- Castellsague X, Bosch FX, Munoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res* 2002;89(2): 191-199(b)
- Castle PE, Hillier SL, Rabe LK, Hildesheim A, Herrero R, Bratti MC, Sherman ME, Burk RD, Rodriguez AC, Alfaro M, Hutchinson ML, Morales J, Schiffman M. An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infected with oncogenic human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10: 1021-7
- Castle PE, Giuliano AR. Chapter 4: Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients--assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;(31):29-34.
- Cavalcanti SM, Deus FC, Zardo LG, Frugulhetti IC, Oliveira LH. Human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil: a retrospective study. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91(4):433-440.
- Celantano D, Klassen A, Weisman C, Rosenshein N. The role of contraceptive use in cervical cancer: the Maryland cervical cancer case-control study. *Am J Epidemiol* 1987;126:592-604
- Chabaud M, Le Cann P, Mayelo V, Leboulleux D, Diallo AS, Enogat N, Afoutou JM, Anthonioz P, Coll-Seck AM, Coursaget P. Detection by PCR of human papillomavirus genotypes in cervical lesions of Senegalese women. *J Med Virol* 1996;49(4):259-263
- Chan P, Chang A, Cheung J, Chan D, Xu L, Tang N, Cheng A. Determinants of cervical human papillomavirus infection: Differences between high- and- low oncogenic risk types. *J Infect Dis* 2002;185:28-35.
- Chan PG, Sung HY, Sawaya GF. Changes in cervical cancer incidence after three decades of screening US women less than 30 years old. *Obstet Gynecol.* 2003;102(4):765-773.
- Chan PK, Chan MY, Li WW, Chan DP, Cheung JL, Cheng AF. Association of human beta-herpesviruses with the development of cervical cancer: bystanders or cofactors. *J Clin Pathol.* 2001;54(1):48-53
- Chan PK, Li WH, Chan MY, Ma WL, Cheung JL, Cheng AF. High prevalence of human papillomavirus type 58 in Chinese women with cervical cancer and precancerous lesions. *J Med Virol* 1999;59(2):232-238
- Chan SY, Delius H, Halpern AL, Bernard HU. Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types: uniting typing, phylogeny, and taxonomy. *J Virol* 1995;69(5):3074-3083

Chan SY, Ho L, Ong CK, Chow V, Drescher B, Durst M, ter Meulen J, Villa L, Luande J, Mgaya HN, et al. Molecular variants of human papillomavirus type 16 from four continents suggest ancient pandemic spread of the virus and its coevolution with humankind. *J Virol* 1992;66(4):2057-2066

Chan, MK, Lau KM, Tsui Y. Human papillomavirus infection in Hong-Kong chinese women with normal and abnormal cervix detection by polimerase chain reaction method on cervical scrapes. *Gynecol Oncol* 1996;60(2) : 217-223

Chang-Claude J, Schneider A, Smith E, Blettner M, Wahrendorf J, Turek L. Longitudinal study of the effects of pregnancy and other factors on detection of HPV. *Gynecol Oncol.* 1996;60(3):355-362

Chaouki, N., Bosch, F.X., Muñoz, N., Meijer, C.J.L.M., El Ghazi, A., Deacon, J., Castellsagué, X., and Walboomers, J.M.M. The viral origin of cervical cancer in Rabat, Morocco. *Int J Cáncer* 1998;75:546-554

Chellappan S, Kraus VB, Kroger B, Munger K, Howley PM, Phelps WC, Nevins JR. Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(10):4549-4553

Chichareon S, Herrero R, Munoz N, Bosch FX, Jacobs MV, Deacon J, Santamaria M, Chongsuvivatwong V, Meijer CJ, Walboomers JM. Risk factors for cervical cancer in Thailand: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 7;90(1):50-57

Chilvers, C., Mant, D. and Pike, M.C. Cervical cancer adenocarcinoma and oral contraceptives. *Br Med J Clin Res* 1987; 295:1446-1447

Chin-Hong PV, Palefsky JM. Natural history and clinical management of anal human papillomavirus disease in men and women infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 2002;35(9):1127-1134.

Cho NH, An HJ, Jeong JK, Kang S, Kim JW, Kim YT, Park TK. Genotyping of 22 human papillomavirus types by DNA chip in Korean women: comparison with cytologic diagnosis. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188(1):56-62.

Chopra KF, Tyring SK. The impact of the human immunodeficiency virus on the human papillomavirus epidemic. *Arch Dermatol.* 1997;133(5):629-633.

Chua KL, Hjerpe A. Persistence of human papillomavirus infections preceding cervical carcinoma. *Cancer* 1996;77:121-127.

Clavel C, Rihet S, Masure M. DNA-EIA to detect high and low risk HPV genotypes in cervical lesions with E6/E7 primer mediated multiplex PCR. *J Clin Pathol* 1998;51(1):38-43

Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2003;89(1):101-5

Coker A, Gersimova T, Rensburg M, editors. Oncogenic HPVs and cervical SIL development among low-income women. In: 17th International Papillomavirus Conference, Charleston, South Carolina 1999

Cole ST, Danos O. Nucleotide sequence and comparative analysis of the human papillomavirus type 18 genome. Phylogeny of papillomaviruses and repeated structure of the E6 and E7 gene products. *J Mol Biol* 1987;193(4): 599-608

Cope J, Hildesheim A, Schiffman MH, Manos MM, Lorincz AT, Burk RD, Glaso AG, Greer C, Buckland J, Esigasen K, Scott DR, Sherman HE, Crook T, Storey A, Almond N, Osborn K, Crawford L. Human papillomavirus type 16 cooperates with activated ras and fos oncogenes in the hormone-dependent transformation of primary mouse cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85(23):8820-8824.

- Crook T, Wrede D, Tidy J, Scholefield J, Crawford L, Vousden KH. Status of c-myc, p53 and retinoblastoma genes in human papillomavirus positive and negative squamous cell carcinomas of the anus. *Oncogene* 1991;6(7):1251-7
- Crum CP. Contemporary theories of cervical carcinogenesis: the virus, the host, and the stem cell. *Mod Pathol.* 2000;13(3):243-51
- Cullen A, Reid R, Campion M, Loincz AT. Analysis of the physical state of different HPV DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasia. *J Virol* 1991;65:606-612.
- Cuzick J, Terry G, Ho L, Hollingworth T, Anderson M. Type-specific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer.* 1994;69(1):167-171.
- Cuzick J Szarewski A, Terry G, Human Papillomavirus testing in primary cervical screening. *Lancet* 1995;345(8964):1533-1536
- Cuzick J, Terry G, Ho L. Human papillomavirus type 16 in cervical smears as predictor of high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Lancet* 1999;339(8802):1182(a)
- Cuzick J, Beverley E, Ho L, Terry G, Sapper H, Mielzynska I, Lorincz A, Chan K, Krausz T, Soutter P. HPV testing in primary screening of older women. *Br J Cancer* 1999;81(3):554-558(b).
- Cuzick J, Terry G, Ho L, Monaghan J, Lopes A, Clarkson P, Duncan I. Association between high-risk HPV types, HLA DRB1 and DQB1 alleles and cervical cancer in British women. *British Journal of Cancer* 2000;82(7):1348-1352.
- Davies P, Kornegay J, Iftner T. Current methods of testing for human papillomavirus. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2001;15(5):677-700
- de Araujo Souza PS, Villa LL. Genetic susceptibility to infection with human papillomavirus and development of cervical cancer in women in Brazil. *Mutat Res.* 2003;544(2-3):375-83
- De Roda Husman AM, Walboomers JM, Hopman E, Bleker OP, Helmerhorst TM, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Meijer CJ. HPV prevalence in cytologically normal cervical scrapes of pregnant women as determined by PCR: the age-related pattern. *J Med Virol* 1995;46(2):97-102
- de Sanjose S, Munoz N, Bosch FX, Reimann K, Pedersen NS, Orfila J, Ascunce N, Gonzalez LC, Tafur L, Gili M, et al. Sexually transmitted agents and cervical neoplasia in Colombia and Spain. *Int J Cancer.* 1994;56(3):358-363
- De Sanjose S, Bosch FX, Munoz N, Tafur L, Gili M, Izarzugaza I, Izquierdo A, Navarro C, Vergara A, Munoz MT, Ascunce N, Shah KV. Socioeconomic differences in cervical cancer: two case-control studies in Colombia and Spain. *Am J Public Health.* 1996;86(11):1532-8
- De Sanjose S, Palefsky J. Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Res.* 2002;89(2):201-211.
- Deacon JM, Evans CD, Yule R, Desai M, Binns W, Taylor C, Peto J. Sexual behaviour and smoking as determinants of cervical HPV infection and of CIN3 among those infected: a case-control study nested within the Manchester cohort. *Br J Cancer.* 2000;83(11):1565-1572
- Deak J, Cseh I, Szollosi J, Pulay T, Kornya L, Bak M, Nyari T, Weszelovszky E, Kalmar L, Jakab I, Jarmai J, Nagy E, Kovacs L [Detection of human papillomavirus infection by the nucleic acid hybridization method]. *Orv Hetil* 1999;140(3):115-120
- Del Mistro A, Bertorelle R, Minucci L editors. Identification of a broad spectrum of HPV types in the female genital tract of Italian women : morphological correlations. In: 16<sup>th</sup> International Papillomavirus Conference, 1998

- Desaintes C, Demeret C, Goyat S, Yaniv M, Thierry F. Expression of the papillomavirus E2 protein in HeLa cells leads to apoptosis. *EMBO J* 1997;16(3):504-14
- Dilius H, Hofmann B. Primer-directed sequencing of human papillomavirus types. In: zur Hausen H. ed. *Human pathogenic papillomaviruses*. Heidelberg:Springer Verlag, 1994:13-31
- Dillner J, Hagmar B, Hansson B. editors. The Swedish multicenter trial of screening for HPV infection. In : 17<sup>th</sup> International Papillomaviruses Conference, Charleston, South Carolina 1999
- Dillner J, Kallings I, Brihmer C, Sikstrom B, Koskela P, Lehtinen M, Schiller JT, Sapp M, Mardh PA. Seropositivities to human papillomavirus types 16, 18, or 33 capsids and to Chlamydia trachomatis are markers of sexual behavior. *J Infect Dis* 1996;173(6):1394-1398
- DiPaolo JA, Woodworth CD, Popescu NC, Notario V, Doniger J. Induction of human cervical squamous cell carcinoma by sequential transfection with human papillomavirus 16 DNA and viral Harvey ras. *Oncogene* 1989;4(4):395-399
- Drescher CW, Hopkins MP, Roberts JA. Comparison of the pattern of metastatic spread of squamous cell cancer and adenocarcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1989;33(3):340-343
- Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983;80(12):3812-3815
- Eide TJ. Cancer of the uterine cervix in Norway by histological type 1970-1984. *J Natl Cancer Inst.* 1987;79,199-205
- Elfgren K, Kalantari M, Moberger B, Hagmar B, Dillner. A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:561-567
- Eluf-Neto, J., Booth, M., Muñoz, N., Bosch, F.X., Meijer, C.J.L.M. and Walboomers, J.M.M. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. *Br J Cancer* 1994;69:114-119
- Eluf-Neto J, Nascimento CM. Cervical cancer in Latin America. *Semin Oncol* 2001;28(2):188-197
- Escandón R, Benítez M, Navarrete J. Epidemiología del Cáncer Cervicouterino en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Salud Pública de México.* 1998;34(6): 607-614
- Evander M, Edlund, Gustafsson A. Human papillomavirus infection is transient in young women: a population-based cohort study. *J Infect Dis* 1995;171(4):1026-1030
- Faggiano F, Partanen T, Kogevinas M, Boffetta P. Socioeconomic differences in cancer incidence and mortality. In: Kogevinas M, Pearce N, Susser M, Boffetta P, eds. *Social inequalities and cancer* (IARC Scientific Publications No. 130). Lyon: IARC, 1997:65-176.
- Fairley CK, Tabrizi SN, Gourlay SG. A cohort study comparing the detection of HPV DNA from women who stop and continue to smoke. *Aust NZ Obstet Gynaecol* 1995;35(2):181-185
- Ferlay, J. Bray F, Pisani P, Parkin DM. *Globocan, 2000: Cancer incidence, mortality, and prevalence worldwide*. International Agency for Research on Cancer Cancer Base 5, Version 1.0. Lyon, IARC Press; 2001 No. 5.
- Ferrara A, Velema JP, Figueroa M, Bulnes R, Toro LA, Claros JM, De Barahona O, Melchers WJ. Human papillomavirus infection, cervical dysplasia and invasive cervical cancer in Honduras: A case-control study. *Int J Cancer* 1999;82(6):799-803.

- Ferrera A, Olivo A, Alaez C, Melchers WJ, Gorodezky C. HLA DOA1 and DOB1 loci in Honduran women with cervical dysplasia and invasive cervical carcinoma and their relationship to human papillomavirus infection. *Hum Biol.* 1999;71(3):367-379.
- Fife KH, Katz BP, Roush J, Handy VD, Brown DR, Hansell R. Cancer-associated human papillomavirus types are selectively increased in the cervix of women in the first trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174(5):1487-93
- Fife KH, Katz BP, Brizendine EJ, Brown DR. Cervical human papillomavirus deoxyribonucleic acid persists throughout pregnancy and decreases in the postpartum period. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(5):1110-1114.
- Fife KH, Cramer HM, Schroeder JM, Brown DR. Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. *J Med Virol.* 2001;64(4):550-9
- FIGO. International Federation of Gynecology and Obstetrics. Staging announcement: FIGO staging of gynecologic cancer: cervical and vulva. *Int J Gynecol Cancer* 1995;5:319-323
- Figueroa JP, Ward E, Luthi TE, Vermund SH, Brathwaite AR, Burk RD. Prevalence of human papillomavirus among STD clinic attenders in Jamaica: association of younger age and increased sexual activity. *Sex Transm Dis* 1995;22(2):114-118
- Finney RE, Bishop JM. Predisposition to neoplastic transformation caused by gene replacement of H-ras1. *Science* 1993;260(5113):1524-1527
- Flannelly G, Jiang G, Anderson D. Serial quantitative of HPV-16 in the smears of women with mild and moderate dyskaryosis. *J. Med Virol* 1995;47(1):6-9
- Franceschi S, Clifford G, Plummer M. Prospects for primary prevention of cervical cancer in developing countries. *Salud Publica Mex.* 2003;45 Suppl 3:S430-6.
- Franco EL, Campos Filho N, Villa LL, Torloni H. Correlation patterns of cancer relative frequencies with some socioeconomic and demographic indicators in Brazil: an ecologic study. *Int J Cancer.* 1988;15;41(1):24-29
- Franco EL, Villa LL, Ruiz A, Costa MC. Transmission of cervical human papillomavirus infection by sexual activity: differences between low and high oncogenic risk types. *J Infect Dis* 1995;172(3):756-763
- Franco EL. Understanding the epidemiology of genital infection with oncogenic and nononcogenic human papillomaviruses: a promising lead for primary prevention of cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997;6(10):759-761.
- Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Desy M, Rohan TE. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* 1999;180(5):1415-1423
- Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ.* 2001;164(7):1017-25.
- Frisch M, Smith E, Grulich A, Johansen C. Cancer in a population-based cohort of men and women in registered homosexual partnerships. *Am J Epidemiol.* 2003;157(11):966-972.
- Fu YS, Huang I, Beaudenon S, Ionesco M, Barrasso R, de Brux J, Orth G. Correlative study of human papillomavirus DNA, histopathology and morphometry in cervical condyloma and intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Pathol* 1988;7:297-307.

- Garcia-Carranca A, Thierry F, Yaniv M. Interplay of viral and cellular proteins along the long control region of human papillomavirus type 18. *J Virol* 1988;62(11):4321-4330
- Gersell DJ, Mazoujian G, Mutch DG, Rudloff MA. Small-cell undifferentiated carcinoma of the cervix. A clinicopathologic, ultrastructural, and immunocytochemical study of 15 cases. *Am J Surg Pathol* 1988;12(9):684-98
- Gibson L, Spiegelhalter DJ, Camilleri-ferrante C, Day N.E. Trends in invasive cervical cancer incidence in East Anglia from 1971 to 1993 *J Med Scr* 1997;4:44-48
- Gissman L, zur Hausen H. Human papillomaviruses: physical mapping and genetic Heterogeneity. *Proc Nat Acad Sci* 1980;73:1310-1314
- Giuliano AR, Papenfuss M, Nour M, Canfield LM, Schneider A, Hatch K. Antioxidant nutrients: associations with persistent human papillomavirus infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997;6(11):917-923.
- Giuliano AR, Papenfuss M, Schneider A, Nour M, Hatch K. Risk factors for high-risk type human papillomavirus infection among Mexican-American women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8(7):615-620
- Gjooen K, Olsen AO, Magnus P, Grinde B, Sauer T, Orstavik I. Prevalence of human papillomavirus in cervical scrapes, as analyzed by PCR, in a population-based sample of women with and without cervical dysplasia. *APMIS* 1996;104(1):68-74
- Goldsborough, MD, McAllister P, Reid R, Temple G, Lorincz, AT, A comparison study of human papillomavirus prevalence by the polymerase chain reaction in low risk women and in a gynaecology referral group at elevated risk for cervical cancer. *Mol Cell Probes* 1992;6:451-457.
- Goodman MT, McDuffie K, Hernandez B, Wilkens LR, Selhub J. Case-control study of plasma folate, homocysteine, vitamin B(12), and cysteine as markers of cervical dysplasia. *Cancer.* 2000;89(2):376-382.
- Gravitt P.E., Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlée F, Hildesheim A, Schiffman MH, Scott DR, Apple RJ. Improved amplification of genital human papillomavirus. *Journal of Clinical Microbiology* 2000;38(1):357-361.
- Gravitt PE, Burk RD, Lorincz A, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti MC, Rodriguez AC, Helzlsouer KJ, Schiffman M. A comparison between real-time polymerase chain reaction and hybrid capture 2 for human papillomavirus DNA quantitation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12(6):477-484.
- Gravitt PE, Castle PE. Chlamydia trachomatis and cervical squamous cell carcinoma. *JAMA.* 2001;285(13):1703-1704
- Gravitt PE, Peyton CL, Apple RJ, Wheeler CM. Genotyping of 27 human papillomavirus types by using L1 consensus PCR products by a single-hybridization, reverse line blot detection method. *J Clin Microbiol* 1998;36(10):3020-3027
- Grce M, Husnjak K, Magdic L, Ilijas M, Zlacki M, Lepusic D, Lukac J, Hodek B, Grizelj V, Kurjak A, Kusic Z, Pavelic K. Detection and typing of human papillomaviruses by polymerase chain reaction in cervical scrapes of Croatian women with abnormal cytology. *Eur J Epidemiol* 1997;13(6):645-651
- Grce M, Magdic L, Kocijan I, Pavelic K. Increase of genital human papillomavirus infection among men and women in Croatia. *Anticancer Res* 1996;16(2):1039-1041
- Greenberg M, Reid R, Schiffman M, Campion M, Precop S, Berman N, Zemlo T, Husain M, Herman G, Omatoa K, Lorincz A. A prospective study of biopsy-confirmed cervical intraepithelial neoplasia grade 1: colposcopic, cytological, virological risk factors for progression. *J Lower Genit Tract Dis* 1999;3:104-110.

- Guney AI, Ince U, Kullu S, Pekin S, Cirakoglu B. Detection and typing of human papillomavirus in cervical specimens of Turkish women. *Eur J Gynaecol Oncol* 1997;18(6):546-550
- Gustafsson L, Adami HO. Natural history of cervical neoplasia: consistent results obtained by an identification technique. *Br J Cancer* 1989;60(1):132-141
- Gustafsson L, Ponten J, Zack M. International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. *Causes Control* 1997;8:755-763
- Halpert R, Fruchter RG, Sedlis A, Butt K, Boyce JG, Sillman FH. Human papillomavirus and lower genital neoplasia in renal transplant patients. *Obstet Gynecol.* 1986;68(2):251-258.
- Hassen E, Remadi S, Chouchane L. Detection and molecular typing of human papillomaviruses: prevalence of cervical infection in the Tunisian central region. *Tunis Med.* 1999;77(10):497-502.
- Haverkos H, Rohrer M, Pickworth W. The cause of invasive cervical cancer could be multifactorial. *Biomed Pharmacother* 2000;54(1):54-59
- Hecht JL, Kadish AS, Jiang G, Burk RD. Genetic characterization of the human papillomavirus (HPV) 18 E2 gene in clinical specimens suggests the presence of a subtype with decreased oncogenic potential. *Int J Cancer* 1995;60(3):369-376
- Heilmann V, Kreienberg R. Molecular biology of cervical cancer and its precursors. *Curr Womens Health Rep.* 2002;2(1):27-33.
- Heinzel PA, Chan SY, Ho L, O'Connor M, Balaram P, Campo MS, Fujinaga K, Kiviat N, Kuypers J, Pfister H, et al. Variation of human papillomavirus type 6 (HPV-6) and HPV-11 genomes sampled throughout the world. *J Clin Microbiol* 1995;33(7):1746-1754
- Hernández M, Lazcano E, Berumen J, Cruz A, Alonso P, González G. Human papilloma Virus 16-18 Infection and cervical cancer in Mexico: A Case Control Study. *Archives of Medical Research* 1997;28(2):265-271.
- Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg MD, Alfaro M, Burk RD, Wacholder S, Plummer M, Schiffman M. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(6):464-474.
- Herrington CS, Anderson SM, Bauer HM, Tronccone B, de Angelis ML, Noell H, Chimera JA, Van Eyck SL, McGee JO. Comparative analysis of human papillomavirus detection by PCR and non-isotopic in situ hybridisation. *J Clin Pathol* 1995;48(5):415-419
- Herrington CS, Evans MF, Gray W, McGee JO. Morphological correlation of human papillomavirus infection of matched cervical smears and biopsies from patients with persistent mild cervical cytological abnormalities. *Hum Pathol.* 1995;26(9):951-955.
- Hildesheim A, Hadjimichael O, Schwartz PE, Wheeler CM, Barnes W, Lowell DM, Willett J, Schiffman M. Risk factors for rapid-onset cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180(3):571-577
- Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, Scott DR, Rush BB, Lawler P, Sherman ME. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis* 1994;169(2):235-240
- Hildesheim A, Wang SS. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Res.* 2002;89(2):229-240.

- Hinchliffe SA, van Velzen D, Korporaal H. Transience of cervical HPV infection in sexually active young women with normal cervicovaginal cytology. *Br J Cancer* 1995;72(4):943-945
- Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Lewis R, Romney S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995 20;87(18):1365-1371
- Ho GY, Bierman R, Beardsley L. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338(7):423-428(a)
- Ho GY, Kadish AS, Burk RD, Basu J, Palan PR, Mikhail M, Romney SL. HPV 16 and cigarette smoking as risk factors for high-grade cervical intra-epithelial neoplasia. *Int J Cancer*. 1998;78(3):281-285 (b)
- Ho L, Chan SY, Burk RD, Das BC, Fujinaga K, Icenogle JP, Kahn T, Kiviat N, Lancaster W, Mavromara-Nazos P, *et al.* The genetic drift of human papillomavirus type 16 is a means of reconstructing prehistoric viral spread and the movement of ancient human populations. *J Virol* 1993;67(11):6413-6423
- Ho L, Chan SY, Chow V, Chong T, Tay SK, Villa LL, Bernard HU. Sequence variants of human papillomavirus type 16 in clinical samples permit verification and extension of epidemiological studies and construction of a phylogenetic tree. *J Clin Microbiol* 1991;29(9):1765-1772
- Holly EA, Ralston ML, Darragh TM, Greenblatt RM, Jay N, Palefsky JM. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93(11):843-849.
- Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(3):252-258
- Hopkins MP, Morley GW. A comparison of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1991;77(6):912-917
- Hsu YH, Wei TC, Horng IJ, Jan WC, Su IJ. Prevalence of human papilloma virus 16 or 18 in cervical cancer in Hualien, eastern Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* 1997;13(5):315-319
- Huang S, Afonina I, Miller BA, Beckmann AM Human papillomavirus types 52 and 58 are prevalent in cervical cancers from Chinese women. *Int J Cancer* 1997;70(4):408-411
- Hunter RE, Longcope C, Keough P. Steroid hormone receptors in carcinoma of the cervix. *Cancer* 1987;60(3):392-396
- Hwang ES, Riese DJ 2nd, Settleman J, Nilson LA, Honig J, Flynn S, DiMaio D. Inhibition of cervical carcinoma cell line proliferation by the introduction of a bovine papillomavirus regulatory gene. *J Virol* 1993;67(7):3720-3729
- Hwang T. Detection and typing of human papillomavirus DNA by PCR using consensus primers in various cervical lesions of Korean women. *J Korean Med Sci* 1999;14(6):593-599
- IARC Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans, Vol. 64: Human Papillomaviruses. Lyon, France, IARC 1995.
- IARC Working Group, IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Hormonal contraception and post-menopausal hormonal therapy. Lyon: International Agency for research on Cancer, Vol. 72. 1999.
- Jablonska S, Dabrowski J, Jakubowicz K. Epidermodysplasia verruciformis as a model in studies on the role of papovaviruses in oncogenesis. *Cancer Res* 1972;32(3):583-589

Jacobs MV, de Roda Husman AM, van den Brule AJ, Snijders PJ, Meijer CJ, Walboomers JM. Group-specific differentiation between high- and low-risk human papillomavirus genotypes by general primer-mediated PCR and two cocktails of oligonucleotide probes. *J Clin Microbiol* 1995;33(4):901-905

Jacobs MV, Walboomers JM, Snijders PJ, Voorhorst FJ, Verheijen RH, Franssen-Daalmeijer N, Meijer CJ. Distribution of 37 mucosotropic HPV types in women with cytologically normal cervical smears: the age-related patterns for high-risk and low-risk types. *Int J Cancer* 2000;87(2):221-227

Jain AG, Higgins RV, Boyle MJ. Management of low-grade squamous intraepithelial lesions during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;177(2):298-302.

Kalantari M, Karlsen F, Johansson B, Sigurjonsson T, Warleby B, Hagmar B. Human papillomavirus findings in relation to cervical intraepithelial neoplasia grade: a study on 476 Stockholm women, using PCR for detection and typing of HPV. *Hum Pathol* 1997;28(8):899-904.

Kaldor JM, Day NE, Band P, Choi NW, Clarke EA, Coleman MP, Hakama M, Koch M, Langmark F, Neal FE. Second malignancies following testicular cancer, ovarian cancer and Hodgkin's disease: an international collaborative study among cancer registries. *Int J Cancer*. 1987;39(5):571-585.

Karologlu D, Karlsen F, Johansson B. Detection of HPV-16 and 18 infection in patients with cervical neoplasia. *Eur J Gynaecol Oncol* 1996 ;17(4):296-298

Kemp EA, Hakenewerth AM, Laurent SL, Gravitt PE, Stoerker J. Human papillomavirus prevalence in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1992;79(5):649-656.

Kenney JW. Comparison of risk factors, severity, and treatment of women with genital HPV. *Cancer Nurs*. 1994;17(4):308-317

Kenney JW. Risk factors associated with genital HPV infection. *Cancer Nurs*. 1996;19(5):353-359.  
Kessler II. Venereal factors in human cervical cancer: evidence from marital clusters. *Cancer* 1977;39(4 Suppl): 1912-1919.

Kitchener HC, Neilson L, Burnett RA, Young L, Macnab JC. Prospective serial study of viral change in the cervix and correlation with human papillomavirus genome status. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98(10):1042-1048

Kiviat N. Natural history of cervical neoplasia: overview and update. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175(2):1099-1104.

Kiviat NB, Paavonen JA, Brockway J, Crichtlow CW, Brunham RC, Stevens CE, Stamm WE, Kuo CC, DeRouen T, Holmes KK. Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. I. Epithelial and inflammatory cellular changes. *JAMA*. 1985;253(7):989-996.

Kjaer, S.K., van den Brule, A.J.C., Bock, J.E., Poli, P.A., Enghoim, G., Sherman, M.E., Walboomers, J.M.M. and Meijer, C.J.L.M. Human papillomavirus- The most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Cancer* 1996;65:601-606.

Kjaer SK, van den Brule AJ, Bock JE, Poli PA, Engholm G, Sherman ME, Walboomers JM, Meijer CJ. Determinants for genital human papillomavirus (HPV) infection in 1000 randomly chosen young Danish women with normal Pap smear: are there different risk profiles for oncogenic and nononcogenic HPV types? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;6(10):799-805

Kjaer SK. Risk factors for cervical neoplasia in Denmark. *APMIS Suppl*. 1998;80:1-41.

Kjaer S, van den Brule A, Svare, EI. editors. Risk factor repeated HPV positivity over a 2 year period in younger Danish women. In: 17th International Papillomavirus Conference, Charleston, South Carolina, 1999

Kjellberg L, Wang Z, Wiklund F, Edlund K, Wadell G, Ångström T, Lenner P, Sjöberg I, Hallmans G, Wallin KL, Sapp M, Schiller J, Wadell G, Mählck CG and Dillner J. Sexual behavior and papillomavirus exposure in cervical intraepithelial neoplasia: a population based case-control study. *Journal of General Virology* 1999;80: 391-398.

Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, Angstrom T, Dillner J. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer*. 2000;82(7):1332-8.

Koss LG. *Diagnostic Cytology and Histopathologic Bases*. Philadelphia. JB Lippincott Co.,1992.

Kotloff KL, Wasserman SS, Russ K, Shapiro S, Daniel R, Brown W, Frost A, Tabara SO, Shah K Detection of genital human papillomavirus and associated cytological abnormalities among college women. *Sex Transm Dis* 1998;25(5):243-250

Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Medicine* 1997;102:3-8

Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM, DeRouen TA, Galloway DA, Vernon D, Kiviat NB. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992;327(18):1272-1278

Kruger-Kjaer S, van den Brule AJ, Svare EI, Different risk factor patterns for high-grade and low grade intraepithelial lesions on the cervix among HPV-positive and HPV negative young women. *Int J Cancer* 1998;76(5):613-619

Kubota T, Ishi K, Suzuki M, Utsuno S, Igari J. Prevalence of human papillomavirus infection in women attending a sexually transmitted disease clinic. *Kansenshogaku Zasshi* 1999;73(3):233-8

Kurman RJ, Schiffman MH, Lancaster WD, Reid R, Jenson AB, Temple GF, Lorincz AT. Analysis of individual human papillomavirus types in cervical neoplasia: a possible role for type 18 in rapid progression. *Am J Obstet Gynecol*. 1988;159(2):293-6

Kurman RJ, Norris HJ, Wilkinson E, editors. Tumors of the cervix, vagina and vulva. Fascicle 4 In: *Atlas of tumor pathology*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC. 1992.

Kurman,RJ., Llaw,KL. Comparison of the hybrid capture tube test and PCR for detection of human papillomavirus DNA in cervical specimens. *J Clin Microbiol* 1997;35(9):2262-2265.

La Ruche G, You B, Mensah-Ado I. Human papillomavirus and human immunodeficiency virus infections: relation with cervical dysplasia-neoplasia in African women. *Int J Cancer* 1998;76(4):480-486

La Vecchia C, Franceschi S, Decarli A, Fasoli M, Gentile A, Parazzini F, Regallo M. Sexual factors, venereal diseases, and the risk of intraepithelial and invasive cervical neoplasia. *Cancer*. 1986;58(4):935-941.

Labropoulou V, Diakomanolis E, Dailianas S, Kalpaktsoglou K, Balamotis A, Mavromara Type-specific prevalence of genital human papillomaviruses in benign, premalignant, and malignant biopsies in patients from Greece. *Sex Transm Dis* 1997;24(8):469-474

Lacey JV Jr, Brinton LA, Abbas FM, Barnes WA, Gravitt PE, Greenberg MD, Greene SM, Hadjimichael OC, McGowan L, Mortel R, Schwartz PE, Silverberg SG, Hildesheim A. Oral contraceptives as risk factors for cervical adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999;8(12): 1079-1085.

Lazcano P, Rascón P, Lozano A, Velazco M. Mortality from Cervical Carcinoma in Mexico. Impact of Screening, 1980-1990. *Acta Cytologica* 1996;40(3):506-512

- Lazcano-Ponce EC, Moss S, Cruz-Valdez A, Alonso de Ruiz P, Casares-Queralt S, Martinez-Leon CJ, Hernandez-Avila M. The factors that determine participation in cervical cancer screening in the state of Morelos. *Salud Publica Mex.* 1999;41(4):278-85.
- Lazcano P, Herrero R, Muñoz N, Cruz A, Shah K, Alonso P, Hernández P, Salmerón J, Hernández M. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001;91:412-420
- Lee SA, Kang D, Seo SS, Jeong JK, Yoo KY, Jeon YT, Kim JW, Park NH, Kang SB, Lee HP, Song YS. Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPVDNAChip. *Cancer Lett.* 2003;198(2):187-92
- Lehmann M, Groh A, Rodel J, Nindl I, Straube E. Detection of Chlamydia trachomatis DNA in cervical samples with regard to infection by human papillomavirus. *J Infect.* 1999;38(1):12-17.
- Lertworapreecha M, Bhattarakosol P, Niruthisard S. Detection and typing of human papillomavirus in cervical intraepithelial neoplasia grade III in Thai women. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1998;29(3):507-511
- Ley C, Bauer HM, Reingold A, Schiffman MH, Chambers JC, Tashiro CJ, Manos MM. Determinants of genital human papillomavirus infection in young women. *J Natl Cancer Inst.* 1991;83(14):997-1003.
- Li JY, Li FP, Blot WJ, Miller RW, Fraumeni JF Jr. Correlation between cancers of the uterine cervix and penis in China. *J Natl Cancer Inst.* 1982;69(5):1063-1065.
- Liaudet L, Soriano FG, Szabo C. Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med.* 2000;28(4 Suppl):37-52.
- Liaw KL, Hsing AW, Chen CJ, Schiffman MH, Zhang TY, Hsieh CY, Greer CE, You SL, Huang TW, Wu TC, *et al* Human papillomavirus and cervical neoplasia: a case-control study in Taiwan. *Int J Cancer* 1995;62(5):565-571
- Liaw K, Glass A, Manos M, Greer C, Scott D, Sherman M, Burk, R Kurman, R, Wacholder, S, Rush, B, Cadell D, Lawler P, Tabor D, Schiffman M. Detection of human papillomavirus DNA in Cytologically Normal Women and subsequent Cervical Squamous Intraepithelial Lesions. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(11):954-960
- Liaw KL, Hildesheim A, Burk RD, Gravitt P, Wacholder S, Manos MM, Scott DR, Sherman ME, Kurman RJ, Glass AG, Anderson SM, Schiffman M. A prospective study of human papillomavirus (HPV) type 16 DNA detection by polymerase chain reaction and its association with acquisition and persistence of other HPV types. *J Infect Dis.* 2001;183(1):8-15.
- Liu T, Soong SJ, Wilson NP, Craig CB, Cole P, Macaluso M, Butterworth CE Jr. A case control study of nutritional factors and cervical dysplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1993;2(6):525-530
- Lo KW, Wong YF, Chan MK, Li JC, Poon JS, Wang VW, Zhu SN, Zhang TM, He ZG, Wu QL, Li GD, Tam JS, Kahn T, Lam P, Cheung TH, Chung TK. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a multicenter study in China. *Int J Cancer* 2002;100(3):327-331.
- Lombard I, Vincent-Salomon A, Vilidire P, Zafrani B, Clough K, Favre M, Pouillart P, Sastre-Garau X. Human papillomavirus genotype as a major determinant of the course of cervical cancer. *J Clin Oncol* 1998;16(8):2613-2619
- Londesborough P, Ho L, Terry G. Human papillomavirus genotype a predictor of persistence and development of high-grade lesions in women with minor cervical abnormalities. *Int J Cancer* 1996;69(5):364-368
- Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, Scott DR, Glass AG, Wacholder S, Rush BB, Gravitt PE, Schussler JE, Schiffman M. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. *Lancet.* 2002;360(9328):228-229.

Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992;79:318-327

Lorincz, A. T; Temple G.F, Kurman R, J; Jenson A.B and Lancaster W, D., Oncogenic Association of Specific Human Papillomavirus Types with Cervical Neoplasia. *JNCI*. 1987;79(4):671-677.

Lowy DR, Dvoretzky I, Shober R, Law MF, Engel L, Howley PM. In vitro tumorigenic transformation by a defined sub-genomic fragment of bovine papilloma virus DNA. *Nature* 1980;287(5777):72-74

Mack DH, Laimins LA. A keratinocyte-specific transcription factor, KRF-1, interacts with AP-1 to activate expression of human papillomavirus type 18 in squamous epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(20):9102-9106.

MacLean AB, Lynn KL, Bailey RR, Swainson CP, Walker RJ. Colposcopic assessment of the lower genital tract in female renal transplant recipients. *Clin Nephrol*. 1986;26(1):45-47.

Maiman M. Management of cervical neoplasia in human immunodeficiency virus-infected women. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1998;(23):43-9.

Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, Shieh-Ngai J, Kurman RJ, Ransley JE, Fetterman BJ, Hartinger JS, McIntosh KM, Pawlick GF, Hiatt RA. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. *JAMA*. 1999;281(17):1605-10.

Martin CE. Epidemiology of cancer of the cervix. II. Marital and coital factors in cervical cancer. *Am J Public Health Nations Health* 1967;57(5):803-814

Matas AJ, Simmons RL, Buselmeier TJ, Kjellstrand CM, Najarian JS. Successful renal transplantation in patients with prior history of malignancy. *Am J Med*. 1975;59(6):791-795.

Matas AJ, Simmons RL, Najarian JS. Chronic antigenic stimulation, herpesvirus infection, and cancer in transplant recipients. *Lancet* 1975;1(7919):1277-1279.

Matos E, Loria D, Amestoy GM, Herrera L, Prince MA, Moreno J, Krunfly C, van den Brule AJ, Meijer CJ, Munoz N, Herrero R; Proyecto Concordia Collaborative Group. Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concordia, Argentina: a population-based study. *Sex Transm Dis*. 2003;30(8):593-9

Matsumoto K, Yoshikawa H, Nakagawa S, Tang X, Yasugi T, Kawana K, Sekiya S, Hirai Y, Kukimoto I, Kanda T, Taketani Y. Enhanced oncogenicity of human papillomavirus type 16 (HPV16) variants in Japanese population. *Cancer Lett*. 2000;156(2):159-165.

Matsukura T, Sugase M. Identification of genital human papillomaviruses in cervical biopsy specimens: segregation of specific virus types in specific clinicopathologic lesions. *Int J Cancer*. 1995;61(1):13-22

Matsukura T, Sugase M. Relationships between 80 human papillomavirus genotypes and different grades of cervical intraepithelial neoplasia: association and causality. *Virology*. 2001;283(1):139-47

Matsukura T, Sugase M. Human papillomavirus genomes in squamous cell carcinomas of the uterine cervix. *Virology*. 2004;324(2):439-49

McIntosh N. Human Papillomavirus and Cervical Cancer, Baltimore, JHPIEGO Corporation, May, 2000

Meijer CJ, Walboomers JM, de Blok S, Editors. Clearance and acquisition of high-risk HPV and development of dysplastic cervical lesions in women with cytologically normal cervical smears. In: 16th International Papillomavirus Conference, 1998

Melkert PW, Hopman E, van den Brule AJ, Risse EK, van Diest PJ, Bleker OP, Helmerhorst T, Schipper ME, Meijer CJ, Walboomers JM. Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent. *Int J Cancer*. 1993;53(6):919-23

Meyers C, Laimins LA. In vitro systems for the study and propagation of human papillomaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994;186:199-215

Miller B, Dockter M, el Torky M, Photopoulos G. Small cell carcinoma of the cervix: a clinical and flow-cytometric study. *Gynecol Oncol* 1991;42(1):27-33

Mohar BA, Frías MM, Suchil BL, Mora MM, de la Garza J. Epidemiología descriptiva de cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología de México. *Salud Pública Mex* 1997;39(4):253-258

Monsonogo J, Magdelenat H, Catalan F, Coscas Y, Zerat L, Sastre X. Estrogen and progesterone receptors in cervical human papillomavirus related lesions. *Int J Cancer*. 1991;48(4):533-539.

Montoya L, Saiz I, Rey G, Vela F, Clerici-Larradet N. Cervical carcinoma: human papillomavirus infection and HLA-associated risk factors in the Spanish population. *Eur J Immunogenet*. 1998;25(5):329-337

Montoya-Fuentes H, Suarez Rincon AE, Ramirez-Munoz MP, Arevalo-Lagunas I, Moran Moguel MC, Gallegos Arreola MP, Flores-Martinez SE, Rosales Quintana S, Sánchez Corona J. The detection of human papillomavirus 16, 18, 35 and 58 in cervical-uterine cancer and advanced degree of squamous intraepithelial lesions in Western Mexico: clinical-molecular correlation. *Ginecol Obstet Mex* 2001;69:137-142.

Montz FJ, Monk BJ, Fowler JM, Nguyen L. Natural history of the minimally abnormal Papanicolaou smear. *Obstet Gynecol* 1992 Sep;80(3):385-388

Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV, Walboomers JM, Herrero R, Franceschi S; International Agency for Research on Cancer. Multicentric Cervical Cancer Study Group. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002;359(9312):1085-1092.

Moreno, V., Muñoz, N., Bosch, F.X, De Sanjosé, S., González, L.C; Tafur, L., Gib, M., Izarzugaza, I., Navarro, C., Vergara, A., Viladiu, P., Ascunce, N., and Shah, K. Risk factors for progression of cervical intraepithelial neoplasm grade III to invasive cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1995;4:459-467

Morrison EA, Gammon MD, Goldberg GL, Vermund SH, Burk RD. Pregnancy and cervical infection with human papillomaviruses. *Int J Gynaecol Obstet*. 1996;54(2):125-130.

Moscicki AB, Shiboski S, Broering J. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr* 1998;132(2):277-284

Moscicki AB, Genital HPV infections in children and adolescents. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1996;23(3):675-697

Munirajan A, Kannan K, Bhuvaramurthy V, Ishida I, Fujinaga K, Tsuchida N, Shanmugam G. The status of human papillomavirus and tumor suppressor genes p53 and p16 in carcinomas of uterine cervix from India. *Gynecol Oncol* 1998;69(3):205-209

Muñoz N, Bosch X, de Sanjose S, Tafur L, Izarzugaza I, Gili M, Viladiu P, Navarro C, Martos C, Ascunce N, Shah K, The causal link between human papillomavirus and invasive cancer : a population-based case control study in Colombia and Spain. *Int. J Cancer* 1992;52:743-749

Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Vergara A, del Moral A, Munoz MT, Tafur L, Gili M, Izarzugaza I, Viladiu P, et al. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia grade III/carcinoma in situ in Spain and Colombia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1993;2(5):423-431.

Muñoz N, Castellsague X, Bosch FX, Tafur L, de Sanjose S, Aristizabal N, Ghaffari AM, Shah KV. Difficulty in elucidating the male role in cervical cancer in Colombia, a high-risk area for the disease. *J Natl Cancer Inst*. 1996;88(15):1068-1075.

Muñoz N, Kato I, Bosch FX, Eluf-Neto J, De Sanjose S, Ascunce N, Gili M, Izarzugaza I, Viladiu P, Tormo MJ, Moreo P, Gonzalez LC, Tafur L, Walboomers JM, Shah KV. Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. *Sex Transm Dis* 1996;23(6):504-510

Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, Shah KV, Meijer CJ, Bosch FX; International Agency for Research on Cancer. Multicentric Cervical Cancer Study Group. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002;359(9312):1093-1101

Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(6):518-527

Muñoz N, Bosch FX, Castellsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D, Shah KV, Meijer CJ. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer*. 2004 Aug 20;111(2):278-85.

Murthy NS, Mathew A. Risk factors for pre-cancerous lesions of the cervix. *Eur J Cancer Prev* 2000;9(1):5-14.

Myers G, Lu H, Calef C, Leitner T. Heterogeneity of papillomaviruses. *Semin Cancer Biol*. 1996;7(6):349-58.

Myers E, McCrory D, Nanda K, Bastian L, Matchar D. Mathematical Model for the Natural History of human papillomavirus infection and Cervical Carcinogenesis. *Am J Epidemiology* 2000;151(12):1158-1171

Nakagawa S, Yoshikawa H, Jimbo H, Onda T, Yasugi T, Matsumoto K, Kino N, Kawana K, Kozuka T, Nakagawa K, Aoki M, Taketani Y. Elderly Japanese women with cervical carcinoma show higher proportions of both intermediate-risk human papillomavirus types and p53 mutations. *Br J Cancer* 1999;79(7-8):1139-1144

National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda system for reporting cervical/vagina; cytologic diagnoses. *JAMA* 1989;262:231-234

Ngelangel C, Munoz N, Bosch FX, Limson GM, Festin MR, Deacon J, Jacobs MV, Santamaria M, Meijer CJ, Walboomers JM. Causes of cervical cancer in the Philippines: a case-control study. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90(1):43-49.

Nindl I, Rindfleisch K, Lotz B, Schneider A, Durst M. Uniform distribution of HPV 16 E6 and E7 variants in patients with normal histology, cervical intra-epithelial neoplasia and cervical cancer. *Int J Cancer*. 1999;82(2):203-207.

Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Bezemer PD, Voorhorst FJ, Meijer CJ. High-risk human papillomavirus clearance in pregnant women: trends for lower clearance during pregnancy with a catch-up postpartum. *Br J Cancer*. 2002;87(1):75-80.

Nobbenhuis MAE, Walboomers JMM, Helmerhorst TJM et al. Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical cancer screening: a prospective study. *Lancet* 1999;354:20-25.

Noronha V, Mello W, Villa L, Brito A, Macedo R, Bisi F, Mota R, Sassamoto K, Monteiro T, Linhares A. [Human papillomavirus associated with uterine cervix lesions]. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32(3):235-240

O'Brien K, Cokkinides V, Jemal A, Cardinez CJ, Murray T, Samuels A, Ward E, Thun MJ. Cancer statistics for Hispanics, 2003. *CA Cancer J Clin.* 2003;53(4):208-226.

Okesola AO, Fawole OI. Prevalence of human papilloma virus genital infections in sexually transmitted diseases clinic attendees in Ibadan. *West Afr J Med* 2000;19(3):195-9

Olsen AO, Dillner J, Gjoen K, Sauer T, Orstavik I, Magnus P. A population-based case-control study of human papillomavirus-type-16 seropositivity and incident high-grade dysplasia of the uterine cervix. *Int J Cancer.* 1996;68(4):415-419

Olsen AO, Gjoen K, Sauer T. Human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia grade II-III: a population based case-control study. *Int J Cancer* 1995;61(3):312-315

Ong CK, Chan SY, Campo MS, Fujinaga K, Mavromara-Nazos P, Labropoulou V, Pfister H, Tay SK, ter Meulen J, Villa LL, et al. Evolution of human papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. *J Virol* 1993;67(11):6424-6431

Paez C, Konno R, Yaegashi N, Matsunaga G, Araujo I, Corral F, Sato S, Yajima A. Prevalence of HPV DNA in cervical lesions in patients from Ecuador and Japan. *Tohoku J Exp Med* 1996;180(3):261-272

PAHO's SHA Technical Information System, 1988-1995.

Palan PR, Romney SL. Cellular binding proteins for vitamin A in the normal human uterine cervix and in dysplasias. *Cancer Res.* 1979;39(8):3114-3118

Paraskevidis E, Kalantaridou SN, Georgioul, Koliopoulos G, Pappa L, Malamou-Mitsi V, Agnantis NJ, Kitchener HC, Lolis DE. Spontaneous evolution of human papillomavirus infection in the uterine cervix. *Anticancer Res* 1999;19:3473-3478.

Parazzini F, Chatenoud L, La Vecchia C, Negri E, Franceschi S, Bolis G. Determinants of risk of invasive cervical cancer in young women. *Br J Cancer.* 1998;77(5):838-841.

Parazzini F, La Vecchia C, Negri E, Cecchetti G, Fedele L. Reproductive factors and the risk of invasive and intraepithelial cervical neoplasia. *Br J Cancer.* 1989;59(5):805-809.

Parikh S, Brennan P, Boffetta P. Meta-analysis of social inequality and the risk of cervical cancer. *Int J Cancer.* 2003;105(5):687-691.

Park TW, Richart RM, Sun XW, Wright, TC. Association between human papillomavirus type and clonal status of cervical squamous intraepithelial lesions. *J Natl cancer Inst.* 1996;88:355-358.

Parkin M, Laáara, e, Muir, C.S. Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int. J. Cancer.* 1988;41:184-197

Parkin M, Pisani P and Ferlay J. Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1990. *Int J. Cancer.* 1993;54:594-606

Parkin M, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int. J Cancer* 1999;80:827-841

Parkin, M, Stjernsward, J, Muir, C.S. Estimates of the worldwide frequency of twelve major cancers in 1980. *Bull WHO.* 1984;62(2);163-182.

Parkin, M, Whelan SL, Ferlay J. Cancer incidence in five continents. Lyon: IARC Scientific Publications, Vol. VII, No. 143, 1997

- Patnick, J. Screening that failed to work. In New developments in cervical cancer screening and prevention. Franco.E and Monsonego J (eds).Oxford. 199:200-202
- Peng TC, Searle CP 3rd, Shah KV, Repke JT, Johnson TR. Prevalence of human papillomavirus infections in term pregnancy. *Am J Perinatol.* 1990;7(2):189-192.
- Peters, R.K., Chao, A., Mack, T.M., Thomas, D., Bernstein, L. and Henderson, B.E. Increased frequency of adenocarcinomas of the uterine cervix in young women in Los Angeles County. *J. Natl. Cancer Inst.* 1986;76,423-428
- Pfister H. Human papillomaviruses and impaired immunity vs epidermodysplasia verruciformis. *Arch Dermatol* 1987;123(11):1469-1470
- Phelps WC, Yee CL, Munger K, Howley PM. The human papillomavirus type 16 E7 gene encodes transactivation and transformation functions similar to those of adenovirus E1A. *Cell* 1988;53(4):539-547
- Pfister H. Relationship of papillomaviruses to anogenital cancer. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1987;14(2): 349-61.
- Pich A, Margaria E, Ghiringhello B, Navone R. In situ hybridization for human papillomavirus as a method of predicting the evolution of cervical intraepithelial neoplasia. *Arch Gynecol Obstet* 1992;252(1):11-19
- Pirisi L, Yasumoto S, Feller M, Doniger J, DiPaolo JA. Transformation of human fibroblasts and keratinocytes with human papillomavirus type 16 DNA. *J Virol* 1987;61(4):1061-1066.
- Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999;83(1):18-29
- Platz CE, Benda JA. Female genital tract cancer. *Cancer* 1995;75(1):270-94
- Plummer M, Herrero R, Franceschi S, Meijer CJ, Snijders P, Bosch FX, de Sanjose S, Munoz N; IARC Multi-centre Cervical Cancer Study Group. Smoking and cervical cancer: pooled analysis of the IARC multi-centric case-control study. *Cancer Causes Control.* 2003;14(9):805-14
- Potischman N, Brinton LA. Nutrition and cervical neoplasia. *Cancer Causes Control.* 1996;7(1):113-126.
- Program for Appropriate Technology in Health (PATH). Preventing cervical cancer in low-resource settings. *Outlook* 2000;18(1):1-8
- Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E. Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England : evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ* 1999;318:904-908
- Ramael M, Segers K, Pannemans N. Detection of human papillomavirus in cervical scrapings by in situ hybridization and the polymerase chain reaction in relation to cytology. *Histochem J* 1995;27(1):54-59
- Ramesar JE, Dehaeck CM, Soeters R, Williamson AL. Human papillomavirus in normal cervical smears from Cape Town. *S Afr Med J.* 1996;86(11):1402-1405
- Ratray C, Strickler HD, Escoffery C. Type specific prevalence of human papillomavirus DNA among Jamaican colposcopy patients. *J Infect Dis* 1996;173(3):718-721
- Reagan J, Hamonic, M. The cellular pathology in carcinoma in situ : a cytohistopathologic correlation. *Cancer* 1956;9:385-402.

Remmink AJ, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Risse EK, Meijer CJ, Kenemans P. The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. *Int J Cancer* 1995;61(3):306-311

Richart RM, Wright TC. Controversies in the management of low-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer* 1993;71(4):1413-1421

Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia: a review. *Pathol Annu.* 1973;8:302-328.

Richart R, Meijer C, Schiffman M, Cox T, Greenberg M. HPV DNA Testing comes of age. *Contemporary OB/GYN* 1995;40(7):79-99.

Richardson H, Franco E, Pintos J, Bergeron J, Arella M, Tellier P. Determinants of low-risk and high-risk cervical human papillomavirus infections in Montreal University students. *Sex Transm Dis* 2000;27(2):79-86

Riethmuller D, Gay C, Bertrand X, Bettinger D, Schaal JP, Carbillet JP, Lassabe C, Arveux P, Seilles E, Mougin C. Genital human papillomavirus infection among women recruited for routine cervical cancer screening or for colposcopy determined by Hybrid Capture II and polymerase chain reaction. *Diagn Mol Pathol* 1999;8(3):157-164

Riethmuller D, Seilles E. Immunity of the female genital tract mucosa and mechanisms of papillomavirus evasion, *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2000;29(8):729-740

Riou G, Le MG, Le Doussal V, Barrios M, George M, Haie C. C-myc proto-oncogene expression and prognosis in early carcinoma of the uterine cervix. *Lancet* 1987;2:761-763.

Robelo-Santos SH, Zeferino L, Villa L, Sobrinho J, Amaral R, Magalhaes A. Human Papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiania, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98(2):181-84

Rolon PA, Smith JS, Munoz N, Klug SJ, Herrero R, Bosch X, Llamosas F, Meijer CJ, Walboomers JM. Human papillomavirus infection and invasive cervical cancer in Paraguay. *Int J Cancer* 2000;85(4):486-491

Romney SL, Duttagupta C, Basu J, Palan PR, Karp S, Slagle NS, Dwyer A, Wassertheil-Smoller S, Wylie-Rosett J. Plasma vitamin C and uterine cervical dysplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;151(7):976-980.

Romney SL, Ho GY, Palan PR, Basu J, Kadish AS, Klein S, Mikhail M, Hagan RJ, Chang CJ, Burk RD. Effects of Beta-carotene and Other Factors on Outcome of Cervical Displasia and Human Papillomavirus Infection. *Gynecol Oncol.* 1997;65(3):483-492.

Rousseau MC, Villa LL, Costa MC, Abrahamowicz M, Rohan TE, Franco E. Occurrence of cervical infection with multiple human papillomavirus types is associated with age and cytologic abnormalities. *Sex Transm Dis.* 2003;30(7):581-7(a).

Rousseau MC, Abrahamowicz M, Villa LL, Costa MC, Rohan TE, Franco EL. Predictors of cervical coinfection with multiple human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12(10):1029-37(b).

Rozendaal L, Walboomers JM, van der Linden JC. PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytologically normal cervical smears. *Int J Cancer* 1996;68(6):766-769

Rozendaal L, Westerga J, van der Linden JC, Walboomers JM, Voorhorst FJ, Risse EK, Boon ME, Meijer CJ. PCR based high risk HPV testing is superior to neural network based screening for predicting incident CIN III in women with normal cytology and borderline changes. *J Clin Pathol.* 2000;53(8):606-11

- Saito J, Sumiyoshi M, Nakatani H, Ikeda M, Hoshiai H, Noda K. Dysplasia and HPV infection initially detected by DNA analysis in cytomorphologically normal cervical smears. *Int J Gynaecol Obstet* 1995;51(1):43-48.
- Salmerón CJ, Franco MF, Salazar ME, Lazcano PE. Panorama Epidemiológico de la mortalidad por cáncer en el Instituto Mexicano del Seguro Social: 1991-1995. *Salud Pública de Mexico* 1997;39(4):266-273
- Samoylova EV, Shaikhaiev GO, Petrov SV, Kisseljova NP, Kisseljov FL. HPV infection in cervical-cancer cases in Russia. *Int J Cancer* 1995;61(3):337-341
- Sanjeevi CB, Hjelmstrom P, Hallmans G, Wiklund F, Lenner P, Angstrom T, Dillner J, Lernmark A. Different HLA-DR-DQ haplotypes are associated with cervical intraepithelial neoplasia among human papillomavirus type-16 seropositive and seronegative Swedish women. *Int J Cancer*. 1996;68(4):409-414.
- Santos C, Munoz N, Klug S, Almonte M, Guerrero I, Alvarez M, Velarde C, Galdos O, Castillo M, Walboomers J, Meijer C, Caceres E. HPV types and cofactors causing cervical cancer in Peru. *Br J Cancer*. 2001;85(7):966-71.
- Sasagawa T, Basha W, Yamazaki H, Inoue M. High-risk and multiple human papillomavirus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(1):45-52
- Sasagawa T, Dong Y, Saijoh K. Human papillomavirus infection and risk determinants for squamous intraepithelial lesion and cervical cancer in Japan. *Jpn J Cancer Res* 1997;88(4):376-384
- Sastre G, Loste M, Salomon A, Favre M, Mouret E, De la Rochefordiere A, Durand J, Tartour E, Charron D. Decreased frequency of HLA-DRB1\*13 Alleles in French women with HPV positive carcinoma of the cervix. *Int J Cancer* 1996;69:159-164
- Schellekens MC, Dijkman A, Aziz MF, Siregar B, Cornain S, Kolkman-Uljee S, Peters LA, Fleuren GJ. Prevalence of single and multiple HPV types in cervical carcinomas in Jakarta, Indonesia. *Gynecol Oncol*. 2004;93(1):49-53.
- Schiffman MH, Haley NJ, Felton JS, Andrews AW, Kaslow RA, Lancaster WD, Kurman RJ, Brinton LA, Lannom LB, Hoffmann D. Biochemical epidemiology of cervical neoplasia: measuring cigarette smoke constituents in the cervix. *Cancer Res*. 1987;47(14):3886-3888.
- Schiffman, M.H., Bauer H.M., Hoover, R.N., Glass, A.G., Cadell, D.M., Rush, B.B., Scott, D.R., Sherman, M.E., Kurman, R.J., Wacholder, Stanton, C.K, and Manos, M.M. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:958-964.
- Schiffman MH. Epidemiology of cervical human papillomavirus infections. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994;186:55-81
- Schiffman MH, Schatzkin A. Test reliability is critically important to molecular epidemiology: an example from studies of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Cancer Res*. 1994;54(7Suppl):1944s-1947s.
- Schiffman MH, Brinton LA. The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Cancer*. 1995;76(10 Suppl):1888-1901.
- Schiffman M, Kjaer SK. Chapter 2: Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;(31):14-9
- Schlecht N, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura R, Duarte-Franco E, Rohan T, Ferenczy A, Villa L, Franco E. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 2001;286(24):3106-3114.
- Schmauz R, Okong P, de Villiers EM, Dennin R, Brade L, Lwanga SK, Owor R. Multiple infections in cases of cervical cancer from a high-incidence area in tropical Africa. *Int J Cancer*. 1989;43(5):805-809.

Schneider A, Hotz M, Gissmann L. Increased prevalence of human papillomaviruses in the lower genital tract of pregnant women. *Int J Cancer*. 1987;40(2):198-201.

Schneider A, Zahm DM, Greinke C. Different detectability of high-risk HPV in smears from incident and prevalent high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Gynecol Oncol* 1997;65(3):339-404

Schneider V, Kay S, Lee HM. Immunosuppression as a high-risk factor in the development of condyloma acuminatum and squamous neoplasia of the cervix. *Acta Cytol*. 1983;27(3):220-224.

Schneider V. Microscopic diagnosis of HPV infection. *Clin Obstet Gynecol* 1989;32(1):148-156

Schwartz SM, Daling JR, Shera KA, Madeleine MM, McKnight B, Galloway DA, Porter PL, McDougall JK. Human papillomavirus and prognosis of invasive cervical cancer: a population-based study. *J Clin Oncol*. 2001;19(7):1906-15

Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, zur Hausen H. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 1985;314(6006):111-114

Sebbelov A, Davison M, Kruger Kjaer S, Jensen H, Gregoire L, Hawkins I, Pakinson A, Norrild B. Comparison of human papillomavirus genotypes in archival cervical cancer specimens from Alaska natives, Greenland natives and Danish Caucasians. *Microbes Infect*. 2000;2(2):121-126.

Secretaría de salud. Dirección General de Información en Salud. Estadísticas de mortalidad en México: Muertes registradas en el año 2002. *Salud Pública Mex* 2004;46:169-185

Secretaría de Salud. Dirección General de Información y Evaluación del Desempeño, México 2001 (<http://www.salud.gob.mx/>)

Sedjo RL, Fowler BM, Schneider A, Henning SM, Hatch K, Giuliano AR. Folate, vitamin B12, and homocysteine status. findings of no relation between human papillomavirus persistence and cervical dysplasia. *Nutrition*. 2003;19(6):497-502.

Serwadda D, Wawer MJ, Shah KV, Sewankambo NK, Daniel R, Li C, Lorincz A, Meehan MP, Wabwire-Mangen F, Gray RH. Use of a hybrid capture assay of self-collected vaginal swabs in rural Uganda for detection of human papillomavirus. *J Infect Dis* 1999;180(4):1316-1319

Sethi S, Muller M, Schneider A, Blettner M, Smith E, Turek L, Wahrendorf J, Gissmann L, Chang-Claude J. Serologic response to the E4, E6, and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;178(2):360-364.

Shah K, Howley P. Papillomaviruses. In: *Virology*. ed. by Fields DM, Knipe PM, Howley et. al. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. 1996:2077-2109

Sheets EE, Berman ML, Hrountas CK, DiSaia PJ. Surgically treated, early-stage neuroendocrine small-cell cervical carcinoma. *Obstet Gynecol* 1988;71(1):10-14

Shen CY, Ho MS, Chang SF, Yen MS, Ng HT, Huang ES, Wu CW. High rate of concurrent genital infections with human cytomegalovirus and human papillomaviruses in cervical cancer patients. *J Infect Dis*. 1993;168(2):449-452.

Singer A. The uterine cervix from adolescence to the menopause. *Br J Obstet Gynaecol*. 1975;82(2):81-99.

Siritantikorn S, Laiwejpithaya S, Siripanyaphinyo U, Auewarakul P, Yenchitsomanus P, Thakernpol K, Wasi C. Detection and typing of human papilloma virus DNAs in normal cervix, intraepithelial neoplasia and cervical cancer in Bangkok. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997;28(4):707-710

- Sloggett A, Joshi H. Higher mortality in deprived areas: community or personal disadvantage? *BMJ*. 1994;309(6967):1470-4.
- Smith EM, Johnson SR, Figuerres EJ. The frequency of human papillomavirus detection in postmenopausal women on hormone replacement therapy. *Gynecol Oncol* 1997;65(3):441-446
- Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Munoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, Castellsague X, Meijer CJ, Van den Brule AJ, Franceschi S, Ashley R; International Agency for Research on Cancer (IARC) Multicentric Cervical Cancer Study Group. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(21):1604-1613(a)
- Smith JS, Munoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, Bosch FX, Walboomers JM, Peeling RW. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis*. 2002 ;185(3):324-331(b)
- Smith, PG, Kinfen, LJ, White, GC, Adestein, AM, Fox, AJ. Mortality of wives of men dying with cancer of the penis, *Br. J. Cancer* 1980;41:422-428
- Smotkin D, Wettstein FO. The major human papillomavirus protein in cervical cancers is a cytoplasmic phosphoprotein. *J Virol* 1987;61(5):1686-1689
- Soe MM. Screening for cervical cancer in developing countries. *BMJ*. 1992;304(6832):983-4
- Southern S, Herrington C. Molecular events in uterine cervical cancer. *Sex Transm Infect* 1998;74(2):101-109
- Stata Corporation. *Stata reference manual*. Release 3.1, 6th ed. 1993. College Station, TX: Stata Corporation.
- Stewart AC, Eriksson AM, Manos MM, Munoz N, Bosch FX, Peto J, Wheeler CM. Intratype variation in 12 human papillomavirus types: a worldwide perspective. *J Virol* 1996;70(5):3127-3136
- Stoler MH. The virology of cervical neoplasia: an HPV-associated malignancy. *Cancer J*. 2003;9(5):360-7.
- Suárez Rincón AE, Vazquez Valls E, Ramirez Rodriguez M, Montoya Fuentes H, Covarrubias Rodriguez Mde L, Sanchez Corona J. [Squamous intra-epithelial lesions in HIV seropositive females. Their frequency and association with cervical neoplasia risk factors] *Ginecol Obstet Mex*. 2003;71:32-43.
- Sun CA, Liu JF, Wu DM, Nieh S, Yu CP, Chu TY. Viral load of high-risk human papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynaecol Obstet*. 2002;76(1):41-47.
- Svare EI, Kjaer SK, Smits HL, Poll P, Tjong-A-Hung SP, ter Schegget J Risk factors for HPV detection in archival Pap smears. A population-based study from Greenland and Denmark. *Eur J Cancer* 1998;34(8):1230-1234
- Syrjanen K, Kataja V, Yliskoski M, Chang F, Syrjanen S, Saarikoski S. Natural history of cervical human papillomavirus lesions does not substantiate the biologic relevance of the Bethesda System. *Obstet Gynecol* 1992;79(5):675-682
- Syrjanen K. Natural History of Low Grade SIL Lesions. In *Screening of Cervical Cancer for Whom, Why and How*, 2<sup>nd</sup> International Congress of Papillomavirus in Human Pathology, Paris 1994. Monsonego Ed.
- Tabrizi SN, Fairley CK, Bowden FJ. editors. Evaluation of self-administered tampon specimens by hybrid capture. In: 17<sup>th</sup> International Papillomavirus Conference, Charleston, South Carolina. 1999
- Tachezy R, Hamsikova E, Hajek T, Mikyskova I, Smahel M, Van Ranst M, Kanka J, Havrankova A, Rob L, Guttner V, Slavik V, Anton M, Kratochvil B, Kotrsova L, Vonka V Human papillomavirus genotype spectrum in Czech

- women: correlation of HPV DNA presence with antibodies against HPV-16, 18, and 33 virus-like particles. *J Med Virol* 1999;58(4):378-386
- Taddeo F, DiCello A, Li W, Skulsky D, Nelson N, King D, Garcia F, Ault K Jansen KU. Sensitive and specific multiplex PCR assays to detect and quantify human papillomavirus in clinical specimens. 19<sup>th</sup> International Papillomavirus Conference; 2001 September 1-7 Florianópolis, Brazil.
- Takac I, Marin J, Gorisek B. Human papillomavirus 16 and 18 infection of the uterine cervix in women with different grades of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). *Int J Gynaecol Obstet* 1998;61(3):269-273.
- Tamim H, Finan RR, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and Chlamydia trachomatis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2002;43(4):277-281.
- Tanaka Y, Shirakawa F, Ota T, Suzuki H, Eto S, Yamashita U. Inhibitory effect of anti-class II antibodies on human B-cell activation. *Cell Immunol*. 1988;112(2):251-261.
- Tapia R, Kuri P, Macias C, De la Garza J, Mohar A, Meneses A, Chavez L, Fernández R. Registro Histopatológico de neoplasias malignas en México. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. México. 1996:37-42.
- Terry G, Ho L, Cuzick J. Analysis of E2 amino acid variants of human papillomavirus types 16 and 18 and their associations with lesion grade and HLA DR/DQ type. Terry G, Ho L, Cuzick J. *Int J Cancer*. 1997;73(5):651-655.
- Thomas DB, Ray RM, Kuypers J, Kiviat N, Koetsawang A, Ashley RL, Qin Q, Koetsawang S. Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. III. The role of husbands and commercial sex workers. *Am J Epidemiol* 2001;153(8):740-748.
- Thomas DB, Ray RM, Qin Q; WHO Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. Risk factors for progression of squamous cell cervical carcinoma in-situ to invasive cervical cancer: results of a multinational study. *Cancer Causes Control*. 2002;13(7):683-90
- Tonon SA, Picconi MA, Zinovich JB, Liotta DJ, Bos PD, Galuppo JA, Alonio LV, Ferreras JA, Teyssie AR. Human papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with a high incidence of cervical carcinoma. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999;7(5):237-243
- Torres C, Tapia Y, Dorantes J. Mortalidad por cáncer cervicouterino en México: 1979-1999. *Perinatol Reprod Hum* 2002;16:35-34.
- Torroella-Kouri M, Morsberger S, Carrillo A, Mohar A, Meneses A, Ibarra M, Daniel RW, Ghaffari AM, Solorza G, Shah KV. HPV prevalence among Mexican women with neoplastic and normal cervixes. *Gynecol Oncol* 1998;70(1):115-120
- Twiggs LB, Potish RA, Leung BS, Carson LF, Adcock LL, Savage JE, Prem KA. Cytosolic estrogen and progesterone receptors as prognostic parameters in stage IB cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1987;28(2):156-160
- Ursin, G., Pike, M.C., Preston-Martin, S., D'Abailing 111, G. and Peters, R.K. Sexual, reproductive, and other risk factors for adenocarcinomas of the cervix: results from a population-based case-control study. *Cancer Causes and Control*, 1996;7,391-401
- Van den Brule AJ, Pol R, Fransen-Daalmeijer N, Schouls LM, Meijer CJ, Snijders PJ. GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes. *J Clin Microbiol* 2002;40(3):779-787
- Van der Graaf Y, Molijn A, Doornwaard H, Quint W, Van Doorn LJ, Van den Tweel J. Human papillomavirus and the long-term risk of cervical neoplasia. *Am J Epidemiol*. 2002;156(2):158-64.

- Van Duin M, Snijders P, Klaasen E. editors . HPV 16 variant analysis in prospective follow-up study of women with abnormal cervical cytology. In: 17th International Papillomavirus Conference, Charleston, South Carolina 1999
- Van Muyden RC, ter Harmsel BW, Smedts FM, Hermans J, Kuijpers JC, Raikhlin NT, Petrov S, Lebedev A, Ramaekers FC, Trimbos JB, Kleter B, Quint WG. Detection and typing of human papillomavirus in cervical carcinomas in Russian women: a prognostic study. *Cancer* 1999;85(9):2011-2016.
- van Nagell JR Jr, Powell DE, Gallion HH, Elliott DG, Donaldson ES, Carpenter AE, Higgins RV, Kryscio R, Pavlik EJ. Small cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1988;62(8):1586-1593
- Van Ranst M, Kaplan JB, Burk RD. Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *J Gen Virol* 1992;73(10):2653-2660.
- Vermund SH, Galbraith MA, Ebner SC, Sheon AR, Kaslow RA. Human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome in pregnant women. *Ann Epidemiol.* 1992;(6):773-803.
- Vessey MP, Lawless M, McPherson K, Yeates D. Neoplasia of the cervix uteri and contraception: a possible adverse effect of the pill. *Lancet* 1983;2(8356):930-934
- Villa LL, Sichero L, Rahal P, Caballero O, Ferenczy A, Rohan T, Franco EL. Molecular variants of human papillomavirus types 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. *J Gen Virol.* 2000;81(12):2959-2968
- Virtej P, Matei M, Badea M, Badea I, Popa O. Cervical intraepithelial neoplasia and HPV infection. *Eur J Gynaecol Oncol* 1998;19(2):179-181.
- Vizcaino AP, Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Barros-Dios XM, Parkin International trends in the incidence of cervical cancer: I. Adenocarcinoma and adenosquamous cell carcinomas. *Int J Cancer.* 1998;75(4):536-45.
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J. Pathol.* 1999;189(1):12-19.
- Wallin KL, Wiklund F, Luostarinen T, Angstrom T, Anttila T, Bergman F, Hallmans G, Ikaheimo I, Koskela P, Lehtinen M, Stendahl U, Paavonen J, Dillner J. A population-based prospective study of Chlamydia trachomatis infection and cervical carcinoma. *Int J Cancer.* 2002;101(4):371-374.
- Wang SS, Hildesheim A. Chapter 5: Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;(31):35-40.
- Wang SS, Wheeler CM, Hildesheim A, Schiffman M, Herrero R, Bratti MC, Sherman ME, Alfaro M, Hutchinson ML, Morales J, Lorincz A, Burk RD, Carrington M, Erlich HA, Apple RJ. Human leukocyte antigen class I and II alleles and risk of cervical neoplasia: results from a population-based study in Costa Rica. *J Infect Dis.* 2001;184(10):1310-1314.
- Wassertheil-Smoller S, Romney SL, Wylie-Rosett J, Slagle S, Miller G, Lucido D, Duttagupta C, Palan PR. Dietary vitamin C and uterine cervical dysplasia. *Am J Epidemiol.* 1981;114(5):714-724.
- Weissenborn SJ, Funke AM, Hellmich M, Mallmann P, Fuchs PG, Pfister HJ, Wieland U. Oncogenic human papillomavirus DNA loads in human immunodeficiency virus-positive women with high-grade cervical lesions are strongly elevated. *J Clin Microbiol.* 2003;41(6):2763-2767.
- Wheeler CM, Greer CE, Becker TM, Hunt WC, Anderson SM, Manos MM. Short-term fluctuations in the detection of cervical human papillomavirus DNA. *Obstet Gynecol* 1996;88(2):261-268

- Wideroff L, Potischman N, Glass AG. A nested case-control study of dietary factors and the risk of incident cytological abnormalities of the cervix. *Nutr Cancer* 1998;30(2):130-136
- Winkelstein W Jr. Smoking and cervical cancer--current status: a review. *Am J Epidemiol.* 1990;131(6):945-957
- Woodman C, Collins S, Rollason T, Winter H, Bailey A, Yates M, Young L. Human papillomavirus type 18 and rapidly progressing cervical intraepithelial neoplasia. *Lancet* 2003;361:40-43.
- Woodman CB, Prior P, Bailey A. editors. HPV and the natural history of early cervical neoplasm. In: 16<sup>th</sup> International papillomavirus Conference, 1998.
- Woodman CB, Rollason T, Ellis J, Tierney R, Wilson S, Young L. Human papillomavirus infection and risk of progression of epithelial abnormalities of the cervix. *Br J Cancer* 1996;73(4):553-556.
- World Health Organization. Invasive Cervical Cancer and combined oral contraceptives. *B Med J.* 1985;290:961-965
- Wright TC and Kurman, RJ. A critical Review of the morphologic classification systems of preinvasive lesions of the cervix: the scientific basis for changing the paradigm. *Papillomavirus Report* 1994;5:175-182.
- Xi LF, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, Hughes JP, Wheeler CM, Holmes KK, Kiviat NB. Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89(11):796-802.
- Yamada T, Wheeler CM, Halpern AL, Stewart AC, Hildesheim A, Jenison SA. Human papillomavirus type 16 variant lineages in United States populations characterized by nucleotide sequence analysis of the E6, L2, and L1 coding segments. *J Virol* 1995;69(12):7743-7753
- Yee C, Krishnan-Hewlett I, Baker CC, Schlegel R, Howley PM. Presence and expression of human papillomavirus sequences in human cervical carcinoma cell lines. *Am J Pathol* 1985;119(3):361-366. 1985
- Ylitalo N, Sorensen P, Josefsson A, Frisch M, Sparen P, Ponten J, Gyllensten U, Melbye M, Adami HO. Smoking and oral contraceptives as risk factors for cervical carcinoma in situ. *Int J Cancer.* 1999 5;81(3):357-365.
- Ylitalo N, Sorensen P, Josefsson AM, Magnusson PK, Andersen PK, Ponten J, Adami HO, Gyllensten UB, Melbye M. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet.* 2000;355(9222):2194-2198.
- Yost NP, Santoso JT, McIntire DD, Iliya FA. Postpartum regression rates of antepartum cervical intraepithelial neoplasia II and III lesions. *Obstet Gynecol.* 1999;93(3):359-362.
- Young TK, McNicol P, Beauvais J. Factors associated with human papillomavirus infection detected by polymerase chain reaction among urban Canadian aboriginal and non-aboriginal women. *Sex Transm Dis* 1997;24(5):293-298
- Yuspa SH, Poirier MC. Chemical carcinogenesis: from animal models to molecular models in one decade. *Adv Cancer Res.* 1988;50:25-70
- Zehbe I, Strand A, Chua KL. Cytological evaluation and molecular human papillomavirus test of cervical scrapings from women treated for condyloma. *Gynecol Obstet Invest* 1996;42(2):128-132
- Zehbe I, Wilander E. Human papillomavirus infection and invasive cervical neoplasia: a study of prevalence and morphology. *J Pathol* 1997;181(3):270-275.
- Zehbe I, Wilander E, Delius H, Tommasino M. Human papillomavirus 16 E6 variants are more prevalent in invasive cervical carcinoma than the prototype. *Cancer Res.* 1998;58(4):829-833.

Zehbe I, Tachezy R, Mytilineos J, Voglino G, Mikyskova I, Delius H, Marongiu A, Gissmann L, Wilander E, Tommasino M. Human papillomavirus 16 E6 polymorphisms in cervical lesions from different European populations and their correlation with human leukocyte antigen class II haplotypes. *Int J Cancer*. 2001;94(5):711-6.

Zielinski GD, Snijders PJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, van der Linden HC, Runsink AP, de Schipper FA, Meijer CJ. HPV presence precedes abnormal cytology in women developing cervical cancer and signals false negative smears. *Br J Cancer*. 2001;85(3):398-404.

Zumbach K, Kissel'jov F, Sacharova O, Shaichaev G, Semjonova L, Pavlova L, Pawlita M. Antibodies against oncoproteins E6 and E7 of human papillomavirus types 16 and 18 in cervical-carcinoma patients from Russia. *Int J Cancer* 2000;85(3):313-318.

Zur Hausen H. Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Res*, 1976;36:794.

Zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol* 1977;78:1-30

Zur Hausen H. Human genital cancer: synergism between two virus infections or synergism between a virus infection and initiating events. *Lancet*. 1982;2(8312):1370-1372.

ZurHausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(9):690-8.