



Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia

ISSN: 2304-5124

[s pog@terra.com.pe](mailto:s pog@terra.com.pe)

Sociedad Peruana de Obstetricia y  
Ginecología  
Perú

Lancaster, Wayne D.

Historia natural de la infección del cérvix uterino por el virus papiloma humano  
Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia, vol. 53, núm. 2, abril-junio, 2007, pp. 84-92

Sociedad Peruana de Obstetricia y Ginecología  
San Isidro, Perú

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=323428184004>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en [redalyc.org](http://redalyc.org)

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

# HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN DEL CÉRVIX UTERINO POR EL VIRUS PAPILOMA HUMANO

## RESUMEN

*La asociación epidemiológica entre infección por virus papiloma humano (VPH) y carcinoma cervical cumple con los criterios epidemiológicos establecidos para causalidad. La prevalencia de infección por VPH en mujeres jóvenes ha sido estimada entre 20 y 46% en diversos países, pero resultados recientes de estudios en los EEUU sugieren que 60% de las jóvenes en secundaria está infectada con VPH en algún momento, sin conocerse el impacto a largo tiempo, en carcinogénesis. El cáncer cervical es considerado como una consecuencia tardía de la infección persistente del epitelio cervical por ciertos tipos de VPH, por fallas en la respuesta inmune o la habilidad del virus de evadirla. Por otro lado, las lesiones cervicales en la mayoría de mujeres infectadas con VPH regresan, sugiriendo una respuesta inmune mediada por células activa. Estas mujeres también son inmunes a reinfección con el mismo tipo de VPH. En conjunto, más de 95% de los cánceres cervicales contienen secuencias VPH. La mayoría ocurre en la zona de transformación cervical, que consiste de epitelio metaplásico escamoso. Los VPH-16 y VPH-18 son los encontrados con más frecuencia y están en 50 a 70% de los cánceres cervicales invasores y sus lesiones precursoras.*

*Palabras clave:* Infección virus papiloma humano, cáncer cervical, prevalencia

Wayne D. Lancaster

Rev Per Ginecol Obstet. 2007;53(2):84-92

Ph.D. Professor, Center for Molecular Medicine and Genetics, Department of Obstetrics and Gynecology Wayne State University School of Medicine, Detroit, Michigan 48201  
lancaster@wayne.edu

Traducción: José Pacheco, Carlos Santos

## ABSTRACT

*The epidemiological association between HPV infection and cervical carcinoma fulfills all of the established epidemiological criteria for causality. The prevalence of HPV infection in young women has been estimated to range from 20-46% in various countries, but recent results from studies in the U.S. suggest that 60% of college-aged women are infected with HPV at some time; the long-term effects of the current high HPV exposure rates and carcinogenesis are unknown. Cervical cancer is regarded as a late consequence of persistent infection of the cervical epithelium by certain HPV types, due to either subtle defects in the host immune response or the ability of the virus to evade the immune system. On the other hand, cervical lesions in the vast majority of women infected with HPV regress suggesting an active cell mediated immune response. These women are also immune to reinfection with the same HPV type. Altogether more than 95% of cervical*

*cancers have been shown to contain HPV sequences. The vast majority of these occur in the cervical transformation zone consisting of squamous metaplastic epithelium. HPV-16 and HPV-18 are the most frequently encountered and occur in about 50-70% of invasive cervical cancer and their precursor lesions.*

*Key words:* Human papilloma virus infection, cervical cancer, prevalence.

## ABSTRACT

La asociación epidemiológica entre infección por virus papiloma humano (VPH) y carcinoma cervical cumple con los criterios epidemiológicos establecidos para causalidad<sup>(1,2)</sup>. La prevalencia de infección por VPH en mujeres jóvenes ha sido estimada entre 20 y

46% en diversos países, pero resultados recientes de estudios en EEUU sugieren que 60% de las jóvenes de secundaria están infectadas con VPH en algún momento<sup>(3)</sup>. Se desconoce los efectos a largo plazo de las altas tasas de exposición a VPH, pero dada la relación entre VPH y carcinogénesis cervical, se espera un incremento en la incidencia y prevalencia de lesiones premalignas y posiblemente invasivas<sup>(4)</sup>.

El cáncer cervical es considerado como una consecuencia tardía de la infección persistente del epitelio cervical por ciertos tipos de VPH<sup>(5)</sup>. Esta persistencia es proba-

blemente debida a defectos tenues en la respuesta inmune o a la habilidad del virus de evadir el sistema inmune. Por otro lado, las lesiones cervicales en la mayoría de mujeres infectadas con VPH regresionan, sugiriendo una respuesta inmune activa mediada por células. Estas mujeres también son inmunes a reinfección con el mismo tipo de VPH. De los más de 80 tipos de virus conocidos, cerca de 30 se asocian con infecciones del tracto anogenital<sup>(6)</sup>. En este grupo se encuentran virus considerados de riesgo alto, por su fuerte asociación con malignidad del tracto anogenital<sup>(5)</sup>. En conjunto, más de 95% de los cánceres cervicales contiene secuencias VPH. La mayoría ocurre en la zona de transformación cervical, que consiste de epitelio metaplásico escamoso. Los VPH-16 y VPH-18 son los encontrados con más frecuencia y están en 50 a 70% de los cánceres cervicales invasores y sus lesiones precursoras<sup>(5-7)</sup>. Una consecuencia de la infección del epitelio cervical por el VPH es la latencia. Aproximadamente, 10% de mujeres activas sexualmente con Papanicolaou normal está infectada con VPH<sup>(8,9)</sup>. De estas, cerca de 15% está infectada con VPH-16 o VPH-18. La discrepancia entre este gran reservorio de mujeres infectadas y la relativamente baja incidencia de cáncer cervical sugiere que se requiere eventos secundarios para la conversión maligna total de las células infectadas por estos virus de alto riesgo.

La infección por el VPH del tejido blanco, el epitelio metaplásico escamoso, puede ser prevenida por anticuerpos neutralizantes contra

la proteína de la cápside viral. Estos anticuerpos se desarrollan como resultado de infección previa o por vacuna con partículas parecidas al virus (VLP o PPV). Si los anticuerpos no están presentes, el epitelio infectado se convertirá en levemente displásico o el virus permanece en estado latente, que más adelante puede activarse. Si el sistema inmune falla en reconocer antígenos virales, las lesiones persisten y progresan a series bien definidas de lesiones intraepiteliales escamosas diferenciadas menores (SIL) (LEI de bajo grado [LSIL] a LEI de alto grado [HSIL]), que pueden devendir en cáncer. Por razones que no son bien entendidas, la vasta mayoría de mujeres puede iniciar una respuesta mediada por células que elimina la lesión.

### RESPUESTA MEDIADA POR CÉLULAS A CÉLULAS INFECTADAS POR VPH

En la mayoría de mujeres infectadas con VPH, las lesiones cervicales se resuelven, presumiblemente dejando a la mujer inmune a la reinfección por el mismo tipo de VPH. Sin embargo, las lesiones cervicales inducidas por el VPH pueden persistir por meses a años antes de regresionar. Esto es sorprendente, pues las proteínas tempranas del virus están presentes en las membranas celulares y deberían provocar una respuesta inmune robusta. La evidencia indirecta de que la regresión de lesiones inducidas por VPH es un evento mediado por células se refleja por el hecho de que las recipientes de aloinjerto renal tienen aumento en 10 veces el riesgo relativo de desarrollar neoplasia cervical<sup>(10,11)</sup>. El

rechazo espontáneo de verrugas planas de la piel se caracteriza por un infiltrado celular compuesto principalmente de linfocitos T y macrófagos, a semejanza de una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada (HTR)<sup>(12,13)</sup>. Estudios *in vitro* han mostrado que los queratinocitos de explantes de verrugas son destruidos por migración de células T de los explantes<sup>(14)</sup>. Los estudios inmunohistológicos muestran que la regresión de estas verrugas se acompaña por un infiltrado dérmico intenso de linfocitos CD4+ y células dendríticas HLA-DR<sup>(15,16)</sup>.

Las lesiones cervicales seguramente persisten por una respuesta inmune pobre a los antígenos virales. Para probar esta hipótesis, Wank y Thomssen<sup>(17)</sup> mostraron que los alelos de HLA clase II (DQ3) y no los de clase I se relacionan a un mayor riesgo de cáncer cervical en mujeres alemanas. Estudios de tipificación de ADN de alta resolución han mostrado que el riesgo de cáncer cervical y LEI se asocia con alelos específicos DQb1\*03 en europeas del norte<sup>(18,19)</sup>. De manera similar, los alelos DQb1\*0303 y \*0604 han mostrado que confieren mayor riesgo de cáncer cervical en mujeres afro-americanas<sup>(20)</sup>. El DQb1\*03 también se ha encontrado asociado significativamente al LEI con DQb1\*0301, mostrando la mayor asociación<sup>(21)</sup>. En mujeres hispánicas, el halotipo DRb1\*1501/DQb1\*0602 ha sido asociado significativamente con el cáncer de cérvix<sup>(22)</sup>. Se ha visto similares asociaciones en esta población para carcinoma *in situ* (CIS), pero no para LEI de bajo grado (LEIBG)<sup>(23)</sup>, sugiriendo que las lesiones de alto gra-

do persistentes son precursoras de cáncer cervical. En dos estudios<sup>(20,22)</sup>, DQb1\*0201 se asoció significativamente con un menor riesgo de desarrollar cáncer cervical.

Como se mencionó más temprano, los recipientes de aloinjerto renal tienen mayor riesgo de displasia cervical. Además, estas pacientes tienen también mayor riesgo de desarrollar cáncer de piel e infección con VPH asociados con epidermoadiplasia verruciforme (EV). Estos virus parecen tener un rol en la patogénesis de algunos cánceres de piel. Hay un gran aumento en el riesgo relativo de desarrollar cánceres de la piel en recipientes de aloinjertos renales con clase II HLA DR7<sup>(24)</sup>. Se ve esta asociación en pacientes que no tienen una aparente variación de clase de IgM a IgG, en respuesta a antígenos de VPH. La progresión a la malignidad y la persistencia, así como la regresión, de verrugas inducidas por virus papiloma en conejos cola de algodón, en Nueva Zelanda, se relaciona a restricción del polimorfismo de longitud de fragmento de los genes HLA clase II DRy y DQa<sup>(25)</sup>. El análisis molecular ha mostrado que los alelos DQa más divergentes se asocian con progresión a cáncer. Además, el alineamiento de los alelos DQa exon 2 de humanos y conejo mostró variaciones en la carga de aminoácidos, que ocurrían en posiciones al parecer importantes para la unión péptida en humanos<sup>(26)</sup>. Puesto todo junto, esta información indica que la infección persistente por virus papiloma está muy relacionada con moléculas HLA clase II, que presumiblemente afecta la vigilancia inmune. Estas lesiones persistentes tienen mayor riesgo de progresar a cáncer.

La demora en la regresión de las lesiones sugiere que el VPH ha desarrollado mecanismos de evasión inmune. El mecanismo por el que las células infectadas por VPH escapan el ataque inmune eficiente no es bien entendido. Sin embargo, las células Langerhans, que son las células presentadoras de antígeno en el sitio de la infección, parecen estar inactivadas para la presentación de antígeno por partículas parecidas a VPH<sup>(27)</sup>. Esto sugiere que, al tiempo del contacto inicial con VPH, el brazo mediado por células del sistema inmune se vuelve temporalmente inactivo a antígenos virales. Esto permitiría al virus completar su ciclo de vida. Además, las pacientes con cáncer cervical tienen alteración de la inmunidad celular T CD4+ contra antígenos VPH-16<sup>(28)</sup>; mientras tanto, las mujeres con lesiones genitales en regresión muestran una respuesta de célula T a antígeno viral no estructural<sup>(29)</sup>. Estas observaciones refuerzan el concepto de que el VPH puede evadir el sistema inmune.

### MECANISMO DE LA CARCINOGENÉSIS CERVICAL POR EL VPH

Una modificación en el estado del ADN viral es el factor principal en la progresión maligna de las lesiones LEI. En el LEIBG, el análisis con *Southern blot* ha mostrado ADN viral presente como un episoma; pero en algunas lesiones de alto grado y cáncer cervical, el genoma viral estaba integrado y se postuló que la integración puede llevar al fenotipo maligno<sup>(30)</sup>. La integración viral en el genoma del huésped preserva, al mínimo, la región de control larga, que contiene numerosos lugares de unión

del factor de transcripción, elementos estimulantes, el promotor de la región temprana y los marcos de lectura abierta E6 y E7 (ORFs)<sup>(31-36)</sup>. Esto resulta en pérdida de la regulación transcripcional ajustada de E6 y E7 de productos ORF corriente abajo. El cáncer cervical contiene una forma integrada o episomal o una mezcla de ambas formas de ADN viral, mientras que las líneas celulares derivadas de cánceres cervicales tienen exclusivamente formas integradas de ADN viral<sup>(37-39)</sup>. El genoma viral integrado está usualmente interrumpido dentro de las 3' de las regiones tempranas de ORFs, especialmente E1 o E2. Las secuencias distales al punto de interrupción o son eliminadas o yuxtapuestas corriente arriba a la región regulatoria de transcripción del virus. La región temprana 5' de ORF (E6 y E7) está bajo el control del promotor viral y señales procesadoras 3' se derivan de las secuencias del huésped<sup>(39)</sup>. En todas las líneas celulares de cáncer cervical examinadas hasta ahora y en la mayoría de cánceres cervicales, los transcriptos virales contienen E6 y E7, mientras se pierden las secuencias E5 ORF y la señal de poliadenilación viral. Estos resultados indican que la expresión de los ORF E6 y E7 puede ser crítica para el mantenimiento del fenotipo maligno de las células de cáncer cervical.

La integración del genoma viral que resulta en disruptión de los 3' ORF de los genes tempranos puede ocasionar la liberación del control de expresión de E6 y E7 de factores regulatorios virales<sup>(40)</sup>. Desde que los productos de E2 modu-

ian la transcripción, la disruptión de este ORF puede resultar en la pérdida de regulación viral de estos genes. Las proteínas E2 del virus papiloma pueden reprimir la transcripción de los promotores tempranos de VPH-16 y VPH-18, que direccionan la expresión de E6 y E7<sup>(41,42)</sup>. Esta represión ocurre por medio de lugares de unión E2 localizados en las regiones promotoras de los genomas virales<sup>(43)</sup>. La expresión de E2 del virus papiloma en células SiHa resulta en muerte de la célula<sup>(44)</sup>. Desde que SiHa porta secuencias de VPH-16 y expresa E6 y E7, se ha concluido que esta observación fue una consecuencia de la inhibición de la expresión del gen VPH-16 por la actividad represiva de E2. Además, el alto nivel de expresión de E2 en células HeLa resulta en inhibición de la expresión de los genes residentes E6 y E7 de VPH-18, con inhibición concomitante del crecimiento celular<sup>(45,46)</sup>. De estos estudios, se ha propuesto que a raíz de la pérdida de E2 por integración resulta en liberación del control de transcripción de E6 y E7, lo cual puede ser paso importante en el proceso carcinogénico y el mantenimiento del fenotipo maligno.

La pérdida de regulación de la expresión de E6/E7 puede deberse a otros factores, otro que la transrepresión E2 del promotor temprano del virus. Esto está respaldado por la observación de que la integración de secuencias de VPH-16 en queratinocitos humanos estabiliza el ARNm viral con mayores niveles concomitantes de proteína E6 y E7<sup>(47)</sup>. Además, clones de células epiteliales cervicales humanas establecidas de lesiones

LEIBG que mantienen secuencias episómicas VPH-16 son desplazadas por clones con ADN viral integrado<sup>(48)</sup>. Entonces, las células con secuencias VPH-16 integradas que sobreexpresan E6/E7 tienen una ventaja de crecimiento sobre aquellas con secuencias VPH episómicas.

La integración de ADN de VPH en el genoma humano ha sido generalmente aceptada como una característica de enfermedad maligna<sup>(30)</sup>. Esto no es necesariamente cierto<sup>(49)</sup>, desde que 12,5% de los cánceres cervicales parecen tener solo transcriptos derivados de ADN de virus episómico. Sin embargo, podría haber mutaciones en elementos regulatorios que anulan la necesidad de eliminar las secuencias 3' de la región temprana. Por ejemplo, el clon prototípico de VPH-16 se derivó de un cáncer cervical y contenía un codón de detención prematura que terminaría la síntesis de la proteína dentro del dominio de transactivación de la proteína E2<sup>(50)</sup>. Aunque las lesiones latentes y LIEBG contienen transcriptos derivados exclusivamente de ADN de virus episómico, 15,6% de las lesiones LEIAG contienen ADN viral integrado transcripcionalmente activo<sup>(49)</sup>. Tomada en conjunto esta información, indica que las células cervicales infectadas que expresan transcriptos onco-génicos del virus de ADN viral integrado tienen una fuerte ventaja de crecimiento selectivo y pueden ser más proclives a sobrecrecimiento clonal de células malignas. Entonces, uno podría predecir que una proporción de LEIAG con ADN viral integrado progresaría al cáncer cervical.

## DETECCIÓN DE SECUENCIAS DE VPH INTEGRADAS

Los estudios iniciales sobre la integración de ADN de VPH en las lesiones cervicales utilizaron *Southern blot* para detectar las secuencias que las desviaban de la restricción del tamaño de los fragmentos enzimáticos del prototipo viral<sup>(31)</sup>. Este estudio mostró que cerca de 7% de LEIAG contenía ADN viral integrado. Otra estrategia ha usado PCR para amplificar varias porciones de la región temprana del ADN viral<sup>(51)</sup>. Esta tecnología rápidamente demostró la integración basada en una propensión de amplificación de ORF E6/E7 comparado a ORF E1/E2. Un problema mayor con el estudio basado en el ADN es la falta de habilidad de determinar si el ADN es transcripcionalmente activo y como tal funcionalmente relevante.

Los análisis de transcriptos de líneas celulares de cáncer cervical han mostrado que los mejores transcriptos consisten en la fusión entre virus y secuencias del huésped. Invariablemente, E6 y E7 son retenidas, pero la fusión ocurre como en E1 o E2, seguido de secuencias de huésped y una cola poliA. Klaes y col.<sup>(49)</sup> diseñaron un ensayo basado en RT-PCR, de manera de distinguir transcriptos derivados de ADN de virus episómico versus integrado o de una combinación de ambos. Este ensayo utiliza transcripción reversa de un oligo(dT) anclado seguido de PCR en nido del ADNc. Ellos solo encontraron transcriptos de ADN viral episómico en láminas normales positivas a VPH-16 y LEIBG. Sin embargo, 20,6% LEIAG y 87,4% de cánceres invasivos contenían transcriptos de ADN viral integrado. Aunque algunas de estas lesiones también contenían transcriptos de ADN

viral episómico, su porcentaje disminuyó de 78% en LEIAG a 26% en cánceres invasivos, sugiriendo selección de clones de células que preferencialmente expresan transcritos solo de ADN viral integrado.

## COFACTORES EN EL CÁNCER CERVICAL

Como se mencionó previamente, la infección a VPH y el cáncer cervical resultante cumplen todos los criterios establecidos de causalidad. Aunque el virus es necesario para los cánceres de cérvix asociados a VPH, ello no es suficiente. Numerosos estudios han mostrado que un número de cofactores está asociado con un mayor riesgo de cáncer cervical. Estos son: a) fumar; b) polimorfismo MTHFR; c) variantes de VPH-16; d) FHIT LOH; y, e) infección por *Chlamydia*.

### Fumar

Un número de estudios ha encontrado asociación significativa entre el uso de tabaco y cáncer cervical<sup>(52)</sup>. Cuando se ajusta los estudios por conducta sexual y estado socioeconómico, se ha identificado el fumar cigarrillo como un factor de riesgo independiente para cáncer cervical<sup>(53-55)</sup>. Peters y col.<sup>(53)</sup>, después de ajustar por conducta sexual y otros confusores, observaron efectos independientes por años de fumar y el número de cigarrillos por día. No se conoce el mecanismo por el que el fumar podría inducir cáncer cervical. Sin embargo, se ha identificado más de 4 000 compuestos químicos en el cigarrillo y siete son clasificados como carcinógenos humanos<sup>(56)</sup>.

Comparadas a mujeres que no fuman, el moco cervical de las mujeres que fumaban dieron positivo en

un nivel significativamente mayor en la prueba microsomal de Ames-Salmonella<sup>(57)</sup>. La nitrosamina 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butona (NNK) específica del tabaco está presente significativamente en mayores concentraciones en el moco cervical de mujeres que fuman comparadas con las no fumadoras<sup>(58)</sup>. Además, el número de aductores de ADN es significativamente mayor en los tejidos cervicales de mujeres que fuman comparado con las no fumadoras o ex-fumadoras<sup>(59,60)</sup>, sugiriendo que los carcinógenos relacionados a fumar pueden ser activados a productos de unión de ADN en el tejido cervical. La infección del epitelio cervical por infección a virus papiloma podría inhibir la habilidad de la célula de reparar aductos. Las células epiteliales mamarias que expresan VPH-16 E6 son significativamente menos eficientes para reparar aductos de ADN que las células que expresan E7 o las células normales<sup>(61)</sup>. El fumar influye sobre la posibilidad de limpiar las infecciones por VPH, pues las mujeres que fuman tienen menos probabilidad de limpiar una infección oncogénica por VPH que las no fumadoras<sup>(62)</sup>. Estos estudios indican que el fumar produce condiciones celulares que la conducirían a que se integren secuencias de VPH-16 en el genoma del huésped.

### Polimorfismo de la MTHFR (etilenetetrahidrofolato reductasa)

El estado nutricional puede tener un rol en el desarrollo de LEI o su progresión a cáncer cervical<sup>(63)</sup>. Se ha estudiado extensivamente el folato dietético por el efecto de metilación que el ADN tiene sobre la expresión del gen del virus papiloma. Se requiere ácido fólico

para la síntesis de S-adenosilmetionina (SAM), un donante de metilo importante para la metilación del ADN, así como para la síntesis normal y reparación del ADN normal. Las secuencias regulatorias del virus papiloma están localizadas en islas no metiladas CpG en la región regulatoria corriente arriba (URR)<sup>(64,65)</sup>. La metilación de citoquinas en el URR del VPH-16<sup>(66)</sup> o islas CpG VPH-18<sup>(67)</sup> resultan en represión de la actividad promotora. Además, la metilación de CpG en el transactivador E2 de unión palindrómica inhibe la unión de E2<sup>(68)</sup>. *In vivo*, el análisis de especímenes de biopsia LEI mostró una disminución en metilación del ADN global, que se correlacionaba con la mayor severidad de la enfermedad<sup>(69,70)</sup>. Las concentraciones de folato en sangre no se correlacionaron significativamente con la severidad de la enfermedad, pero sí se correlacionó débilmente con el grado de hipometilación<sup>(70)</sup>. Esta información sugeriría que la metilación tiene un rol en regular la expresión génica del virus papiloma y el LEI. Sin embargo, la mayoría de estudios epidemiológicos, intervencionistas y caso-control han fallado en mostrar un efecto protector de altos niveles de folato en sangre contra el LEI o cáncer cervical, como ha sido discutido por Sedjo y col.<sup>(71)</sup>.

Las modificaciones globales en metilación en las células no necesariamente pueden ser el resultado de deficiencia dietética de folatos, sino genética. Frosst y col.<sup>(72)</sup> identificaron una mutación en el gen MTHFR que reduce la actividad de la enzima. La mutación es una sustitución de C a T

en la posición 667, que resulta en una sustitución de alanina a valina en la enzima. Las personas homocigotas para el genotipo de actividad MTHFR reducida mostraron niveles significativamente reducidos de metilación genómica en su7CT o 667TT son más susceptibles a la integración de ADN DE VPH-16, debido a inestabilidad genómica, por menor metilación del ADN genómico.

### Variantes E6 de VPH

Las variantes de secuencias de nucleótidos VPH-16 muestran diferencias en sus propiedades biológicas y bioquímicas. Las variantes VPH-16 en el URR pueden ser divididas en 6 grupos filogenéticos geográficamente agrupados: europeos (E), dos africanos (Af), asiáticos (As), americanos asiáticos (AA) y norteamericanos (NA)<sup>(76)</sup>. Experimentalmente, las modificaciones nucleótidas vistas en varias variantes de la URR altera la actividad transcripcional en ensayos *in vitro* hasta 3 veces más que el prototípico de aislado europeo<sup>(77)</sup>. Sin embargo, se considera que la significancia de este nivel de aumento en actividad transcripcional no es relevante<sup>(78)</sup>. Las variantes de lectura de marcos abiertos de E6 también existen. Las variantes que muestran gran afinidad a p53 también inducen un fenotipo resistente a la diferenciación en queratinocitos transfectados en cultivo<sup>(79)</sup>. También, se ha identificado polimorfismos en la proteína E7 que varía de acuerdo a la raza y a la geografía<sup>(80,81)</sup>. Un total de siete cambios de aminoácidos en la proteína E7, comparado a la secuencia del fenotipo VPH-16, ha sido comunicado en una variedad de

cambios normales, displásicos y malignos en tejidos cervicales, de pene y ano<sup>(82-87)</sup>. No hay asociaciones consistentes de cualquier variante E7 con el estado de la enfermedad.

Xi y col.<sup>(88)</sup> han mostrado una asociación entre variantes de VPH-16 y riesgo de LEIAG. Las variantes tienen secuencia 'no prototípico' en el URR y E6 ORF, esto es, ellos no fueron del linaje E, pero tampoco de los linajes AA, As o Af. Las mujeres con VPH-16 de linaje 'no prototípico' tuvieron 4,5 a 6,5 veces aumento en el riesgo de desarrollar LEIAG que las mujeres con virus linaje E. En México, en un estudio caso-control, Berumen y col.<sup>(89)</sup> han demostrado una asociación entre variantes AA y riesgo de cáncer cervical. Estas variantes aumentaron el riesgo de cáncer cervical 27 veces más que el linaje E de VPH-16. Las mismas variantes E6 aumentan el riesgo de riesgo de LEI anal<sup>(90)</sup> y LEIAG cervical<sup>(91)</sup>. Variante idénticas se las asocia con enfermedad en diversos grupos. Los virus con secuencias 'prototípico' E6 que se asocian con mayor riesgo de LEIAG<sup>(88)</sup> tienen las mismas sustituciones básicas E6 como los VPH-16 aislados de pacientes indios que muestran mayor riesgo de cáncer invasivo<sup>(92)</sup>. Entonces, hay dos grupos de variantes de mayor importancia: uno representado por virus que tienen secuencia 'no prototípico', y el otro grupo se deriva del linaje E. Las mujeres con virus con secuencias 'no prototípico' tienen mayor riesgo de LEIAG y cáncer cervical. Entonces, nosotros planteamos la hipótesis de que las variantes E6 'no prototípico' son factores de riesgo para aumentar la frecuencia de

integración del ADN del VPH-16 al genoma del huésped. El mecanismo por el que esto ocurriría no es aún evidente; sin embargo, la identificación de una variante de VPH-16 que aumenta la frecuencia de integración, y como tal el riesgo de cáncer cervical, proveería nuevas avenidas de investigación para disecar la función de E6.

### Pérdida de la expresión del gen FHIT

El brazo corto del cromosoma 3 es uno de los lugares más comunes de anormalidad cromosómica en la enfermedad maligna y en 3p14.2 reside el lugar frágil común más activo en el genoma humano, el locus FRA3B<sup>(93)</sup>. Como en este locus está el gen de la histidina frágil (FHIT), es un blanco de rearreglos cromosómicos<sup>(93)</sup>. Se ha observado la pérdida de heterocigocidad (LOH) o disminución en la expresión de FHIT en un número de cánceres, incluyendo los cánceres y precánceres del cérvix<sup>(93,94)</sup>. Los ensayos RT-PCR muestran que cerca de 68% de los cánceres expresan transcriptos aberrantes FHIT y 71% no expresan o muestran niveles disminuidos de proteína FHIT. En un estudio inmunohistoquímico, Connolly y col.<sup>(95)</sup> demostraron que 48% de LEIAG asociado con cáncer cervical producía cantidades normales de FHIT, mientras que 79% de LEIAG no asociado a cáncer tenía niveles normales de esta proteína. Esto sugeriría que la pérdida de la expresión del gen FHIT puede ser un marcador para LEIAG, que eventualmente continuará a cáncer cervical. Tenemos la hipótesis de que el LEIAG negativo a FHIT tendrá secuencias integradas. Bulter y col.<sup>(96)</sup> han demostrado que el LEIAG positivo 'puro' al

VPH-16 y el LEIAG asociado con cáncer cervical microinvasor, 40% y 73%, respectivamente, habían perdido la expresión al gen FHIT; sin embargo, 29% de los LEIAG y 22% de los LEIAG asociados con cáncer cervical microinvasor tenían niveles normales de FHIT. Esto sugiere que debe haber un mecanismo alterno para la progresión maligna de estas lesiones más tardías. El FHIT es un gen supresor de tumor y la expresión ectópica en una variedad de líneas de células de cáncer reduce la tumorigenidad<sup>(93)</sup>. La expresión de FHIT en líneas celulares de cáncer cervical resulta en efectos proapotóticos o supresión del crecimiento *in vivo*<sup>(97)</sup>. Sin embargo, otros han comunicado ningún efecto al reintroducir la expresión de FHIT en líneas de cáncer cervical<sup>(98)</sup>.

El FHIT es el ortólogo humano del hongo *diadenosina hidrolasa* y su mecanismo de supresión de tumor es desconocido<sup>(93)</sup>. No se conoce cómo funcionaría para inducir la integración; pero, puede ser que la integración de la secuencia de VPH-16 induce, por un mecanismo desconocido, la pérdida de expresión génica de FHIT.

### Chlamydia

La *Chlamydia trachomatis* es un parásito intracelular obligado que infecta el epitelio cervical, así como otros epitelios columnares. Ha habido fuerte evidencia epidemiológica de que la *Chlamydia* es un factor etiológico con el VPH en el desarrollo de LEI<sup>(99,100)</sup> así como de cáncer cervical invasivo<sup>(101)</sup>. Sin embargo, es difícil separar la contribución de *Chlamydia* a la neoplasia cervical en estos estudios, debido a ensayos diagnósticos no precisos. Estudios recientes, que

utilizan los ensayos más recientes, han confirmado que la *Chlamydia* es un factor de riesgo para neoplasia cervical. En un estudio caso-control, en mujeres de Filipinas y Brasil con cáncer cervical escamoso positivo a VPH, tenían más de dos veces la posibilidad de tener anticuerpos *Chlamydia trachomatis* que los controles normales de Papanicolaou VPH-positivos<sup>(102)</sup>. En otro estudio caso-control, la presencia de ADN de *Chlamydia* en raspados cervicales le confería un aumento de 10 veces en el riesgo de tener ADN de VPH concurrente<sup>(103)</sup>. En un estudio basado en la población, el análisis de células de láminas de Papanicolaou de mujeres que luego desarrollaron cáncer cervical, por PCR mostraron que la infección previa por *Chlamydia*—determinada por la presencia de ADN—aumentaban en las mujeres 17 veces en el riesgo de desarrollar cáncer cervical<sup>(104)</sup>. Ninguno de los cánceres tuvo ADN de *Chlamydia* al momento del diagnóstico.

La *Chlamydia trachomatis* es una causa conocida de cervicitis e infección crónica, y produce un grado bajo de inflamación que puede pasar sin ser detectado<sup>(105)</sup>. Castle y col<sup>(106)</sup> han demostrado que la inflamación del cérvix se asocia con un aumento de dos veces el riesgo para LEIAG. Sus informaciones sugieren que la cervicitis puede contribuir al progreso de infecciones por VPH a LEIAG. El mecanismo de cómo la inflamación aumenta el riesgo puede deberse a la generación de radicales libres. Estos parecen tener roles importantes tanto en el inicio como en el progreso de los cánceres. Estas sustancias dañan directamente el ADN y el ADN repara proteínas e

inhibe la apoptosis, permitiendo el desarrollo de inestabilidad genética. Las células inflamatorias producen citoquinas, quimoquinas y factores de crecimiento y angiogénicos, todos los cuales pueden promover la proliferación celular<sup>(107)</sup>. La infección por *Chlamydia* de las células epiteliales del cérvix altera el complejo cadherina/catenina<sup>(108)</sup>. Esto puede tener un rol en la inducción de oncogénesis por disrupción de la diferenciación celular y la sobreexpresión de genes que responden al factor de transcripción TCF<sup>(109)</sup>. La infección por *Chlamydia* es un factor de riesgo para la integración del ADN de VPH-16 en el genoma de la célula huésped. El mecanismo de cuánto de esto ocurriría por la generación de radicales libres se basaría en las interacciones de las especies reactivas con el ADN. La disrupción de β-catenina y los cambios subsiguientes en el transcriptomo de la célula son menos claros, pero pueden proveer nuevas avenidas de investigación en carcinogénesis.

### CONCLUSIONES

La historia natural de la infección por VPH al cérvix y desarrollo posterior de cáncer cervical es compleja. El virus debe infectar una célula basal germinal que da origen a células hijas que contienen el genoma viral. La expresión de genes virales tempranos es altamente regulado y estas proteínas alteran los mecanismos de protección celular (apoptosis, detención G1), condicionando una diferenciación aberrante. Estas células luego cometen la diferenciación terminal, formando coilocitos con síntesis de proteína viral tardía y ensamblaje viral. Durante la infección, factores secundarios posiblemente tienen un rol en inducir la

integración del genoma viral y liberan expresión génica temprana de una regulación ajustada. Este alto nivel de expresión de proteínas virales tempranas sobrepasa la habilidad celular de continuar a la diferenciación. Los coilocitos no la forman y la lesión es indiferenciada. La persistencia de la lesión resulta en el cúmulo de mutaciones que llevan al cáncer.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schiffman MH, et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst.* 1993;85:958-64.
2. Hill A. Environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med.* 1965;58:295-300.
3. Ho GY, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Eng J Med.* 1998;338:423-8.
4. Bauer HM, et al. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. *JAMA.* 1991;265:472-7.
5. zur Hausen H. Papillomavirus infections-a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta.* 1996;1288:55-78.
6. Chan SY, et al. Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types uniting typing, phylogeny and taxonomy. *J Virol.* 1995;69:3074-83.
7. Bosch FX, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:796-802.
8. Lorincz AT, et al. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet. Gynecol.* 1992;79:328-37.
9. Kjaer SK, et al. 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 types? *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1997;6:799-805.
10. Porreco R, et al. Gynecological malignancies in immunosuppressed organ homograft recipients. *J Obstet Gynecol.* 1975;45:359-67.
11. Morison WL. Viral warts, herpes simplex and herpes zoster in patients with secondary immunodeficiencies and neoplasms. *Br J Dermatol.* 1975;92:625.
12. Berman A, Winklemann RK. Flat warts undergoing involution: histopathologic findings. *Arch Dermatol.* 1977;113:1219-21.
13. Iwatuski K, et al. Plane warts under spontaneous regression: immunopathologic study of cellular constituents leading to the inflammatory reaction. *Arch Dermatol.* 1986;122:655-9.
14. Tagami H, et al. Primary tissue culture of spontaneously regressing flat warts. In vitro attack by mononuclear cells against wart-derived epidermal cells. *Cancer.* 1985;55:2437-41.
15. Aiba S, et al. Immunohistological analysis of the phenomenon of spontaneous regression of numerous flat warts. *Cancer.* 1986;58:1246-51.
16. Chardonne Y, et al. Cell-mediated immunity to human papillomavirus. *Clin Dermatol.* 1985;3:156-62.
17. Wank R, Thomassen C. High risk of squamous cell carcinoma of the cervix for women with HLA-DQw3. *Nature.* 1991;352:723-5.
18. Helland A, et al. DQA1 and DQB1 genes in patients with squamous cell carcinoma of the cervix: relationship to human papillomavirus infection and prognosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1994;3:479-86.
19. Vandenvelde C, et al. HLADQB1\*03 and cervical intraepithelial neoplasia grades I-III. *Lancet.* 1993;341:442-3.
20. Gregoire L, et al. Association between HLA-DQB1 alleles and risk for cervical cancer in African-American women. *Int J Cancer.* 1994;57:504-7.
21. Odunsi K, et al. Association between HLA-DQB1\*03 and cervical intra-epithelial neoplasia. *Mol Med.* 1995;1:161-71.
22. Apple RJW, et al. HLADR-DQ associations with cervical carcinoma show papillomavirus-type specificity. *Nat Genet.* 1994;6:157-62.
23. Apple RJ, et al. Comparison of human leukocyte antigen DR-DQ disease associations found with cervical dysplasia and invasive cervical carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87:427-36.
24. Bavinck J, et al. Relation between skin cancer humoral responses to human papillomaviruses, and HLA class II molecules in renal transplant recipients. *J Immunol.* 1993;151: 1579-86.
25. Han R, et al. Linkage of regression and malignant conversion of rabbit viral papillomas to MHC class II genes. *Nature.* 1992;356:66-8.
26. Han R, et al. Analysis of the nucleotide sequence variation of the antigen-binding domain of DR alpha and DQ alpha molecules as related to the evolution of papillomavirus-induced warts. *J Invest Dermatol.* 1994;103:376-80.
27. Fausch SC, et al. Human papillomavirus can escape immune recognition through Langerhans cell phosphoinositide 3-kinase activation. *J Immunol.* 2005;174:7172-8.
28. Dillon S, et al. Resolution of cervical dysplasia is associated with T-cell proliferative responses to human papillomavirus type 16 E2. *J Gen Virol.* 2007;88:803-13.
29. Davidson EJ, et al. Human papillomavirus type 16 E2- and L1-specific serological T-cell responses in women with vulval intraepithelial neoplasia. *J Gen Virol.* 2003;84:2089-97
30. Cullen AP, et al. Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasm. *J Virol.* 1991;65:606-12.
31. Durst M, et al. 1985. The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant tumors. *J Gen Virol.* 66:1515-1522.
32. Matsukura T, et al. Both episomal and integrated forms of human papillomavirus type 16 are involved in invasive cervical cancers. *Virology.* 1989;172:63-72.
33. Schneider-Gadicke A, Schwaz E. Different human cervical carcinoma cell lines show similar transcription patterns of human papillomavirus type 18 early genes. *EMBO J.* 1986;5: 2285-92.
34. Schwarz E, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature.* 1985;314:111-4.
35. Wilczynski SP, et al. Identification of HPV 16 early genes retained in cervical carcinomas. *Virology.* 1988;166:624-7.
36. Kristiansen E, et al. Coexistence of episomal and integrated HPV16 DNA in squamous cell carcinoma of the cervix. *J Clin Pathol.* 1994;47: 253-6.
37. Donaldson YK, et al. A PCR approach to discriminate between integrated and episomal HPV DNA in small clinical specimens. *Mol Cell Probes.* 1993;10:107-16.
38. Baker CC, et al. Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cell lines. *J Virol.* 1987;61:962-71.
39. Choo KB, et al. Integration of human papillomavirus type 16 into cellular DNA of cervical carcinoma: preferential deletion of the E2 gene and invariable retention of the long control region and the E6/E7 open reading frames. *Virology.* 1987;161:259-61.
40. Thiery F, Yaniv M. The BPV-1 E2 trans-acting protein can be either an activator or a repressor of the HPV18 regulatory region. *EMBO J.* 1987;6:3391-7.
41. Haugen TH, et al. Trans-activation of an upstream early gene promoter of bovine papilloma virus-1 by a product of the E2 gene. *EMBO J.* 1987;6:145-52.
42. Bernard BA, et al. The human papillomavirus type 18 (HPV18) E2 gene product is a repressor of the HPV18 regulatory region in human keratinocytes. *J Virol.* 1989;63:4317-24.
43. Thierry F, Howley PM. Functional analysis of E2 mediated repression of the HPM 8 P<sub>105</sub> promoter. *New Biol.* 1991;3:90-100.
44. Dowhanick JJ, et al. Suppression of cellular proliferation by the papillomavirus E2 protein. *J Virol.* 1995;69:7791-9.
45. Desaintes C, et al. Expression of he papillomavirus E2 protein in HeLa cells leads to apoptosis. *EMBO J.* 1997;16:504-14.
46. Francis DA, et al. Repression of the integrated papillomavirus E6/E7 promoter is required for growth suppression of cervical cancer cells. *J Virol.* 2000;74:2679-86.
47. Joen S, et al. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J Virol.* 1995;69:2989-97.
48. Joen S, Lambert PF. Integration of HPV16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6/E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. *Proc. Natl Acad Sci USA.* 1995;92:1654-8.
49. Klaes R, et al. Detection of high risk cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer by amplification of transcripts derived from integrated papillomavirus oncogenes. *Cancer Res.* 2000;59:6132-6.
50. Romanczuk H, et al. Mutational analysis of cis elements involved in E2 modulation of human papillomavirus type 16 P<sub>o7</sub> and type 18 P<sub>105</sub> promoters. *J Virol.* 1990;64:2849-59.
51. Yoshinouchi M, et al. Analysis by multiplex PCR of the physical status of human papillomavirus type 16 DNA in cervical cancers. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3514-7.
52. Munoz N, et al (eds). The epidemiology of cervical cancer and human papillomavirus. Lyon, France: WHO, IARC Scientific publication No. 119, 1992.
53. Peters RK, et al. Risk factors for invasive cervical cancer among Latinas and non-Latinas in Los Angeles County. *J Natl Cancer Inst.* 1986;77:1063-77.

54. Brinton LA et al. Epidemiology of cervical cancer by cell type. *Cancer Res.* 1987;47:1706-11.
55. Slattery ML, et al. Cigarette smoking and exposure to passive smoke are risk factors for cervical cancer. *JAMA*. 1989;261:1593-8.
56. Hoffman D, Hoffman I. The changing cigarette 1950-1995. *J Toxicol Environ Health.* 1997;50:307-64.
57. Holly EA, et al. Mutagenic mucus in the cervix of smokers. *J Natl Cancer Inst.* 1986;76:983-6.
58. Prokopczyk B, et al. Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89:868-73.
59. Simons AM, et al. Damage to DNA in cervical epithelium related to smoking tobacco. *BMJ.* 1993;306:1444-8.
60. Phillips DH, She MN. DNA adducts in cervical tissue of smokers and non-smokers. *Mutat Res.* 1994;313:277-84.
61. Wani MA, et al. Efficient repair of bulky anti-BPDE DNA adducts from non-transcribed DNA strand requires functional p53 but not p21(waf1/cip1) and pRb. *Mutat Res.* 2002;505:13-25.
62. Giulian AR, et al. Clearance of oncogenic human papillomavirus (HPV) infection: effect of smoking (United States). *Cancer Causes Control.* 2002;13:839-46.
63. Patischman N, Brinton LA. Nutrition and cervical neoplasia. *Cancer Causes Control.* 1996;7:113-26.
64. Burnett TS, Gallimore PH. Introduction of cloned human papillomavirus 1a DNA into rat fibroblasts: integration, de novo methylation and absence of cellular morphological transformation. *J Gen Virol.* 1985;66:1063-72.
65. Wettstein FO, Stevens JG. Shope papilloma virus DNA is extensively methylated in non-virus-producing neoplasms. *Virology.* 1983; 126:493-504.
66. List HJ, et al. Methylation sensitivity of the enhancer from the human papillomavirus type 16. *J Biol Chem.* 1994;269:11902-11.
67. Rosl F, et al. The effect of DNA methylation on gene regulation of human papillomaviruses. *J Gen Virol.* 1993;74:791-801.
68. Thain A, et al. CpG methylation directly inhibits binding of the human papillomavirus type 16 E2 protein to specific DNA sequences. *J Virol.* 1996;70:7233-5.
69. Kim YI, et al. Global DNA hypomethylation increases progressively in cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer.* 1994;74:893-9.
70. Fowler BM, et al. Hypomethylation in cervical tissue: is there a correlation with folate status? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998;7: 901-6.
71. Sedjo RL, et al. Human papillomavirus persistence and nutrients involved in the methylation pathway among a cohort of young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11: 353-9.
72. Frost P, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995;10:111-3.
73. Stern LL, et al. Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2000;9:849-53.
74. Goodman MT, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T and dietary folate with the risk of cervical dysplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:1275-80.
75. Esteller M, Herman JC. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol.* 2002; 196:1-7.
76. Yamada T, et al. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. *J Virol.* 1997;71:2463-72.
77. Kammer C, et al. Sequence analysis of the long control region of human papillomavirus type 16 variants and functional consequences for P97 promoter activity. *J Gen Virol.* 2000; 81:1975-81.
78. Kammer C, et al. Variants of the long control region and the E6 oncogene in European human papillomavirus type 16 isolates: implications for cervical disease. *Br J Cancer.* 2002; 86:269-73.
79. Stoppler MC, et al. Natural variants of the human papillomavirus type 16 E6 protein differ in their abilities to alter keratinocyte differentiation and to induce p53 degradation. *J Virol.* 1996;70:6987-93.
80. Chan SY, et al. Analysis of genomic sequences of 95 papillomavirus types: uniting typing, phylogeny, and taxonomy. *J Virol.* 1995;69: 3074-83.
81. Eschle D, et al. Geographical dependence of sequence variation in the E7 gene of human papillomavirus type 16. *J Gen Virol.* 1992;73: 1829-32.
82. Hu X, et al. Oncogene lineages of human papillomavirus type 16 E6, E7 and E5 in pre-invasive and invasive cervical squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 2001;195:307-11.
83. Youk EG, et al. Detection and typing of human papillomavirus in anal epidermoid carcinomas: sequence variation in the E7 gene of human papillomavirus Type 16. *Dis Colon Rectum.* 2001;44:236-42.
84. Song YS, et al. Major sequence variants in E7 gene of human papillomavirus type 16 from cervical cancerous and noncancerous lesions of Korean women. *Gynecol Oncol.* 1997;66: 275-81.
85. Nindl I, et al. 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;82:203-7.
86. Buonaguro FM, et al. The Uganda study on HPV variants and genital cancers. *J Clin Virology.* 2000;19:31-41.
87. Ku JL, et al. Establishment and characterization of 12 uterine cervical cancer cell lines: common sequence variation in the E7 gene of HPV-16-positive cell lines. *Int J Cancer.* 1997;72:313-20.
88. Xi LF, et al. Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89:796-802.
89. Berumen J, et al. Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1325-30.
90. Da Costa MM, et al. Increased risk of high-grade anal neoplasia associated with a human papillomavirus type 16 E6 sequence variant. *J Infect Dis.* 2002;185:1229-37.
91. Etherington JJ, et al. Histologic and immunologic associations of an HPV16 variant in LoSIL smears. *Gynecol Oncol.* 1999;72:56-9.
92. Radhakrishna Pillai M, et al. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 gene variations in Indian cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2002;87:268-73.
93. Pekarsky Y, et al. FHIT from gene discovery to cancer treatment and prevention. *Lancet Oncol.* 2002;3:748-54.
94. Greenspan DL, et al. Loss of FHIT expression in cervical carcinoma cell lines and primary tumors. *Cancer Res.* 1997;57:4692-8.
95. Connolly DC, et al. Loss of fhit expression in invasive cervical carcinomas and intraepithelial lesions associated with invasive disease. *Clin Cancer Res.* 2000;6:3505-10.
96. Butler D, et al. Loss of fhit expression as a potential marker of malignant progression in pre-invasive squamous cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2002;86:144-9.
97. Roz L, et al. Restoration of fragile histidine triad expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in lung and cervical cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:3615-20.
98. Wu R, et al. Restored expression of fragile histidine triad protein and tumorigenicity of cervical carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:338-44.
99. Munoz N, et al. Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. *Sex Transm Dis.* 1996;23:504-10.
100. Strand A, Rylander E. Human papillomavirus. Subclinical and atypical manifestations. *Dermatol Clin.* 1998;16:817-22.
101. Wallin KL, et al. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med.* 1999;341:1633-8.
102. Smith JS, et al. 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: 324-31.
103. Tamim H, et al. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and Chlamydia trachomatis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;43:277-81.
104. Koskela P, et al. *Chlamydia trachomatis* infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer.* 2000;85:35-9.
105. Martin DH. *Chlamydia trachomatis* infections. En: JG Pastorek II (ed), *Obstetric and Gynecologic Infectious Disease.* Raven Press, NY. 1994;491-505.
106. Castle PE, et al. An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infected with oncogenic human papillomavirus (HPV). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:1021-7.
107. Halliwell B. Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker? *Free Radic Biol Med.* 1998;32:968-74.
108. Prozialeck WC, et al. Chlamydia trachomatis disrupts N-cadherin-dependent cell-cell junctions and sequesters beta-catenin in human cervical epithelial cells. *Infect Immun.* 2002;70: 2605-13.
109. Barker N, Clevers H. Catenins, Wnt signaling and cancer. *Bioessays.* 2000;22:961-