

INFECCION POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO. BIOLOGIA MOLECULAR

Genaro Vega-Malagón

Javier Ávila-Morales

Pablo García-Solís

Nicolás Camacho-Calderón

Alma Becerril-Santos

Alfredo Jesús Vega Malagón

Guillermo E. Leo-Amador

Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro, México

Abstract

The human papillomavirus (HPV) , is important because it is the sexually transmitted disease more common , worldwide, to be associated with cervical cancer , all therapeutic modalities have a high recurrence rate and probably not eradicated . With advances in molecular biology , diagnosis and classification have changed their treatment.

HPVs are icosahedral structures of 55 microns in diameter with a dense central core DNA , a protein capsule surrounding him . The HPV DNA is double- band and is in the form of closed loop , with 800 bp are epitheliotropic viruses, genomes of HPV is divided into early (E) and late regions (L) of the latter encoding structural proteins , and the genes of the first encode proteins required for replication .

The genome of certain human papillomavirus is present in most cervical tumors products of viral oncogenes E6 and E7 products inactivate the suppressor genes p53 and Rb . E6 binds to the p53 suppressor protein , resulting in loss of function , the E7 binds Rb retinoblastoma gene. P53 controls the progression of resting cells to growth. Damage to the cell genome p53 levels rise and inhibit this progression . This allows DNA repair before replication , cells lose this control replicate its damaged DNA , which generates genomic instability , the E6 protein of high-risk HPV interacts with p53 and induces its degradation. In cervical lesions expressing E6 and E7 oncogenes could contribute to cellular genomic instability and alterations that accumulate would take to tumor development .

Keywords: HPV Infection

Resumen

El virus del papiloma humano (VPH), tiene importancia por ser la enfermedad de transmisión sexual más frecuente, a nivel mundial, estar asociada con cáncer cervico uterino, todas las modalidades terapéuticas tienen alto índice de recidivas y muy probablemente no se erradica. Con los avances en la biología molecular, su diagnóstico y tipificación han modificado su tratamiento.

Los VPH son estructuras icosaedricas de 55 micras de diámetro con un núcleo central denso de DNA, una cápsula proteínica que le rodea. El DNA del VPH es de doble banda y se presenta en forma de círculo cerrado, con 800 pares de bases, son virus epiteliotrópicos, Los genomas del VPH se dividen en regiones tempranas (E) y tardías (L), de las que esta última codifica proteínas estructurales, y los genes de la primera codifican proteínas requeridas para la replicación.

El genoma de algunos papilomavirus humanos se encuentra presente en la mayoría de los tumores del cervix Los productos de los oncogenes virales E6 y E7 inactivan a los productos de los genes supresores p53 y Rb. La E6 se une a la proteína supresora p53, provocando pérdida de su función, la E7 se une al gen Rb del retinoblastoma. La proteína p53 controla la progresión de las células del reposo al crecimiento. Los daños al genoma celular elevan los niveles de p53 e inhiben esta progresión. Esto permite la reparación del DNA antes de su duplicación, las células que pierden este control replican su DNA dañado, lo cual genera inestabilidad genómica, la proteína E6 de los VPH de alto riesgo interacciona con p53 e induce su degradación. En las lesiones del cervix la expresión de los oncogenes E6 y E7 podría contribuir a la inestabilidad genómica celular, y permitiría acumular alteraciones que las llevara al desarrollo tumoral.

Palabras Clave: Infección por el VPH

Introducción

El virus del papiloma humano (VPH), tiene importancia por ser una de las infecciones más frecuentes a nivel mundial, estar asociada con cáncer anogenital, de tratamiento complejo, no existe antiviral específico y todas las modalidades terapéuticas tienen alto índice de recidivas y muy probablemente no se erradica, lo mejor es la prevención, con el uso del condón, mejores hábitos higiénicos y controles citológicos semestrales o anuales dependiendo de los factores de riesgo. (Vargas,1996; Hans, 1989; Nuovo, 1989; Reid, 1987).

Este tipo de lesiones se clasifica en:

A).-Latentes. (asintomáticas): no tienen lesiones visibles y son detectadas por técnicas moleculares.

B).- Subclínicas: se identifican por medio de colposcopia.

C).- Clínicas: Se manifiestan como condilomas acuminados.

Las manifestaciones clínicas del virus varían dependiendo del sitio, huésped, y tipo de virus, La infección anogenital incluye mas de un sitio. (Vargas, 1996)

El virus del papiloma humano presenta un problema multidimensional para los ginecólogos y urólogos, la incidencia de esta infección se ha incrementado de tal forma que actualmente es la infección viral mas frecuente del aparato genital. El VPH se trasmite por contacto sexual, pero no se ha precisado el mecanismo exacto de infección a nivel de la interacción virus-célula del huésped. (Cano, 1995).

El cuadro clínico es variable, con remisiones y exacerbaciones. Con los avances en la biología molecular, su diagnóstico y tipificación han modificado su tratamiento. Existen diversos tratamientos que dependen de la experiencia del médico y de las características de las pacientes, algunas veces su erradicación es imposible ya que nunca desaparece del aparato genital. (Vargas, 1996).

Las consecuencias a largo plazo de la mayoría de las enfermedades de transmisión sexual son más serias para las mujeres que para los hombres. La mayoría cursa con pocos síntomas, por lo que frecuentemente no son tratadas, lo que resulta en una serie de consecuencias adversas como son los embarazos ectópicos, la esterilidad e infertilidad, infección transplacentaria del feto, parto prematuro e infección del recién nacido a través del canal de parto contaminado. De la misma manera la infección por VPH a nivel genital es asociada con displasia cervical y puede ser cofactor en el desarrollo de cáncer genital. El tratamiento es múltiple e incluye agentes citotóxicos, cirugía, inmunoterapia y abrasión por lasser. (Cano, 1995; DiSia, 1994).

Historia

La primera descripción de las verrugas se encuentra en los escritos de Celso (25 DC), en 1793, Bell reconoció que no estaban relacionadas con sífilis; el origen viral de las verrugas lo postuló Ciuffo en 1907 y Strauss en 1949 identificó al virus. La transmisión sexual de las verrugas fue afirmada en 1954 por Barret. En 1956 Hoss y Durfee acuñaron el término “ atipia coilocítica “.

Papanicolau fue el primero en descubrir células originadas a partir de las verrugas, con el término de “ halo perinuclear “ en 1960. Posteriormente en 1969 Almeida señaló la heterogeneidad de los tipos de HVP y Meisels postuló al coilocito en la citología exfoliativa como patognomónico de infección por HVP en 1976. En ese año se estableció la heterogeneidad

genética de los papilomas, lo que condujo a Gissman, Pfiter y Zur Hausen a identificar cuatro tipos de VPH diferentes en 1977. En 1983 ocurrió un suceso importante que relacionó al VPH con cáncer, cuando Durst identificó ácido desoxiribonucleico de VPH en cánceres cervicales, sin embargo la primera descripción de esta asociación fue descrita por Lewandowski y luzt en 1992 en un paciente con epidermodisplasia. (Vargas, 1996).

Epidemiología

La infección por VPH es la más frecuente de las transmitidas sexualmente, debido quizá a los cambios en la conducta sexual. Se considera que 2% de todas las mujeres en edad fértil tienen VPH y el 30% de ellas, otros estudios que se han hecho en poblaciones que acuden a programas de detección a clínicas de atención de enfermedades de transmisión sexual, notifican prevalencia de 9 al 13%, en función del tipo de población estudiada, sin embargo el Instituto Nacional de Salud Pública a través de su centro de investigaciones de salud, considera conservadoramente la prevalencia citológica de infección por VPH del 10% de la población femenina. (Vargas, 1996; Castañeda, 1998).

Alrededor del 25 a 65% de las personas que han tenido contacto sexual con personas infectadas la adquieren y solo 60 a 80% de los infectados a nivel anal informan una relación ano genital.

La prevalencia de lesiones del cerviz uterino con infección del VPH varia del 10 al 36%, actualmente se conocen mas de 90 tipos virales genéticamente diferentes, y solo algunos de ellos están asociados al cáncer genital, en especial los tipos VPH 16 y 18. En México, en el 90% de los carcinomas cervicales se detecta algún tipo viral: el VPH 16 se encuentra en el 50% de los casos; el VPH 18, en el 15%; el VPH 31, 33 y 35 en conjunto en el 12%; y los otros tipos virales en el porcentaje restante. (De la Torre, 1995; Berumen, 1997).

La transmisión es generalmente de tipo sexual, aunque se sugieren otros como la autoinoculación, fomites, iatrogénica durante la exploración ginecológica y anal con el mismo guante, instrumental mal esterilizado y en mujeres núbiles, esto ha sido confirmado por medio de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida pueden tener varios tipos de VPH simultáneamente o cambiar rápidamente de un tipo a otro, la situación se ha tornado un problema de salud pública que requiere de implementar medidas de urgencia. (Vargas, 1996; Zamora, 1998).

La edad más frecuente en que se presentan los condilomas es entre los 16 y 25 años, con predominio en mujeres blancas con relación a negras de 2:1, en hombres no hay diferencias. Las adolescentes experimentan un alto riesgo de exposición a enfermedades de transmisión sexual, en parte

porque la adolescencia es un tiempo de curiosidad sexual, experimentación y el riesgo es tomado, en adición a los factores psicológicos, los factores biológicos hacia las mujeres adolescentes han hecho que sean más vulnerables que los adultos a las infecciones genitales, en la pubertad temprana, el epitelio columnar en el útero se extiende desde el canal endocervical a la vagina y no hay protección para los patógenos por la mucosa cervical. (Vargas, 1996; Cano, 1995; DiSaia, 1994).

Se desconoce su historia natural y establecer la forma de transmisión es difícil, sin embargo, el intervalo entre la exposición y la detección de la infección varía de 3 semanas a 8 meses con una media de 3 meses, lo cual tiene importancia al buscar contactos, un compañero sexual previo y no el actual puede haber sido el origen del contagio, dejando a la persona sin explicación. Al parecer los condilomas acuminados afectan a ambos sexos, en tanto que el papiloma plano rara vez da origen al condiloma florido en el hombre, la piel del pene parece menos susceptible a la aparición de la neoplasia intraepitelial, a diferencia de la zona de transformación (ZT) cervical que puede llegar a evolucionar a un carcinoma. (Vargas, 1996; Reid, 1987).

No todas las personas con verrugas genitales o infecciones subclínicas presentan neoplasia intraepitelial cervical (NIC) o cáncer, pueden persistir, crecer o involucionar espontáneamente, la regresión espontánea depende de la inmunidad celular. El aumento de anticuerpos virales que coincide con la regresión de las verrugas probablemente refleje la destrucción de las células tumorales y la correspondiente liberación de antígenos virales intracelulares, los anticuerpos específicos del VPH probablemente tengan mayor importancia como defensa contra la diseminación que como factor para la curación. El ritmo de regresión espontánea en la mujer ocurre, 30% en 3 a 6 meses, una verruga raramente dura más de 5 años, por lo que se puede considerar que la historia natural de la enfermedad y el poder oncogénico del VPH son impredecibles. Es importante recordar que la eliminación del condiloma acuminado no significa desaparición del VPH. Cada colonia de virus tiene su propio ciclo reproductor. (Vargas, 1996; Hans-B, 1989; Nuovo, 1989; Krebs, 1994).

Virología

Los VPH son estructuras icosaédricas de 55 micras de diámetro con un núcleo central denso de DNA, una cápsula proteínica que le rodea. El DNA del VPH es de doble banda y se presenta en forma de círculo cerrado, con 800 pares de bases, son virus epiteliotrópicos, infectan los núcleos de células epiteliales, dentro del núcleo, el DNA del VPH se encuentra como episoma, o sea una estructura próxima no integrada al DNA de la célula huésped, la clasificación de los VPH se basa en el análisis sorológico de

determinantes antigénicos u homología de los nucleótidos. Los genomas del VPH se dividen en regiones tempranas (E) y tardias (L), de las que esta última codifica proteínas estructurales, y los genes de la primera codifican proteínas requeridas para la replicación.

Más de 90 tipos del VPH han sido identificados y mas de 20 se han asociado con infecciones anogenitales y se han subclasificado de acuerdo con su relación con la neoplasia intraepitelial cervical y cáncer, como de bajo riesgo: 6, 11, 42, 43, 53-55. De riesgo intermedio: 30, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 58, 66. y de alto riesgo: 16, 18, 45, 56. (Vargas, 1996; Krebs, 1989; Krebs, 1994).

Biología molecular del vph en la carcinogenesis del cuello uterino

El VPH se asocia con NIC 10 veces mas que en grupos control, la citología negativa, pero positiva a DNA del VPH demostró 11 veces mas riesgo de desarrollar NIC II o NIC III en los próximos 2 a 3 años, y las mujeres con VPH 16 y VPH 18 tienen aun mas riesgo que aquellas con virus de bajo o intermedio riesgo. El VPH 16 se asocia mas a cáncer epidermoide y el VPH 18 a adenocarcinoma y de células pequeñas lo que indica que el VPH 18 tiene mayor riesgo de neoplasia invasora que los otros tipos. (Vargas, 1996; Krebs, 1989; Krebs, 1994)

El genoma de algunos papilomavirus humanos se encuentra presente en la mayoría de los tumores del cervix. Los productos de los oncogenes virales E6 y E7 inactivan a los productos de los genes supresores p53 y Rb. La E6 se une a la proteína supresora p53, provocando pérdida de su función, la E7 se une al gen Rb del retinoblastoma. La proteína p53 controla la progresión de las células del reposo al crecimiento. Los daños al genoma celular elevan los niveles de p53 e inhiben esta progresión. Esto permite la reparación del DNA antes de su duplicación, las células que pierden este control replican su DNA dañado, lo cual genera inestabilidad genómica, la proteína E6 de los VPH de alto riesgo interacciona con p53 e induce su degradación. En las lesiones del cerviz la expresión de los oncogenes E6 y E7 podría contribuir a la inestabilidad genómica celular, y permitiría acumular alteraciones que las llevara al desarrollo tumoral. (Toledo, 1996).

Los papiloma virus humanos y sus oncogenes

El genoma del VPH está formado por una región de control que contiene el origen de replicación y el promotor temprano, y una región codificadora organizada en dos regiones, una temprana (E) y una tardía (L). La región temprana contiene 6 genes principales (5 de proteínas tempranas y 1 de tardía) cuyos productos están involucrados en procesos tales como la replicación viral, la regulación de la transcripción, y la immortalización celular. La región tardía contiene dos genes que codifican

para proteínas estructurales de la cápside viral. Las funciones particulares que han sido asociadas a cada gen, así como algunas de sus propiedades se muestran a continuación:

Proteínas tempranas

E6.- Inmortaliza y modula la transcripción, se une a la P53 e induce su degradación.

E7.- Inmortaliza y modula la transcripción, se une a Rb inactivándola.

E2.- Regula la transcripción viral. Se une al DNA, coopera con E1 en la replicación viral.

E1.- Participa en la replicación viral, inicia la replicación, modula la función E2.

E5.- transforma, se pierde durante la integración viral.

Proteínas tardías

L1 Y L2.- Proteínas de cápside.

E4.- Participa en la maduración de partículas virales.

Los VPH pueden ser clasificados en dos grupos: aquellos que infectan los epitelios secos (piel) y los que infectan las mucosas (orales y genitales). Los que infectan las mucosas pueden dividirse en dos grupos: los de bajo riesgo de conversión maligna y los de alto riesgo. Entre los VPH de alto riesgo, los tipos 16 y 18 son los que con más frecuencia (aprox. 65%) se encuentran asociados a los tumores del cerviz en estos y en las líneas celulares derivadas de ellos, existe un patrón consistente de integración del DNA viral, el cual permite la expresión continua de los oncogenes E6 y E7. esto se debe, entre otros factores, a la pérdida de una región del genoma viral que incluye los genes E1 y E2. La presencia de esta región (E1/E2) y los niveles de amplificación del genoma viral en los tumores que contienen VPH tipo 16 o 18, presentan una asociación muy estrecha. (Toledo, 1996).

Los genes E6 y E7 se expresan activamente en los tumores y en las líneas celulares derivadas de ellos, y son clasificados como oncogenes porque sus productos son los responsables de la inmortalización. Estas proteínas interactúan con los productos de dos genes celulares supresores de tumores: E6 se une a la proteína P53 y promueve su degradación, mientras que E7 se une a la proteína retinoblastoma y forma un complejo inactivo con ella.

El producto del gen E7 es una fosfoproteína nuclear de 98 aminoácidos, ácida y que se une al zinc. La proteína E7 de los VPH de alto riesgo es capaz de transformar células primarias de roedores, en combinación con un gen ras activado (mutado).

El producto de E6, es también una fosfoproteína nuclear que une al zinc, pero tiene 151 aminoácidos y carácter básico. Se une a DNA de doble cadena con alta afinidad y tiene propiedades regulatorias de la transcripción, coopera con E7 para inmortalizar cultivos primarios de células humanas de epitelios escamosos. Interacciona con la proteína del gen supresor p53 y un factor celular llamado E6AP (proteína asociada a E6) e induce la degradación de p53.

A pesar de las evidencias anteriores, se ha observado que la sola presencia de los VPH de alto riesgo no es suficiente para llevar a las células infectadas hasta el desarrollo de tumor, y que se requieren otros factores para ello, como serían las alteraciones en genes importantes para la carcinogénesis, factores nutricionales, estado inmunológico, etc.

Los genes supresores de tumores y la proteína p53.

La era moderna de la genética molecular del cáncer se inició hace dos décadas con el descubrimiento de versiones celulares normales de los oncogenes virales. Actualmente se sabe que los oncogenes actúan en forma dominante, es decir, la activación de uno de los alelos es suficiente para contribuir a la transformación celular.

Por otro lado, una serie de experimentos había demostrado la existencia de genes recesivos capaces de suprimir la tumorigenicidad. Se sugería que un evento crítico en la carcinogénesis, además de la activación de oncogenes, era la pérdida de genes reguladores negativos del crecimiento, posteriormente denominados genes supresores.

Algunos de los genes supresores de tumores que se han identificado y su localización cromosómica son los siguientes: Rb (13q14); p53 (17p13); WT1 (11p13); DCC (18q21); NF1 (17q11); FAP (5q21.22); MEN-1 (11q13).

El gen p53 es uno de los genes supresores de tumores mas estudiado, su producto fue descubierto hace casi 15 años, ahora se conoce que las versiones mutadas de la proteína p53 pueden inmortalizar células de cultivo primario., por otro lado la versión normal de p53 suprime la transformación mediada por oncogenes, puede disminuir la tumorigenicidad de células humanas y su sobreexpresión inhibe el crecimiento.

Entre las funciones de la p53 se encuentran:

- Parece estar involucrada en la replicación.
- Regula la transcripción de algunos genes.
- Reprime la expresión de PCNA, B-myb, DNA pola y otros.
- Induce la diferenciación.
- Punto de control del paso de las células de la fase G1 a S del ciclo celular.
- Su alteración parece estar involucrada en la inestabilidad genómica.
- Participa en la apoptosis celular.

Si bien las evidencias actuales sugieren que la proteína p53 está involucrada en el ciclo celular en la transición G1/S, se sugiere que su presencia no es indispensable para la división celular, ya que su participación es como un punto de control que evalúa los daños al DNA y previene su transmisión, esto coincide con el hallazgo de que los ratones que carecen del gen p53 tienen un desarrollo normal, aunque más del 70% de las cepas desarrolla tumores a temprana edad. (Krebs, 1994).

Los vph y P53 en la carcinogenesis del cervix

El p53, es el gen con la más alta frecuencia de alteraciones en los cánceres humanos, esto es de esperarse si se consideran todas las funciones celulares esenciales que son reguladas por p53, por lo que su pérdida o inactivación es un paso clave crítico en la carcinogénesis.

En caso particular del cáncer cervicouterino se presenta un mecanismo alternativo para la inactivación de p53. La región carboxilo terminal de la proteína p53 contiene sitios donde se une la proteína E6 de los VPH, a través de la proteína celular E6AP. Se sabe que la presencia de E6 en este complejo (p53-E6AP-E6) promueve la degradación de p53 a través de la vía de proteólisis dependiente de ubiquitina.

Así se observa que algunas líneas celulares derivadas del cáncer cervical y en los tumores que presentan secuencias activas de VPH de los tipos de alto riesgo, la p53 se encuentra normal. Esto se debe a que p53 es inactivado funcionalmente por E6, haciendo innecesaria su inactivación por mutaciones. Los tumores que no contienen secuencias virales presentan generalmente alteraciones de p53. En los casos donde no se detectan secuencias virales ni alteraciones de p53, se sugiere que su función es eliminada por otros mecanismos, tales como la sobreexpresión de mdm2. Los datos anteriores sugieren fuertemente que p53 juega un papel muy importante en la carcinogénesis de los tumores del cerviz ya que de una u otra manera se elimina su función. (Vargas, 1996; Cano, 1995; Toledo, 1996; Taja, 1996; Berumen, 1994).

En la siguiente figura se presenta un modelo que asocia las funciones de p53 en la respuesta al daño del DNA y la presencia de la proteína E6 de los VPH de alto riesgo, con alteraciones del ciclo celular e inestabilidad genómica. Cuando p53 se encuentra funcional, los daños al DNA producen un aumento en los niveles de proteína, la cual modularía la expresión de genes reguladores del crecimiento que resultaría en la detención del ciclo en la fase G1/S. Esto permitiría la reparación del DNA evitando así que la célula replique su material genético dañado, antes de continuar su ciclo. En el caso de que ocurran daños adicionales, como la activación de oncogenes,

p53 promovería la muerte de la célula a través de la inducción del mecanismo de la apoptosis. (Toledo, 1996).

Cuando la función de p53 se encuentra inactivada, por la presencia de secuencias virales activas, mutaciones o eliminaciones del gen, o por sobreexposición de mdm2, los daños al DNA no son reparados antes de que la célula replique su material genético. Esto resulta en la acumulación de mas daños que conducen a una inestabilidad génica y que favorece finalmente la aparición de células cancerosas.

Sin embargo, seguramente la imagen real es mucho mas compleja, las evidencias recientes señalan que la proteína p53 funciona como un factor de transcripción, que probablemente regula la expresión de varios conjuntos de genes, por lo tanto, no podemos estar seguros que la inestabilidad genómica que presentan las células con alelos mutados de p53, o las células que expresan de manera continua la proteína E6 de los VPH, pueda deberse exclusivamente a las fallas en el punto de control G1/S o a otras de las funciones controladas por p53.(Toledo, 1996).

Bibliografía :

Berumen, J. Villegas, N. 1997, Vacunas terapéuticas recombinantes contra el cáncer del cuello uterino. Salud Pública Mex. 39; 288-297.

Berumen, J. y col. Genome Amplification of human papillomavirus types 16 and 18 in cervical carcinomas is related to the retention of E1/E2 genes. 1994, Inst. J. cancer; 640-45.

Cano G, R. y col: 1995, Conceptos actuales sobre la infección por virus del papiloma humano. Ginec. Obst. Mex. 63:509-512.

Castañeda I, M. Y col. 1998, Factores de riesgo para cáncer cervico uterino en mujeres de Zacatecas. Salud Pública de México, Vol.40 (4): 330-338.

De La Torre D, A. Y col. 1994, Correlación entre variables gineco obstétricas con lesiones morfológicas por virus del papiloma humano, premalignas y malignas del cerviz uterino. Rev. Inst. cancerol. Mex. 76-80.

DiSaia. 1994, Oncología Ginecológica Clínica. 4ª. Edición Doyma. España, 7-10.

Hans-B MD editor, Infección genital por papilomavirus humano, 1989, Clin. Obst. Ginec. Ed. Interamericana.

Krebs Hans, Sonia M Khir. 1994, Human papillomavirus infections an genital tract cancers. Gynecology and Obstetrics, 4: 1040 edition John J Sciarra. JB Lippincott Company.

Nuovo y Ralph M. Richart. 1989, Papilomavirus humano: Una revisión. Year Book de Obstetricia y Ginecología. Edit. Panamericana.

Reid, Editor. 1987, Papilomavirus humano. Clin. Obstet. Ginec. Temas Actuales . Edit. Interamericana.

- Taja, L. Salcedo, M. Osornio, A. 1996, Presencia de la proteína tardía del virus del papiloma humano en tejido cervicouterino con lesiones de bajo y alto grado de malignidad. Rev. Inst. Nal. Cancerología. Vol. 42 (4) 181-187.
- Toledo C, E. Garcia C, A. 1996, La proteína p53 y los oncogenes del papilomavirus humanos en la carcinogénesis del cuello uterino. Rev. Invest. Clin. 48: 59-68.
- Vargas H, V.M. 1996, Virus del papiloma humano. Aspectos epidemiológicos, carcinogénicos, diagnósticos y terapéuticos. Ginec. Obstet. Mex. 64: 411-417.
- Zamora P, A. Terrés S, A. 1998, Infección por virus del papiloma humano en mujeres y hombres mexicanos. Identificación por el sistema de captura de híbridos. Revista mexicana de Patología Clínica, Vol. 45, 9-15.