



DOI: <http://dx.doi.org/10.29033/ei.v3n4.2018.09>

Artículo de Revisión

Virus del Papiloma Humano como factor etiopatogénico de lesiones cervicales: Revisión de literatura
Human Papilloma Virus as etiopathogenic factor of cervical lesions: Literature review

Martha Cecilia Ramos Ramírez¹, María Fernanda Tinajero Vásconez¹, Diana Falcón Córdova², Yenddy Nayghit Carrero Castillo³

¹ Universidad Técnica de Ambato – Facultad de Ciencias de la Salud – Carrera de Laboratorio Clínico – Ambato – Ecuador.

¹ Autor Independiente – Ambato – Ecuador.

² Universidad Técnica de Ambato – Facultad de Ciencias de la Salud – Carrera de Medicina – Ambato – Ecuador.

Ramos MC, Tinajero MF, Falcón D, Carrero YN. Virus del Papiloma Humano factor etiopatogénico de lesiones cervicales: Revisión de literatura. *Enferm Inv.* 2018; 3(4):208-214.

2477-9172 / 2550-6692 Derechos Reservados © 2018 Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Enfermería. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons, que permite uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original es debidamente citada.

Historia:

Recibido: 6 abril 2018

Revisado: 19 mayo 2018

Aceptado: 29 agosto 2018

Palabras Claves: VPH; cáncer; lesiones cervicales; diagnóstico

Keywords: HPV; cancer; cervical lesions; diagnosis

Resumen

El cáncer de Cuello Uterino (CaCu) representa un problema de salud pública a nivel mundial, es el segundo más frecuente de la población femenina y se caracteriza por ser precedido por un conjunto de displasias denominadas lesiones intraepiteliales escamosas (LIE), además se conoce que el Virus del Papiloma Humano (VPH), principalmente los genotipos de alto riesgo están implicados en la génesis del cáncer. En el año 2012 fallecieron en el Ecuador 9.709 personas por cáncer, siendo más frecuentes en el sexo femenino, el cáncer de cérvix y el de mama. Datos generados a nivel país aunado al criterio de algunos expertos tienen a contradecirse, por cuanto la población desconoce el riesgo de padecer cáncer y la importancia de un diagnóstico oportuno, provocando un subdiagnóstico. Es vital difundir conocimientos a los profesionales de la salud, con el propósito de fomentar prácticas que permitan la prevención y la detección oportuna de casos.

Abstract

Cervical Cancer (CaCu) represents a public health problem worldwide, it is the second most frequent of the female population and is characterized by being preceded by a set of dysplasias called squamous intraepithelial lesions (LIE), it is also known that Human Papillomavirus (HPV), mainly high-risk genotypes are involved in the genesis of cancer. In 2012, 9,709 people died of cancer due to cancer, with cervical and breast cancer being more frequent in females. Data generated at the country level, together with the criteria of some experts, have to be contradicted, as the population is unaware of the risk of cancer and the importance of an opportune diagnosis, causing a subdiagnostic. It is vital to disseminate knowledge to health professionals, with the purpose of promoting practices that allow the prevention and timely detection of cases

Autor de correspondencia:

Yenddy Nayghit Carrero Castillo. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud, Carrera de Medicina. Teléfono: 593 98 7648890, Ambato, Ecuador. Email: yendycarrero@yahoo.es

Introducción

El cáncer del cuello uterino (CaCu) representa un problema de salud pública a nivel mundial, constituye la segunda causa más común de cáncer entre las mujeres, afectando principalmente a países en vías de desarrollo, donde se presentan el 80% de todos los casos, es considerada una enfermedad de alto impacto médico y socioeconómico en las poblaciones afectadas.

Según datos reportados por la Organización Mundial de la Salud en el año 2012, más de 83.000 mujeres fueron diagnosticadas de cáncer cérvico-uterino y casi 36.000 fallecieron por esta enfermedad en la región de las Américas, de mantenerse las tendencias actuales, el número de muertes aumentará en un 45% en el 2030, así mismo se evidencia que las tasas de mortalidad son 3 veces más altas en América Latina y el Caribe que en Norteamérica, evidenciando enormes desigualdades en salud.¹

A nivel mundial, es el cuarto cáncer más frecuente en la mujer. Se calcula que en 2012 hubo 528.000 nuevos casos, que representaron el 7.5% de la mortalidad femenina por cáncer. Se estima que de las 266.000 defunciones por CaCu que se registran cada año, más del 90% se producen en los países en desarrollo.²

El Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, estima que para este año, se detectaran 12.820 nuevos casos de cáncer cervical y 4.210 defunciones a causa de esta enfermedad.³

Diversos estudios clínicos y epidemiológicos basados en el diagnóstico molecular, evidencian la relación causal entre el VPH y el cáncer de cuello de uterino, en los cuales se ha detectado ADN viral en el 99.7% de este tipo de tumores, por lo cual existe controversia de su origen en ausencia de infección viral y se considera al VPH como causa necesaria para la aparición del cáncer de cérvix en conjunción con otros factores de riesgo relacionados a la conducta del individuo. El riesgo relativo de la asociación entre neoplasia cérvico-uterina e infección por VPH es alto; en un rango reportado de 20 a 70.⁴

Estudios previos realizados en Ecuador muestran un 86% de prevalencia de VPH en lesiones cervicales cancerosas o precancerosas de 164 mujeres ecuatorianas, siendo los genotipos más comunes el VPH16 (41.8%) y VPH58 (30.5%).⁵

Así mismo en febrero del 2016, en un estudio en el cual se analizaron 1581 muestras cervicales provenientes de mujeres Ecuatorianas se encontró un 43.58% de positividad para infección por VPH siendo los genotipos más frecuentes el 16.3 y 11 estableciéndose así reportes importantes acerca de los genotipos circulantes en el país y su relación con las lesiones cervicales.⁶

Desarrollo

Agente etiológico

Los Papilomavirus humanos, son pequeños virus de ADN de doble cadena circular, poseen cerca de 8.000 pares de bases. Posee una estructura simple que consta de una cápside proteica de simetría icosaédrica con 72 capsómeros, que afecta células escamosas del epitelio del tracto genital bajo (como vagina, vulva, cuello uterino y ano), así como también al epitelio oral y nasal, encontrándose que en su interior el material genético bajo la forma de ADN doble cadena circular; carece de envoltura considerándose como un virus desnudo.⁷

Las partículas virales son proteínicas y carecen de envoltura (virus desnudo) siendo muy estables a condiciones adversas del medio externo y con capacidad de infección duradera.⁸

Clasificación taxonómica

El VPH pertenece a la familia Papilomaviridae, incluida en el género papilomavirus, que infecta y replica en el núcleo de células epiteliales (piel y mucosas).

Se han identificado más de 100 tipos virales y 85 se han caracterizado, pero solamente 15 se han relacionado con el cáncer el cuello uterino y las lesiones pre malignas.⁹ Los tipos de virus de HPV se diferencian entre sí por la cantidad de los aminoácidos estructurales de la proteína mayor L1 de su cápsida.¹⁰

Por lo cual se les ha dado una clasificación en cutáneos y mucosos. Los tipos de VPH mucosos asociados con lesiones benignas (tipos 6 y 11 principalmente) son conocidos como tipos de "bajo riesgo" y se encuentra preferentemente en los condilomas acuminados, mientras que aquellos tipos asociados a lesiones malignas (tipos 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51 y 52, principalmente) son conocidos como virus de "alto riesgo".^{2,3} Entre ellos, los VPH 16 y 18 son los oncogénicos más comunes, que causan aproximadamente el 70 % de los cánceres cervicales en todo el mundo. Otras clasificaciones menos estrictas incluyen a los tipos 56, 58 y 59, 68, 73 y 82, y los tipos 26, 53 y 66 como probablemente carcinogénicos.¹¹

Tipos de VPH

El VPH principal factor etiológico del CaCu pertenece a la familia Papillomaviridae y al género Papillomavirus, son un grupo de virus de ADN divergentes, de los cuales un grupo selecto Alpha-papillomavirus, Beta-papillomavirus y Gamma-papillomavirus infectan humanos.¹²

Los genotipos 16 y 18 son los más estudiados, por este motivo se cuenta con información más detallada de su variación genética, lo cual ha permitido su subclasificación en variantes. Así, el virus tipo 16 presenta las variantes europeas (E), asiática (As), asiático-americana (AA), norteamericana (NA), africana-1 (Af1) y africana-2 (Af2), mientras que el tipo 18 presenta las variantes europeas (E), africana (Af) y asiático-amerindia (AAI).¹³

Estructura

Tienen un diámetro de 55-60 nm, con una cápside viral que consta de 72 capsómeros ordenados de forma icosaédrica. El VPH codifica sólo de 9 a 10 tipos de proteínas, carece de proteasas, ADN polimerasa, o de enzimas involucradas en el metabolismo de los nucleótidos. Todo esto ha impedido el desarrollo de terapias específicas contra el VPH.¹⁴

Proteínas

Estos virus constan de varios genes u open reading frames (ORF) de dos tipos diferentes: hasta ocho genes de expresión temprana o early (E1-E8), cuya expresión se traduce en proteínas implicadas en la regulación y replicación viral, y dos genes de expresión tardía o late (L1, L2), cuya expresión genera las proteínas para el ensamblaje de la cubierta viral, la cápside.¹²

La región de control, también denominada long control región (LCR), encargada de controlar la expresión de los genes tempranos E6 y E7.⁹

Inmunopatología

La regulación genética del VPH reside fundamentalmente en su región no codificadora del genoma viral conocida como región larga de control o RLC, conservando elementos de regulación comunes en todos los tipos virales.

La región LCR, se encuentra dividida en dos dominios, el RE2, que está regulado por la presencia de la proteína viral E2, sitio en el que se localiza el promotor temprano como origen de la replicación del ADN viral y el dominio CE (celular enhancer), que es un potente potenciador de la transcripción que depende de factores transcripcionales.^{15,16}

En el promotor temprano se encuentra en el dominio RE2, a partir del cual se transcriben los oncogenes E6 y E7. Son capaces de unirse a la p53 y la proteína del retinoblastoma (pRb), respectivamente, inhibirlas funcionalmente e inducir su degradación rápida por la vía de la ubiquitina-proteosoma.¹⁷

En las células normales, la proteína p53 es un regulador negativo del crecimiento celular, en el control de tránsito del ciclo celular y también funciona como una proteína supresora de tumor. Esta proteína detiene el crecimiento celular después de un daño cromosómico y permite que las enzimas de reparación del ADN actúen. En el cáncer de cuello de útero, p53 no está mutado.¹⁸

La proteína E2, desempeña un papel importante en la regulación genética del VPH suprimiendo o activando la transcripción de acuerdo a la cercanía en la que se encuentren sus sitios de interacción y la caja TATA. En las infecciones de tipo genital existe dos sitios de E2: ACCGN-4 + CGGT a 3-4 pb de la caja TATA, que resulta de la represión del promotor temprano debido a la exclusión física de los factores asociados a la caja TATA.¹⁸

La proteína E2, desempeña un papel importante en la regulación genética del VPH suprimiendo o activando la transcripción de acuerdo a la cercanía en la que se encuentren sus sitios de interacción y la caja TATA. En las infecciones de tipo genital existe dos sitios de E2: ACCGN-4 + CGGT a 3-4 pb de la caja TATA, que resulta de la represión del promotor temprano debido a la exclusión física de los factores asociados a la caja TATA.¹⁸

En estos casos la proteína E2 tiene tres dominios funcionales que son el extremo carboxilo terminal, sitio en donde se realiza la función de interacción con el ADN, lugar en el que reside la capacidad de represión transcripcional, el extremo amino terminal, sitio de la actividad potenciadora de la transcripción independientemente de la interacción con el ADN y la región intermedia que es considerada como bisagra por su alto contenido de prolina. La facilidad del extremo amino de interactuar físicamente con factores celulares, le da la capacidad de activación de E2.¹⁶

Oncogenicidad

Ciclo de vida del VPH

El VPH infecta principalmente a las células epiteliales basales estratificadas del cérvix. Las partículas virales infectan al huésped cuando entran en las células epiteliales basales a través de lesiones provocadas en la piel, produciendo una línea vírica en esa misma célula.¹⁹

En las infecciones por VPH, la síntesis de nuevos viriones tan sólo ocurre tras la fase de mitosis de la célula anfitriona y cuando una de las células hijas se ha diferenciado. El ciclo vital del VPH está relacionado con la producción de viriones maduros limitados a las células suprabasales diferenciadas. Cuando el queratinocito infectado entra al compartimento de diferenciación, sale del ciclo celular, hay una regulación positiva de la expresión de los genes virales, ocurre la replicación del ADN viral y entonces el número de copias virales aumenta al menos a 1000 copias/célula, ocurre la expresión de los genes tempranos E6 y E7 y de los genes tardíos.²⁰

Las infecciones genitales por el VPH son transmitidas principalmente por contacto sexual, se considera que a través de microabrasiones del epitelio que expone a la infección viral a las células de la capa basal.^{21,22}

Tipos de Infección por VPH

La forma clínica de la infección por Papilomavirus es variable, se caracteriza por ir desde portadores asintomáticos con resolución espontánea hasta algún tipo de cáncer, especialmente Cáncer cervicouterino invasivo que puede llevar a la muerte.²³

La infección latente: Se caracteriza porque el ADN viral permanece en el núcleo en forma episomal o circular libre, el virus se mantiene en la superficie sin replicarse.²³

Infección activa o productiva: La replicación del ADN viral está en intensa actividad, con la generación de viriones, tras la fase de mitosis de la célula anfitriona, es decir en las capas superficiales e intermedias del epitelio escamoso, con la producción de proteínas de la cápside y la síntesis de ADN viral en grandes cantidades y producen cambios celulares.^{23,24}

Para que el VPH alcance la capa basal del epitelio, esta debe quedar expuesta por heridas o microtraumas. En ese momento el heparán sulfato actúa como mediador inicial para la unión entre el virus y la célula basal.²⁵

Proceso del cáncer

La carcinogénesis es el proceso por el cual las mutaciones producidas en el DNA de células sanas llevan a la aparición de células cancerosas.²⁶ Se caracteriza por tener una duración variable, según el tipo de cáncer y se han descrito cuatro fases bien diferenciadas: La iniciación: Aparecen las mutaciones del DNA: división descontrolada, capacidad de invasión local y diseminación a distancia. Cáncer "in situ", se genera el tumor primario. Invasión local: Extensión del tumor primario a las estructuras vecinas y aparición de síntomas. Invasión a distancia o metástasis: las células cancerosas pasan al torrente sanguíneo o linfático diseminándose a otros órganos, dando origen a tumores secundarios y metástasis.²⁷

Nomenclatura y diagnóstico de las lesiones intraepiteliales cervicales

En 1928, Papanicolaou establece la primera propuesta de nomenclatura de las lesiones cervicales (LC). Se toma el consenso para el uso de la terminología de las tres lesiones cervicales mayores: carcinoma invasor, CIS y Displasias. Éstas últimas divididas en tres grados: leve, moderada y severa. Esta clasificación fue asumida por la Organización Mundial de la Salud.^{28,29}

El sistema Bethesda es empleado para reportar diagnósticos citológicos cervicales vaginales, agrupa las lesiones de una manera un poco diferente y las denomina lesiones intraepiteliales escamosas de grado bajo y alto.

Las lesiones intraepiteliales escamosa de bajo grado (LIEBG) reflejan afecciones que rara vez progresan en gravedad y de manera habitual desaparecen (NIC-1, displasia leve). La lesión Intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG) describe lesiones histológicas más graves (NIC-2 y NIC-3), las cuales tienden a progresar y requieren tratamiento.^{30,31}

Métodos diagnósticos

Citología vaginal (Papanicolaou)

Utilizada como screening para el diagnóstico precoz del cáncer de cuello uterino, (no se considera como prueba diagnóstica). Cuando sus resultados son positivos o anormales, se recomienda realizar colposcopia y tomar una biopsia dirigida del sitio de la lesión en los casos que lo ameriten.³²

Citología líquida

La citología líquida es una técnica que es capaz de corregir distintas fuentes responsables de los falsos negativos. En este sentido, casi la totalidad de las células son transferidas al medio conservante, fijándose inmediatamente, el proceso automatizado, dispersa y homogeneiza la muestra celular obteniéndose como resultado una capa fina de células representativas, bien conservadas y libres de artefactos. Se ha evidenciado una mejoría en los resultados con la citología en medio líquido.³²

Colposcopia

Se basa en un sistema estereoscópico que permite ver la coloración, angioarquitectura y existencia de lesiones del cérvix con aumento. Después de la observación directa, se coloca ácido acético al 3 o 5% para localizar zonas

de transformación celular por reacción acetoblanca del epitelio y permitir tomar una biopsia dirigida del sitio de la lesión.⁴ Es importante señalar que el examen de colposcopia tiene una alta sensibilidad, pero baja especificidad.⁴

Inmunohistoquímica

Puede definirse como la identificación de un constituyente tisular (antígeno) in situ, mediante una reacción antígeno-anticuerpo específica visualizada con un marcador coloreado.³³

El objetivo de la histoquímica es poner de manifiesto una molécula o familia de moléculas presentes en una sección histológica y estudiar su distribución tisular "in situ". Evitar dañar a la molécula que queremos detectar porque de otra manera resultaría en falsos negativos, es decir, no tener tinción cuando en realidad la molécula de interés sí está presente en el tejido, aunque deteriorada.³³

DOT/SLOT BLOT

Tras el aislamiento y separación de los ácidos nucleicos, éstos se aplican directamente a la membrana sin separarlos, según su peso molecular; es decir, no se realiza electroforesis. Es posible realizar detecciones no sólo cualitativas (positivo o negativo) sino también cuantitativas, utilizando como patrón diluciones seriadas de concentraciones conocidas del genoma que se está determinando. Son especialmente útiles cuando se quieren detectar fragmentos obtenidos a partir de una clonación en que la cantidad de fragmentos en la mezcla es pequeña y no representa mucha dificultad su localización.³³

Hibridación in situ

El método de Hibridación in situ por fluorescencia (FISH) se basa en la detección y localización de secuencias específicas de ADN o ARN dentro de las células o tejidos; esta técnica consiste en colocar la sonda directamente sobre el espécimen (material genético como cromosomas, citologías, secciones histológicas embebidas en parafina) que tiene la secuencia del DNA inmovilizada; el tejido es tratado con una enzima que permite el acceso de la sonda al DNA nuclear, el que ha sido previamente desnaturalizado por calor. La sonda viene ligada a una sustancia fluorescente.³⁴

Su efectividad de 94%, permite conocer con precisión si la mujer posee un alto riesgo de desarrollar cáncer cervicouterino.³⁵ La cual permite determinar la presencia viral con alto grado de certeza, además de que define el tipo de VPH, su única desventaja es que no reporta el genotipo específico, sino que los agrupa en alto y bajo riesgo oncogénico. Tiene una sensibilidad del 92.5% y especificidad del 51%.³⁵

Southern blot

Es una estrategia estándar para analizar DNA previamente digerido con enzimas de restricción. Esta técnica se utiliza para determinar la presencia de un gen o fragmentos del DNA específicos en una mezcla de ácidos nucleicos extraídos con anterioridad.³⁶

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente.³⁷

El copiado de la secuencia blanco se logra en forma exponencial, por medio de ciclos repetidos de diferentes períodos y temperaturas de incubación, en presencia de una enzima ADN polimerasa termoestable.³⁷

Los sistemas de PCR de consenso son los más utilizados en la detección de VPH, la mayoría están diseñados en la región L1 del genoma viral, debido a que es una de las regiones más conservadas dentro del genoma de los VPH.³⁷

Inmunización

Un factor de prevención consiste en la inmunización. En la actualidad se encuentran disponibles dos vacunas que brindan protección contra los bivalentes (VPH-16 - VPH-18), y contra los tetravalentes (VPH-6 y el VPH-11).³⁹

Los efectos adversos documentados a partir de junio de 2006 y hasta marzo de 2014 fueron 25.176, lo cual demuestra que las vacunas contra el VPH son seguras. En cuanto a la duración exacta de la inmunidad aún continúa en seguimiento. En los 10 años posteriores al inicio de su administración no se ha registrado disminución de la inmunidad en las mujeres que recibieron la vacuna.³⁹ Otro aspecto vital que se debe considerar en los programas de inmunización es su utilidad en un área geográfica específica según los genotipos de VPH circulantes.

Situación actual en Ecuador

Estudios previos realizados en el Ecuador muestran un 86% de prevalencia de VPH en lesiones cervicales cancerosas o precancerosas de 164 mujeres ecuatorianas, siendo los genotipos más comunes el VPH16 (41.8%) y VPH58 (30.5%).⁵

Así mismo en febrero del 2016, en un estudio en el cual se analizaron 1581 muestras cervicales provenientes de mujeres Ecuatorianas se encontró un 43.58% de positividad para infección por VPH siendo los genotipos más frecuentes el 16.3 y 11 estableciéndose así reportes importantes acerca de los genotipos circulantes en el país y su relación con las lesiones cervicales.⁶

Un reporte de 2012, del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), dio a conocer que 664 ecuatorianas fallecieron por causa del cáncer de cérvix, lo cual ha obligado al Ministerio de Salud Pública (MSP) y a Solca a trabajar mancomunadamente para reducir la incidencia y la tasa de mortalidad por esta enfermedad.

Datos publicados en el libro de epidemiología del cáncer en Quito, señalan que desde el 2006 al 2010 destacan una mayor incidencia en Loja (31.3), El Oro y Guayaquil (23.3), mientras que Cuenca y Quito registran las tasas más bajas del Ecuador.⁴⁰

Ecuador en los últimos años se encuentra importando vacunas contra el virus del papiloma, gastando alrededor de 6'943.792 dólares estadounidenses al año. La prioridad de las autoridades de salud es que estas vacunas ofrecen protección contra el 75% de las infecciones por el virus del papiloma. Los resultados arrojados por diversos estudios sugieren que esta protección es menor al 30% para las mujeres en la provincia de Guayas. Es decir, que se debe iniciar una línea de investigación específica para que Ecuador pueda proteger a su población femenina de las cepas locales prevalentes de VPH.⁴¹

Conclusiones

Se considera de vital importancia conocer la situación actual del cáncer de cuello uterino en el país a través de estudios epidemiológicos y jornadas de atención primaria en salud que impliquen diagnóstico de casos que permitan un tratamiento oportuno que incida directamente en la disminución de la tasa de mortalidad por este tipo de cáncer principalmente en mujeres en rangos de edad reproductiva y productiva, así mismo es necesario conocer detalladamente los genotipos de VPH circulantes a fin de establecer un esquema de inmunización que sea efectivo.

Conflicto de intereses

Ninguno declarado por los autores.

Financiación

Autofinanciado.

Agradecimientos

Ninguno declarado por los autores.

Referencias

1. OPS OMS | Cáncer Cervicouterino. (2016). Recuperado 26 de mayo de 2017, a partir de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5420&Itemid
2. World Health Organization, World Health Organization, & Reproductive Health and Research. (2014). Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice. Recuperado a partir de http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/144785/1/9789241548953_eng.pdf?ua=1
3. Cancer of the Cervix Uteri - Cancer Stat Facts. (2017). Recuperado 26 de mayo de 2017, a partir de <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cervix.html>
4. González Blanco, M. (2014). Infección genital por virus de papiloma humano: ¿Cómo abordar el diagnóstico? Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela, 74(4), 217-221.
5. Mejía L, Muñoz D, Trueba G, Tinoco L, & Zapata S. (2016). Prevalence of human papillomavirus types in cervical cancerous and precancerous lesions of Ecuadorian women. Journal of Medical Virology, 88(1), 144-152. <https://doi.org/10.1002/jmv.24310>
6. Muentes G, David G, Rodríguez G, Karen L, Galarraga B, Israel R, Carlos J. (2016). Genotypes distribution of human papillomavirus in cervical samples of Ecuadorian women. Revista Brasileira de Epidemiologia, 19(1), 160-166. <https://doi.org/10.1590/1980-5497201600010014>
7. Picconi, M. A. (2013). Detección de virus papiloma humano en la prevención del cáncer cérvico-uterino. Medicina (Buenos Aires), 73(6), 585-596.
8. Brown, J. C. (1991). Structures of bovine and human papillomaviruses. Biophys J, 60, 1445-1456. <https://doi.org/10.1085/jgp.1991.60.1445>
9. Rincón O. L., Pareja L. R., Jaramillo S., & Aristizábal B. H. (2007). Human papillomavirus, immune response and cervical cancer: a complex relationship. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología, 58(3), 202-212.
10. Jung WW, Chun T, Sul D, Hwang KW, Kang HS, Lee DJ, Han IK. Strategies against human papillomavirus infection and cervical cancer. J Microbiol. 2004 Dec; 42(4):255-66. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15650698>
11. Castro-Jiménez Miguel Ángel, Vera-Cala Lina María, Posso-Valencia Héctor Jaime. Epidemiología del cáncer de cuello uterino: estado del arte. RevColombObstetGinecol [serial on the Internet]. 2006 Sep [cited]; 57(3): 182-189. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342006000300006&lng=en
12. Muñoz, N., Bosch, F. X., de Sanjosé, S., Herrero, R., Castellsagué, X., Shah, K. V. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. (2003). Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. The New England Journal of Medicine, 348(6), 518-527. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa021641>
13. Yamada, T., Wheeler, C. M., Halpern, A. L., Stewart, A. C., Hildesheim, A., & Jenison, S. A. (1995). Human papillomavirus type 16 variant lineages in United States populations characterized by nucleotide sequence analysis of the E6, E7, and L1 coding segments. Journal of Virology, 69(12), 7743-7753.
14. Concha R, M. (2007). Diagnóstico y terapia del virus papiloma humano. Revista chilena de infectología, 24(3), 209-214. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182007000300006>
15. Grillo-Ardila, C. F., Martínez-Velásquez, M. Y., & Morales-López, B. (2008). Molecular aspects of human papillomavirus and cervical cancer. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología, 59(4), 310-315.
16. Consuegra Mayor, C. P., Molina Campo, D., Egea Bermejo, E., & Garavito de Egea, G. (2012). El virus del papiloma humano (HPV), agente viral importante precursor de la mayoría de las displasias o cáncer cervical. Revista Científica Salud Uninorte, 19(0). Recuperado a partir de <http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/salud/article/view/4121>
17. Scheffner, M., Münger, K., Byrne, J. C., & Howley, P. M. (1991). The state of the p53 and retinoblastoma genes in human cervical carcinoma cell lines. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 88(13), 5523-5527.
18. Doorbar, J., Quint, W., Banks, L., Bravo, I. G., Stoler, M., Broker, T. R., & Stanley, M. A. (2012). The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine, 30 Suppl 5, F55-70. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>

19. Shors, T. (2009). Estudio Molecular con Orientación Clínica. Buenos Aires: MedicaPanamericana.
20. Longworth, M. S., & Laimins, L. A. (2004). Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*: MMBR, 68(2), 362-372. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.2.362-372.2004>
21. Bosch, F. X., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C. J. L. M., & Shah, K. V. (2002). The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of Clinical Pathology*, 55(4), 244-265.
22. Garza-Salazar, J. G. de la, Morales-Vásquez, F., & Meneses-García, A. (2017). *Cervical Cancer*. Springer.
23. Alonso P, Lazcano E. (2005). Cáncer Cervicouterino, diagnóstico, prevención y control. MedicaPanamericana.
24. Frazer, I. H. (2004). Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. *Nature Reviews. Immunology*, 4(1), 46-54. <https://doi.org/10.1038/nri1260>
25. Schäfer, F., Florin, L., & Sapp, M. (2002). DNA binding of L1 is required for human papillomavirus morphogenesis in vivo. *Virology*, 295(1), 172-181. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1361>.
26. Falcón, E., César, J., Cardona Almeida, A., Acosta Gómez, Y., Valdés Mora, M., & Olano Rivera, M. (2012). Acerca del cáncer cervicouterino como un importante problema de salud pública. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 28(4), 735-746.
27. Flinan, M. A. et al. (2001). Cáncer Cervical Microinvasivo.
28. Nápoles, S., & R, M. (2008). Neoplasia Intraepitelial Cervical: Preámbulo del cáncer cérvicouterino. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 34(2), 0-0.
29. Martínez, J. C., Pardo, I. F. M., & Medina, R. G. (2015). Métodos actuales de diagnóstico del cáncer de cuello uterino Current methods of diagnosis of cervical cancer. *REVISTA DE CIENCIAS MÉDICAS. LA HABANA*, 21(1). Recuperado a partir de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revciemedhab/cmh-2015/cmh1510.pdf>
30. González Blanco, M. (2014). Infección genital por virus de papiloma humano: ¿Cómo abordar el diagnóstico? *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 74(4), 217-221.
31. Grimaldo Carvalho. (2010). *Citología del tracto Genital femenino* (5ta. Ed.). Río de Janeiro: Amolca.
32. Técnicas diagnósticas del VPH · Toco-Gyn, S.L. · Consultorio Clínico Ginecológico Integral para la Salud de la Mujer. (2013). Recuperado 28 de mayo de 2017, a partir de <http://www.tocogyn.com/tecnicas-diagnosticas-del-VPH.asp>.
33. Salazar et al. (2013). *Biología Molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud* (1.a ed.). McGraw-Hill. Recuperado a partir de <http://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookID=1803>
34. Ronald A. (1999). *In Situ Hybridization Techniques for the Analysis of gene Expression*.
35. Suárez, L. R. (2012). Virus de papiloma humano y cáncer de cuello de útero. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 69(601), 129-132.
36. Gravitt, P. E., Peyton, C. L., Alessi, T. Q., Wheeler, C. M., Coutlée, F., Hildesheim, A., ...Apple, R. J. (2000). Improved amplification of genital human papillomaviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1), 357-361.
37. Tamayo de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en discapacidad*, 2(2), 70-78.
38. Iftner, T., & Villa, L. L. (2003). Chapter 12: Human papillomavirus technologies. *Journal of the National Cancer Institute. Monographs*, (31), 80-88.
39. Stokley, S. (2014). Human papillomavirus vaccination coverage among adolescents, 2007-2013, and postlicensure vaccine safety monitoring, 2006-2014--United States. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63(29), 620-624.
40. IACR - Software for cancer registries. (2015). Recuperado 26 de mayo de 2017, a partir de http://www.iacr.com.fr/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=68&Itemid=445.
41. Guido S, Francisco A, Walter M, Ricardo S; Prevalence and Molecular Epidemiology of Human Papillomavirus in Ecuadorian Women with Cervical Cytological Abnormalities; *Journal of Data Mining in Genomics & Proteomics*; Ecuador-Guayaquil; Received date: June 20, 2015; Accepted date: July 15, 2015; Published date: July 23, 2015; Recuperado de: <https://www.omicsonline.org/open-access/prevalence-and-molecular-epidemiology-of-human-papillomavirus-inecuadorian-women-with-cervical-cytological-abnormalities-2153-0602-1000174.php?aid=56763>