
**DETECCION INMUNOHISTOQUIMICA DE ANTIGENOS DEL PAPILOMA
VIRUS HUMANO Y DEL VIRUS HERPES SIMPLE TIPO II EN LA
NEOPLASIA INTRAEPITELIAL CERVICAL Y CARCINOMA INVASOR DE CERVIX**

*Ma. Adelaida Botero R., Juan Darío Uribe U.
Ricardo A. Mesa C., Genarina Escobar, B.S**

Palabras claves: *Inmunohistoquímica, papiloma virus humano, Virus Herpes Simple Tipo II, Neoplasia Intraepitelial Cervical, Carcinoma invasor de cérvix.*

RESUMEN

Para conocer la presencia de los virus Herpes simple tipo 2 (V.H.S-2) y papiloma virus humano (P.V.H) en las lesiones premalignas y malignas del cérvix uterino i.e NIC I-III y CA invasor., se inició un estudio retrospectivo de 125 biopsias en noviembre de 1986. Morfológicamente 24% de las biopsias contenían displasias y 76% carcinoma insitu e invasor. A 90 especímenes histológicos se les investigó con la técnica de Inmunoperoxidasa la presencia de antígenos de los virus P.V.H. y V.H.S-2 resultando positivos el 21.1% y 5.6% de los casos respectivamente; no se detectó la presencia de los virus simultáneamente y el P.V.H. se identificó 1.5 veces más frecuentemente en el carcinoma invasor que en la neoplasia intraepitelial cervical I-II-III.

A 76 pacientes se les realizó encuesta para investigar la correlación de la infección viral con los factores de riesgo del cáncer de cérvix. Se encontró que el P.V.H. está presente en mayor proporción en las pacientes con diagnóstico anatomopatológico NIC-III y CA invasor, con 4 hijos o menos y que

iniciaron vida sexual entre los 15 y 18 años; este hallazgo indica la posibilidad de infección por el P.V.H. desde edades tempranas de la vida y persistencia del virus en forma latente en el epitelio escamocelular del cérvix.

Observamos que el hábito de fumar es una característica del 75% de las mujeres infectadas por el papiloma virus.

En este estudio no se demostró una asociación estadísticamente significativa entre los virus V.H.S-2 y P.V.H. con el CA de cérvix. Sin embargo, nuestros resultados sugieren un papel del papiloma virus y el hábito de fumar en el proceso de carcinogénesis cervical, que debe ser investigado con más detalle.

INTRODUCCION

El cáncer de cérvix es una de las neoplasias malignas más comunes en la mujer (1).

Esta neoplasia involucra lesiones displásicas (neoplasia intraepitelial cervical) precursoras del carcinoma insitu e invasor (2) por un mecanismo de progresión que aún no se conoce (3).

El comportamiento sexual se ha tenido desde 1842 (4) como un factor importante en la carcinogénesis cervical; factores tales como la edad temprana al primer coito, multiparidad, promiscuidad sexual, relaciones maritales inestables, y enfermedades venéreas se han encontrado asociadas estadísticamente con el cáncer de cérvix (5,6,7,8,37) e indirectamente señalan a un

* Ma. Adelaida Botero R., Juan Darío Uribe U.
Internos de la Facultad de Medicina
Instituto de Ciencias de la Salud C.E.S.
Dr. Ricardo A. Mesa C.
Profesor de Patología
Instituto de Ciencias de la Salud C.E.S.
Dra. Genarina Escobar, B.S.
Profesora Depto. de Morfología - Facultad de Medicina
U. de A. - Medellín-Colombia

agente infeccioso sexualmente transmitido, relacionado con la enfermedad.

Se han sugerido diferentes patógenos como agentes etiológicos del carcinoma de cérvix, en especial los virus que tienen capacidad demostrable de transformar células in vitro y en vivo (9,10).

El virus Herpes Simple tipo 2 ha sido investigado extensamente encontrándose evidencias seroepidemiológicas y moleculares altamente sugestivas de una asociación con el carcinoma escamocelular de cérvix (11,12,13,14,15).

Recientemente la atención se ha enfocado principalmente a ciertos tipos de papiloma virus humano (PVH-6, PVH-11, PVH-16, PVH-18) a quienes se les atribuye una estrecha relación con la neoplasia intraepitelial cervical y el carcinoma invasor (19,21,22,23). Esta asociación está basada en evidencias morfológicas, inmunohistoquímicas e hibridización molecular que demuestran la presencia de papiloma virus en la gran mayoría de dichas lesiones neoplásicas. Cambios morfológicos consistentes con la infección del papiloma virus (condiloma plano, invertido y papilomatoso) se han reconocido en 80% de las neoplasias intraepiteliales cervicales (16); antígenos estructurales de PVH se han demostrado repetitivamente con la técnica de inmunoperoxidasa en casi 50% de las neoplasias intraepiteliales (17,18) y estudios de hibridización molecular han revelado secuencias de ácido deoxyribonucleico (DNA) de varios tipos de papiloma virus (PVH-6-11-16-18) en 80% de todos los grados de displasias y carcinoma invasor (20,24,25).

A pesar de todas las evidencias reportadas por varios autores, la presencia de partículas virales o secuencias de D.N.A. en células tumorales no pueden ser tomadas aún como evidencia firme del papel etiológico de los virus y la posibilidad de ser infecciones oportunistas no se puede excluir. Es por ello que se requiere entender aún más el proceso de carcinogénesis y obtener mayor información acerca de la prevalencia de la infección de cada virus en el cérvix.

El presente estudio tiene como finalidad dar a conocer por medio de la técnica de inmunoperoxidasa una aproximación sobre la frecuencia en nuestro medio de los virus P.V.H. y V.H.S-2 en las lesiones displásicas y neoplásicas del cérvix. Además, correlacionar la presencia de la infección viral con factores de riesgo del cáncer de cérvix y el hábito de fumar.

Las tendencias serán más definidas a medida que se aumente el número de pacientes en el estudio.

MATERIALES Y METODOS

Población Estudiada

En el Hospital General de Medellín, se realizó un estudio retrospectivo de Biopsias de cérvix con diagnóstico anatomopatológico de neoplasia intraepitelial cervical I, II, III y carcinoma escamocelular invasor, obtenidas durante el período comprendido entre septiembre de 1985 y noviembre de 1986.

A todos los tejidos de las Biopsias se les realizó al azar tinción inmunohistoquímica con el método de peroxidasa antiperoxidasa (P.A.P.), con el fin de detectar la presencia o no de antígenos virales del Herpes Simple tipo 2 y/o papiloma virus humano. Además se realizó encuesta epidemiológica a aquellas pacientes registradas con historia del Hospital General de Medellín y que tenían número telefónico para ser localizadas. El formato de la encuesta constaba de los siguientes datos: número de historia clínica, número de matrícula de anatomía patológica, tipo de diagnóstico realizado (NIC I, NIC-II, NIC III, CA Invasor), positividad para la presencia de Herpes Virus tipo 2 y/o papiloma virus, estado socioeconómico, raza, edad primer coito, número de coitos semanales, número de compañeros sexuales, número de embarazos incluyendo paridad y abortos, métodos de anticoncepción, infecciones cervicales anteriores al diagnóstico, circuncisión del compañero sexual, citologías anteriores y su resultado, hábito de fumar.

Técnica inmunoperoxidasa

Se obtuvieron cortes histológicos de cuatro micras de espesor, los cuales previamente habían sido fijados en formol al 10% y embebidos en parafina. Los cortes histológicos fueron estudiados con la coloración de hematoxilina-eosina para su identificación patológica y por el método (26-27) de peroxidasa-antiperoxidasa (P.A.P.) para el hallazgo de los antígenos virales de Herpes Simple tipo 2 y/o papiloma virus humano.

Los siguientes reactivos fueron utilizados en el estudio inmunológico (P.A.P.):

- Suero de conejo anti-herpes virus; suero de conejo antipapiloma virus. (Miles Sci Naperville, U.S.A.; Dako Corporation Santa Barbar C.A. U.S.A.).
- Suero de cerdo IgG de conejo como antisuero ligante. (Miles Sci Naperville, U.S.A.; Dako Corporation Santa Barbar C.A. U.S.A.).
- Complejo de peroxidasa anti-peroxidasa preparado en conejo. (Miles Naperville, U.S.A.; Dako Corporation Santa Barbar C.A. U.S.A.)

Localización Histológica de los Antígenos de Herpes Virus y Papiloma Virus:

Los cortes desparafinados en xilol fueron colocados en un gradiente descendente de etanol (100%, 95%, 50%, 15%) cinco minutos respectivamente, seguidos de un lavado en solución salina tamponada TRIS (TBS) pH 7,6 (Schwarz/Mann, Inc.N.Y).

Posteriormente los cortes histológicos fueron coloreados durante cinco minutos con una solución de peróxido de hidrógeno al 3% para destruir la peroxidasa endógena.

Después de ser lavados en TBS, se incluyeron en suero normal de cerdo durante veinte minutos a temperatura ambiente con el objeto de bloquear antígenos específicos.

Inmediatamente los cortes histológicos fueron incubados con los antisueros anti-herpes virus y papiloma virus respectivamente por espacio de una hora a temperatura ambiente y posteriormente lavados en dos cambios de TBS durante diez minutos.

Seguidamente los cortes histológicos fueron incubados con el antisuero ligante (cerdo-anti-conejo) durante una hora a temperatura ambiente y lavados en TBS durante diez minutos.

Finalmente los cortes histológicos fueron incubados durante una hora a temperatura ambiente en el complejo PAP y lavados en TBS.

Con el objeto de visualizar la reacción de la peroxidasa, los cortes histológicos fueron incubados durante 40 minutos a temperatura ambiente con la siguiente solución: 2 cc de acetato 0.1 M P.H.5.2, a la cual se le añadió una gota de peróxido de hidrógeno al 0.3% y una gota de 3 amino 9 etil carbazol NN dimetil formamida.

Seguidamente se procedió a lavar los cortes histológicos con agua destilada coloreando con hematoxilina de Harris (28) y realizando inmediatamente el montaje con glicerina.

La lectura se realizó con microscopio de luz considerando los sitios histológicos reactivos como aquellos que contenían intracelularmente una reacción granular de color rojo magenta. En contraposición las áreas histológicas negativas aparecen de color azul claro (ver figura 1).

Cada prueba inmunológica se realizó siempre con láminas controles positivas a los antígenos virales investigados (figura 1-2). (Dako Corporation Santa

Barbar CA. U.S.A.) y láminas controles negativas en las que se omitía el antisuero primario.

Con el objeto de evitar contaminaciones de los antisueños entre sí, se realizó por separado en cámaras húmedas individuales la incubación de los grupos de láminas tratadas con antisuero específico viral.

Con el objeto de incrementar la posibilidad de reacciones positivas, algunos casos sospechosos de infección herpética fueron tratados previo a la reacción inmunológica con una solución de tripsina según el método de Qualmar et al (29).

Análisis Estadístico

Se analizaron todos los casos con tres variables y aquellos con encuesta epidemiológica con 26 variables cada uno.

Toda la información fue procesada con el paquete estadístico S.P.S.S.; obteniéndose frecuencias, porcentajes, promedios y valores de chi cuadrado con un 5% de nivel de significancia.

Para un análisis de correlación se realizó cruces entre las variables más importantes y confiables con la variable de cada virus.

RESULTADOS

Se procesaron un total de 125 biopsias cervicales a pacientes con neoplasia intraepitelial cervical I (n=21), II (n=9), III (n=48) y carcinoma escamocelular invasor (n=47) distribuidas al azar. La mayor proporción de casos se concentró en los diagnósticos NIC III (P=0.384) Y CA invasor (P=0.376). A todos los especímenes se les practicó la técnica de inmunoperoxidasa y en forma arbitraria se investigó la presencia de antígenos virales específicos de los virus P.V.H. y V.H.S-2, resultando un total de 90 biopsias teñidas para cada virus por separado.

No se encontró positividad simultánea de los virus; y el PVH (n=13) se presentó con mayor frecuencia que el VHS-2 (n=4) en la población a la que se le estudió la presencia concomitante del papiloma y el herpes virus (n=55).

El antígeno del papiloma virus humano visualizado intranuclearmente como una reacción granular rojo magenta (Figura 1), fue detectado en 21.1% de los 90 especímenes en contraposición con el 5.6% de los casos positivos para el Herpes Simple (Tabla 1). No se obtuvo significancia estadística en ninguno de los dos grupos.

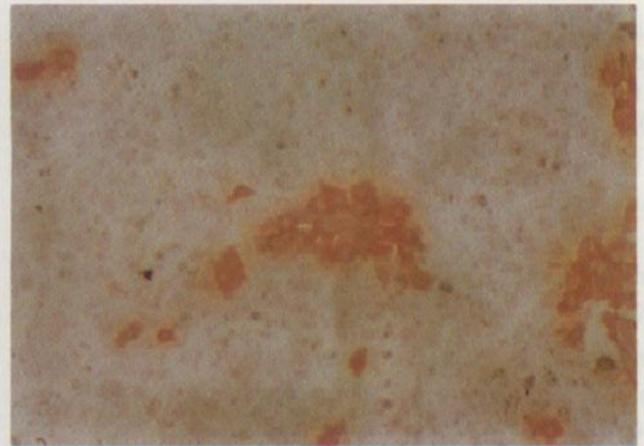
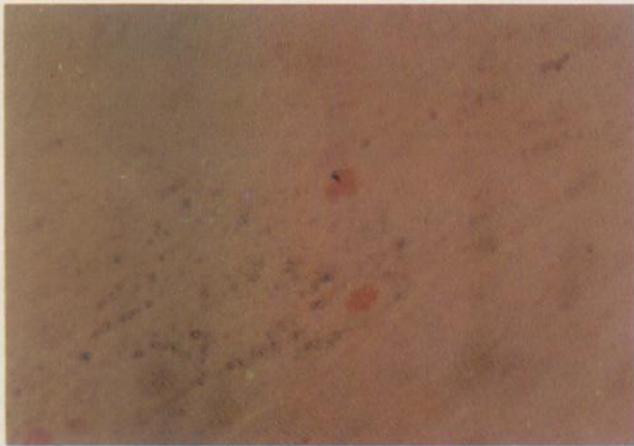


FIGURA 1

Control Positivo - Papiloma Virus.
 Microfotografía de un corte histológico de verruga vulgar.
 Los puntos oscuros señalados con la flecha demuestran la
 presencia del antígeno viral (Técnica de inmunoperoxidasa-
 400X).

FIGURA 2

Control Positivo - Virus Herpes Simple Tipo 2.
 Obsérvese la coloración rojo magenta alrededor del núcleo
 de células infectadas. 400X.

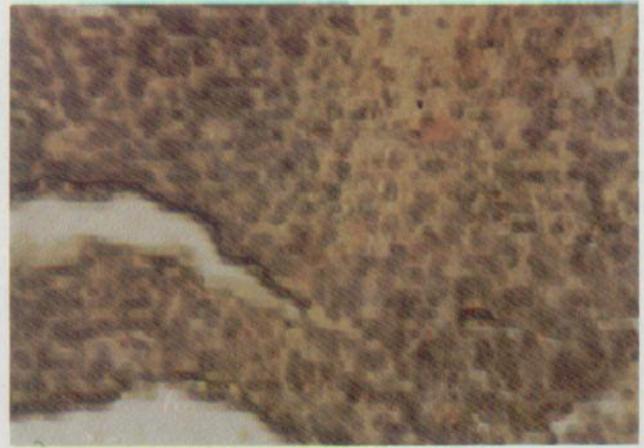
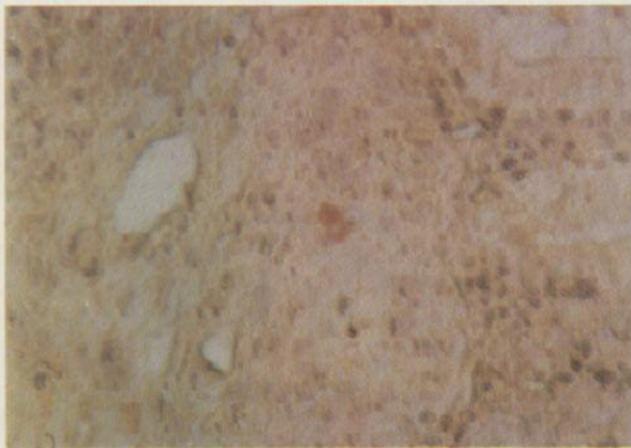


FIGURA 3

Presencia del Papiloma - Virus Humano en el Carcinoma
 insitu. (Tec. Inmunoperoxidasa 400X)

FIGURA 4

Presencia del Papiloma - Virus Humano en el Carcinoma
 invasor. (Tec. inmunoperoxidasa 400X). Obsérvese la
 flecha que señala la presencia del antígeno viral.

TABLA 1

Presencia del virus en la Población estudiada				
Resultado	V. Herpes Simple tipo 2		Papiloma Virus	
	n = 90		n = 90	
	Nº	%	Nº	%
Positivo	5	5.6	19	21.1
Negativo	85	94.4	71	78.9

n= Número total de casos.

La tabla 2 muestra la distribución de los virus a través de los diferentes diagnósticos histológicos; la frecuencia de detección del papiloma virus (P.V.H.) incrementa del 5.3% en NIC I-II a 42.1% en NIC III y 47.3% en el CA INVASOR (Figura 3 y 4); es 1.5 veces más frecuentes el P.V.H. en el carcinoma invasor que en las displasias y el CA in situ.

TABLA 2

Presencia de los Virus en los diferentes grados de Displasias y Cáncer Cervical

Dx	Tinción inmunoperoxidasa positiva			
	Papiloma Virus V.		Herpes Simple tipo 2	
	n = 90		n = 90	
	Nº	%	Nº	%
NIC I	1	5.3	1	20
NIC II	1	5.3	2	40
NIC III	8	42.1	1	20
CA Invasor	9	47.4	1	20

NIC = Neoplasia Intraepitelial cervical
n = Número total de casos.

Factores de riesgo:

Se realizó encuesta epidemiológica a 76 pacientes que tenían resultado negativo o positivo para alguno de los virus P.V.H. y/o V.H.S-2 obteniéndose la siguiente información:

Edad:

Las edades de los pacientes oscilaron entre los 19 y 67 años con una edad media de 39.9 años (s.d: 12.7).

El Herpes virus aparece con mayor frecuencia en 2 grupos de edades extremas (20-29 y 50-59), el 66.7% de los casos agrupados en el grupo de mayor edad. El papiloma virus se encuentra distribuido en todos los grupos y con mayor frecuencia (P:0.55) entre los 30-50 años, con una edad media de 43 años (s.d=14.81).

La tabla 3 muestra detalladamente la correlación entre la presencia del P.V.H. con la edad y severidad diag-

nóstica, observamos una tendencia hacia el incremento de la frecuencia de detección de los antígenos a medida que avanza la edad y la severidad diagnóstica.

TABLA 3

Correlación entre la presencia del Papiloma Virus con edad y severidad diagnóstica.

Edad	NIC I		NIC II		NIC III		C.A. Invasor	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
< 29	0	0.0	0	0.0	1	1.6	1	1.6
30-39	0	0.0	0	0.0	3	4.8	1	1.6
40-49	0	0.0	1	1.6	0	0.0	2	3.2
50-59	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	1.6
60-69	0	0.0	0	0.0	1	1.6	2	3.2

NIC = Neoplasia Intra-epitelial cervical
n = Población estudiada
* = Casos P.V.H. positivos
TOTAL = 13* (21%)
n = 62

Estado socioeconómico:

El 90.1% de la población estudiada (n=76) pertenecía a un estrato socioeconómico bajo.

Número de compañeros sexuales:

Sólo el 36.2% (n=17) de las pacientes confirmaron tener más de un compañero sexual. El antígeno del papiloma virus se detectó con igual frecuencia (P=0.05) en las que tenían uno o más compañeros sexuales.

Gravidez y aborto:

El número de embarazos fluctuó entre 1 y 15 con una gravidez media de 6.5 (s.d=5.4) embarazos.

El papiloma virus fue detectado en mayor proporción (P=0.77) en las mujeres con menos de 6 embarazos.

La tabla 4 muestra la correlación de la gravidez con la presencia de los virus.

TABLA 4

Número de Embarazos	Correlación de la presencia de los virus Papiloma y Herpes con la gravidez			
	Papiloma Virus		V. Herpes Simple 2	
	n = 58		n = 50	
	Nº	%	Nº	%
< 5	7	63.6	2	66.7
6 - 10	2	18.2	0	0
> 11	2	18.2	1	33.3

n = Población estudiada
Nº = Casos positivos

El aborto no parece ser un factor de riesgo para la infección por el P.V.H. ya que las dos terceras partes de las pacientes a quienes se les detectó el virus negaron haber tenido abortos; porcentaje mayor al del comportamiento del grupo total (n=40 P=0.580).

Paridad:

El número de hijos fluctuó entre 1 y 12 con un promedio de 4.5 hijos (s.d.=3.50) las dos terceras partes de la población estudiada (n=76) tenía menos de seis hijos.

La Tabla 5 muestra detalladamente la correlación del P.V.H. con la paridad y la severidad diagnóstica. Los antígenos del P.V.H. se detectaron con mayor frecuencia (P=0.615) en las mujeres con menos de cuatro hijos (n=9) (P=0.692) y mayor severidad diagnóstica NIC III (n=4) y CA invasor (n=4).

TABLA 5

Correlación Papiloma Virus, paridad y severidad diagnóstica.

Paridad	DIAGNOSTICO							
	NIC I		NIC II		NIC III		CA invasor	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1 - 2	0	0	1	2	3	6	1	2
3 - 4	0	0	0	0	1	2	3	6
5	0	0	0	0	0	0	0	0
6 - 10	0	0	0	0	1	2	2	4
11 - 15	0	0	0	0	0	0	1	2

* = Casos P.V.H. positivos
n = Población estudiada
% aproximado a la unidad
TOTAL = 13* (24%)
n = 54

Edad del primer coito:

Las mujeres investigadas informaron haber iniciado sus relaciones sexuales en edades que fluctuaron entre los 13 y 28 años con una edad media de 18.4 años (s.d.=3.11) (P=< 0.0001).

El papiloma virus se detectó con mayor frecuencia (n=8) en las pacientes que aseveraron haber comenzado vida sexual entre los 15 y 18 años con una edad media de 17.18 años (s.d.=2.44) (ver Tabla 6 y 7). La correlación de la presencia del P.V.H. con la edad del primer coito y la severidad diagnóstica agrupa dos terceras partes (P=0.727) de los casos positivos en las lesiones avanzadas NIC III (P=0.272) y CA invasor

(P=0.454) de pacientes con edades de su primer coito entre los 15 y 18 años.

TABLA 6

Correlación de la edad del primer coito con la presencia del Papiloma Virus

Edad 1º coito	Tinción inmunoperoxidasa positiva P.V.H.	
	Nº	%
14	1	9
15	2	18
16	1	9
17	3	27
18	2	18
19	1	9
20	0	0
21	0	0
22	0	0
23	1	9

% aproximado a la unidad
Nº = Casos P.V.H. positivos (11)
n = Población estudiada
n = 39

TABLA 7

Presencia del Papiloma Virus y diagnóstico comparado con la edad del primer coito

Edad 1º coito	NIC I		NIC II		NIC III		CA Invasor		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
13 - 14	0	0.0	1	2.6	0	0.0	0	0.0	1	2.6
15 - 16	0	0.0	0	0.0	2	5.1	1	2.6	3	7.7
17 - 18	0	0.0	0	0.0	1	2.6	4	10.3	5	12.8
19 - 25	0	0.0	0	0.0	1	2.6	1	2.6	2	5.1
TOTAL	0	0.0	1	2.6	4	10.3	6	15.4	11*	28.2

* = Casos P.V.H. positivos
n = Población estudiada
n = 39

Hábito de fumar:

Se investigó la frecuencia del hábito de fumar en las pacientes infectadas por el papiloma virus y se encontró que dos terceras partes (P=0.0667) de estas mujeres eran fumadoras; cifra mayor a la observada en el grupo total (P=0.532).

La Tabla 8 y la Figura 4 ilustran con detalle la correlación entre hábito de fumar, severidad diagnóstica y presencia del papiloma virus. Se observa una tendencia ascendente en la frecuencia de pacientes fumadoras infectadas por P.V.H. a medida que avanza la severidad de la lesión atípica cervical.

TABLA 8

Presencia del Papiloma Virus y diagnóstico comparado con el hábito de fumar

Hábito de fumar	NIC I	NIC II	NIC III	CA invas.	TOTAL
	Nº %	Nº %	Nº %	Nº %	Nº %
Si	0 0.0	1 2.6	3 7.7	4 10.3	8* 20.5
No	0 0.0	0 0.0	1 2.6	3 7.7	4* 10.3

% aproximado a la unidad

n = Población estudiada

* = Casos P.V.H. positivos

n = 39

DISCUSION

En el presente estudio se demuestra la presencia de proteínas virales en todas las lesiones displásicas y neoplásicas cervicales, sin encontrar evidencia asociativa de los virus P.V.H. y V.H.S-2 entre sí y/o el cáncer de cérvix.

El Herpes virus se detectó en una baja proporción a través de todos los tipos de lesión lo cual está de acuerdo con otros trabajos (9). Este hallazgo sumado a las evidencias serológicas contradictorias en grupos de mujeres con lesiones malignas del cérvix sugieren que si el herpes virus está involucrado como agente etiológico es en una minoría de los casos.

El papiloma virus se identificó en 1/6 parte de los casos estudiados presentando una frecuencia ascendente con relación a la severidad diagnóstica. Este hallazgo es contrario a otros estudios publicados (3,30,31,32,33) que no han detectado por inmunohistoquímica proteínas de la cápside viral en el cáncer in situ e invasor y además describen una tendencia de la frecuencia de los antígenos a disminuir en relación con la severidad de la lesión (30). Esta discrepancia de los resultados hace pensar en la posibilidad de una infección oportunística y/o casual o en un error en la metodología aplicada.

Recientemente se ha propuesto un sinérgismo entre los virus V.H.S-2 y el P.V.H. o la posibilidad de ser cofactores de cada uno (35). Al respecto este estudio no detecta en un mismo espécimen histológico los dos virus simultáneamente y la posibilidad de que actúen independientemente no se puede descartar.

Con relación a la edad se encontró con mayor frecuencia el virus P.V.H. a los 43 años, reportándose en otros estudios cifras semejantes con media de 45 años (36).

Estudios epidemiológicos han demostrado que el CA in situ e invasor tiene una alta correlación con la historia sexual de las pacientes al igual que del compañero sexual. Rotkin (6) concluyó, en base a la revisión de 17 estudios epidemiológicos, que la edad sexual antes de los 17 años y múltiples compañeros sexuales eran los factores de riesgo más importantes en el desarrollo del cáncer cervical. Nosotros encontramos una frecuencia estadísticamente significativa ($P < 0.0001$) en las pacientes con lesiones premalignas y malignas que iniciaron su vida sexual a los 18 años. La tabla 7 del texto que compara la presencia del virus papiloma vs el diagnóstico histológico y la edad del primer coito es definitivamente polémica y controversial al indicar indirectamente que el virus P.V.H. está presente desde edades tempranas de la vida permaneciendo en una forma latente en el epitelio cervical. Al respecto es importante anotar que las lesiones condilomatosas generalmente se presentan en un grupo de edad más temprana que las lesiones displásicas o CA in situ de cérvix y pueden tener un papel importante en la historia natural del cáncer de cérvix.

La multiparidad no parece ser un factor de riesgo para la infección por P.V.H.; la correlación de la presencia del papiloma virus vs diagnóstico y paridad (tabla 5), señala nuevamente la posibilidad de que el virus esté presente en las pacientes con neoplasia cervical, desde edades tempranas de la vida.

A pesar de las evidencias circunstanciales, la infección del tejido epitelial por el P.V.H. no es suficiente para la transformación maligna, ya que muchas de las lesiones de los papiloma virus son benignas (i.e. verruga vulgar) y posiblemente sean requeridos dos o más factores para el desarrollo del cáncer de cérvix: infección por el P.V.H. con potencial maligno, y la presencia de un cofactor. En este trabajo se quiso observar la relación entre el hábito de fumar con la infección por el papiloma virus encontrándose una alta frecuencia de fumadoras en el grupo de mujeres con papiloma virus. Se requiere investigar más a fondo esta posible asociación para aclarar el papel del hábito de fumar en la carcinogénesis cervical como cofactor del P.V.H.

AGRADECIMIENTOS

A los doctores Jaime Uribe Duque, Jaime Botero Uribe, Jorge Uribe, Carlos Jaramillo, Jonathan Fletcher, Richard Bell, Ingeniero Ramiro López y al Señor Humberto Ramírez por su asesoría y colaboración.

A la Fundación para Investigaciones Médicas Pedro Nel Cardona por su ayuda económica.

BIBLIOGRAFIA

1. MINISTERIO DE SALUD. COLOMBIA: Diagnóstico de Salud. Políticas y Estrategias. 1a. ed. Bogotá: Ed. Trazo Ltda.; 1984: 142.
2. RICHART, R. M., BARRON, B. A. Follow-up Study of Patients With Cervical Dysplasia. *Am J. Obstet. gynecol.*, 105: 386-393, 1999.
3. KURMAN R, BENNET J., LANCASTER W. Papillomaviruses and cervical neoplasia reflections on the past, perceptions of the present and speculations for the future. *Papillomaviruses: molecular and clinical Aspects*, 1985: 3-18.
4. RIGONI-STER B. Fatti Statistici relativi alle malattie cancerose che servirono de base alle poche cose dette daldott. *Gpor Servizio Progr Temp* 1842; 2: 507-10.
5. KESSLER II. Perspectives on the epidemiology of cervical cancer with special reference to the herpes virus hypothesis. *Cancer res* 1974; 34: 1091-1110.
6. ROTKIN I.D. A comparison review of key epidemiological studies in cervical cancer related to current searches for transmissible agents. *Cancer Res*, 1973; 33: 1353-61.
7. KESSLER II. Human Cervical Cancer as a venereal disease. *Cancer Res* 1976; 36: 783-791.
8. MEISELS A., BEGIN R. SCHREIDER V. Dysplasias of uterine Cervix. Epidemiological aspect: Role of age at first coitus and use of contraceptives. *Cancer* 1977; 40: 3076-3081
9. AURELIAN L., KESSLER I., ROSENSHEIN N., BARBOUR G. Viruses and Gynecologic cancers: Herpes virus protein (ICP 10/AG-4) a cervical tumor antigen that fulfills the criteria for a marker of carcinogenicity. *Cancer* 1981, 48: 455-471.
10. JOSEY W., NAHMIAS A., NAIB Z. Viruses and cancer of the lower genital tract. *Cancer* 1976, 38: 526-533.
11. NAHMIAS A.J., NAIB Z. M., JOSEY W.E. Epidemiological studies relating herpetic infections to cervical carcinoma. *Cancer Res* 1974; 34: 111-1117.
12. JOSEY W.E., NAHMIAS A.J., NAIB Z.M. The epidemiology of type 2 (Genital) herpes simplex virus infection. *Obstet-Gynecol Surv* 1972: 27: 295-302.
13. RAWLS, W.E., TOMPKINS, W.A.F., FIGUEROA, M.E., and MELNICK, J.L.: Herpes Virus Type 2: association with carcinoma of the cervix, *science* 161: 1255, 1968.
14. CABRAL G., MARCIANO-CABRAL F, FRY D. Expression of herpes simplex virus type 2 antigens in premalignant and malignant human vulvar cells. *Am J. obstet gynecol* 1982; 143: 611-19.
15. NAIB, Z., NAHMIAS, A. J., JOSEY, W. E. Genital Herpetic infection: Association with cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer* 23: 940, 1969.
16. KURMAN, R.J., JENSEN, A.B., LANCASTER W.D. Papillomavirus infection of the cervix II. Relationship to intraepithelial neoplasia based on the presence of specific viral structural proteins. *AM J surg Pathol* 1983; 7: 39.
17. KURMAN R.J., SHAH K.H., LANCASTER W.D., JENSEN A.B. Immunoperoxidase localisation of papillomavirus antigens in cervical dysplasia and vulvar condylomas. *Am J. Obst Gynecol* 1981; 40: 931.
18. KURMAN R.J., SANZ L.E., JENSEN A.B., PERRY S., LANCASTER W.D. Papillomavirus infection of the uterine cervix I. correlation of histology with specific structural antigens and DNA sequences. *Int. J. Gynecol Pathol* 1982; 1: 17.
19. ZUR HAUSEN H. Human Papillomavirus and Their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr top Microbiol Immunol* 1977; 78:1.
20. ZUR HAUSEN H. A Papillomaviruses DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci. USA* 80: 3812.
21. GISSMANN L, WALNIK L, ZUR HAUSEN H. Human Papilloma virus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 566.
22. SYRJANEN K.J. Human Papilloma virus Lesions in association with cervical dysplasias and neoplasias. *Obstet Gynecol* 1983; 82: 617.
23. SYRJANEN K.J. Current Concepts on human Papillomavirus (HPV) infection in the genital tract and their relationship to intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Obstet Gynecol Surv* 1984; 39: 252.
24. Human Papilloma virus Type 16 and early cervical neoplasia. *N. Eng J. Med* 310: 880.
25. CRUM C., NAGAIN I., MITAO M., SILVERSTEIN S. Histological and Molecular Analysis of early cervical Neoplasia. *Papilloma viruses; Molecular and clinical aspects*. 1985; 19-29.
26. STERNBERGER, L.A. Immunocytochemistry. John Wiley and Sons. Second Ed. NY. 1979.
27. SYRJANEN K.J., PYRHENS S. Demonstration of Human papillomavirus antigen in the condylomatus lesions of the uterine cervix by immunoperoxidase technique. *Gynecol Obstet Invest.* 1987; 14: 90.
28. ESCOVAR V.G. Métodos de Inmunohistoquímica, Manual Teórico-Práctico Librería U. de A. 1986.
29. QUALMAN, S.J., KEREN. D.F. Immunofluorescence of deparaffinized trypsinized renal tissues. preservation of antigens as adjunct to diagnosis disease. *lab. Investig.* 1979; 41: 483.
30. KURMAN R.J., JENSON, A.B., LANCASTER, W.D. Papilloma virus infection of the cervix II. Relationship to intraepithelial neoplasia based on the presence of specific viral structural proteins. *Am. J. Surj Pathol.* 1983; 7:39.
31. KURMAN R.J., SHAH K.H., LANCASTER W.D., JENSON A.B. Immunoperoxidase Localisation of papilloma virus antigens in cervical dysplasia on vulvar condylomas. *American Journal of obstet an Gynec.* 1981; 40: 931-935.
32. GUPTA J.W., GUPTA P.K., SHAH K.V., KELLY D.P. Distribution of human papilloma virus antigen in cervico vaginal smears and cervical tissues. *International Journal of Gynec an Phat.* 1983; 2(2): 180-170.
33. WALKER P.G., SINGER A., DYSAN J.L. et al. The prevalence of human papilloma virus antigens in patients with cervical intraepithelial neoplasia. *British Journal of cancer* 1983; 42: 99-107.
34. SINGER A., CAMPION U.J., CLARKSON P.K. Increased Risk of cervical neoplasia in consorts of men with penile condylomata acuminata. *Lancet* 1985; 943-46.
35. ZUR HAUSEN H. Human genital cancer; Synergism between two virus infections or synergism and initiating events? *Lancet* 1982; ii: 1370-72.
36. SYRJANEN K. Morphological and Immunohistochemical evidence of Human Papilloma virus involvement in the dysplastic lesions of the uterine cervix., *Int. J. Gynecol Obstet.* 1983; 21: 261-269.
37. GUZMAN N. Cáncer de cervix uterino. Histoepidemiología de una enfermedad social. Universidad del Valle, 1984.