



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico Biológicas
Programa Regional de Posgrado en Biotecnología
Doctorado en Ciencias en Biotecnología

**Epidemiología Molecular de la Infección por el Virus del
Papiloma Humano en Población Mexicana que Viven con
VIH**

A handwritten signature in black ink, which appears to read 'José Guadalupe Rendón Maldonado'.

T E S I S

Que presenta

VoBo 22 oct, 2020

M en C Rocío Susana Méndez Martínez

como requisito para obtener el grado de

Doctora en Ciencias en Biotecnología de Salud

DIRECTORES

Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado

Dr. Alejandro García Carrancá

Culiacán, Sinaloa, México

noviembre 2020.

PRESENTACIÓN

Ese trabajo se realizó en el laboratorio de Virus y Cáncer del Instituto Nacional de Cancerología de la Secretaría de Salud SS, de la Ciudad de México, en colaboración con el Laboratorio de Microscopía de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado, Profesor e Investigador de Tiempo Completo titular "C" de la Facultad y miembro del grupo de profesores del Programa de Posgrado en Biotecnología y del Dr. Alejandro García Carrancá, Investigador en Ciencias Médicas "F" y Jefe del Laboratorio de Virus y Cáncer, en el Instituto Nacional de Cancerología (NCan). Parte de los fondos del proyecto son aportados por los fondos Institucionales PROFAPI-UAS 2014 y el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, de la Dirección General de Apoyo al Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (PAPIIT-IN213016), Instituto Nacional de Cancerología SS, México.

DEDICATORIA

A mis amados padres **Merced y Salvador** por ser quienes han hecho que sea lo que ahora soy, por su ejemplo, su apoyo incondicional y su inmenso amor.

A mi hija **Jazmín** por ser como siempre el motor de mi vida y quien me impulsa a seguirme superando y ahora más por darme a mi chaparrito **Leandro** una nueva razón de seguir adelante.

A mis amados hermanos **Salvador, Martín, Luis, Alberto, Rosario, Alejandro** por contar con su amor y apoyo incondicional en cada una de las etapas de mi vida.

A mis cuñadas **Lourdes, Marcela, Lilian, Vicky y Lucy**, así como a mi cuñado **Alfonso** y mi yerno **Luis**, por ser parte de mi vida y compartir este gran paso.

A mis amados sobrinos **Marco Antonio, María Fernanda, Emanuel, Adriana y Aymée** por ser parte fundamental de mi vida y compartir mis logros.

Pero principalmente a todos ustedes por ser mi maravillosa familia y contar con ustedes en todo lo que emprendo y en mis logros. LOS AMO INMENSAMENTE.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis **Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado** por creer en mí, por impulsarme a dar este gran paso y por ser una gran persona. Al **Dr. Alejandro García Carrancá**, por ser mi maestro en muchas cosas de esta maravillosa carrera que se llama investigación, por sus enseñanzas y a ambos por confiar en mí.

A **Edgar** por apoyarme para que esto fuera posible cada vez que tenía que partir para poder seguir adelante.

A **Miriam** por ser una gran compañera de trabajo, pero sobre todo por ser mi amiga y apoyarme enormemente en lo laboral y en lo personal.

A **Heriberto, Silvia** y **Humberto** por ser grandes compañeros, amigos por contar con su apoyo, ayuda, solidaridad, pero sobre todo con su bella amistad

A todos los que han sido mis alumnos porque me han dado la oportunidad de aprender a formar nuevos científicos y médicos con una visión diferente en lo que implica realizar investigación en México.

A los chicos del laboratorio por enseñarme a que la mejor arma para poder guiar, impulsar y ayudar a crecer a las personas es con paciencia.

A la **Dra. Edith Cuevas** y al **Dr. Cuauhtémoc Reyes** por todo su apoyo para concluir esta tesis en un examen de grado.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	viii
I RESUMEN	9
II INTRODUCCIÓN	15
III REVISIÓN DE LITERATURA	18
A. Virus del Papiloma Humano (VPH)	19
1. Oncogénesis	22
2. Ciclo de vida	25
B. VPH y cáncer cervical	26
C. VPH y cáncer oral	28
D. VPH y cáncer anal	32
E. Variantes del VPH	33
IV. OBJETIVOS	36
A. Objetivo General	36
B. Objetivos Específicos	36
V. MATERIALES Y MÉTODOS.	37
A. Tipo y grupo de estudio	37
B. Grupo de estudio	38
C. Extracción de ADN	39
D. Detección de VPH	39
E. Identificación de tipos virales e infecciones múltiples	40
F. Variantes de VPH16	41
G. Análisis estadístico	41
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
A. Características Sociodemográficas de los participantes	43

B. Prevalencia de VPH por grupos y sitios anatómicos	44
C. Prevalencia de tipos de Bajo Riesgo	45
D. Prevalencia de tipos de Alto Riesgo	46
E. Infecciones únicas y múltiples	47
F. Variantes intratípicas	50
VII CONCLUSIONES	59
VIII. BIBLIOGRAFÍA	60
ABREVIATURAS	70
PRODUCTOS GENERADOS	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Estructura del genoma de VPH.	13
2. Integración del genoma viral.	16
3. Infección por VPH.	18
4. Alteraciones genéticas y epigenéticas.	24
5. Prevalencia de tipo viral de bajo y alto riesgo en dos sitios anatómicos diferentes de mujeres y hombres VIH+.	41
6. Presencia de infecciones de alto y bajo grado en mujeres y hombres VIH+.	43
7. Secuencias parciales de LCR y E6 que representan variantes de VPH-16.	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Información sociodemográfica, sexual y clínica de los pacientes en estudio.	38
2. Resumen de muestras positivas a VPH de mujeres y hombres.	39
3. Frecuencia y porcentaje de variantes e intravariantes en las distintas regiones anatómicas de hombres y mujeres VIH+.	47

I. RESUMEN

La incidencia de cáncer anal y oral asociado con el virus del papiloma humano (VPH) se ha incrementado en las últimas décadas en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y en mujeres que son positivas al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), lo que representa un problema de salud pública. La identificación de las variaciones intratípicas en el genoma de VPH durante la infección de la región anal, del cuello uterino y de la cavidad oral, especialmente para el tipo VPH16+, en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y en mujeres VIH positivas (VIH+), no se han descrito completamente en México.

La incidencia de cáncer de cuello uterino, anal y oral asociado al VPH está aumentando, especialmente entre hombres y mujeres VIH+. El VPH-16 ha exhibido consistentemente la mayor incidencia entre ellos. La determinación de las variantes intratípicas de VPH-16 se ha utilizado para el análisis epidemiológico, etiológico y de evolución molecular. Se ha descrito que algunas variantes pueden conferir diferentes riesgos patológicos. Existen diversos estudios en la literatura internacional sobre la frecuencia y distribución de la infección por VPH y la relación con la oncogénesis, y está ampliamente descrito el potencial oncogénico del VPH-16; sin embargo, se desconoce por qué diferentes pacientes presentan diferencias en la evolución y agresividad del cáncer. Mediante técnicas de biología molecular y con base en el genoma viral, se han determinado diversas variantes intratípicas de este genotipo viral asociadas con las características clínicas. El objetivo de esta investigación fue estimar la prevalencia de infección por el VPH en muestras orales y cervicales

de mujeres, así como muestras orales y anales de hombres, ambas poblaciones positivas a la infección por VIH, así como la identificación de variantes intratípicas en las muestras positivas a VPH16. Métodos: Se incluyeron en el estudio a 498 pacientes (324 hombres y 174 mujeres) que acudieron a la Clínica de VIH del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", la Clínica Condesa" (CEC) y la Clínica de Displasia Cervical en el Departamento de Ginecología del Instituto Nacional de Cancerología (INCan), ubicados en la Ciudad de México. Se identificó la prevalencia del VPH16 en 216 exudados de VIH + HSH: 108 del canal anal y 108 de la cavidad oral. De cada muestra se obtuvo y se purificó el ADN mediante el *kit Genomics Wizard* (Promega). La infección por VPH se realizó mediante la identificación del genoma viral por PCR utilizando los iniciadores de la transcripción GP5+/6+. Todas las muestras negativas se sometieron a amplificación de un fragmento del gen de la β -globina para verificar la integridad del ADN. La genotipificación de VPH se realizó mediante el *kit INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II* (Innogenetics). Las variantes se estudiaron mediante el análisis de la secuencia del gen E6 y la región LCR recuperadas de 80 muestras (40 anal y 40 orales) positivas para VPH-16. Los datos obtenidos fueron capturados en una base de datos en una hoja de *Excell*, y se analizaron mediante el estadístico de Pearson, utilizando la prueba de X^2 . Los resultados muestran elevada prevalencia de diferentes tipos de VPH tanto en el canal anal como en la cavidad oral de estos pacientes VIH + HSH. Entre las muestras orales anales, el 70% de la cavidad bucal y el 78% de la región anal fueron positivos al tipo 16 del VPH. La variante europea fue la más prevalente en la cavidad bucal, en la región anal, muchas de las muestras fueron positivas a esta variante. Las variantes asiáticas y africanas americanas fueron identificadas en las muestras analizadas. Los datos indicaron que la prevalencia

de VPH16 fue más alta en los HSH VIH + mexicanos, siendo el canal anal el sitio de infección más común. La variante más prevalente en ambas regiones anatómicas fue la europea; sin embargo, en las muestras anales también se encontró la presencia de la variante de Asiático Americana y Africana. Para el caso de las mujeres la única variante identificada fue la Europea en ambas regiones, siendo la intravariante EP350G la más prevalente en ambas poblaciones.

Este es el primer estudio en México, que describe la prevalencia de VPH coinfectando el canal anal y la cavidad oral de hombres VIH+ que tienen sexo con hombres. Los datos muestran que la prevalencia de VPH16 fue más alta en el VIH + MSM mexicano, el desarrollo de lesiones de alto grado en pacientes con infecciones por VPH del canal anal o la cavidad oral es independiente del control del tratamiento del VIH y las coinfecciones, lo que indica que la urgente necesidad de la adopción de métodos apropiados para detección viral podría prevenir el desarrollo de cáncer anal u oral en esta población. En las mujeres VIH+ se encontró una elevada prevalencia de infecciones múltiples de VPH, siendo el genotipo 16 el más frecuente, y la variante intratípica identificada fue la EP350G, la cual se ha asociado a un pronóstico poco alentador para las pacientes, ya que se asocia con una rápida evolución y mayor agresividad oncogénica.

Palabras clave: Virus del Papiloma Humano, cáncer anal, cáncer oral, cáncer cervical, variantes, Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

ABSTRACT

The incidence of anal and oral cancer associated with human papillomavirus (HPV) infection has increased in recent decades in men who have sex with men (MSM), and in women who are positive for Human Immunodeficiency Virus (HIV), which represents a public health problem. The identification of variations in the HPV genome during infection of the anal region, cervix and oral cavity, especially for the HPV 16 + genotype, in men who have sex with men (MSM) and in HIV positive women, do not They have been fully described in Mexico.

The incidence of cervical, anal and oral cancer associated with HPV is increasing, especially among HIV positive men and women (HIV +). HPV 16 has consistently exhibited the highest incidence among them. The determination of HPV 16 variants has been used for epidemiological, etiological and molecular evolution analysis. The data suggests that some variants correlate with human populations and may confer different pathological risks. There are several studies in the international literature on the frequency and distribution of HPV infection and the relationship with oncogenesis, and the oncogenic potential of HPV 16 is widely described; However, different patients have differences in the evolution and aggressiveness of cancer. By means of molecular biology techniques and based on the viral genome, several intratypical variants of this viral genotype associated with the clinical characteristics have been determined. The objective of this research was to estimate the prevalence of HPV infection in oral and cervical samples of women, as well as oral and anal samples of men, both HIV+ populations, as well as the identification of intratypical variants in HPV 16 positive

samples. Methods: 498 patients (324 men and 174 women) who attended the HIV Clinic of the National Institute of Medical Sciences and Nutrition "Salvador Zubirán", the Specialized HIV Clinic "La Condesa" (CEC) were included in the study and the Cervical Dysplasia Clinic in the Department of Gynecology of the National Cancer Institute (INCan), all located in Mexico City. The prevalence of HPV 16 was identified in 216 HIV + MSM exudates: 108 from the anal canal and 108 from the oral cavity. DNA extraction and purification was performed with the Genomics Wizard kit (Promega). HPV detection was performed by PCR using GP5 + / 6 + transcription initiators. All negative samples were subjected to a PCR for the identification of the β -globin gene fragment to verify the integrity of the DNA. For the genotyping of HPV, the INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II kit (Innogenetics) was used, based on the principle of reverse hybridization of the L1 genomic region of HPV, using SPF10 to identify 28 different types of HPV. Variant identification was studied by analyzing the sequence of the E6 gene and the LCR region analyzed in 80 samples (40 anal and 40 oral) positive for HPV 16, with the Big Dye terminator kit (Applied Biosystems 3500 / 3500xL Genetic Analyzer) The data obtained were captured in a database on an Excell sheet, and analyzed using the Pearson statistic, using the X2 test. The results show a very high prevalence of different types of HPV both in the anal canal and in the oral cavity of these HIV + MSM patients. Among the oral oral samples, 70% of the oral cavity and 78% of the anal region were positive for HPV 16. The European variant was the most prevalent in the oral cavity, in the anal region, many of the samples were positive for this variant. Asian and African American variants were identified in the samples analyzed. The data indicated that the prevalence of HPV 16 was higher in Mexican HIV + MSM, the anal canal being the most common site of infection. The most prevalent variant in both anatomical

regions was the European one; however, in the anal samples the presence of the Asian American and African variant was also found. In the case of women, the only variant identified was the European one in both regions, with the intravariant EP350G being the most prevalent in both populations.

This is the first study in Mexico, which describes the prevalence of HPV coinfecting the anal canal and oral cavity of HIV + men who have sex with men. The data show that the prevalence of HPV 16 was higher in HIV + Mexican MSM, the development of high-grade lesions in patients with HPV infections of the anal canal or oral cavity is independent of the control of HIV treatment and coinfections, indicating that the urgent need for the adoption of appropriate methods for viral detection could prevent the development of anal or oral cancer in this population.

In HIV + women, a high prevalence of multiple HPV infections was found, genotype 16 being the most frequent, and the intratypical variant identified was EP350G, which has been associated with a poor prognosis for patients, since it is associated with rapid evolution and greater oncogenic aggressiveness.

Keywords: Human papillomavirus, anal cancer, oral cancer, cervical cancer, variants, human immunodeficiency virus.

II. INTRODUCCIÓN

El cáncer cervicouterino (CaCu) es una alteración maligna en la zona de transformación del epitelio del cérvix, debido a mutaciones genéticas que ocurren en el ADN celular y se manifiesta inicialmente a través de lesiones precursoras denominadas lesión intraepitelial escamosa de bajo (LEIBG) y de alto grado (LEIAG), de lenta y progresiva evolución, que suceden en etapas de displasia leve, moderada y severa y pueden evolucionar a cáncer *in situ*, caracterizado por limitarse exclusivamente a la membrana basal del epitelio, a diferencia del cáncer invasor en el cual las células afectadas alcanzan órganos próximos al cuello uterino. Se ha descrito que el desarrollo de una lesión oscila entre los 20 a 30 años de evolución a CaCu de los 45 a 60 años de edad (Schiffman, *et al.*, 2016). Sin embargo, actualmente se han reportado mujeres menores de 40 años con CaCu (SSA 2017).

A partir de las aportaciones de Harald Zur Hausen (1976) sobre el papel del VPH en el CaCu, actualmente está ampliamente documentada la oncogénesis de este virus y se ha demostrado que los VPH de alto riesgo (VPH-AR) promueven el desarrollo de CaCu mediante mecanismos oncopatogénicos (Lizano-Soberón, *et al.*, 2009). Sin embargo, existen pocos estudios sobre esta patología en individuos que viven con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH+), tampoco se conoce la participación de VPH en la oncogénesis entre hombres VIH+.

Con base en el análisis de secuencia del genoma del VPH, se han reconocido más de 100 tipos de VPH que causan diversos rangos de lesiones epiteliales. A nivel evolutivo todos los papilomavirus que se conocen se han agrupado en 16 géneros y los VPH se agrupan en 5 de estos géneros. Los dos géneros de VPH más importantes son los papilomavirus Alpha (α) y los Beta (β). La mayoría de

los VPH que infectan área genital pertenecen al género Alpha (De Villiers *et al.*, 2004). Cerca de 35 tipos virales de VPH se identifican en lesiones benignas y malignas del tracto anogenital tanto en hombres como en mujeres. El papilomavirus genotipo 16 es el más prevalente de los VPH oncogénicos, responsable de más de la mitad de los tumores, mientras que el papilomavirus genotipo 18 está involucrado en el 20% de los mismos (Globocan, 2018).

Estudios en distintas partes del mundo han demostrado la existencia de variantes intratípicas de los tipos 16 y 18 de VPH. La existencia de estas variantes moleculares ha permitido establecer patrones de dispersión de estos virus durante su evolución, de esta manera se han identificado cinco diferentes ramas filogenéticas para el VPH-16 y se ha podido establecer que la diversidad viral se asocia con la etnicidad de las poblaciones, existen estudios que buscan secuencias virales en muestras de tumores de la población mexicana y se observó la presencia de variantes de los tipos 16 y 18 principalmente. Con relación al VPH-16 se ha reportado una variante en más de la mitad de los tumores con este genotipo viral que pareciera tener un comportamiento más agresivo. En el caso del VPH-18 se encontraron en cerca de la cuarta parte de las muestras positivas, dos variantes moleculares que en apariencia presentan un comportamiento biológico diferente (Lizano-Soberón, 2009).

Respecto a la infección en la población masculina, diversas investigaciones han reportado que el principal portador de VPH es el hombre, debido a aspectos socioculturales que propician la adopción de comportamientos de riesgo para contraer y diseminar la infección, como la baja frecuencia en el uso de métodos de barrera por atender contra la masculinidad, el machismo que ha llevado a que el hombre no se interese por temas relacionados con esta infección y se ha reportado que el consumo de alcohol y otros psicoactivos

conlleva a tener comportamientos de riesgo para adquirir la infección. La prevalencia de infección por VPH en individuos VIH + es alta (Darwich, *et al.*, 2013). Dentro de esta población, el número de parejas sexuales aumenta el riesgo de infección y reinfección por múltiples tipos de VPH y disminuye su probabilidad de eliminación (De Pokomandy, *et al.*, 2009). En comparación con la población general, la persistencia del VPH en personas con VIH aumenta significativamente hasta 15 veces más el riesgo de desarrollar cáncer anal. Se pueden identificar dos subgrupos de riesgo en la población infectados con VIH: hombres que tienen relaciones sexuales exclusivamente con mujeres y hombres que tienen relaciones sexuales con hombres. De acuerdo con esto, los hombres que tienen sexo con mujeres infectados con VIH en los Estados Unidos durante el periodo de 1996 a 2007 tuvieron una incidencia de cáncer anal significativamente mayor en comparación con los hombres sin infección por VIH (46 vs 2 por cada 100,000 personas/año). La incidencia de cáncer anal en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) VIH+ durante el mismo periodo de tiempo fue de 131 por cada 100,000 personas/año, 80.3 por ciento más en comparación con los hombres sin VIH (Silverberg, *et al.*, 2012). En México, se carece de estudios que aborden la coinfección entre VPH y VIH.

III REVISIÓN DE LA LITERATURA

La infección por el virus del papiloma humano (VPH) y de inmunodeficiencia humana (VIH) parece afectar la epidemiología actual de enfermedades de transmisión sexual de una manera bidireccional. Ambas infecciones representan una pandemia y un reto a los sistemas de salud tanto en prevención como en detección a nivel mundial (Biggar RJ *et al.*, 2007). La relación entre el VPH, VIH y cáncer en las regiones anogenitales y cavidad oral se ve asociado a diversos factores como son el comportamiento sexual de alto riesgo, los subtipos de VPH, el estado inmunológico de la enfermedad. El comprender e identificación de estos factores en una población específica puede ayudar a mejorar los sistemas de detección oportuna y prevención relacionada a este tipo de infecciones.

El VPH es el agente causante del cáncer cervical y anal y así como de algunos cánceres provenientes de la cavidad oral y otros tipos de cáncer epiteliales (Palefsky, 2006). La prevalencia y la incidencia de la infección por VPH anogenital en individuos infectados con VIH son sustancialmente más altas que en individuos no infectados con VIH (Palefsky *et al.*, 1998). Las personas infectadas por el VIH también tienen un mayor riesgo de neoplasia asociada al VPH (Palefsky, 2009, 2012). Una vez que se establece la infección por VPH, la inmunidad atenuada puede reducir el aclaramiento viral y, en última instancia, contribuir al desarrollo de la neoplasia asociada al VPH. Sin embargo, las interacciones directas e indirectas entre el VIH y el VPH dentro del epitelio también pueden desempeñar un papel en la infección inicial del epitelio por el VPH.

La relación entre el cáncer cervical y el VPH es bien conocida. El cáncer cervical sigue siendo uno de los tipos de cáncer más frecuentes entre las mujeres de todo el mundo, dando lugar a aproximadamente 275 000 muertes al año en conjunto (Shiffman *et al*, 2007). Además del cáncer cervical, se sabe que algunos otros tipos de cáncer se asocian con el VPH, como el cáncer de pene, orofaringe, vulva, vagina y ano (IARC, 2007). De estos, el cáncer de orofaringe (Chaturvedi *et al*, 2008) y de ano destacan por su incidencia cada vez mayor (Joseph *et al*, 2008). Sin embargo, la epidemiología del cáncer anal se diferencia particularmente en que el riesgo es mayor en ciertos grupos considerados como de alto riesgo, incluyendo los relacionados con el VIH y con la inmunosupresión asociada a los trasplantes. Al igual que en el cáncer cervical, el cáncer anal es precedido de una serie de cambios precancerosos es decir, la neoplasia intraepitelial anal (AIN), planteando la posibilidad de que al igual que el en cáncer cervical, se puedan dirigir los esfuerzos preventivos hacia los grupos de alto riesgo, dando un ejemplo único de un programa de detección selectivamente dirigido a individuos de alto riesgo (Nytray A, *et al* 2008).

A. Virus del Papiloma Humano

Los virus del papiloma humano representan un grupo heterogéneo que infecta los tejidos epiteliales. Los tipos 16 y 18 se asocian con el cáncer cervicouterino (CaCU) (Nielson *et al*, 2007) y los 6 y 11 con lesiones benignas, como el condiloma acuminado (Bernard 2005; Boshart *et al*, 1984). Hasta el momento se han clasificado cerca de 200 tipos virales distintos, 100 de ellos están bien caracterizados. Los tipos se consideran distintos cuando la secuencia de nucleótidos de su genoma es diferente en más de 10% dando origen a las variantes (Muñoz *et al*, 2003). Sin embargo, todos los virus del papiloma humano

tienen estructura y organización genética similar: se componen de una molécula de ADN circular de doble cadena, de 8,000 pares de bases y una cápside icosaédrica compuesta de 72 capsómeros producidos de dos proteínas estructurales y no tienen envoltura nuclear. El ADN viral tiene ocho genes, de los cuales seis codifican para proteínas tempranas (E) y dos para proteínas tardías (L). Las proteínas E5, E6 y E7 están implicadas en la transformación neoplásica y E1 y E2 en la replicación del genoma viral; también, E2 regula la expresión de los genes tempranos y, particularmente, reprime la expresión de los oncogenes E6 y E7. Los genes L1 y L2 codifican para las proteínas de la cápside. Además de estos genes, el genoma viral tiene una región de 800 pares de bases, conocida como región larga de control o región reguladora, que contiene diversos elementos de regulación de la transcripción y el origen de replicación viral. Casi la mitad de los tipos de VPH infecta el conducto genital y el resto produce verrugas benignas, entre otras lesiones en la piel y las mucosas no genitales (Zehbe *et al*, 1998).



Figura 1. Estructura del genoma del VPH. Se muestran las regiones genómicas tempranas, tardías y la región de control. Tomado de Genes and Mapped Phenotypes NCBI.

Los virus del papiloma humano asociados con lesiones genitales se dividen en virus de alto y bajo riesgo. Se han identificado 15 tipos virales de alto riesgo (oncogénicos) asociados con el cáncer cervicouterino y con la neoplasia intraepitelial cervical de alto grado; los más comunes son los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58 y 59.^{13,14} Los virus de bajo riesgo, como los tipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81, se asocian con las verrugas genitales comunes, el condiloma acuminado, la neoplasia intraepitelial de bajo grado y las infecciones asintomáticas (Zehbe *et al*, 1998).

Las variantes del virus del papiloma humano difieren entre sí hasta en 2% de su genoma, y algunas de estas se han relacionado con lesiones más avanzadas o tipos histológicos de comportamiento más agresivos (Muñoz *et al*, 2003; Zehbe *et al*, 1998; Bosch *et al*. 1995). La incidencia de CaCu entre los

diferentes países aún no se asocia con la distribución de los tipos virales, pero puede relacionarse con la distribución específica de variantes virales, porque su distribución es diferente por regiones geográficas. Las variantes del VPH16 tienen distribución distinta entre los cinco continentes. Las variantes asiático-americanas se encuentran principalmente en México, Centro, Sudamérica y España; las variantes africanas en África; las asiáticas en el sudeste de Asia y las variantes europeas en todas las regiones, excepto en África. Se conocen variantes virales para los VPH 18, 33, 45, 52, 53, 58 y 66, entre otros (Lizano *et al*, 1997). En México se han detectado variantes del VPH 18, 31, 35 y 45, algunas de ellas asociadas con tipos histológicos de CaCu, cuyo comportamiento es más agresivo (Palefsky *et al*, 1999; Critchlow *et al*, 1998). Recientemente se descubrió en México la variedad asiático-americana (compuesta de las subclases asiático-americanas en América del Norte y asiático-americanas de Centroamérica del VPH16, detectada en casi la cuarta parte de las mujeres mexicanas con CaCu y su prevalencia no existe, o es muy baja, en el resto del mundo. Las variantes de otros tipos del virus se han estudiado poco o aún no se investigan la mayor parte de ellos (Palefsky *et al*, 1991).

1. Oncogénesis

La transmisión de los VPH es diversa: puede ocurrir en el periodo perinatal (Tanti *et al*, 1999), y más adelante en la vida, por contacto sexual (Scully *et al*, 2002) y por autoinoculación (Summersgil *et al*, 2001) y algunos autores sugieren que su demás una posible transmisión por saliva (Gutman *et al*, 1999). La infección puede adquirirse en diferentes etapas tempranas de la vida, ya que se ha demostrado la presencia de este virus en 6% de la población infantil, 13% de los adolescentes y en el 23% de la población adulta (Summersgil *et al*, 2001).

Cada tipo de VPH se encuentra asociado con el desarrollo de lesiones específicas que se localizan en sitios anatómicos definidos del epitelio escamoso cutáneo y mucoso (Hazard *et al*, 2007). Los VPH se han clasificado en dos grandes grupos, basados en el tipo y pronóstico de la lesión que son capaces de inducir después de la infección, en: virus de alto riesgo y de bajo riesgo (Muñoz *et al*, 2003).

El cáncer de cérvix se ha utilizado como modelo en la patogénesis de las neoplasias malignas mediadas por la infección del VPH. En el cáncer de cabeza y cuello, el genoma del VPH con frecuencia se encuentra, aunque no exclusivamente, integrado en el genoma de la célula huésped (Wentzensen *et al*, 2004). La integración del genoma viral al ADN celular provoca el rompimiento del gen E2, dando como resultado la pérdida de control transcripcional mediado por E2, llevando a una desregulación de la expresión de las oncoproteínas E6 y E7. Es decir, la transcripción de los oncogenes E6 y E7 inicialmente es reprimida por la proteína E2 (Mellin *et al*, 2002; Jeon *et al*, 1995).

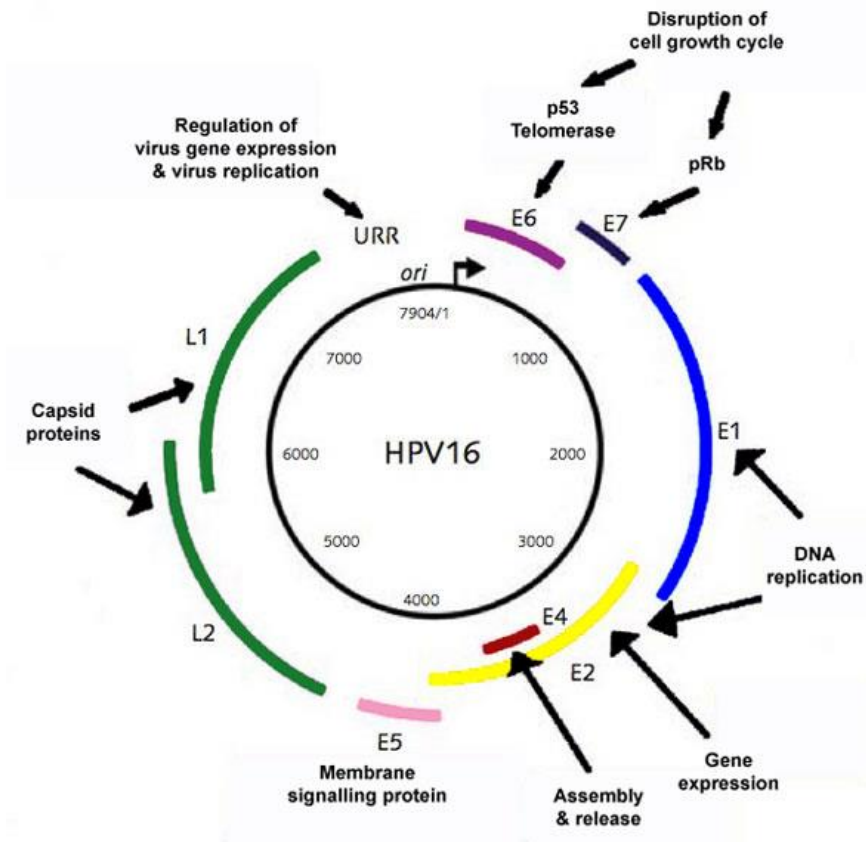


Figura 2. Integración del genoma viral. Representación esquemática del genoma viral. La región E5 participa en la señalización y anclaje viral a la célula hospedera. La región E6 y 7 participan en la desregulación del ciclo celular. El resto de la región E participa en la transcripción del genoma viral. Tomado de Genes and Mapped Phenotypes NCBI.

Las infecciones por VPH con alta carga viral son capaces de producir grandes cantidades de unidades de proteína E6 y E7, cuya acumulación en pacientes con sistemas inmunológicos incompetentes, al bloquear la acción de p53 y RB, incrementa el riesgo de transformación maligna (Ha *et al*, 2004).

La forma de replicación del VPH es diferente dependiendo del tipo de lesiones; en las lesiones benignas el genoma del VPH se replica de forma episomal extracromosómica (plásmido) mientras que, en las lesiones malignas, como las

del cérvix, el ADN viral se integra en el cromosoma del hospedero y se replica con éste (IARC, 1995). Como en el cáncer cervical, en el carcinoma de células escamosas de cavidad oral y orofaringe (CCECO-OF) el genoma del VPH puede encontrarse de forma episomal, integrado o de ambas formas (IARC, 1995; Syrjanen *et al*, 1983). Si bien, en algunos carcinomas de cabeza y cuello, principalmente los de amígdala, no se aprecia integración del ADN-VPH, pero puede detectarse la expresión de los oncogenes virales, lo cual indica que la integración del ADN-VPH no es un evento necesario para la carcinogénesis (de Villers, *et al*, 1985). Con base en evidencia molecular y epidemiológica, en 1995 la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) reportó el efecto carcinogénico de los VPH tipo 16 y 18 en humanos (Palefsky *et al*, 1998).

2. Ciclo de Vida

Los virus del papiloma son específicos de su hospedero y presentan tropismo por las células epiteliales escamosas produciendo proliferación en pie y mucosas. La infección por VPH se transmite por contacto directo, empieza en las células basales, las cuales son mitóticamente activas, después el virus puede permanecer ahí, integrarse al genoma o replicarse y producir partículas virales. El ciclo completo que incluye la síntesis del ADN viral, la producción de las proteínas de la cápside viral y el ensamblaje de los viriones se produce selectivamente en queratinocitos diferenciados (Pfister *et al*, 1987). Las células basales son poco activas en la expresión de proteínas virales ya que existen factores celulares que regulan negativamente la transcripción viral. Al migrar a la capa granular estas células se diferencian y ya no pueden dividirse. En estas células comienza la transcripción activa de secuencias virales tempranas y tardías, se sintetizan proteínas y las partículas virales se ensamblan en algunas

de las células superficiales. Solo una de las cadenas de ADN del VPH es activa transcripcionalmente y es mantenido con un bajo número de copias en el núcleo de las células infectada y bajo la diferenciación del epitelio se mueve a la superficie (Baker *et al*, 1987).

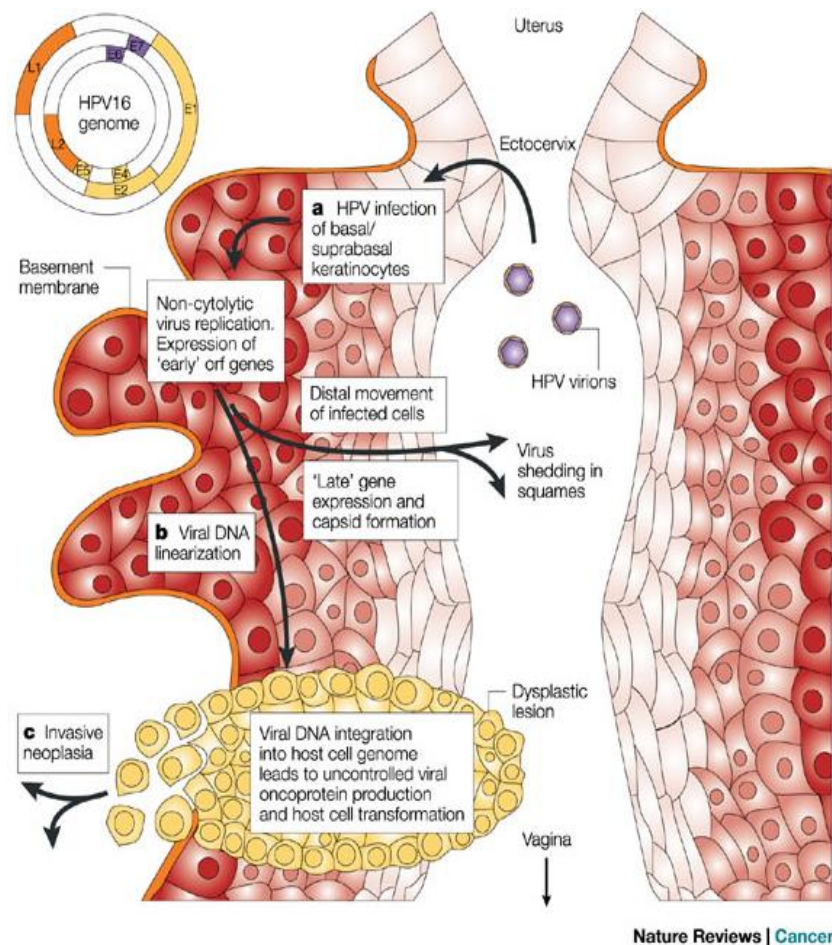


Figura 3. Infección por VPH. Dinámica de la infección por VPH en el cuello uterino. (Tomado de Nature Reviews 2002).

B. VPH y cáncer cervical

Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer cervicouterino es la segunda causa de mortalidad femenina por cáncer en todo el mundo, pero es la

primera en países en vías de desarrollo, con unas 300 000 muertes al año. En México ocupa el primer lugar de incidencia y es la principal causa de mortalidad por cáncer en mujeres en edad reproductiva. Su incidencia está relacionada con la infección por el VPH de alto riesgo, los genomas virales se encuentran presentes en el 99.7% de los carcinomas cervicales (Zur Hausen, 1999). Los tipos más prevalentes dentro de este grupo son el VPH16 con alrededor del 50% y el VPH 18 con aproximadamente el 20% de prevalencia en el cáncer cervical (García-Carrancá y Gariglio, 1993).

Los tipos de VPH transmitidos sexualmente pueden persistir por muchos años sin causar ningún daño a las células, solo una pequeña fracción de éstas progresan a lesiones neoplásicas, lo cual indica que deben existir otros factores implicados en la determinación de la progresión a transformación maligna. La sobreexpresión de los oncogenes E6 y E7 así como la integración del ADN del VPH, causan desestabilización en los mecanismos de reparación del ADN de la célula blanco, incrementando la replicación celular y la presencia de mutaciones (De Villers *et al.*, 2002).

Se estima que aproximadamente 630 millones de personas en todo el mundo podrían estar infectadas con el VPH; la infección afecta más a mujeres que a hombres. Entre el 50 % y el 80 % de las mujeres sexualmente activas se infectan con el VPH, al menos una vez en la vida y por lo general, las mujeres contraen el VPH en el período que va desde los últimos años de la adolescencia hasta los inicios de los 30 años, se observa que el punto más alto de la infección por VPH coincide con el inicio de la vida sexual en las niñas y las mujeres jóvenes menores de 25 años.

C. VPH y cáncer oral

El carcinoma de células escamosas de cavidad bucal y orofaringe (CCECO-OF) representa del 2 a 3% del total de las neoplasias malignas diagnosticadas en nuestro país (Compendio de registro histopatológico de Neoplasias en México) (Guillen *et al.*, 2000). Aunque es relativamente raro, se trata de una entidad importante, ya que tienen un mal pronóstico y las secuelas del tratamiento suelen ser devastadoras.

Aproximadamente el 60% de los casos son diagnosticados en etapas avanzadas y el pronóstico de supervivencia oscila entre 10 y 40% a 5 años, dependiendo el sitio específico y su resecabilidad (DGE-RHNM, 2002). En tanto que el tratamiento en etapas avanzadas está compuesto de combinaciones de cirugía, radioterapia y quimioterapia, esta combinación de tratamientos con frecuencia produce pérdidas funcionales severas y significativo deterioro estético.

Dentro de los cánceres de cabeza y cuello el CCECO-OF, representan un grupo importante, ya que constituye el 50% de las malignidades de esta región (que también incluye a la laringe, hipo faringe, fosas nasales, senos paranasales y el esófago cervical). Con frecuencia, estas neoplasias son estudiadas en conjunto, ya que existe la noción de que comparten aspectos etiológicos, fisiopatológicos, abordajes diagnósticos y principios de tratamiento, aunque evidencia reciente sugiere que esto podría no ser del todo cierto.

Específicamente, la mayoría de los cánceres bucales se desarrollan en la lengua (dos tercios anteriores de la lengua) y el piso de la boca, mientras que en la orofaringe son más comunes en la base de lengua (el tercio posterior de la lengua) y la fosa amigdalina. Aunque en la fosa amigdalina aumenta la

proporción de linfomas, en conjunto, un 90% de los tumores son carcinomas de células escamosas. Como se mencionó anteriormente, los cánceres de la cavidad bucal y la orofaringe han sido asociados a los mismos factores de riesgo y etiológicos, principalmente los derivados de la exposición al tabaco y el alcohol; sin embargo, existe evidencia que sugiere que el virus papiloma humano juega un papel importante en el desarrollo de CCECO-OF, independientemente de la exposición al tabaco y el alcohol (Gillison *et al*, 2000; Vermorken *et al*, 2007)

Dado que el VPH es el principal causante del cáncer cervicouterino y que se ha comprobado su presencia en la cavidad oral se ha propuesto que el VPH puede actuar en la mucosa oral de manera similar a la del cérvix donde ya se ha estudiado ampliamente su mecanismo de transformación (Proia *et al*, 2006; Anderson *et al*, 2002; Gillison *et al*, 2001).

Se ha mostrado que el VPH se encuentra presente en la mucosa oral de sujetos sanos, pacientes con lesiones menores y pacientes con carcinomas de hecho, se sabe que gran parte de la población en general puede tener VPH en la mucosa de la cavidad oral sin que provoque alguna lesión (Bagley *et al*, 1998). Por lo que se puede pensar que el virus no es necesariamente el principal causante del tumor de cavidad oral. Contrario a esto, se ha reportado que algunos pacientes con cáncer oral que no tienen un historial de exposición crónica al tabaco o al alcohol en su tiempo de vida son positivos para tipos de VPH de alto riesgo lo que podría sugerir que el VPH requiere de períodos largos de tiempo para poder desarrollar un tumor (Frias *et al*, 1997).

El carcinoma de células escamosas de cavidad bucal y orofaringe (CCECO-OF), representa del 2 a 3% del total de las neoplasias malignas diagnosticadas en nuestro país. Estudios moleculares y epidemiológicos

recientes han demostrado el papel que tiene el VPH en la etiología de cánceres orofaríngeos (Smeets *et al*, 2006; Kreimer *et al*, 2005).

En México, la información epidemiológica con relación al CCECO-OF es escasa. Según el Registro Histopatológico de Neoplasias de México en el año 2002, se reportaron 820 casos de cáncer bucal y 147 de la orofaríngeo de un total de 108,064 malignidades. Lo que significó casi el 1%, mientras que el 75% de los casos se presentó en la cavidad bucal y 25% en la orofaringe. La relación hombre y mujer fue de 1.4:1, en la cavidad bucal y 3.4:1, en la orofaringe.

Estos indicadores se han mantenido constantes en los años recientes, pero sin duda subestiman la verdadera incidencia debido a que no proceden de un registro con base poblacional. Aunque la tasa de mortalidad es pequeña, la letalidad es alta, ya que se estima que uno de cada dos afectados muere por la enfermedad (Hammarstedt *et al*, 2006).

A pesar de su relativa presentación, el CCECO-OF en conjunto, es el cáncer más frecuente del tracto aéreo digestivo superior y representan un problema clínico importante debido a que comúnmente se diagnostica en etapas avanzadas, asociándose a un pronóstico grave e importantes secuelas estéticas y funcionales. En un estudio realizado en el Instituto Nacional de Cancerología de México, se reportó que la máxima frecuencia de CCECO ocurre entre los 50 y 70 años, con una edad promedio de 60 años, y en forma muy interesante, sin diferencias significativas entre género en cuanto a su frecuencia (Paz *et al*, 1997).

La acumulación de diversos cambios genéticos y epigenéticos asociados al desarrollo de cáncer de cabeza y cuello sugieren dos diferentes vías moleculares asociadas con la carcinogénesis, una asociada a la exposición de

algunos agentes carcinogénicos presentes en el tabaco y alcohol, sin la participación de la infección por VPH y la otra exclusivamente con la participación del VPH (Hobbs *et al*, 2006).

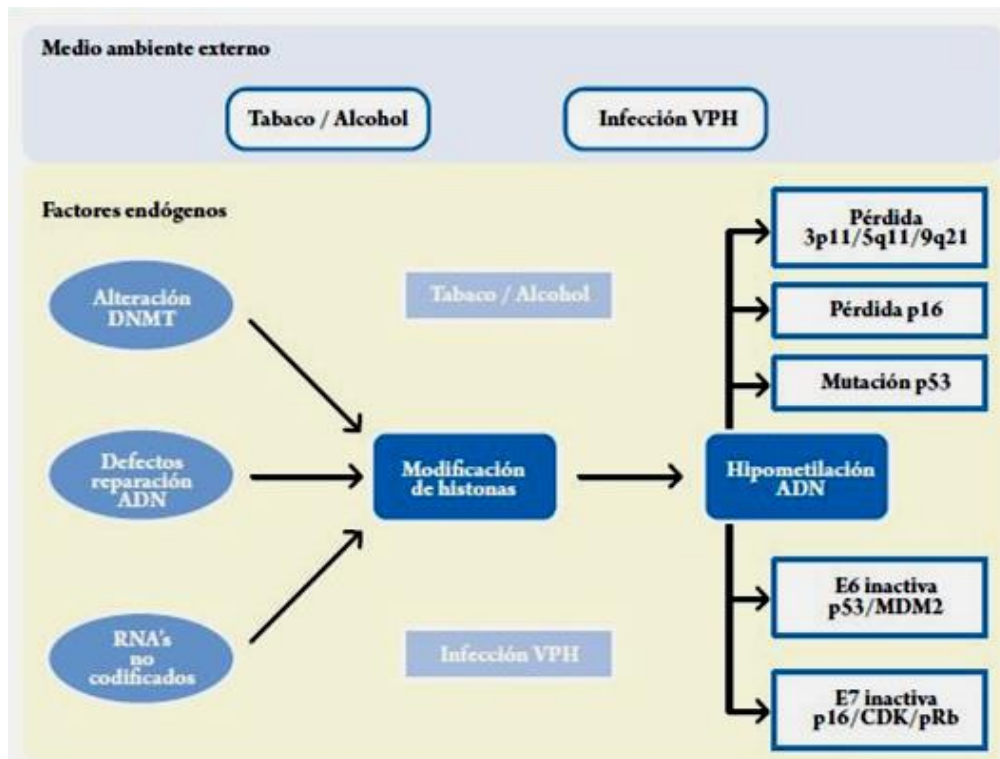


Figura 4. Alteraciones genéticas y epigenéticas. El desarrollo de la oncogénesis viral es multifactorial donde participan factores externos e internos como se ilustran en el diagrama.

En un estudio reciente, realizado en el Instituto Nacional de Cancerología de México (INCan), se observó que en el 16% de los pacientes con cáncer bucal no existía el antecedente de consumo de tabaco, alcohol, o infección por VPH, por otro lado, el 53% de los casos de cáncer bucal con infección por VPH, no tenían historia de consumo de tabaco y alcohol. La prevalencia de VPH para los casos de cáncer bucal fue de 43%, siendo los tipos VPH-16 y 18 los más

frecuentes (55% y 18% respectivamente) (Anaya-Saavedra *et al*, 2008). Estos resultados coinciden con lo reportado por un estudio previo, donde la frecuencia de VPH asociada a CB fue del 42% (Ibieta *et al*, 2005).

D. VPH en el cáncer anal

El VPH puede causar cáncer anal tanto en hombres como en mujeres. Es más común entre las personas con el VIH (virus de inmunodeficiencia humana) y en hombres que tienen actividad sexual con otros hombres. Tipos de alto riesgo del VPH son también el principal factor de riesgo para el desarrollo de la lesión precursora en la neoplasia intraepitelial anal (AIN) y del cáncer anal (Frisch M, *et al*, 2000; Palefsky JM, *et al* 2009; Weilton ML, 2004, Dillner J, *et al* 2000; Aboulaflia DM, 2001; Guillen SM, 2006). Este tipo de población se caracteriza por la presencia de infecciones más prolongadas, lo cual conlleva a el aumento de la severidad de las lesiones epiteliales (Palefsky JM, 2006) y una mayor frecuencia de tumores malignos relacionados con la infección por VPH (Hosper HJ, 2005), por lo que la incidencia de cáncer anal en HSH con VIH es dos veces mayor en comparación con los sujetos VIH negativos (Nielson CM, *et al* 2007).

En contraste con otras neoplasias malignas asociadas con el VIH, la incidencia de cánceres asociados al VPH, como el cáncer anal, no ha aumentado desde la introducción de la terapia antirretroviral (TAR) (Palefsky, 2009). Varios estudios han demostrado que el tratamiento antirretroviral para la infección por VIH ha hecho poco para reducir el aumento del riesgo de infección anal por VPH en hombres y mujeres (Palefsky *et al.*, 2005) (Hessol *et al.*, 2009). Otros han demostrado un beneficio para la eliminación de la infección cervical por VPH en mujeres infectadas con VIH y la infección anal por VPH en hombres al iniciar el tratamiento antirretroviral, pero en general, la prevalencia de la infección cervical

y anal por VPH sigue siendo alta entre los individuos infectados por el VIH en la era ART (de Pokomandy *et al.*, 2009). Los mecanismos que subyacen en el beneficio limitado de ART con respecto a la alta prevalencia e incidencia continuada de infección por VPH en individuos infectados por VIH son poco conocidos (Kang y Cu-Uvin, 2012).

El desarrollo de la neoplasia asociada al VPH se inicia con la entrada del VPH en las células basales y parabasales del epitelio. El trabajo en modelos animales sugiere que la penetración del VPH a través de múltiples capas del epitelio escamoso estratificado requiere una ruptura mecánica o desgarro (Roberts *et al.*, 2007). Es posible que la coinfección con virus como el VIH también provoque una alteración epitelial. Si es así, la interrupción epitelial asociada con el VIH puede ser un mecanismo que contribuye al aumento del riesgo de infección por VPH entre las personas infectadas por el VIH. Varios estudios han demostrado que la infección por VIH puede alterar el epitelio de la mucosa intestinal (Kapembwa *et al.*, 1996; Kapembwa *et al.*, 1991; Maingat *et al.*, 2011; Obinna *et al.*, 1995; Sankaran *et al.*, 2008). Sin embargo, no se sabe que el VPH infecte el epitelio intestinal, y el efecto de la infección por VIH en la integridad de los epitelios mucosos oral y anogenital, que son ambos objetivos de la infección por VPH, no se han sido bien estudiados.

E. Variantes de VPH

El criterio de clasificación de los VPH se basa en la secuencia nucleotídica del gen viral L1 que codifica para la proteína principal de la cápside (Zur Hausen, 1996) y es una región altamente conservada; así, se establece un nuevo tipo viral cuando éste difiere en más de un 10% de los tipos conocidos; un subtipo si esta divergencia oscila entre 2 y 10% y una variante intratípica cuando la

divergencia es menor al 2%. Los primeros trabajos de variabilidad genética se iniciaron con VPH16, por ser el virus de alto riesgo más prevalente en cáncer de cérvix, a nivel mundial. Estos estudios se basaron en la comparación de las secuencias nucleotídicas de distintos aislamientos con el virus clon referencial o prototipo, que fue el primer VPH16 descrito. Ho y col en 1993 definieron el primer árbol filogenético basado en un fragmento de la región larga de control (LCR), a partir de aislamientos de VPH16 realizados en los distintos continentes. Este árbol reveló cinco ramas: africanas (Af-1 y Af-2), asiática- americana (AA), europea (E) y asiática (As), quedando el clon referencial dentro de la rama E. Estudios similares de variabilidad fueron realizados para VPH 18 (Ong *et al*, 1993). El análisis filogenético mostró tres ramas: europea (E), africana (Af) y Asiática (As), la cual incluía al clon referencial. Posteriormente se analizaron otros genes virales, tales como L1 y L2 y los oncogenes virales E6 y E7. Las diferencias de la secuencia nucleotídica en estos genes podrían vincularse con cambios en la respuesta inmunológica del hospedador y en el potencial oncogénico, respectivamente (Villa *et al*, 1997; Yamada *et al*, 1997; Yamada *et al*, 1995). Se observó una fuerte covariación intergenérica, por lo que las diferencias nucleotídicas encontradas en una región genómica pueden usarse para identificar diferentes linajes de VPH.

Las lesiones preneoplásicas y neoplásicas del cuello uterino se asientan preferentemente en el área de unión de los epitelios escamoso (ectocérvix) y columnar (endocérvix), llamada zona de transformación. Según la estirpe celular de la que se origine el tumor (epitelio escamoso o glandular), puede tratarse de un carcinoma escamoso, adenocarcinoma o mixto, además de otras variedades histológicas menos frecuentes (Hopkins *et al*, 1991). El comportamiento biológico de los distintos tipos histológicos es diferente, siendo los

adenocarcinomas en general más agresivos, refractarios a las terapias convencionales y de peor pronóstico. Si bien la relación entre la infección por VPH y el desarrollo del cáncer escamoso ha sido ampliamente estudiada, la información disponible acerca del adenocarcinoma es mucho menor, en parte debido a su baja frecuencia.

Algunos autores han asociado el VPH16 preferentemente con carcinomas escamosos y a VPH 18 con adenocarcinomas (Tase *et al*, 1988; Muñoz *et al*, 1995). También se ha vinculado la presencia de determinadas variantes intratípicas de los virus de alto riesgo, con el tipo histológico y el curso clínico de la lesión (Lizano *et al*, 1997). Sin embargo, el papel de los distintos tipos y variantes moleculares de VPH no ha sido totalmente dilucidado. Los nombres de los linajes derivan de la procedencia geográfica de las poblaciones en las que son más prevalentes (Huertas-Salgado *et al*, 2011). Por otro lado, se ha descrito que existen diferencias de potencial carcinogénico y se ha demostrado para diferentes variantes VPH16. En el caso de variantes no europeas, se han encontrado con más frecuencia en lesiones agresivas y de alto grado con CCU (Schiffman *et al*, 2005).

IV. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Estimar la prevalencia del Virus del Papiloma Humano en hombres y mujeres VIH+, e identificar las variantes en muestras positivas a VPH16.

B. Objetivos específicos

1.- Determinar la prevalencia del VPH, en muestras orales y cervicales, así como orales y anales de mujeres y hombres, respectivamente y positivos a VIH.

2.- Identificar la presencia de infecciones múltiples de VPH de alto y bajo riesgo en muestras orales y cervicales, orales y anales mujeres y hombres positivos a VIH.

3.- Determinar las variantes intratípicas en muestras positivas a VPH16 en ambas regiones anatómicas mediante el análisis de la secuencia del gen E6 identificado en mujeres y hombres positivos a VIH.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Área y Tipo de estudio

Estudio epidemiológico descriptivo, prospectivo de corte transversal.

El área de estudio fue la Ciudad México (CDMX) de los Estados Unidos Mexicanos, cuenta con una superficie de 1,485 km² dividida en 16 alcaldías. El número de personas infectadas con VIH en la Ciudad de México es de alrededor de 40 mil y quizás sea un poco más entre 40 o 50 mil, porque la estimación para el país es de 220 y 230 mil respectivamente. La estimación de personas diagnosticadas es del 60 por ciento de personas que viven con VIH.

Las muestras de mujeres fueron obtenidas del programa CENSIDA de la Secretaría de Salud, específicamente por la Clínica Especializada La Condesa (CEC) la que tiene mayor afluente de pacientes, representando el 63.5% de la atención de los pacientes VIH en CDMX. En la Clínica de Displasia del Instituto Nacional de Cancerología (INCan) se seleccionaron a las pacientes VIH positivas que acudieron atención médica para la realización del presente estudio. Las muestras de los hombres fueron obtenidas de la Clínica de VIH del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán" todas las instituciones ubicadas en la Ciudad de México.

Métodos e Instrumentos de Recolección de la Información

La información se obtuvo por medio de cuestionarios estándar fueron utilizados para recolectar la información de características sociodemográficas e historial clínico, para cumplir con los objetivos de la investigación. Se invitó a participar a pacientes mayores de 18 años que se presentaron a la atención médica en el periodo comprendido de febrero del 2014 a febrero del 2015 (mujeres)

y en el periodo de agosto y diciembre de 2008 (hombres). El proyecto fue previamente aprobado por los comités de Investigación y Ética del INCan (CI/061/14) (009/006/IBI) (CB/529/09), en CDMX.

Consentimiento informado

Las pacientes que aceptaron participar en el estudio firmaron la hoja de consentimiento informado, si es mayor de edad, y/o un responsable si es menor de edad. Una vez firmado se procedió al llenado del cuestionario sociodemográfico, previamente se le asignó un código de confidencialidad, en relación con las características conductuales sexuales de cada paciente.

B. Grupo de estudio

Se analizaron 174 muestras mujeres (82 de cavidad oral y 82 del cuello del cérvix) provenientes de la Clínica de VIH Especializada La Condesa (CEC), del Instituto Nacional de Cancerología (INCan) de tercer nivel (Clínica de Displasia Cervical) y 216 muestras de hombres que tienen sexo con hombres (108 de cavidad oral y 108 de la región anal) provenientes de la Clínica de VIH del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán" (INCMNSZ) en la Ciudad de México, ambas poblaciones VIH+. Se invitó a participar a pacientes mayores de 18 años que acudieron a atención de febrero de 2014 al 28 de febrero de 2015 (mujeres) y de agosto a diciembre de 2008 (hombres). Ambas poblaciones fueron aprobados por los respectivos comités de ética e investigación de las instituciones participante INCan (CI009/006/IBI) (CI/061/14); INCMNSZ (REF. 1853) INCan (CI / 009/006 / IBI).

B.1 Toma de muestras

Las muestras se obtuvieron mediante un cepillado cervical y oral (mujeres); oral y anal para los hombres, con ayuda de un *Citobrush* el cual se sumergió en 4ml de *Preserv Cyt*, dentro de un tubo colector.

C. Extracción de ADN.

A las muestras se agregaron 600 ul de solución de lisis nuclear, más 17.5 ul de proteinasa K, se incubaron a 55°C durante 15 horas. Posteriormente, se agregaron 1.5 ul de RNasa, lo que le permitió actuar durante 30 minutos a 37°C, 200 ul de solución de proteína precipitante. se añadió, se agitó para homogeneizar, se incubó durante 5 minutos en hielo y se centrifugó a 14.000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo, se agregaron 500 ul de isopropanol, se agitó manualmente y se centrifugó durante 1 minuto a 14000 rpm a temperatura ambiente, decantando el sobrenadante, permitiendo que los tubos se secan invertidos. Finalmente, se agregaron 50 µl de recaptación rehidratante sola mediante pipeteo, los ADN se incubaron durante 1 hora a 65 ° C, se cuantificaron en un EPOCH y se almacenaron a -20 ° C.

D. Detección de VPH

La detección de VPH se realizó utilizando los cebadores GP5 + / GP6 + (TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC / GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC) que detectan una región altamente conservada del gen L1 de diferentes VPH (150 pb). A las muestras negativas se les realizó una segundo PCR con *primers* para GH20 / PC04 que amplifican un fragmento del gen de la β-globina (GH20 / PC04

GAAGAGCCAAGGACAGGTAC / CAACTTCATCCACGTTCCACC) (280 pb) que nos permitió identificar la integridad del ADN y corroborar si las muestras fueron negativas en presencia de VPH. El protocolo de la PCR: MgCl₂ 5 mM (tampón 1 x), 800 μM de dNTP, 10 pmol / μl de cada cebador oligonucleótido, 1.25 U de la polimerasa TaqADN (PROMEGA). Las condiciones de PCR: 1 ciclo 94°C / 10 min; 40 ciclos (94 ° C / 30 seg., 48 ° C / 30 seg., 72 ° C / 45 seg.) Y 1 ciclo 72 ° C / 7 min. Los productos se analizaron por electroforesis en geles de agarosa al 1,5% y se visualizaron con Gel Red.

E. Identificación de tipos virales e infecciones múltiples

La detección de VPH se realizó mediante el empleo de *primers* consenso MY09/11(MY09CGTCCMARRGGAWACTGATC/MY11GCMCAGGGWCATAAY AATGC),GP5+/6+(GP5+TGTTACTGTGGTAGATACTAC/GP6+GAAAAATAAA CTGTAAATCATATTC) los cuales detectan una región altamente conservada del gen L1 de diferentes papilomas. A las muestras positivas a se les realizó un segundo PCR utilizando *primers* específicos para la detección del gen E6 (F048GAACCGAAACCGGTTAGTAT/R551GGGTTTCTCTACGTTCTT) y la LCR(F7450TCAACCGAATTCGGTTGCAT/R813ACCTTTACACAGTTCATGTA) de VPH tipo 16. Las muestras negativas a VPH se les realizó PCR con los *primers* para el gen constitutivo β-globina GH20 (GAAGAGCCAAGGACAGGTAC/PC04 CAACTTCATCCACGTTCCACC) con los cuales se corroboró la integridad y amplificación del ADN.

La tipificación del Virus del Papiloma Humano se realizó mediante el empleo del *kit INNO-LiPA VPH Genotyping Extra II*. Este *kit* se basa en el principio de hibridación inversa. Una parte de la región L1 del genoma del virus

del papiloma humano (VPH) que se amplifica por PCR, utilizando los cebadores SPF10 Plus los cuales cuentan con alta sensibilidad, dando un producto de 65 pares de bases cortas y permite la detección simultánea de múltiples tipos en una sola muestra. Los amplicones biotilizados resultantes se desnaturalizan y se hibridan con sondas oligonucleotídicas específicas. Se agrega un par de cebadores adicional para la amplificación del gen HLADPB1 humano para monitorear la calidad de la muestra y el control de extracción y conjugado. Todas las sondas se inmovilizan como líneas paralelas en tiras de nitrocelulosa las cuales cuentan con 28 tipos de VPH. Después de la hibridación y el lavado riguroso, se agrega fosfatasa alcalina conjugada con estreptavidina, que se une a cualquier híbrido biotilizado formado previamente, revelando en líneas individuales el o los tipos virales identificados en las muestras.

E. Variantes de VPH16

Por secuenciación del gen E6 y de la región LCR se realizó el análisis de las muestras positivas a VPH tipo 16 empleando los *primers* E6 (F048GAACCGAAACCGGTTAGTAT/R551GGGTTTCTCTACGTTCTT) y LCR (F7450TCAACCGAATTCGGTTGCAT/R813ACCTTTACACAGTTCATGTA) con el *kit Big Dye terminator* y en el equipo *AB prisma 3100 de Applied Biosistem*. Una vez obtenidas las secuencias se realizó el alineamiento de estas y el análisis de los resultados obtenidos.

F. Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo para resumir las características sociodemográficas de la población seleccionada, y un análisis

para corroborar el equilibrio de Mann-Withney. Un valor de $p < 0.05$, fue considerado estadísticamente significativo. Las variables cuantitativas con distribución normal se expresaron como media y desviaciones estándar (DE). Para los datos con distribución libre, se utilizaron la mediana y los rangos intercuartiles (IQR).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Características sociodemográficas de los participantes.

Se realizó un estudio transversal para ambas poblaciones en donde se analizaron muestras de 174 mujeres y 108 hombres ambas poblaciones mexicanas positivas para el virus de inmunodeficiencia humana (VIH +). La edad promedio de las mujeres fue de 43 años (± 9) y de los hombres de 38 (± 6). El promedio de escolaridad en las mujeres fue 9 años (± 3) y de los hombres de 12 (± 2). En cuanto al número de parejas sexuales, el promedio para las mujeres fue de 3 (El promedio de escolaridad en las mujeres fue 9 años (± 3) y de los hombres de 12 (± 2) y de los hombres fue de 17. Con respecto a la infección por VIH, consideramos los siguientes aspectos: Número de células CD4 / mm³ de sangre, el número medio fue 393 (RIQ: 241-567 CD4 / mm³) para mujeres, y 337 (RIQ: 190-457 CD4 / mm³) variando entre 7 y 1,800 células / mm³. Carga viral: en la mayoría de los pacientes (56.3%) tenía una carga viral indetectable (≤ 50 copias de VIH / mm³).

El promedio del tiempo del diagnóstico de VIH + fue de 3 años (± 3) para las mujeres y de 8 años (± 4) para los hombres (Cuadro 1).

Cuadro 1. Información sociodemográfica, sexual y clínica de los pacientes en estudio. Mediana e intervalo Intercuartil informados para variables continuas.

Variable	Mujeres		Hombres		p*
	n=174		n=108		
Edad (años)	43	(34, 52)	38	(32, 43)	0.02
Escolaridad (años)	9	(6, 9)	12	(12, 14)	0.00
Número de parejas sexuales	3	(2, 4)	18	(10, 26)	0.00
CD4 (cels / mm ³)	393	(241, 567)	337	(190, 457)	0.1
Diagnóstico VIH (años)	8	(2, 12)	3	(1, 6)	0.02

* Prueba de U Mann-Withney, valor p (<0.05) en negrita con significación estadística.

B. Prevalencia de VPH por grupo y sitios anatómicos.

La prevalencia de VPH en ambas poblaciones fue alta, el 96% de las muestras de mujeres y el 86.4% de las de hombres fueron positivas a la presencia de VPH. El 59.4% de las mujeres y el 33.4% de los hombres fueron positivos al VPH 16, el 62.8% de mujeres y el 16.71% de los hombres fueron positivos a VPH 18. Para el caso de otros tipos virales el 48.6% de las mujeres y el 24% de los hombres fueron positivo. En cuanto a las muestras negativas la prevalencia fue baja 2.3% para las muestras y 9.8% para los hombres (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resumen de muestras positivas al VPH de mujeres y hombres.

	TOTAL	VPH+ (n)	POSITIVO VPH16	POSITIVO VPH18	POSITIVO OTROS TIPOS	NEGATIVO VPH
MUJERES	175	96% (168)	59.4% (104)	62.8% (110)	48.6% (85)	2.3% (7)
HOMBRES	102	90.2% (92)	80.4% (82)	50% (51)	24% (76)	9.8% (10)

Se muestran los porcentajes y número de pacientes positivos a VPH, a los tipos más prevalentes 16, 18, muestras positivas a otros tipos y muestras negativas para ambos casos.

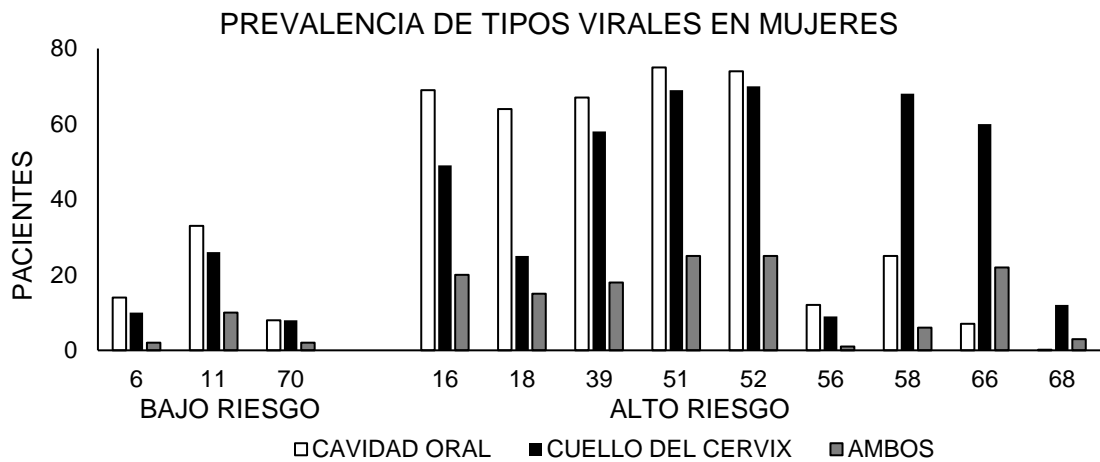
C. Prevalencia de tipos de bajo riesgo.

Los tipos virales de bajo riesgo identificados en las muestras de cavidad oral, en el cuello uterino y la región anal fue de 3 para ambas regiones. Siendo el VPH 11 el más prevalente, seguido del VPH 6 y por último el VPH 70 para ambas poblaciones. En las mujeres el orden de fue el siguiente 33% (58 pacientes) fueron positivos para el VPH11 en boca, 14% (25 pacientes) fueron positivos a VPH 6, 8% (14 pacientes) fueron positivos a VPH 70. En cuanto al cuello uterino el orden fue el siguiente 26% (45 pacientes) positivos a VPH11, 10% (18 pacientes) positivos a VPH 6, 8% (14 pacientes) positivos a VPH 70. Para ambas regiones oral/cervical el 11% (19 pacientes) fueron positivos a VPH11, 3% (5 pacientes) a VPH 6 y 2% (4 pacientes) a VPH 70 (Figura 5).

D. Prevalencia tipos de alto riesgo.

El orden de prevalencia de los tipos virales de alto riesgo fue el VPH16 que fue el más prevalente en ambas regiones, encontrándose el 90,2% (92 pacientes) de las regiones anales el 80,4% (82 pacientes) en la cavidad oral, el 71,6% (73 pacientes) se identificó VPH16 en ambas regiones. El VPH39 estuvo presente en el 58.8% (60 muestras) de la región anal y el 61.8% (63 pacientes) de la cavidad oral, el 33.3% (34 pacientes) se identificó VPH39 en ambas regiones. El VPH18 estuvo presente en el 50% (51 muestras) de la región anal y el 52,9% (54 muestras) de la cavidad oral, el 27,5% (28 pacientes) se identificó VPH18 en ambas regiones. El VPH52 estuvo presente en el 56,9% (58 pacientes) de la región anal y el 49% (50 pacientes) de la cavidad oral, el 26,5% (27 pacientes) se identificó VPH52 en ambas regiones. El VPH51 estuvo presente en el 44.1% (45 pacientes) de la región anal, el 38.2% (39 pacientes) de la cavidad oral, el 18.6% (19 pacientes) se identificó VPH51 en ambas regiones. El VPH66 estuvo presente en el 49% (50 pacientes) de la región anal y el 33,3% (34 pacientes) de la cavidad oral, el 16,7% (17 pacientes) se identificó VPH66 en ambas regiones. El VPH68 estuvo presente en el 18,6% (19 pacientes) de la región anal y el 13,7% (14 pacientes) de la cavidad oral, el 4,9% (5 pacientes) se identificó VPH68 en ambas regiones (Figura 5).

A)



B)

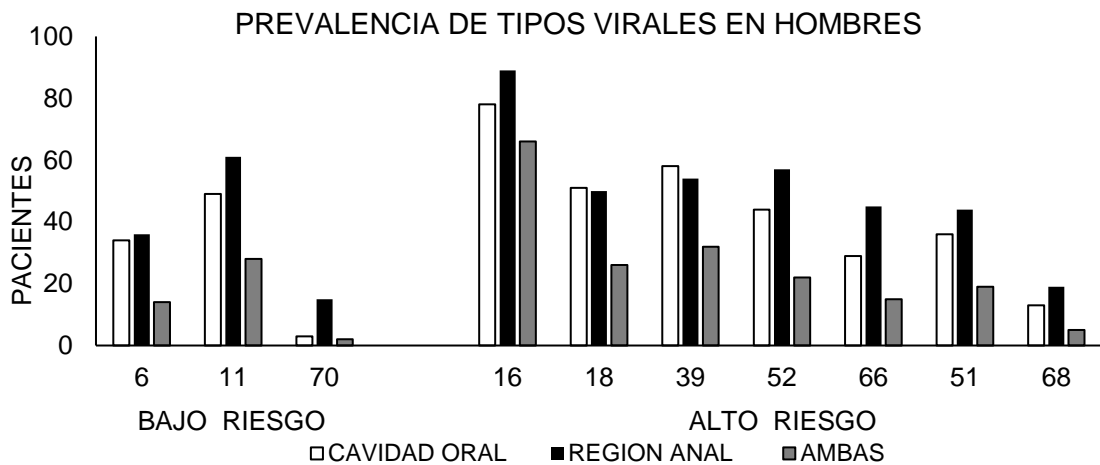


Figura 5. Prevalencia de tipos virales de bajo y alto riesgo en dos sitios anatómicos diferentes de mujeres (A) y hombres (B) ambas poblaciones positivas a VIH+. La prevalencia de diferentes tipos virales es alta tanto en tipos de bajo como de alto riesgo, en las dos regiones anatómicas diferentes; cavidad oral (barras blancas), región anal (barras negras), y ambas regiones (barras gris).

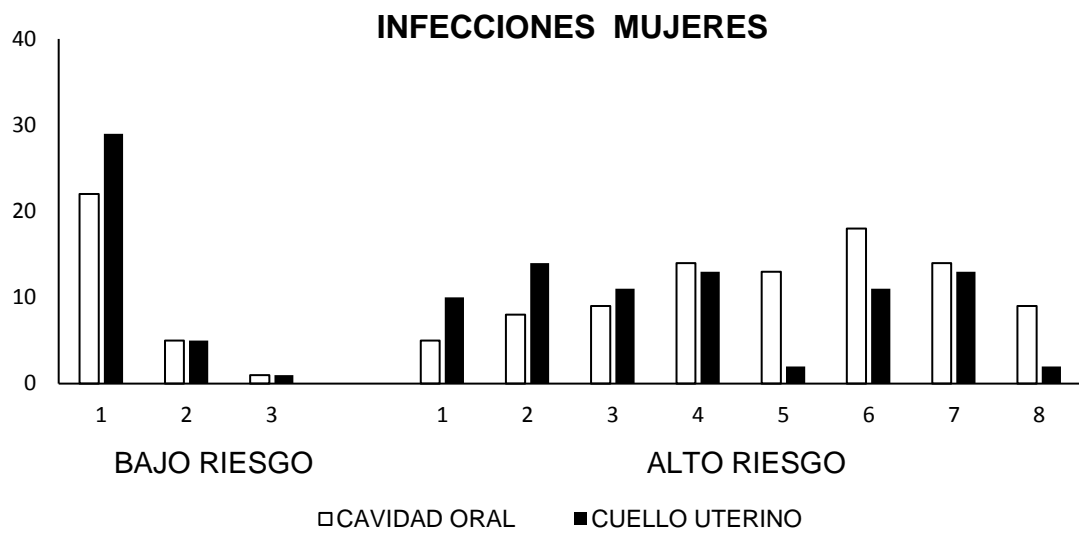
E. Infecciones únicas y múltiples.

La infección viral con VPH de cualquier tipo fue alta, se detectaron 3 tipos virales de bajo riesgo y 8 tipos virales de alto riesgo Para los tipos de bajo riesgo

se identificaron infecciones de uno a tres tipos virales, siendo la infección única la más prevalente tanto en mujeres como en hombres (en ambas regiones), seguido de la infección con dos tipos virales y por último infección con los 3 tipos virales la cual no se detectó en la cavidad oral de los hombres.

En cuanto a la infección viral con tipos de alto riesgo la infección con 4 tipos virales fue la más prevalente en mujeres y 5 tipos virales en hombres. En las mujeres el mayor número de infecciones con tipos de alto riesgo fue en la cavidad oral, mientras que en los hombres fue en la región anal (Figura 6).

A)



B)

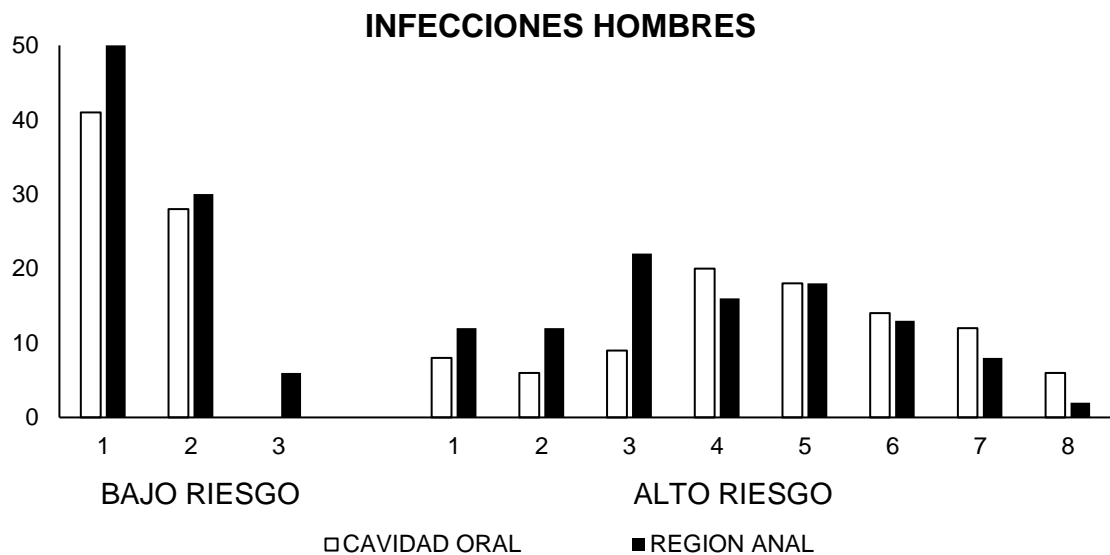


Figura 6. Presencia de infecciones de alto y bajo riesgo en mujeres y hombres VIH+. La infección con tipos de alto riesgo fue alta ya que se lograron identificar pacientes infectados hasta con 8 tipos en ambas regiones anatómicas de las poblaciones analizadas.

F. Variantes intratípicas de VPH-16

En las muestras de MSM, se identificó la variante europea en muestras anales, la presencia de 3 variantes, europea, asiático americana y africana. En la cavidad oral, solo se detectó una variante europea. Sin embargo, en las mujeres tanto en el cuello uterino como en la cavidad oral solo se identificó la variante europea.

En los hombres, el porcentaje de las variantes en el canal fue: europea 75% (30 pacientes), asiático americano 22.5% (9 pacientes) y africana 2.5% (1 paciente). En la cavidad oral, la variante más prevalente fue la europea. La identificación de intravariantes fue posible, en el canal anal el prototipo europeo (EP) con 13 pacientes fue el más frecuente, seguido por EA176G (6 pacientes), EC188G (5 pacientes), EA178T (3 pacientes), EG131G (2 pacientes); En cuanto a las variantes no europeas, la AA-a asiática americana (6 pacientes) y la AA-c (3 pacientes) y la AF1-a africana (1 paciente). En la cavidad oral, la intravariante más prevalente fue el 350G europeo (18 pacientes) seguido del prototipo europeo (EP) (15 pacientes), EA176G (3 pacientes), EA178G y EC161G (1 paciente) (Figura 1 A y B). Solo el 20% (8 pacientes) tuvieron la misma variante en ambas regiones. 5 pacientes presentaron el prototipo de variante europea en ambas regiones, 2 pacientes presentaron la variante EC188G en ambas regiones y 1 paciente presentó la variante EA176G en ambas regiones anatómicas. En las mujeres, 104 muestras provenientes de 52 pacientes fueron analizadas para la identificación de variantes (52 cavidad oral y 52 cuello uterino). Siendo la variante europea la más predominante en ambas regiones anatómicas. La prevalencia de la intravariante 350G (EP350G) fue del 86.5% (90 muestras) seguida por el prototipo europeo (EP) 13.4% (14 muestras). El 80.77% (42 pacientes) la intravariante EP350G se observó en ambas regiones

anatómicas, 9.6% (5 pacientes) presentaron EP en ambas regiones. Por el contrario, el 5,76% (3 pacientes) se identificó la variante EP en la cavidad oral y EP350G en el cuello uterino. Solo en un paciente se identificó EP350G en la cavidad oral y EP en el cuello uterino (Figura 2 A y B) (Cuadro 3).

A)

LCR	E6
77777777777777777777777777777777	
4445566666667777777777788888	1111111111111222222223345
88902146788123456888923334	033334467788556688893503
596711390889490324167264792	912573516838567956955032
AGTAGATCAACTAATACTCTCGGAAG	TAGATCGCGTTGGCGGCTATCTAA
-----	----- EP
---A-----	-----C-----G--- EC188G
---A-----	-----A-----G--- EAI76G
--C-A-----	-----A----- EAI78T
---A-----	-G-----G--- EG131G
---A-----	-----A----- EAI76T
CA--A--T--A-C-G-T-T-----	-----T-----AG-TG-G AA-a
CA-GA--T--A-C---T-T-----	-----T---G-----AG-TG-G AA-c
-A-----A-----T-----	--C---T-----AG-T--- AFI-a

B)

LCR	E6
77777777777777777777777777777777	
4445566666667777777777788888	1111111111111222222223345
88902146788123456888923334	033334467788556688893503
596711390889490324167264792	912573516838567956955032
AGTAGATCAACTAATACTCTCGGAAG	TAGATCGCGTTGGCGGCTATCTAA
-----	----- EP
-----	-----C-----G--- EC188G
---A-----	-----A-----G--- EAI76G
--C-A-----	-----A----- EAI78G
---A-----	-----G--- EP350G
C---A--T-----G-T-T-----	-----TCA-----G-TG--- EC161C

C)

E6	E6
1111111111111222222223345	1111111111111222222223345
033334467788556688893503 CERVICAL	033334467788556688893503 ORAL
912573516838567956955032 VARIANT	912573516838567956955032 VARIANT
TAGATCGCGTTGGCGGCTATCTAA	TAGATCGCGTTGGCGGCTATCTAA
----- EP	----- EP
-----G--- EP350G	-----G--- EP350G
----- EP	-----G--- EP350G
-----G--- EP350G	----- EP

Figura 7. Secuencias parciales de LCR y E6 que representan variantes de VPH-16. Resumen de las variantes identificadas en HSH, canal anal (A) y cavidad oral (B); secuencias parciales E6 identificadas en la cavidad oral y el cuello uterino en mujeres VIH + (C). La variante predominante en la cavidad oral de ambas poblaciones fue la Europea prototipo y la intravariante EP350G. Sin embargo, en el canal anal de los hombres aparte de la variante Europea, se identificaron las variantes Asiático-Americana y Africana aunque estas últimas en baja proporción.

Cuadro 3. Frecuencia y porcentaje de variantes e intravariantes en las diferentes regiones anatómicas de hombres y mujeres VIH+.

Mujeres (n=52)							
Cuellos Uterino				Cavidad Oral			
Variante	n (%)	Intravariante	n (%)	Variante	n (%)	Intravariante	n (%)
Europea	52 (100)	EP350G	46 (88.5)	Europea	52 (100)	EP350G	44 (84.6)
		EP	6 (11.5)			EP	8 (15.4)
Hombres (n=40)							
Región Anal				Cavidad Oral			
Variante	n (%)	Intravariante	n (%)	Variante	n (%)	Intravariante	n (%)
Europea	30 (75)	EP350G	2 (5.0)	Europea	40 (100)	EP350G	18 (45.0)
		EP	12 (30.0)			EP	15 (37.5)
		EG131G	2 (5.0)				
		EC188G	5 (12.5)			EC188G	2 (5.0)
		EA178T	4 (10.0)				
		EA176G	5 (12.5)			EA176G	3 (7.5)
						EC161G	2 (5.0)
Africana	1 (2.5)	AF	1 (2.5)				
Asiático							
Americana	9 (22.5)	AA	9 (22.5)				

Se sabe que el VPH desempeña un papel decisivo en el desarrollo del cáncer anal, de células escamosas cervicales y de cáncer oral; Uno de los tipos de VPH más frecuentes asociados con estos cánceres y lesiones precancerosas es el 16. Se ha informado ampliamente que las variantes determinadas por la región geográfica y los polimorfismos presentes están asociadas con el desarrollo de lesiones cancerosas. Las mujeres adolescentes infectadas con VIH, las mujeres brasileñas e italianas muestran una alta prevalencia de infección por VPH de alto riesgo, presentando como la variante predominante la 350G europea, sin embargo, la presencia de la variante africana sugiere un comportamiento diferente de mezcla sexual (Mallari AO 2012, 27-29)

En México, los datos muestran que el 80% del cáncer de cuello uterino (CC) en mujeres jóvenes muestra VPH de alto riesgo y el 40% de la infección por VPH16 presenta una variante Asiático-Americana, este es un riesgo nueve veces mayor que las variantes de linaje Europeo para el desarrollo de CC, sin embargo, hay una diferencia con otras poblaciones (30–33). Nuestro trabajo permitió identificar una alta prevalencia de la variante europea en el cuello uterino y la cavidad oral, esto sugiere que la infección de estos pacientes se debe al mismo virus tipo y sugiere en tropismo viral.

La variante EUR-350T vs 350G del VPH16 tiene un riesgo 2 veces mayor de persistencia, pero el efecto biológico de la variante depende del cambio genético por el factor de estilo de vida del hospedero (34), encontramos que el europeo 350G intravariante (EP350G) está presente en el 86.5% de las muestras. Una prevalencia significativa de la variante EP350G del VPH16, que está fuertemente asociada con el desarrollo de cáncer cervical.

Es importante tener en cuenta que el sistema inmunitario de los pacientes VIH+ determina el entorno celular que es clave en la expresión génica de

proteínas como E6 y E7 para el desarrollo del cáncer. De hecho, la evaluación de la integración de VPH16 en el genoma del hospedero parece ser un buen biomarcador para predecir lesiones precancerosas anales en hombres y mujeres VIH+. Aunque observamos una alta prevalencia de variantes europeas de tipo 16 en el canal anal, solo encontramos una variante europea en la cavidad oral. Es importante tener en cuenta que se sugiere tropismo para estas diferentes regiones anatómicas. La implicación de las variantes de VPH16 en la determinación de la persistencia y progresión de la infección viral puede explicarse por el hecho de que las variaciones de nucleótidos en la región de codificación del VPH podrían dar lugar a una disminución de la inmunogenicidad de las proteínas virales, favoreciendo la persistencia de la infección en individuos inmunocompetentes.

Se sabe que el VPH desempeña un papel decisivo en el desarrollo del cáncer de células escamosas anal y cervical; Uno de los subtipos de VPH más frecuentes asociados con cáncer anal y lesiones precancerosas es el VPH16. De hecho, la evaluación de la integración del VPH16 en el genoma del hospedero parece ser un buen biomarcador para predecir lesiones precancerosas anales en hombres VIH+ (Madkan et al 2007)

En la población mundial la infección por VPH en HSH VIH+ es de 93% y en HSH VIH negativos 61%. La probabilidad de que un paciente HSH VIH positivo con VPH de alto riesgo desarrolle una lesión intraepitelial escamosa (ASIL) en 2 años es de 50%; en pacientes con HSH VIH negativos 17%. (Madkan et al 2007). La infección por tipos de alto riesgo de forma persistente puede llevar al desarrollo de lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado HSIL, lesiones que anteceden el desarrollo de cáncer anal. De esta forma, el seguimiento de mujeres portadoras del VIH debe ser considerado como una situación especial,

pues, en función del fallo en el sistema inmunológico presenta un riesgo aumentado para el desarrollo de lesiones precursoras del cáncer de cuello de útero. La replicación viral puede ser más eficiente en individuos inmunodeprimidos, contribuyendo a mayores tasas de detección y persistencia viral, presentando lesiones histopatológicas más graves, afectación cervical más extensa y con mayor posibilidad de alcanzar otros órganos del tracto genital inferior.

Mujeres infectadas por VPH son aproximadamente, cinco veces más propensas a desarrollar lesiones escamosas intraepiteliales cervicales que preceden al cáncer invasor. Este es tres veces más frecuente, en las mujeres infectadas por VIH, comparado con mujeres no infectadas por este virus.

En estudio prospectivo de Palefsky et al., con mujeres infectadas por VIH y por VPH, se encontró una mayor incidencia de VPH en mujeres con recuento de CD4 menor de 200 células/mm. En nuestro estudio, se encontró situación inversa, o sea, la mayoría de las mujeres diagnosticadas con VPH (80%) presentó, en su último examen, recuento de CD4 + en límites superiores a 200 células/mm. Sin embargo, se debe resaltar que de entre todas las mujeres que compusieron la muestra del estudio, solamente dos (6,3%) presentaban inmunosupresión severa, lo que probablemente se debe a no adhesión a terapia antirretroviral, cuyo uso ha demostrado efecto protector para la progresión y recurrencia de lesiones intra-epiteliales cervicales por su efecto restaurador de la inmunidad.

La infección por VPH es un importante factor de riesgo para el desarrollo de lesiones pre-neoplásicas y neoplásicas del cuello uterino en mujeres portadoras del VIH siendo por tanto, considerada como una condición necesaria, aunque no suficiente, como consecuencia de su situación inmunológica

deficitaria, hay otros factores favorables al desarrollo del cáncer cervical, que deben ser tomados en consideración.

Los datos de los ensayos clínicos de vacunas contra el VPH respaldan los beneficios de la vacunación contra el VPH en poblaciones de riesgo afectadas de manera desproporcionada por enfermedades y cánceres relacionados con el VPH, como las mujeres VIH positivas y los HSH, en vista de los riesgos mínimos (por ejemplo, eventos adversos como síncope) y una menor eficacia para aquellos que ya están expuestos a algunos tipos de VPH. Sin embargo, la cobertura de la vacuna contra el VPH sigue siendo subóptima entre los HSH, y se sabe poco sobre la aceptación de la vacuna contra el VPH en las mujeres VIH+. Esta es una oportunidad perdida para la prevención dado que la vacuna contra el VPH y las pruebas de Papanicolaou han sido herramientas efectivas de prevención del cáncer.

VII. CONCLUSIONES

1. Este es el primer estudio en su tipo sobre la relación entre la coinfección por el VIH y el VPH en la oncogénesis.
2. Se encontró una elevada prevalencia de infección por VPH entre individuos VIH+ comparada con población general. Mujeres infectadas con VIH son tres veces más propensas a desarrollar lesiones escamosas intraepiteliales cervicales que preceden al cáncer invasor, comparado con mujeres no infectadas. La probabilidad de que los Hombres que tiene Sexo Hombres VIH+ infectados con VPH de alto riesgo desarrolle una lesión intraepitelial escamosa (LIE alto grado) en 2 años es de 50%.
3. La presencia de una única variante en la cavidad oral de todas las muestras (Europea) sugiere la presencia de un posible tropismo viral no descrito. La presencia de la intravariante EP350G en ambas regiones anatómicas sugiere que la infección presente en los pacientes es por el mismo virus, esta intravariante está muy relacionada con la persistencia del virus en los individuos, que es fundamental para el desarrollo del cáncer VPH, por lo que es muy importante tener control y seguimiento en esta población de alto riesgo, así como la implementación de programas para la detección temprana del VPH y la vacunación.
4. Los resultados muestran la imperante necesidad de mejorar las metodologías de diagnóstico viral para mejorar las estrategias de prevención y control del cáncer en México.
5. Los datos de los ensayos clínicos de vacunas contra el VPH respaldan los beneficios de la vacunación contra el VPH en poblaciones de riesgo afectadas

de manera desproporcionada por enfermedades y cánceres relacionados con el VPH.

6. Sin embargo, la cobertura de la vacuna contra el VPH sigue siendo subóptima entre los hombres que tienen sexo con hombres VIH+. Y se sabe poco sobre la aceptación de la vacuna contra el VPH entre las mujeres VIH+.

7. Esta es una oportunidad para que la prevención dado que la vacuna contra el VPH y las pruebas de Papanicolaou han sido herramientas efectivas de prevención del cáncer en mujeres sin VIH.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- GLOBOCAN 2018 v1.1, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2014. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 6/01/2015.
- Lizano-Soberón M, Carrillo-García A, Contreras-Paredes A. 2009. Infección por virus del Papiloma Humano: Epidemiología, Historia Natural y Carcinogénesis. *Cancerología*; 4: 205-216.
- Schiffman, M., Doorbar, J., Wentzensen, N., de Sanjosé, S., Fakhry, C., Monk, B. J, Franceschi, S. (2016). Carcinogenic human papillomavirus infection. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 16086.
- SSA (Secretaría de Salud). Dirección General de Información en Salud, 2015: Disponible en: <http://www.dgis.salud.gob.mx/>.
- ZurHausen H. 1976. Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Research*; 36:794.
- De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. 2004. Classification of papillomaviruses. *Virology*, 324: 17–27.
- De Pokomandy A, Rouleau D, Ghattas G, Vézina S, Côté P, Macleod J, et al. 2009. HIPVIRG Study Group. Prevalence, clearance, and incidence of anal human papillomavirus infection in HIV-infected men: the HIPVIRG cohort study. *J Infect Dis*; 199(7):965-73.
- Darwich L, Cañadas MP, Videla S, Coll J, Molina-López RA, Sirera G, et al. 2013. Can Ruti HIV-HPV Team. Prevalence, clearance, and incidence of human papillomavirus type-specific infection at the anal and penile site of HIV-infected men. *Sex Transm Dis*; 40(8):611-8

- Silverberg MJ, Lau B, Justice AC, Engels E, Gill MJ, Goedert JJ, et al. 2012. North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD) of IeDEA. Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. *Clin Infect Dis*; 54(7):1026-34.
- Anaya-Saavedra G, Ramirez-Amador V, Irigoyen- Camacho ME, Garcia-Cuellar CM, Guido-Jimenez M, Mendez-Martinez R, Garcia-Carranca A. 2008. High association of human papillomavirus infection with oral cancer: a case-control study. *Arch Med Res*; 39:189-197.
- Anderson JE, Stall R. 2002. Increased reporting of male-to-male sexual activity in a national survey. *Sex Transm Dis*; 29(11):643-646.
- Bagley C, Tremblay P. 1998. On the prevalence of homosexuality and bisexuality, in a random community survey of 750 men aged 18 to 27. *J Homosexuality*; 36(2):1-18.
- Baker CC, Phelps WC, Lindergren V, Braun MJ, Gonda MA, Howley PM. 1987. Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cells lines. *J Virol*; 61:962-967.
- Bernard U. 2005. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol*; 32(Suppl.1): S1-S6.
- Biggar, R. J., Chaturvedi, A. K., Goedert, J. J. & Engels, E. A. AIDS-related cancer, and severity of immunosuppression in persons with AIDS. *J. Natl. Cancer Inst.* **99**, 962–972 (2007).
- Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, et al. 1984. A new type of Papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J*; 3:1151-1157.

- Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, et al. 1995. International biological study on cervical cancer (IBSCC). Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst*; 87:796-802.
- Chang F, Syrjanen S, Nuutinen J, Karja J, Syrjanen K. 1990. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in oral squamous cell carcinomas by in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Arch Dermatol Res*; 282:493-497.
- Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, et al. 2008. Incidence trends for human papillomavirus related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol*; 26:612–619.
- Critchlow CW, Hawes SE, Kuypers JM, et al. 1998. Effect of HIV infection on the natural history of anal human papillomavirus infection. *AIDS*; 12:1177–1184.
- De Villiers EM, Fauquet C, Broker Tr, Bernard HU and Zur Hausen H. 2004. Classification of papillomaviruses. *Virology*; 324:17-27.
- De Villiers EM, Weidauer H, Otto H, Zur Hausen H. 1985. Papillomavirus DNA in human tongue carcinomas. *Int J Cancer*; 36:575-578.
- DGE-RHNM 2002. Compendio del Registro Histopatológico de las neoplasias en Mexico. Mortalidad y Morbilidad.
- De Sanjose S, Brotons M, Pavon MA. 2018. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*; 47:2–13.
- Frias M, Zeichner G, Suchil L. 1997. Epidemiología descriptiva del cancer de cavidad bucal en el Instituto Nacional de Cancerología (1985-1992). *Cancerología*; 43:80-85.
- García-Carrancá A, Gariglio P. 1993. Aspectos moleculares de los papillomavirus humanos y su relación con el cáncer cervico-uterino. *Rev. Inv. Clin*; 45:85-92.

- Gillison ML, Koch WM, Capone M, Westra WH, Wu L, Zauhrak ML, Daniel RW, Viglione M, Symer DE, Shah KV. 2000. Evidence for a causal association of human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J. Natl. Cancer Inst*; 92:709-720.
- Gillison ML, Shah KV. 2001. Human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma: mounting evidence for an etiologic role of human papillomavirus in a subset of head and neck cancers. *Current Opinion in Oncology*; 13:183-188.
- Goldie SJ, Kuntz KM, Weinstein MC, Freedberg KA, Welton ML, Palefsky JM. 1999. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of screening for anal squamous intraepithelial lesions in homosexual and bisexual HIV-positive men. *JAMA*; 281:1822–9.
- Gutman LT, Herman ME, Phelps WC. 1999. Transmission of human genital papillomavirus disease: comparison of data from adults and children. *Pediatrics*; 91:31-38.
- Ha PK, Califano JA. 2004. The role of human papillomavirus in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med*; 15:188-196.
- Hazard K, Andersson K, Dillner J, Forslund O. 2007. Human papillomavirus subtypes are not uncommon. *Virology*; 362:6-9.
- Hernandez-Ramirez RU, Shiels MS, Dubrow R, Engels EA. 2016. Cancer risk in HIV-infected people in the USA from 1996 to 2012: a population-based, registry-linkage study. *Lancet HIV* (2017). *HIV Surveillance Report*, 2016; 28(2017). Available online at: <https://www.cdc.gov/hiv/library/reports/hiv-surveillance.html>

- Ho L, Chan SY, Burk RD, et al. 1993. The genetic drift of human papillomavirus type 16 is a means of reconstructing prehistoric viral spread and the movement of ancient human populations. *J Virol*; 67:6413-23.
- Hobbs CG, Sterne JA, Bailey M, Heyderman RS, Birchall MA, Thomas SJ. 2006. Human papillomavirus and head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Otolaryngol*; 31:259-266.
- Hopkins MP, Morley GW. 1991. A comparison of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Obstet Gynecol*; 77(6):912-7
- Huertas-Salgado A, Martín-Gómez DC, Moreno P, Murillo R, Bravo MM, Villa L. 2011. E6 molecular variants of human papillomavirus (HPV) type 16: an updated and unified criterion for clustering and nomenclature. *Virology*; 410:201-15.
- IARC 2007. Human papillomavirus. *Monogram Eval Carcinog Risks Hum*; 90:136.
- IARC 1995. Human papillomaviruses. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*; 64: 1-378.
- Ibieta BR, Lizano M, Fras-Mendivil M, Barrera JL, Carrillo A, Ma Ruiz-Godoy L, Mohar A. 2005. Human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma in a Mexican population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 99:311-315.
- Jeon S, Allen-Hoffmann BL, Lambert PF. 1995. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J Virol*; 69:2989-2997
- Joseph D, Miller J, Wu X, et al. 2008. Understanding the burden of human papillomavirus-associated anal cancers in the US. *Cancer*; 113:2892–900.

- Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. 2005. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 14:467-475.
- Lizano M, Berumen J, Guido MC, Casas L, García-Carrancá A. 1997. Association between human papillomavirus type 18 variants and histopathology of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*; 89:1227-31.
- Mallari AO, Schwartz TM, Luque AE, Polashenski PS, Rauh SM, Corales RB. 2012. Anal cancer screening in IHV-infected patients is it time to screen them all. *Dis Colon Rectum*; 55:1244–50.
- Mellin H, Dahlgren L, Munck-Wikland E, Lindholm J, Rabbani H, Kalantari M, Dalianis T. 2002. Human papillomavirus type 16 is episomal and a high viral load may be correlated to better prognosis in tonsillar cancer. *Int J Cancer*; 102:152-158.
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. 2003. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*; 348:518-527.
- Nielson CM, Harris RB, Dunne EF, et al. 2007. Risk factors for anogenital human papillomavirus infection in men. *J Infect Dis*; 196:1137–1145.
- Nyitray A, Nielson CM, Harris RB, et al. Prevalence of and risk factors for anal human papillomavirus infection in heterosexual men. *J Infect Dis* 2008; 197:1676–1684.
- Ong CK, Chan SY, Campo MS, et al. 1993. Evolution of Human Papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human groups. *J Virol*; 67: 6424-31.

- Owusu-Edusei K, Jr, Chesson HW, Gift TL, Tao G, Mahajan R, Ocfemia MC, et al. 2013. The estimated direct medical cost of selected sexually transmitted infections in the United States, 2008. *Sex Transm Dis*; 40:197–201.
- Palefsky JM, Holly EA, Gonzalez J, et al. 1991. Detection of human papillomavirus DNA in anal intraepithelial neoplasia and anal cancer. *Cancer Res*; 51:1014-1019.
- Palefsky JM, Holly EA, Ralston MA, et al. 1998. High incidence of anal high-grade squamous intraepithelial lesions among HIV-positive and HIV-negative homosexual or bisexual men. *AIDS*; 12:495-503.
- Palefsky JM, Minkoff H, Kalish LA, et al. 1999. Cervicovaginal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. *J Natl Cancer Inst*; 91:226–36.
- Paz IB, Cook N, Odom-Maryon T, Xie Y, Wilczynski SP. 1997. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. An association of HPV 16 with squamous cell carcinoma of VPH y los Carcinomas de Cavidad Bucal y Bucofaringe 190 Waldeyer's tonsillar ring. *Cancer*; 79:595-604.
- Pfister H. 1987. Human Papillomaviruses and genital cancer. *Adv. Cancer Res*; 48:113-147.
- Proia KN, Paszkiewicz GM, Sullivan Nasca MA, Franke GE, Pauly JE. 2006. Smoking and Smokeless Tobacco Human Bucal Cell Mutations and Their Associations with Oral Cancer– A Review. *Cancer Epidemiology & Biomarkers & Prevention*; 15(6):1061- 1077.
- Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, Dunne EF, Mahajan R, Ocfemia MC, et al. 2013. Sexually transmitted infectious among US women and men: prevalence and incidence estimates, 2008. *Sex Transm Dis*; 40:187–93

- Schiffman M, Castle PE, Geronimo J, et al. 2007. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*; 370:890–907.
- Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Morales J, Guillén D, Alfaro M, Hutchinson M, Wright TC, Solomon D, Chen Z, Schussler J, Castle PE, Burk RD. 2005. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology*; 337:76-84.
- Scully C. 2002. Oral squamous cell carcinoma; from a hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. *Oral Oncology*; 38:227-234.
- Smeets SJ, Braakhuis BJ, Abbas S, Snijders PJ, Ylstra B, van de Wiel MA, Meijer GA, Leemans CR, Brakenhoff RH. 2006. Genome-wide DNA copy number alterations in head and neck squamous cell carcinomas with or without oncogene-expressing human papillomavirus. *Oncogene*; 25:2558-2564.
- Summersgill KF, Smith ME, Levy BT, Allen JM, Haugen TH, Turek LP. 2001. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; 92:62-69.
- Syrjanen K, Syrjanen S, Lamberg M, Pyrhonen S, Nuutinen J. 1983. Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg*; 12:418-424.
- Tanti P, Zapparore R, Migliora P, Spinillo A, Belloni C, Carnevali L. 1999. Perinatal transmission of human papillomavirus from gravidas with latent infections. *Obstet Gynecol*; 93:475-479.
- Tase T, Okagaki T, Clark BA, et al. 1988. Human papillomavirus types and localization in adenocarcinoma and squamous carcinoma of the uterine cervix: a study by in situ DNA hybridization. *Cancer Res*; 48:993-6.

- Tatti S, Suzuki V, Fleider L, Maldonado V, Caruso R, Tinnirello Mde L. 2012. Anal intraepithelial lesions in women with human papillomavirus-related disease. *J Low Genital Tract Dis*; 16:454–9.
- Vermorken JB, Remenar E, van Herpen C, Gorlia T, Mesia R, Degardin M, et al. 2007. Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *N Engl J Med*; 357:1695-1704.
- Villa LL, Rahal P, Franco EL. 1997. Molecular variant analysis as a tool in natural history studies of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *En*: Franco EL, Monsonogo J, (eds). *New Developments in Cervical Cancer Screening and Prevention*. London: Blackwell Science Ltd; p 379-85.
- Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. 2004. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res*; 64: 3878-3884.
- Yamada T, Manos MM, Peto J, et al. 1997. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. *J Virol*; 71:2463-72.
- Yamada T, Wheeler CM, Halpern AL, et al. 1995. Human papillomavirus type 16 variant lineages in United States population characterized by nucleotide sequence analysis of the E6, L2 and L1 coding segments. *J Virol*; 69:7743-53.
- Zehbe I, Voglino G, Delius H, Wilander E, Tommasino M. 1998. Risk of cervical cancer and geographical variations of human papillomavirus 16 E6 polymorphisms. *Lancet*; 352:1441-2.
- Zur Hausen H. 1996. Papillomavirus infection- a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta*; 1288,F55-F78.

Zur Hausen H. 1999. Papillomaviruses cause cancer: Evasion from Host-Cell Control in Early events in carcinogenesis. *J Nat Cancer Institute*; 92: 690-698.

ABREVIATURAS

AA: Variante Asiático Americana del Virus del Papiloma Humano

ADN: Acido Desoxirribonucleico

Af-1: Variante Africana 1 del Virus del Papiloma Humano

Af-2: Variante Africana 2 del Virus del Papiloma Humano

As: Variante Asiática del Virus del Papiloma Humano

CaCu: Cáncer Cervico Uterino

CB: Cáncer Bucal

CCECO: Cáncer de Células Escamosas de Cavidad Oral

CCECO-OF: Cáncer de Células Escamosas de Cavidad Oral y oro faringe

E: Variante Europea del Virus del Papiloma Humano

INCan: Instituto Nacional de Cancerología

LCR: Región Larga de Control del Virus del Papiloma Humano

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

VPH: Virus del Papiloma Humano

VPH-AR: Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo

PRODUCTOS GENERADOS

ARTICULOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Méndez-Martínez et al. *BMC Infectious Diseases* (2020) 20:27
<https://doi.org/10.1186/s12879-019-4677-9>

BMC Infectious Diseases

RESEARCH ARTICLE

Open Access

High prevalent human papillomavirus infections of the oral cavity of asymptomatic HIV-positive men



Rocío Méndez-Martínez^{1,2†}, Silvia Maldonado-Frías^{3†}, Salvador Vázquez-Vega⁴, Yanink Caro-Vega⁵, José Guadalupe Rendón-Maldonado⁶, Miriam Guido-Jiménez⁷, Brenda Crabtree-Ramírez⁵, Juan G. Sierra-Madero⁵ and Alejandro García-Carrancá^{7*}

Abstract

Background: Incidence of anal and oral infections with Human Papillomavirus (HPV) is increasing, particularly among Human Immunodeficiency Virus-positive (HIV+) men. HPV type 16 has exhibited the highest incidence and only limited data is available on other prevalent types, variants of HPV16, as well as associated factors. We were interested in identifying prevalent HPV types, variants of type 16, as well as factors associated with HPV16 infections in the oral cavity of HIV+ men who have sex with men (MSM).

Methods: A cross-sectional study of oral cavity samples from HIV+ MSM, that in a previous study were identified as positive for HPV16 in the anal canal. Cells from the oral cavity (102 samples, paired with 102 from the anal canal of same patient) were used to extract DNA and detect HPV infections using INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II, and PCR. From these, 80 samples (paired, 40 anal and 40 oral) were used to identify variants of type 16 by sequencing. Statistical differences were estimated by the X^2 test, and p values equal to or less than 0.05 were considered significant. SPSS ver. Twenty-four statistical software (IBM Corp) was used.

Results: We found a high prevalence of High-Risk HPV (HR-HPV) and Low-Risk HPV (LR-HPV). Patients were positive in the oral cavity for HR types; 16, 39 and 18 (80.4, 61.8 and 52.9% respectively) and LR types 11 and 6 (53.9 and 34.3% respectively). Surprisingly, only European variants of type 16 were found in the oral cavity, although American Asian (22.5%) and African (2.5%) variants were identified in the anal canal. The analysis showed that CD4 counts could be the most important risk factor associated with HR-HPV infections in the oral cavity, anal canal or both anatomical regions. The risk of infection of the oral cavity with type 18 increased in men diagnosed with HIV for more than 6 years.

Conclusions: Prevalence of both HR and LR HPVs in the oral cavity of Mexican HIV+ MSM is very high. The fact that only European variants of HPV16 were found in the oral cavity suggest a possible tropism not previously described.

Keywords: HIV + , HPV, Types and variants MSM, Oral cavity, Anal canal

* Correspondence: carranca@biomedicas.unam.mx

[†]Rocío Méndez-Martínez and Silvia Maldonado-Frías contributed equally to this work.

⁷Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México & Instituto Nacional de Cancerología, Av. San Fernando #22, Tlalpan, 2do piso, Torre de Investigación Básica, 14080, CDMX, México City, Mexico

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2020 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

RESEARCH ARTICLE

High prevalence of human papillomavirus and European variants of HPV 16 infecting concomitantly to cervix and oral cavity in HIV positive women

Milagros Pérez-Quintanilla^{1*}, Rocío Méndez-Martínez^{2,3*}, Salvador Vázquez-Vega⁴, Raquel Espinosa-Romero^{5†}, Rita Sotelo-Regil^{5†}, María Delia Pérez-Montiel⁶, Ubaldo Ramos-Alamillo⁷, Teresita de Jesús Cabrera-López⁷, Salim Abraham Barquet-Muñoz⁸, Carlos Pérez-Plascencia⁹, Alejandro García-Carranca^{2,10*}, David Cantú de León^{11*}



OPEN ACCESS

Citation: Pérez-Quintanilla M, Méndez-Martínez R, Vázquez-Vega S, Espinosa-Romero R, Sotelo-Regil R, Pérez-Montiel MD, et al. (2020) High prevalence of human papillomavirus and European variants of HPV 16 infecting concomitantly to cervix and oral cavity in HIV positive women. PLoS ONE 15(4): e0227900. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227900>

Editor: Francisco Aguayo, Universidad de Chile, CHILE

Received: April 23, 2019

Accepted: January 2, 2020

Published: April 22, 2020

Copyright: © 2020 Pérez-Quintanilla et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: We acknowledge the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, de la Dirección General de Apoyo a Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (PAPIIT-IN213016; Genómica de Virus de Papiloma Humano tipo 16

1 Subdirección de Investigación Clínica, Instituto Nacional de Cancerología México (INCan), Secretaría de Salud (SSA), Mexico City, Mexico, 2 Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Subdirección de Investigación Básica, Instituto Nacional de Cancerología, SSA, Mexico City, Mexico, 3 Doctorado en Biotecnología & Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Mexico, 4 Unidad de Investigación en Epidemiología y Servicios de Salud (UIESS), Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Mexico City, Mexico, 5 Servicio de Citopatología, INCan, SSA, Mexico City, Mexico, 6 Servicio de Patología Quirúrgica, INCan, SSA, Mexico City, Mexico, 7 Servicio de Ginecología, Clínica Especializada Condesa (CEC) de los Servicios de Salud Pública del Distrito Federal, SSA, Mexico City, Mexico, 8 Servicio de Ginecología Oncológica, INCan, SSA, Mexico City, Mexico, 9 Unidad de Genómica y Cáncer, Subdirección de Investigación Básica, INCan, SSA and Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, 10 Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, 11 Subdirección de Investigación Clínica, INCan, SSA, Mexico City, Mexico

* These authors contributed equally to this work.

† These authors also contributed equally to this work.

* dcantude@gmail.com (DC); carranca@biomedicas.unam.mx (AGC)

Abstract

Human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection worldwide, with a high prevalence and high transmissibility. High-risk HPV (hrHPV) infection is the primary cause of cervical cancer. The HPV variants present in the uterine cervix and oral cavity of HIV+ women have not been described.

Objective

Identify the prevalence of HPV infections in the uterine cervix and oral cavity and HPV16 variants in HIV+ women.

Methods

A total of 174 HIV+ women attended an HIV+ specialized clinic in Mexico City. Cells were obtained from the oral cavity and cervix to extract DNA. Polymerase chain reaction (PCR) was used to amplify the HPV sequence with generic primers. We detected specific HPV types using the INNO-LIPA HPV Genotyping Extra II Kit (INNOGENETICS). The



High prevalence of human papillomavirus type 66 in low-grade cervical lesions of Mexican women

Karina Juárez-González¹ · Vladimir Paredes-Cervantes² · Silvia Gordillo-Rodríguez³ · Saul González-Guzmán^{4,5} · Xochilt Moncayo-Valencia³ · Rocío Méndez-Martínez⁶ · Alejandro García-Carrancá⁷ · José Darío Martínez-Ezquerro⁸ · Rodolfo Rivas-Ruiz⁹ · Patricia Sánchez-Suárez¹⁰ · Paola Álvarez-Sandoval¹¹ · Patricia Padilla-Arrieta¹¹ · Martha Martínez-Salazar¹² · Salvador Vázquez-Vega¹³

Received: 2 March 2020 / Accepted: 7 July 2020
© Springer-Verlag GmbH Austria, part of Springer Nature 2020

Abstract

Our aim was to analyze the prevalence of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) and its association with risk factors related to cervical lesions. We used 362 cervical samples from a transversal study to detect nineteen types from the high-risk HPV clade by highly sensitive PCR. Unexpectedly, we found a very high prevalence of HPV type 66 (32.8%), particularly in low-grade squamous intraepithelial lesions. A significant association of HPV 66 with previously sexually transmitted disease was observed ($p < 0.05$). Our results strongly suggest that HPV66 might be indicative of cervical lesions that will not progress to cancer. HPV genotyping by methods that grouped type 66 with other HR-HPV clade types should be interpreted with caution.

Handling Editor: Carolina Scagnolari.

Karina Juárez-González and Vladimir Paredes-Cervantes contributed equally.

✉ Martha Martínez-Salazar
marthamarsal@gmail.com

✉ Salvador Vázquez-Vega
salvazvega@gmail.com

¹ Unidad de Medicina Familiar No. 28, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Mexico City, Mexico

² Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza", IMSS, Mexico City, Mexico

³ Hospital de Gineco-Pediatría 3A, IMSS, Mexico City, Mexico

⁴ Banco Central de Sangre, Centro Médico Nacional "La Raza", IMSS, Mexico City, Mexico

⁵ Hospital Regional de Alta Especialidad de Zumpango, Zumpango de Ocampo, Mexico

⁶ Laboratorio de Virus y Cáncer, Dirección de Investigación, Instituto Nacional de Cancerología, Secretaría de Salud, Mexico City, Mexico

⁷ Laboratorio de Virus y Cáncer, Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Cancerología, Secretaría de Salud, Mexico City, Mexico

⁸ Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Área Envejecimiento (UIESSAE), Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico City, Mexico

⁹ Centro de Adiestramiento en Investigación Clínica, Coordinación de Investigación en Salud, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico City, Mexico

¹⁰ Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, UMAE Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico City, Mexico

¹¹ Servicio de Radioterapia, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico City, Mexico

¹² Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, UMAE Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc, 330. Col. Doctores Alcaldía Cuauhtémoc, CP. 06720 Mexico City, Mexico

¹³ Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud (UIESS), Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Av. Cuauhtémoc, 330. Col. Doctores Alcaldía Cuauhtémoc, CP. 06720 Mexico City, Mexico

Published online: 18 August 2020

Springer

Journal Pre-proof



Great diversity of oncogenic human papillomaviruses is revealed in an outbreak of multifocal epithelial hyperplasia

Sandra Margarita Jiménez Aguilar, DDS, Daniel Lizárraga Rodríguez, DDS, Víctor Fernando Muñoz Estrada, DDS, Silvestre Guadalupe Cázarez Salazar, MSc, Jesús Salvador Velarde Félix, PhD, Rocío Susana Méndez Martínez, PhD

PII: S0190-9622(19)33318-3

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.12.041>

Reference: YMJD 14094

To appear in: *Journal of the American Academy of Dermatology*

Received Date: 25 October 2018

Revised Date: 16 December 2019

Accepted Date: 19 December 2019

Please cite this article as: Jiménez Aguilar SM, Rodríguez DL, Muñoz Estrada VF, Cázarez Salazar SG, Velarde Félix JS, Méndez Martínez RS, Great diversity of oncogenic human papillomaviruses is revealed in an outbreak of multifocal epithelial hyperplasia, *Journal of the American Academy of Dermatology* (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.12.041>.

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2019 Published by Elsevier on behalf of the American Academy of Dermatology, Inc.



High frequency of HPV16 European variant E350G among Mexican women from Sinaloa

Elisa Anali Camacho-Ureta^{1,*}, Rocío Susana Mendez-Martínez^{1,3,*}, Salvador Vázquez-Vega⁴, Ulises Osuna Martínez¹, Rosalinda Sánchez Arenas⁴, Hipólito Castillo-Ureta², Ignacio Osuna Ramírez¹, Edith Hilario Torres Montoya², Héctor Samuel López Moreno¹, Alejandro García-Carranca^{3,5} & José Guadalupe Rendón-Maldonado¹

¹Faculty of Chemical and Biological Sciences, ²Faculty of Biology, Autonomous University of Sinaloa, Culiacan, ³Laboratory of Virus & Cancer, Instituto Nacional de Cancerología, SS, ⁴Unit of Epidemiological Research and Health Services SXXI, Centro Médico Nacional & ⁵Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

Received January 13, 2017

Background & objectives: Human papillomavirus (HPV) infections play a crucial role in the aetiology of cervical cancer (CC), and HPV16 is the primary viral genotype associated with CC. A number of variants of the HPV16 *E6* gene are involved in the progression of CC, differing in their prevalence and biological and biochemical properties. This study was designed to determine the frequency of HPV types 16/18 and to identify the presence of HPV16 *E6*-variants in asymptomatic Mexican women.

Methods: A total of 189 cervical Pap smears were collected from women attending public health services in three different cities in Sinaloa, Mexico. Viral DNA was identified by amplification of *E6* viral gene fragments using polymerase chain reaction (PCR). Identification of variants was done by sequencing a DNA fragment (321bp) of the HPV16 *E6* gene.

Results: More than half of the women tested were HPV-positive (52.38%), with HPV16 being the most frequent genotype (21.16%), followed by HPV18 (8.99%). Sequence analysis of the *E6*-HPV16 PCR products showed that in all cases, the viruses corresponded to European variants. It was further observed that the E350G intra-variant was the most common (>76%).

Interpretation & conclusions: This study showed a predominance of European lineage variants of HPV16 among asymptomatic women from Sinaloa, Mexico, predominantly with of the E350G variant. This variant has been shown to be associated with an increased risk of early development of CC. The use of molecular identification of carcinogenic HPV and Pap test screening may be a good strategy for monitoring women to prevent CC.

Key words Cervical cancer - European variant - human papillomavirus - molecular diagnostics

*These authors contributed equally in this work.

Precancerous squamous intraepithelial lesions by human papillomavirus infection and *p53* R72P polymorphism in Mexican women

*Juan Jose Rios-Tostado*¹
Jesus Salvador Velarde Felix^{1,2}
*Ignacio Osuna Ramirez*²
Hipolito Castillo Ureta^{1,2}
Rocio Susana Mendez Martinez^{2,3}
*Lorenzo Ulises Osuna-Martinez*²
*Hector Samuel Lopez-Moreno*²
*Fred Morgan Ortiz*⁴
*Joel Murillo Llanes*⁵
Jose Guadalupe Rendon-Maldonado^{2*}

¹Escuela de Biología, Universidad Autónoma de Sinaloa. Av. de las Américas y Blvd. Universitarios, Culiacan, Sinaloa, Mexico 80010.

²Posgrado en Ciencias Biomedicas y Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Av. de las Américas y Blvd. Universitarios, Culiacan, Sinaloa, 80010 Mexico.

³Laboratorio de Virus y Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Ignacio Allende esquina de Tlalpan, Belisario Domínguez Secc. 16, 14080 Ciudad de México, México.

⁴Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Av. Alvaro Obregón 1422, Tierra Blanca, 80030 Culiacan, Sinaloa, México.

⁵Departamento de Investigación, Hospital de la Mujer, Blvd. Miguel Tamayo, Desarrollo Urbano Tres Ríos, Culiacan, Sinaloa, 80020 México.

Corresponding author:

Jose Guadalupe Rendon-Maldonado
E-mail: jgrendonm@uas.edu.mx

Tel/fax: +52 6677520460

Abstract

The aim was to determine the association between R72P polymorphism of *p53* gene and the risk of developing squamous intraepithelial cervical lesions in HPV-16 and /or 18 infected women. Two groups of women were included in this study: 74 patients HPV-16 and /or 18 positive with a cytological and colposcopy diagnosis of squamous intraepithelial lesion and a group of unrelated 130 healthy blood-donors. The viral genotype, allele and genotype of the polymorphism frequencies were determined by PCR approached. The results were analyzed with the statistical programs DeFinetti and STAT intercooled v11.1. Patients with high-grade squamous intraepithelial lesions (HG-SIL) were infected mainly by HPV-16 (60.72%) compared to low-grade lesions (LG-SIL) (39.28%) (OR 3.14; $p=0.037$), with HPV-18 genotype 68.96% of LG-SIL and 31.04% were HG-SIL (OR=0.24, $p=0.006$). HG-SIL were more common in patients carrying both viral genotypes (70.59% vs. 29.41%) (OR 2.8, $p=0.008$). A statistically significant association was observed between the genotype R/R and HG-SIL (OR=11.25, IC 3.8-33.29, $p=0.000$) compared to those with LG-SIL. The P/R genotype was significantly more frequent in patients LG-SIL, compared to HG-SIL (OR=0.27, $p=0.00$). In conclusion, patients with the R/R genotype showed more susceptibility to HPV-16 infection and they have almost 12 times more risk probability of HG-SIL compared to women having the heterozygous genotype and HPV-18.

Keywords: Human papillomavirus, *p53* gene, *R72P* polymorphism, cervical cancer

SUPERVISIÓN Y DIRECCIÓN DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud

Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra

Prevalencia de Virus del Papiloma Humano de Alto Riesgo (VPH-AR) en la Neoplasia
Escamosa de la Superficie Ocular (NESO)

Tesis

Que para optar por el grado de
Maestra en Ciencias Médicas

Presenta

Paola Josefina De La Parra Colín

Tutor

Alberto Hidalgo Bravo

Comité Tutorial

Margarita Valdés Flores

Juan Carlos Zenteno Ruíz

Esta tesis fue elaborada bajo la tutoría del **Dr. Alberto Martín Hidalgo Bravo** en el Laboratorio de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra y bajo la asesoría técnica y académica de la **M. en C. Rocío Susana Méndez Martínez** y del **Dr. Alejandro Manuel García Carrancá** en el Laboratorio de Virus y Cáncer del Instituto Nacional de Cancerología.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

Detección molecular de virus del papiloma humano en
mujeres con citología vaginal normal (2015)

TESIS

Que presenta

Cristel Samantha Benitez Bueno

Como requisito para obtener el título de:

Licenciada en Químico Farmacéutico Biólogo

Directores

MC. Rocío Susana Méndez Martínez
Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado

Culiacán de Rosales, Sinaloa, México.

Mayo 04 de 2016.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA
CURSO DE ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA ONCOLÓGICA

PREVALENCIA DE VIRUS PAPILOMA HUMANO EN MUCOSA ORAL Y
CERVICAL EN MUJERES VIH POSITIVAS EN 2 GRUPOS
POBLACIONALES: MEXICO Y NICARAGUA

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
SUBESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA ONCOLÓGICA

PRESENTA:

DRA. MILAGROS CLEMENTINA PÉREZ QUINTANILLA

ASESOR DE TESIS:

DR. DAVID FRANCISO CANTÚ DE LEÓN

MEXICO, DISTRITO FEDERAL, 2015.

AUTORES

AUTOR:

Dra. Milagros Clementina Pérez Quintanilla
Médico Residente de Tercer Año
Subespecialidad en Ginecología Oncológica
Instituto Nacional de Cancerología

ASESOR DE TESIS:

Dr. David Francisco Cantú De León
Ginecólogo oncólogo
Subdirección de Investigación Clínica
Instituto Nacional de Cancerología

COLABORADORES:

- 1. Dr. Alejandro García Carrancá**
Investigador titular F, Biólogo molecular
Subdirección de investigación básica
Instituto Nacional de Cancerología
- 2. Ms. Rocío Susana Méndez Martínez**
Maestría en ciencias; biología molecular en
cáncer.
Subdirección de investigación básica
Instituto Nacional de Cancerología
- 3. Dra. Raquel Espinoza Romero**
Médico patóloga
Servicio de citopatología
Instituto Nacional de Cancerología
- 4. Dra. Rita Sotelo Regil**
Médico patóloga
Servicio de citopatología
Instituto Nacional de Cancerología
- 5. Dr. Jorge Oscar García Méndez**
Infectólogo
Departamento de Posgrado de Educación
Médica Continua
Instituto Nacional de Cancerología
- 6. Dr. Ervin Ambota López**
Médico Epidemiólogo, Maestría de salud
pública
Responsable del Programa de Atención
Integral Del Paciente VIH Positivo
Hospital General De Rivas, Nicaragua.
- 7. Dra. Ana Quintanilla Fariñas**
Médico Pediatra
Diplomado en manejo del paciente VIH
positivo.
Hospital General De Rivas, Nicaragua.
- 8. Dr. Ubaldo Ramos Alamillo**
Médico Ginecólogo e Investigador en Ciencias
Médicas "A"
Clínica Especializada La Condesa de los
Servicios de Salud Pública del Distrito
Federal.
- 9. Dra. Teresita de Jesús Cabrera**
Médico Ginecólogo
Clínica Especializada La Condesa de los
Servicios de Salud Pública del Distrito Federal



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO COMO FACTOR DE RIESGO EN CÁNCER BUCAL:
EVALUACIÓN DE LOS
FACTORES DE RIESGO EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

ERIKA THALÍA VÁZQUEZ CORONA

TUTOR:

Dr. JUAN CARLOS HERNÁNDEZ GUERRERO

ASESORES:

Mtra. ERIKA MOSALVO OBREGÓN
Dra. MARÍA DOLORES JIMÉNEZ FARFÁN
Mtro. ARTURO SALGADO HERNÁNDEZ
Mtra. ROCIO S. MÉNDEZ MARTÍNEZ

MÉXICO DF

2015



En nombre del Comité Científico del 34° Congreso Panamericano de Oftalmología, otorga la siguiente constancia por la presentación oral del trabajo presentado

Prevalencia del virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) en la neoplasia escamosa de la superficie ocular (NESO) ON-T08 (4321300)

*Paola De La Parra-Colin**; Alberto Hidalgo-Bravo; Rocío Méndez-Martínez; Raúl Pichardo-Bahena; Tonatiuh Barrientos-Gutiérrez; Alejandro García-Carrancá*

Estimado/a Dr De La Parra-Colin:

En nombre del Comité Científico del 34° Congreso Panamericano de Oftalmología que tendrá lugar del 25 al 28 de Mayo del 2019 en el Centro Internacional de Convenciones de Cancún (ICC), en Cancún, México, tenemos el agrado de informarle la programación del trabajo libre siguiente.

Título:..... Prevalencia del virus del papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) en la neoplasia escamosa de la superficie ocular(NESO)

Código (# control):..... ON-T08 (4321300)

Tipo de presentación:.... Trabajo Libre (presentación oral)

Autor(es):..... Paola De La Parra-Colin**; Alberto Hidalgo-Bravo; Rocío Méndez-Martínez; Raúl Pichardo-Bahena; Tonatiuh Barrientos-Gutiérrez; Alejandro García-Carrancá



El Comité Organizador del 2nd Symposium on Molecular Aspects of Virology

Otorga la presente constancia a:

Benítez-Bueno Cristel Samantha, Rocío Méndez-Martínez, Elisa Anali Camacho-Ureta, Alma Herrera-Salazar, José Guadalupe Rendón-Maldonado, Héctor Samuel López Moreno, Ulises Osuna Martínez and Ignacio Osuna Ramírez.

Por la presentación de su trabajo en modalidad cartel titulado:

Molecular identification of human papillomavirus genotypes in cervico-vaginal scrapes of women from Sinaloa with normal cytology.

Evento realizado en el Centro Cultural "Jaime Torres Bodet" del Instituto Politécnico Nacional en la Ciudad de México del 19 al 21 de octubre de 2016.

Dr. Héctor Vivanco Cid
Coordinador de la sesión

Dra. Ma. Isabel Salazar Sánchez
Comité organizador



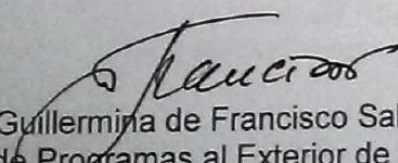
Dirección General de
Divulgación de la Ciencia
U N A M



M. en C. Rocío Susana Méndez Martínez
Instituto Nacional de Cancerología
P r e s e n t e

Nos es muy grato enviar a usted, una sincera felicitación por su destacada labor como investigadora asesora del Programa "Jóvenes hacia la Investigación". Hacemos relevante esta felicitación, ya que durante el periodo de Estancias Cortas 2015, la alumna Jocelyn González Macías obtuvo Mención Honorífica en el concurso de carteles científicos del área de Ciencias de la Salud a nivel bachillerato, con el trabajo "Identificación del virus del Papiloma Humano (VPH) en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) VIH positivos". Es para nosotros un privilegio contar con su participación en estas actividades del Programa y constatar el beneficio que obtienen nuestros alumnos. Reciba nuestro sincero agradecimiento.

A t e n t a m e n t e
"Por mi Raza Hablará el Espíritu"
Ciudad Universitaria, D.F., a 20 de noviembre de 2015


Biól. Guillermina de Francisco Salas
Jefa de Programas al Exterior de la DGDC/UNAM