

Expertos Invitados

PERFIL CLÍNICO E IMUNOLÓGICO DAS MANIFESTAÇÕES ALÉRGICAS RESPIRATÓRIAS EM PACIENTES INFECTADOS COM HTLV-1



Columnista Experto de SIIC
Dr. Adelmir Souza-Machado

Professor Adjunto de Farmacologia, Salvador, Brasil

Introdução

O vírus linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus que altera funcionalmente células que são importantes para a imunorregulação do sistema imune. Inicialmente, o HTLV-1 infecta linfócitos T e se incorpora ao genoma celular; em seguida as proteínas regulatórias alteram as vias de ativação e morte celular facilitando a progressão da doença; finalmente o HTLV-1 induz uma forte resposta antiviral, incapaz entretanto de eliminá-lo.

O genoma do HTLV-1 contém 3 genes estruturais *gag*, *pol* e *env* e dois regulatórios (*tax* e *rex*). Os genes *tax* e *rex* regulam a transativação da replicação viral e regulam a expressão das proteínas virais.¹ O HTLV-1 tem tropismo por linfócitos T CD4⁺, mas também pode infectar linfócitos T CD8⁺;² gera uma resposta predominante do tipo 1, com produção elevada de IFN γ , TNF α , MIP-1 α e -1 β .^{3,4} Os linfócitos T CD4⁺ infectados apresentam atividade de aderência ao endotélio e de migração através das membranas basais aumentadas.⁵ Do ponto de vista clínico, a infecção pelo HTLV-1 pode causar malignidades hematológicas - leucemia a/linfoma de células T do adulto (ATLL) - e doenças neurológicas - paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) em uma minoria dos infectados.⁶

As doenças alérgicas e parasitárias caracterizam-se por manifestações imunológicas predominantemente do tipo 2 com elevação de IL4 e ativação de mastócitos e eosinófilos.⁷ Moléculas bivalentes de IgE acopladas a superfície de mastócitos e basófilos promovem a liberação de histamina e outros mediadores a partir destas células. A IL4 e a histamina suprimem a produção de IL2, IFN γ e IL12.^{8,9}

Citocinas produzidas pelos diferentes subgrupos de linfócitos -Th1/Th2, exercem função regulatória antagonista da resposta imune.^{7,9-11} Indivíduos infectados com o vírus HTLV-1, por apresentarem forte resposta imune do tipo 1, podem estar suscetíveis a doenças autoimunes e inflamatórias. Como esta forte resposta tipo 1 pode inibir a produção de citocinas por células Th2, indivíduos infectados pelo HTLV-1 são mais suscetíveis a doenças causadas por helmintos e podem ter reduzidas as manifestações de natureza alérgica. Este estudo tem como objetivo, revisar os principais aspectos clínicos e imunológicos da relação entre atopia e infecção pelo HTLV-1.

Ação do HTLV-1 sobre os diferentes grupos celulares

O vírus HTLV-1 infecta preferencialmente linfócitos T CD4⁺, porém outros grupos celulares estão envolvidos tais como linfócitos T CD8⁺ e células NK.^{12,13} Além destas células observou-se a susceptibilidade de células epiteliais e dendríticas tornarem-se infectadas pelo HTLV-1 *in vitro*.¹⁴⁻¹⁶ As células dendríticas são células apresentadoras de antígenos que tem a capacidade de estimular linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺. Em alguns estudos *in vitro* e *in vivo* nas quais estas células foram infectadas com o HTLV-1, houve a apresentação do antígeno viral a linfócitos e proliferação linfocitária.^{15,16} Pode haver também reconhecimento de células T CD4⁺ por linfócitos autólogos levando a ativação e proliferação destas células.¹² Todavia, estas não parecem ser as vias

preferenciais de ativação e proliferação celular para este tipo de infecção.

A infecção pelo vírus HTLV-1 gera uma proliferação de linfócitos T, produção espontânea elevada de IFN γ , TNF α , e IL6,^{3,4} e há uma redução nos níveis de IL-4.^{17,18} Citocinas do tipo Th1, especialmente o IFN γ , são essenciais para a função citotóxica adequada das células T,¹⁹ e modulam negativamente a resposta Th2, enquanto a IL4 e IL10 suprimem a resposta Th1 e regulam negativamente a ação do IFN γ sobre as células Th2.^{18,20}

Wu e colaboradores²¹ examinaram as alterações de subgrupos de linfócitos T de memória e células NK do sangue periférico de pacientes com HTLV-1 em relação aos seus respectivos receptores de superfície, utilizando a técnica de citometria de fluxo. Alguns receptores de linfócitos T CD4⁺ ativadas apresentavam características dos dois clones Th1 e Th2.²¹ Em um outro estudo, Yoshie e colaboradores²² demonstraram que células T imortalizadas frequentemente expressavam CCR4, molécula correlacionada com a produção seletiva Th2. A produção de citocinas do tipo 2 por linfócitos T infectados pelo HTLV-1 pode contribuir para o desvio da resposta imune e evasão viral *in vivo*.

Todavia, é amplamente documentado que as respostas imunes no curso da infecção pelo HTLV-1 são caracterizadas por um aumento de citocinas Th1. Em comparação com indivíduos não infectados, existe na infecção pelo HTLV-1 forte predominância da síntese de TNF α e IFN γ em relação a IL4, IL5 e IL10. Estes dados são observados em portadores do HTLV-1 e HAM/TSP.¹⁸ A mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) é caracterizada por infiltração perivascular inflamatória com desmielinização.²³ Grandes quantidades de células T CD8⁺ citotóxicas circulantes produtoras de IFN γ são encontradas no sangue periférico de pacientes com HAM/TSP e estas estão positivamente correlacionadas com a carga viral, porém esta correlação não foi observada em portadores assintomáticos do vírus.²⁴ Além disso, Wu e colaboradores observaram que o percentual de células NK maduras estava reduzido em pacientes com HAM/TSP quando comparados a controles não infectados, evento este que poderia estar relacionado a persistência da infecção viral.²¹

Características da produção de citocinas durante a infecção pelo HTLV-1

Citocinas do tipo Th1, especialmente o IFN γ , são essenciais para a função citotóxica das células T,¹⁹ por outro lado a IL4 e IL10 desempenham papel crucial para a resposta imune do tipo 2 e para a regulação negativa da ação do IFN γ .^{18,20} Esta polarização da resposta imune pode ser observada nas infecções pelo HIV em que a progressão para SIDA parece estar associada a uma mudança do perfil Th1 para Th2 em um subgrupo de pacientes.²⁹ Drogas anti-virais em pacientes com HIV restauram a resposta tipo 1, evidenciada pelo aumento da produção de IFN γ e redução da IL10.³⁰ A IL10 é reconhecida como uma inibidora potente de citocinas pró-inflamatórias e da polarização Th1 *in vitro* e *in vivo*.^{31,32} Experimentos *in vitro* têm evidenciado que linfócitos T não estimulados de pacientes com HTLV-1 secretam grandes quantidades de IFN γ , sendo observados dois padrões de produção (alta e baixa).¹⁸ A adição de IL10 à cultura de células periféricas do sangue de indivíduos com infecção pelo HTLV-1 modula negativamente a produção de IFN γ ; porém o efeito regulador mais intenso sobre as células infectadas só foi observado com concentrações elevadas da IL10. Em culturas de células de indivíduos controles soronegativos, estimuladas com PPD, observou-se grande inibição do IFN γ com doses de muito menores.¹⁸

Van den Broek e colaboradores³¹ estudaram a resposta imune na infecção pelo vírus da vaccínia em camundongos deficientes de IL12, IFN γ , IL4, e IL10. Os camundongos deficientes de IL4 e IL10 foram mais resistentes a infecção viral e a ausência de IL10 contribuiu para uma resposta anti-viral mais eficiente do que a ausência de IL4. Neste mesmo experimento, um subgrupo de camundongos imunocompetentes infectados com vírus vaccínia expressando gene para IL4, apresentou uma redução da resposta citotóxica mediada por linfócitos CD8⁺. Estes achados corroboram o efeito modulador destas citocinas na resposta imune antiviral.³¹

A proteína viral *tax* do H

TLV-1 aumenta a expressão de IL4 em células T ativadas nas fases iniciais de infecção.³³ Nesta fase, o aumento da IL4 e de outros genes podem facilitar a infecção e acelerar a proliferação de linfócitos.^{33, 34} Outras citocinas com perfil Th2 (IL5 e IL10) também podem ser observadas em sobrenadantes de cultura de células de portadores assintomáticos do HTLV-1.¹⁸ Essas observações sugerem que clones de células Th2 também são estimulados, pela própria disregulação da resposta imune ou na tentativa de modular negativamente a ativação dos linfócitos T.³³

A IL-5 é uma potente indutora de eosinofilia e responsável por várias funções eosinofílicas. A persistente infiltração de eosinófilos na mucosa respiratória contribui para a fisiopatologia das doenças alérgicas tais como as rinosinusites e a asma.³⁴ Todavia, nem toda infiltração

eosinofílica é de origem alérgica ou depende da ação da IgE.^{34,35}

Em indivíduos com HTLV-1 a proteína viral *tax* pode regular a expressão de IL5 em células Th2 ou células leucêmicas transformadas, de forma que a presença de IL5 e a eosinofilia podem ser observadas em pacientes com HTLV-1-1/ATL.^{35,36}

As quimiocinas RANTES e eotaxina são potentes quimioatraentes para eosinófilos, linfócitos e monócitos, contudo a eotaxina é a mais específica para migração de eosinófilos.³⁴ Indivíduos alérgicos apresentam maior número de células subepiteliais expressando esta quimiocina (eotaxina- RNAm) quando comparados a controles. Além disso, foi observada uma forte associação entre eotaxina expressada em células subepiteliais e o número de eosinófilos.³⁴ Estudos *in vitro* têm demonstrado que a presença de IFN γ inibe a síntese de eotaxina e a eosinofilia.³⁷⁻³⁹

O TNF α isoladamente é capaz de estimular a produção de eotaxina e este efeito é potencializado na presença de IL4. Experimentos com células epiteliais brônquicas humanas mostraram que a produção de RANTES pelo TNF α aumentou na presença de IFN γ e de modo dose dependente, sem alterar a produção de eotaxina.³⁸ Em indivíduos com elevada produção de IFN γ e TNF α , como na infecção como HTLV-1, é possível que a migração eosinofílica seja mínima e ocorra independentemente de eotaxina, talvez estimulada preferencialmente por RANTES.³⁵⁻³⁹ Observa-se portanto que a estimulação das respostas imunes Th1 e Th2 não pode ser considerada mutuamente excludente; os dois subgrupos celulares podem cooperar para gerar uma inflamação eosinofílica.⁴⁰

Supressão da produção de IgE e da reatividade cutânea

Um dos mais poderosos mecanismos efetores do sistema imune é a reação iniciada nos tecidos pela ação da IgE sobre os mastócitos e sobre os basófilos circulantes. Quando o antígeno se liga a moléculas de IgE pré-fixadas à superfície destas células, há uma liberação de vários mediadores que estão envolvidos no mecanismo de defesa contra agentes infectantes, mas quando disregulados levam ao aparecimento de reações de hipersensibilidade imediata com dano aos nossos próprios tecidos. A IgE elevada tem sido identificada como o maior fator de risco para asma.⁴¹ Em coortes de crianças asmáticas os níveis de IgE foram associados ao diagnóstico de asma e hiperreatividade brônquica. Desta forma, a IgE pode ser considerada uma molécula essencial para o desenvolvimento de inflamação em vários sistemas. A principal função protetora da IgE é a erradicação de helmintos.

A IgE regula positivamente os receptores Fc ϵ RI e Fc ϵ R2 (CD23) da membrana celular de mastócitos e de vários outros grupos celulares.⁴² Os mastócitos são células muito sensíveis a ativação pelo receptor de alta afinidade Fc ϵ RI; apenas 10³ receptores ocupados seriam necessários para a completa ativação e a liberação de histamina, mediadores neoformados e citocinas.^{42,43}

O Fc ϵ R2 (CD23) ligado a célula está elevado em indivíduos atópicos e durante as exacerbações da doença. Ao contrário, na remissão da doença alérgica e na presença de IFN γ observa-se a queda dos níveis de CD23.⁴⁴ Em monócitos e macrófagos o CD23 influencia atividades tais como citotoxicidade contra parasitos, libera mediadores e regula a síntese de IgE.⁴⁵

O IFN γ inibe o CD23 de modo dose dependente. Matsumoto e colaboradores avaliaram os níveis de CD23 solúvel e IgE em indivíduos com HTLV-1 comparados a um grupo controle não-infectado. Os autores observaram decréscimo dos níveis de IgE e CD23 solúvel no grupo infectado quando comparado ao controle.⁴⁵ Em indivíduos assintomáticos infectados com o HTLV-1 tem sido observada a redução dos níveis de IgE total e específica para antígenos de *Dermatophagoides pteronissynus* e *farinae*.⁴⁶ Em pacientes com HAM/TSP em que a polarização Th1 é mais intensa do que nos portadores assintomáticos, a redução da IgE é ainda mais pronunciada.⁴⁶

A infecção pelo helminto *Strongyloides stercoralis* deflagra uma resposta imune tipicamente Th2, caracterizada por eosinofilia e elevados níveis de IgE. Vários autores têm estudado a associação entre HTLV-1 e a co-infecção causada pelo *Strongyloides stercoralis*.^{25,48-51} Porto et al.⁵¹ avaliaram a resposta imune humoral de indivíduos com HTLV-1 co-infectados com *Strongyloides stercoralis* comparados a um grupo somente infectado pelo *Strongyloides stercoralis* e observaram um decréscimo dos níveis de IgE específica para o parasito assim como da reatividade cutânea aos testes de leitura imediata nos indivíduos co-infectados com HTLV-1. Em um outro estudo, Satoh e colaboradores²⁵ estudaram indivíduos parasitados pelo *S. stercoralis* co-infectados ou não com HTLV-1, tratados com albendazol e observaram que os pacientes com *S. stercoralis* co-infectados pelo HTLV-1 exibiam não só níveis mais reduzidos de IgE específica para o parasito, como menor índice de cura quando comparados ao grupo sem HTLV-1. Nos pacientes co-infectados não curados houve também maior frequência da expressão de IFN γ em células mononucleares. Além

disso os casos de hiperinfecção com *S. stercoralis* são mais freqüentes em pacientes co-infectados com o HTLV-1.^{58,61} Estes resultados demonstram que em pacientes com estrogiloidíase a infecção persistente com o HTLV-1 suprime a resposta imune tipo 2, afeta a imunidade específica ao *S. stercoralis*, reduz a eficácia terapêutica e aumenta a freqüência de aparecimento de formas graves e disseminação de estrogiloidíase.⁴⁹⁻⁵¹

Horiuchi et al.⁴⁶ compararam a expressão de IFN γ e IL4 em pacientes com esclerose múltipla, mielite aguda alérgica, HTLV-1 (portadores assintomáticos e HAM/TSP) e outras doenças neurológicas. A regulação da resposta imune nos indivíduos com HTLV-1 e esclerose múltipla estava associada a uma maior razão intracelular de IFN γ /IL4 em linfócitos T CD4⁺. Nos pacientes com HTLV-1 esta relação elevada deveu-se a uma redução significativa do percentual de células T CD4⁺ que expressavam IL4. O aumento da razão intracelular de IFN γ /IL4 indica que a resposta imune predominantemente tipo 1 reduz a produção de IL4. Neste mesmo estudo, em pacientes com HTLV-1, os níveis de IgE sérica mostraram-se bastante reduzidos, principalmente naqueles com HAM/TSP, em comparação aos demais subgrupos.⁴⁶

No modelo de doença alérgica, a polarização Th2 faz-se principalmente às custas de uma deficiência de IFN γ e produção aumentada de IL4.⁵³ Pacientes infectados pelo HTLV-1, produzem mais IFN γ , produzem menos IL4 e IgE e, têm menor reatividade aos testes cutâneos de hipersensibilidade imediata.^{18,46,50,22} Estas características podem conferir proteção contra as manifestações de atopia. Souza-Machado et al observaram que a freqüência de atopia e reatividade cutânea a aeroalérgenos estavam reduzidas em portadores do HTLV-1 quando comparados a controles não infectados. A infecção pelo HTLV-1 foi protetora (RP = 0.44; p < 0.005) contra atopia neste subgrupo de indivíduos.⁵³

Discussão integrada e comentários finais

O HTLV-1 é um retrovírus de DNA que infecta preferencialmente linfócitos T do tipo CD4⁺, mas que também pode infectar outros subgrupos de células do sistema imune e células epiteliais. Citocinas do tipo Th1, especialmente IL12 e IFN γ , são essenciais para função citotóxica adequada das células T¹⁹ e modulam negativamente a resposta Th2, enquanto IL4 e IL10 suprimem a resposta Th1 e regulam negativamente a ação do IFN γ e a ação das células Th2.¹⁸ As doenças alérgicas e parasitárias caracterizam-se grosseiramente por manifestações imunológicas predominantemente do tipo 2 com elevação de IL4 e ativação de mastócitos e eosinófilos.^{7,41} Em pacientes co-infectados com HTLV-1 e helmintos foi claramente observado a susceptibilidade destes pacientes a aquisição de parasitoses, falência terapêutica e formas graves ou disseminadas de infestação.^{25,49-52} Desta forma dever-se-ia esperar que houve supressão da resposta imune tipo 2 e redução da gravidade da asma em pacientes atópicos. Todavia, existem evidências de que a resposta imune tipo 2 pelo HTLV-1 possa exacerbar ou perpetuar algumas formas de asma. A observação de que pacientes com HTLV-1 podem cursar com manifestações respiratórias sugestivas de rinite e asma brônquica alérgica desperta grande interesse no mecanismo regulador dessa associação.⁵³⁻⁵⁵ O caso índice para a nossa coorte⁵⁵ tratou-se de uma paciente de 45 anos com sintomas pronunciados de rinite e asma brônquica, sem sinais de mielopatia, que apresentava laboratorialmente testes cutâneos de leitura imediata para aeroalérgenos positivos, elevados níveis de IgE total e específica para *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae* e *Blomia tropicalis*, associados a produção bastante aumentada de IFN γ , TNF α , IL5 e IL10. Embora seu estado de infecção tenha sido identificado há no mínimo 5 anos, o estímulo imunológico predominante tipo 1 não foi suficiente para suprimir a resposta tipo 2 e a gravidade dos sintomas de rinite e asma, naquela paciente.

Ainda que não tenha sido amplamente aceito, em modelo experimental, tem sido descrito que a coexistência de respostas Th1 e Th2 concorre para maior estímulo inflamatório na asma, por potencialização da resposta tipo 2.⁴⁰

A infecção por helmintos deflagra uma resposta tipicamente Th2, caracterizada por eosinofilia e elevados níveis de IgE. Vários autores tem observado que indivíduos com HTLV-1 co-infectados pelo *Strongiloides stercoralis* apresentam redução da resposta imune ao parasito, evidenciada pela redução das citocinas Th2, dos níveis de IgE específica contra o parasito e da reatividade cutânea aos testes de leitura imediata (SPT).^{50,51}

Souza-Machado et al⁵³ observaram que a freqüência de atopia e reatividade cutânea a aeroalérgenos comuns na região Nordeste do Brasil estava reduzida a metade em indivíduos atópicos com manifestações de rinite e asma infectados com HTLV-1, quando comparados a controles atópicos não infectados. A infecção pelo HTLV-1 constituiu-se fator protetor para reatividade cutânea em modelo de regressão logística, neste grupo de indivíduos (RP = 0.44).

Conceitualmente, alergia caracteriza-se por uma resposta imune aberrante a determinado estímulo antigênico. Embora tenha sido observado que a reatividade cutânea a alérgenos está reduzida em uma proporção elevada dos indivíduos com HTLV-1,⁵³ a melhor avaliação da produção de citocinas tais como IFN γ , IL5 e IL10, e da capacidade moduladora da IL10 naqueles indivíduos com história de atopia, SPT positivos e IgE específica para *D. pteronyssinus* constitui-se em uma etapa crucial para o melhor entendimento deste fenômeno.

A associação entre dois mecanismos de resposta imune com elevado perfil inflamatório e persistente, não tem sido descrita – atopia em indivíduos carreadores sadios do HTLV-1, na literatura mundial. A co-existência destes fenômenos reforça a hipótese de que estímulos pró-inflamatórios Th1, em um subgrupo de indivíduos, podem exacerbar a resposta Th2, tornando ambas deficientes e lesivas se não adequadamente reguladas por mecanismos intrínsecos e ainda parcamente esclarecidos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Manns A, Hisada M, Grenade LL. Human T-lymphotropic virus type I infection. *Lancet* 1999; 353:1951-58.
2. Macchi B, Grelli S, Matteucci C. Human Th1 and Th2 T-cell clones are equally susceptible to infection and immortalization by human T lymphotropic virus type I. *J Gen Virol* 1998; 79:2469-74.
3. Biddison WE, Kubota R, Kawanishi T, Taub DD, Cruikshank WW, Center DM, Connor EW, Utz U, Jacobson S. Human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-specific CD8+ CTL clones from patients with HTLV-I-associated neurologic disease secrete proinflammatory cytokines, chemokines and matrix metalloproteinase. *J Immunol* 1997; 159:2018-25.
4. Ghezzi S, Alfano M, Biswas P, Mengozzi M, Delfanti F, Cota M, Sozzani S, Lazzarin A, Mantovani A, Poli G, Vicenzi E. Chemokines and HIV: more than just suppression. *J Acquired Hum Defic Hum Retrov* 1997; 15 (Suppl 1):531-33.
5. Nakamura T. Immunopathogenesis of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Ann Med* 2000; 32:600-7.
6. Catovsky D, Greaves MF, Rose M, Galton DAG, Goolden AWG, McCluskey DR, White JM, Lampert I, Bourikas G, Ireland R, Brownell AI, Bridges JM, Blattner WA, Gallo RC. Adult T cell lymphoma/leukemia in blacks from the West Indians. *Lancet* 1982; 1:639-43.
7. Araújo MI, Bacellar O, Ribeiro de Jesus A, Carvalho EM. The absence of gamma-interferon production antigens in patients with schistosomiasis. *Brazilian J Med Biol Res* 1994; 27(7):1619-25.
8. Lagier B, Lebel B, Bousquet J, Pene J. Different modulation by histamine of IL-4 and interferon-gamma (IFN- γ) release according to the phenotype of human Th0, Th1 and Th2 clones. *Clin Exp Immunol* 1997; 108:545-51.
9. Kraan TCTM, Snijders A, Boeije LCM, Groot ER, Alewijnse AE, Leurs R, Aarden LA. Histamine inhibits the production of interleukin-12 through interaction with H2 receptors. *J Clin Invest* 1998; 102:1866-73.
10. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997; 275:77-9.
11. Umetsu DT, DeKruyff RH. Updates on cells and cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:1-6.
12. Takamoto T, Makino M, Azuma M, Kanzaki T, Baba M, Sonoda S. HTLV-1- infected T cells activate autologous CD4+ T cells susceptible to HTLV-1 infection in a co-stimulatory dependent fashion. *Eur J Immunol* 1997; 27:1427-32.
13. Nagai M, Brennan MB, Sakai JA, Mora CA, Jacobson S. CD8+ T cells are an in vivo reservoir for human T-cell lymphotropic virus type I. *Blood* 2001; 98:1858-61.
14. Southern SO, Southern PJ. Persistent HTLV-1 infection of breast luminal epithelial cells: role in HTLV-1 lymphotropic virus type I infected T cells: Its efficiency as an antigen-presenting cell. *Virology transmission? Virology* 1998; 241:200-14.
15. Makino M, Shimokubo S, Wakmatsu SI, Izumo S, Baba M. The role of human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)- infected dendritic cells in the development of HTLV-1- associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Virol* 1999; 73:4575-81.
16. Shimokubo S, Wamakatsu SI, Maeda Y, Baba M, Makino M. Fusion of mature dendritic cells and human T-2002; 301:13-20.
17. Lal RB, Rudolph DL, Dezzutti CS, Linsley OS, Prince HE. Costimulatory effects of T cell proliferation during infection with human T lymphotropic virus type I and II are mediated through CD80 and CD86 ligands. *J Immunol* 1996; 157:1288-96.
18. Carvalho EM, Bacellar O, Porto AF, Braga S, Galvão-Castro B, Neva F. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. *J Acq Immune Def Synd* 2001; 27:1-6.
19. Kostense S, Ogg GS, Manting EH, Gillespie G, Joling J, Vandenberghe K, Veenhof EZ, van Baarle D, Jurriaans S, Klein MR, Miedema F. High viral burden in the presence of major HIV-specific CD8+ T cell expansion: evidence for impaired CTL effector function. *Eur J Immunol* 2001; 31:677-86.
20. Mossman TR, Moore KW. The role of IL10 in cross regulation of Th1 and Th2 responses. *Immunol Today* 1991; 12:48-53.
21. Wu XM, Osoegawa, Yamasaki K, Kawano Y, Ochi H, Horiuchi I, Minohara M, Ohyagi Y, Yamada T, Kira J. Flow cytometric differentiation of Asian and Western types of multiple sclerosis, HTLV-I-associated myelopathy/tropical

- spastic paraparesis (HAM/TSP) and hyperIgEaemic myelitis by analysis of memory CD4 positive T cell subsets and NK subsets. *J Neurol Sci* 2000; 177:24-31.
22. Yoshie O, Fusijawa R, Nakayama T, Harasawa H, Tago H, Izawa D, Hieshima K, Tatsumi Y, Matsushima K, Hasegawa H, Kanamaru A, Kamihira S, Yamada Y. Frequent expression of CCR4 in adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia virus type I-transformed T cells. *Blood* 2002; 99:1505-11.
23. Azikuki S, Setoguchi M, Nazakato O. An autopsy case of human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Hum Pathol* 1988; 6:988-90.
24. Kubota R, Kawanishi T, Matsubara H, Manns A, Jacobson S. HTLV-I specific IFN + CD8+ lymphocytes correlate with the proviral load in peripheral blood of infected individuals. *J Neuroimmunology* 2000; 102:208-15.
25. Satoh M, Toma H, Sato Y, Takara M, Kiyuna S, Hirayama K. Reduced efficacy of treatment of strongyloidiasis in HTLV-I carriers related to enhanced expression of IFN-gamma and TGF-beta 1. *Clin Exp Immunol* 2002; 127:354-9.
26. Bugeon L, Dallman MJ. Costimulation of T cells. *Am J Crit Care Med* 2000; 162(Supp I):164-8.
27. Leng Q, Bentwich Z, Magen E, Kalinkovich A, Borkow G. CTLA-4 upregulation during HIV infection: association with anergy and possible target for therapeutic intervention. *AIDS* 2002; 16:519-29.
28. Krinzman SJ, De Sanctis GT, Cernadas, Mark D, Wang Y, Listman J, Kobzik L, Donovan C, Nassr K, Katona I, Christiani DC, Perkins DI. Inhibition of T cell costimulation abrogates airway hyperresponsiveness in a murine model. *J Clin Invest* 1996; 98:26 93-99.
29. Clerici M, Shearer GM. A Th1-Th2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol Today* 1993; 14:107-11.
30. Reuben JM, Lee BN, Paul M, Kline MW, Cron SG, Abramson S, Lewis D, Kozinetz CA, Shearer WT. Magnitude of IFN production in HIV-1-infected children is associated with virus suppression *J Allerg Clin Immunol* 2002; 110:255-61.
31. Van den Broek M, Bachmann MF, Köhler G, Barner M, Escher R, Zinkernagel R, Kopf M. IL-4 and IL-10 antagonize IL-12-mediated protection against acute vaccinia virus infection with a limited role of IFN and nitric oxide synthetase 2. *J Immunol* 2000; 16 4:371-78.
32. Schopf LR, Hoffmann KF, Cheever AW, Urban-Jr JF, Wynn TA. IL-10 is Critical for host resistance and survival during gastrointestinal helminth infection. *J Immunol* 2002; 168:2383-92.
33. Li-Weber M, Giaisi M, Chlichlia K, Khazaie K, Krammer PH. Human T cell leukemia virus type I tax enhances IL-4 gene expression in T cells. *Eur J Immunol* 2001; 31:2623-32.
34. Nakamura H, Weiss ST, Israel E, Luster AD, Drazen JM, Lilly CM. Eotaxin and impaired lung function in asthma. *Am J Crit Care Med* 1999; 160:1952-56.
35. Mogensen TH, Paludan SR. Molecular pathways in virus-induced cytokine production. *Microb Mol Biol Rev* 2001; 65:131-50.
36. Blumenthal SG, Aichele G, Wirth T, Cernilofsky AP, Nordheim A, Dittimer J. Regulation of the human interleukin-5 promoter by Ets transcription factors. *J Biol Chem* 1999; 274:12910-16.
37. Miyamasu M, Yamaguchi M, Nakajima T, Misaki Y, Morita Y, Matsushima K, Yamamoto K, Hirai K. Th-1 derived cytokine IFN is a potent inhibitor of eotaxin synthesis in vitro. *Int Immunol* 1999; 6:1001-4.
38. Fujisawa T, Kato Y, Atsuta J, Terada A, Iguchi K, Kamiya H, Yamada H, Nakajima T, Miyamasu M, Hirai K. Chemokine production by BEAS-2B human bronchial epithelial cells: Differential regulation of eotaxin, IL-8, and RANTES by Th2 and Th1-derived cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:126-33.
39. Yoshida M, Leigh R, Matsumoto K, Wattie J, Ellis R, O'Byrne PM. Effect of interferon- on allergic airway responses in interferon- deficient mice. *Am J Crit Care Med* 2002; 166:451-56.
40. Randolph DA, Stephens R, Carruthers CJL, Chaplin DD. Cooperation between Th1 and Th2 cells in a murine model of eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest* 1999; 104:1021-29.
41. Holgate ST. The cellular and mediator basis of asthma in relation to natural history. *Lancet* 1997; 350:5-9.
42. Yamaguchi M, Sayama K, Yano K, Lantz CS, Noben-Trauth N, Chisei Ra C, Costa JJ, Galli SJ. IgE Enhances Fc receptor I expression and IgE-dependent release of histamine and lipid mediators from human umbilical cord blood-derived mast cells: synergistic effect of IL-4 and IgE on human mast cell Fc receptor I expression and mediator release. *J Immunol* 1999; 162:5455-65.
43. Pawankar R. Mast cells as orchestrators of the allergic reaction: the IgE-IgE receptor mast cell network. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1:3-6.
44. Delespesse G, Sarfati M, Peleman R. Influence of recombinant IL-4, IFN- and IFN on the production of human IgE-binding factor (soluble CD23). *J Immunol* 1989; 142:134-38.
45. Delespesse G, Sarfati M. Na update on human CD23 (FCeRII) and IgE-BFs (soluble CD23) play a essential role in the regulation of human IgE synthesis. *Clin Exp Allergy* 1990; 21(Supp 1):153-61.
46. Matsumoto T, Miike T, Mizoguchi K, Yamaguchi K, Takatsuki K, Hosoda M, Kawabe T, Yodoi J. Decreased serum levels of IgE and IgE binding factors in individuals infected with HTLV-I. *Clin Exp Immunol* 1990; 81:207-11.
47. Horiuchi I, Kawano Y, Yamasaki K, Minohara M, Furue M, Taniwaki T, Miyazaki T, Kira J. Th1 dominance in HAM/TSP and optico-spinal form of multiple sclerosis versus Th2 dominance in mite antigen-specific IgE myelitis. *J Neurol Sci* 2000; 172:17-24.
48. Hayashi J, Kishihara Y, Yoshimura E, Furusyo N, Yamaji K, Kawakami Y, Murakami H, Kashiwagi S. Correlation between human T cell lymphotropic virus type-1 and Strongyloides stercoralis infections and serum immunoglobulin E responses in residents of Oki nawa, Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56:71-5.
49. Terashima A, Gotuzzo E, Alvarez H, Infante R, Tello R, Watts D, Freedman D. Strongyloides stercoralis: clinical severe forms associated to HTLV-1 infection. *Rev Gastroenterol Peru* 1999; 19:35-40.
50. Porto AF, Neva FA, Bitencourt H, Lisboa W, Thompson R, Alcantara L, Carvalho EM. HTLV-1 decreases Th2 type of immune response in patients with strongyloidiasis. *Parasit Immunol* 2001; 23:503-7.

51. Porto AF, Oliveira Filho J, Neva FA, Orge G, Alcantara L, Gam A, Carvalho EM. Influence of Human T-cell lymphotropic virus type 1 infection on serologic and skin tests for strongyloidiasis. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65:610-13.
52. Neva FA. Letter to editor: a reply to *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in patients coinfecting with HTLV-1 and *S. stercoralis*. *Am J Med* 1993; 94:448-9.
53. Souza-Machado A., Galvão TS, Porto A, Figueiredo J, Cruz AA. Skin reactivity to aeroallergens is reduced in human T-lymphotropic virus type I-infected healthy blood-donors (asymptomatic carriers). *Allergy* 2005; 60:379-84.
54. Souza-Machado, Cunha C, Porto A. Frequency of respiratory disorders in HTLV-1 infected subjects. *J Pneumol* 2002; 28:66.
55. Souza-Machado A, Cruz AA, Galvão TS, Santos S, Carvalho EM. Paradoxical coexistence of atopic asthma and Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) infection: a case report. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004; 348-51.

DISTRIBUCION HETEROGENEA DE VARIANTES DE VIRUS PAPILOMA HUMANO TIPO 16 EN MUJERES ABORIGENES GUARANIES CON DISTINTO GRADO DE LESIONES DE CERVIX RESIDENTES EN MISIONES, ARGENTINA



**Columnista Experto de SIIC
Dr. Sergio Andrés Tonon**

Director del Laboratorio de Biología Molecular Aplicada, UNaM. Campo de especialización: Epidemiología molecular de infecciones virales, Posadas, Argentina

Introducción

El carcinoma de cuello uterino representa la primera causa de mortalidad por neoplasia entre mujeres residentes de la Provincia de Misiones. Esta situación difiere de la de los principales centros urbanos argentinos en donde el cáncer de mama lidera las estadísticas.¹

El carcinoma de cuello uterino se desarrolla generalmente mediante un proceso continuo que progresa gradualmente desde lesiones precursoras leves a grados más graves e invasivos. La infección genital por ciertos tipos de virus papiloma humano (HPV), llamados de alto riesgo, es necesaria aunque no suficiente para que se inicie este proceso. Otros factores asociados al huésped y al ambiente (inicio temprano de relaciones, número de parejas, multiparidad, tabaquismo) son también necesarios para que se establezca la progresión hacia la malignidad.² La infección genital por HPV es muy prevalente y tiene lugar al inicio de las relaciones sexuales, siendo inocua en la gran mayoría de los casos. En sólo un 5% a un 8% de aquellas que cursan con un tipo viral de alto riesgo se verifican los procesos conducentes al cáncer. Aun así, la mayoría de las lesiones leves y moderadas regresan a la normalidad.³ Debido a esta situación, se requieren parámetros biológicos que ofician de marcadores pronósticos de progresión de lesiones. De contar con ellos sería factible la subclasificación de poblaciones con características de alto riesgo.

El estudio de la distribución de HPV en diversas poblaciones ha cobrado importancia debido a que la protección inmunológica provista por las vacunas profilácticas en experimentación presenta especificidad de tipo, necesitándose por ende el desarrollo de vacunas polivalentes a los efectos de lograr una protección efectiva de la población en riesgo.⁴ Esta situación impulsó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a propiciar estudios de prevalencia de infección por HPV del tracto genital femenino en distintas regiones del mundo para guiar así la inmunoprevención y estimar su posible impacto sobre la incidencia del carcinoma de cuello uterino. En este contexto, la primera generación de vacunas no eliminaría la necesidad de continuar con los programas masivos de tamizaje, dado que incluirían un número limitado de tipos virales de alto riesgo. Pero a medida que se circunscriban los principales tipos virales oncogénicos circulantes a regiones geográficas definidas, la efectividad de las fórmulas vacunales a desarrollarse propiciarán una cobertura cada vez más efectiva.

La presencia de HPV de alto riesgo (principalmente de los tipos 16, 18, 31, 33 y 45) en prácticamente el 100% de los tumores ha impulsado un intenso estudio sobre su estructura genómica y mecanismos oncogénicos que lleva ya más de tres décadas.

La clasificación de los HPV, a diferencia de la mayoría de otros virus, no está basada en criterios

serológicos sino mediante similitud de sus genomas, debido a que las proteínas de la cápside son antigénicamente similares.⁵ Así, cuando el genoma de un HPV difiere en más del 10% de secuencia del gen L1 se habla de un nuevo tipo viral; cuando esta diferencia se encuentra entre el 2% y el 10% se trata de un subtipo, y cuando es menor del 2% estamos frente a una variante viral. El análisis de secuencias virales ha permitido agrupar los diversos HPV generando árboles filogenéticos que muestran su evolución molecular. De ellos se han extraído importantes conclusiones, como la de saber que los HPV coevolucionaron con el hombre, distribuyéndose y diseminándose de acuerdo con los movimientos de diversas poblaciones a lo largo de la historia.⁶ Dado que se trata de uno de los grupos virales más diversos involucrados en infecciones humanas, estos análisis están generando información básica de utilidad en la elaboración de métodos diagnósticos moleculares, estudios de relaciones genotipo-fenotipo y detección de grupos virales más agresivos.

En nuestro estudio epidemiológico regional sobre infección de cuello uterino por HPV llevado a cabo durante los años 2000 a 2003 se relevaron dos poblaciones de Misiones, Argentina: mujeres de raza blanca urbanas y mujeres aborígenes de la etnia guaraní, residentes en la selva misionera.⁷ Los valores de prevalencia de infección viral genérica fueron elevados, con una diferencia significativa entre poblaciones: urbana, 43%, y aborígen, 60%. Estas altas prevalencias se asociaron con el inicio temprano de relaciones, número de parejas y hábito de fumar. Además, fue importante la presencia de tipos virales de alto riesgo en la población aborígen guaraní (26%), con una notoria diversidad viral de 28 tipos detectados, en contraste con sólo 10 presentes en la población urbana.

Al agrupar los tipos virales hallados según la clasificación filogenética propuesta por Myers y col. basada en la región consenso del gen L1,⁸ encontramos que en los aborígenes están presentes la mayoría de los tipos virales de alto riesgo (grupos A9, A7 y A5); mientras que en la población urbana, la diversidad viral fue mucho más acotada, con alrededor del 30% de tipos pertenecientes a los grupos A7 y A9 de alto riesgo. Esta situación particular podría definir dos posibles dinámicas de circulación viral con características propias en cada población.

Mediante el estudio de variantes de HPV16 se identificaron cinco ramas filogenéticas correspondientes a poblaciones europea, asiática, asiático-americana, africana-1 y africana-2.⁹ Esta diversidad viral relacionada inicialmente a la ubicación geográfica se encuentra actualmente asociada con la etnicidad poblacional.

Últimamente se encuentra en discusión que algunas variantes de HPV16 pueden ser determinantes de diferentes comportamientos biológicos. Estas variaciones menores expresadas en secuencias proteicas afectan el ensamblado viral, la capacidad transcripcional y también su potencial oncogénico.¹⁰ Dichos efectos mostraron diferencias en la capacidad de inmortalización de células en cultivo y en la degradación de p53 y que variantes particulares tienden a estar más asociadas a lesiones de alto grado y cáncer, siendo su distribución diferencial en ciertas áreas geográficas y en etnias particulares.¹¹⁻¹⁴

Estos datos conducen a la necesidad de evaluar la distribución de las diversas variantes de HPV16 presentes en poblaciones con alta incidencia de carcinoma de cérvix, con el objetivo de establecer posibles asociaciones entre variantes particulares, lesiones cervicales y su progresión hacia la malignidad.

Sobre la base de estos informes y la posible consecuencia en nuestra realidad regional, llevamos a cabo recientemente un estudio de caracterización de clase y subclase de variantes de HPV16 infectantes en mujeres guaraníes con diferentes grados de lesión cervical basado en el análisis del gen temprano E6 (asociado a mecanismos oncogénicos virales) y del gen tardío L1 (asociado a la antigenicidad viral). Estos análisis tuvieron como objetivos detectar las variantes presentes en esta etnia particular y estimar su posible asociación a lesiones cervicales de diferente grado.

Materiales y métodos

Características generales de la población relevada

Se seleccionaron 70 muestras de hispado exoendocervical HPV16 mono infectadas de la población aborígen guaraní relevada durante 2002-2003.⁷ La mediana de edad de esta submuestra poblacional fue de 20 años, habiendo iniciado relaciones sexuales a los 13 años, teniendo de 3 a 5 parejas y con primer embarazo a los 15 años, en promedio. Noventa y cuatro por ciento de las mujeres nunca habían recibido atención ginecológica.

Las pacientes se distribuyeron geográficamente 34 asentamientos de la región norte de Misiones, departamento de Iguazú, en la frontera con Brasil y Paraguay, y 36 en la región central de la provincia, internadas en áreas de selva subtropical alejadas de las fronteras. Estos asentamientos

distan aproximadamente 200 km entre sí y registran una limitada migración entre sus integrantes. Los aborígenes de la región norte tienen un contacto fluido con habitantes no aborígenes y turistas de la zona fronteriza, mientras que los de la región central preservan en mayor medida su forma ancestral de vida, limitando en lo posible los contactos con pobladores del área.

Características de las muestras analíticas

Todas las muestras fueron reconfirmadas como mono infectadas por HPV16 mediante PCR-RFLP¹⁵ y sus diagnósticos citohistológicos revisados por dos patólogos independientes. De las 70 muestras totales, 37 se encontraban dentro de límites normales, 18 presentaban lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (LSIL) y 15, lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (HSIL).

Identificación de variantes de los genes E6 y L1 de HPV16

Se llevó a cabo mediante el método propuesto por Wheeler y col.¹⁶ el cual se basa en la amplificación por PCR anidada de una región de 585 pb del gen E6 y una región de 423 pb del gen L1 de HPV16. Estos productos son luego hibridados con 23 y 12 sondas biotiniladas, respectivamente, en formato *dot-blot*.

Las variaciones nucleotídicas posibles de identificar incluyen las posiciones 109, 131, 132, 143, 145, 178, 183, 286, 289, 335, 350, 403 del gen E6, y 6695, 6721, 6803, 6854, 6862 y 6694 del gen L1 de HPV16. Los patrones de hibridación se asignaron a las diversas clases y subclases de variantes de acuerdo con la clasificación propuesta por Yamada y col.¹⁷

Análisis estadístico

Para la determinación de asociación entre variantes de HPV16 infectantes y grado de lesión histopatológica se empleó el test de χ^2 calculado con el programa Epi-Info versión 3.3 (Epidemiology Program Office, Division of Public Health Surveillance and Informatics, Centers for Disease Control and Prevention, EE.UU.).

Resultados

Mediante la aplicación de la técnica de Wheeler y col.¹⁶ se pudo identificar y clasificar la totalidad de las clases y subclases de variantes de HPV16 presentes en esta dos poblaciones aborígenes guaraníes residentes en distintas áreas geográficas de la provincia de Misiones.

La distribución general de variantes incluyó, en orden de importancia: 51% de variante europea prototipo (EP), 32% de variante europea-350G (E-350G), 9% de variante africana tipo 1 (Af1), 4% de variante europea-6862C, 3% de variante africana tipo 2-a (Af2-a) y 1% de variante asiático americana-a (AA).

La distribución de variantes por zona geográfica de residencia no fue homogénea, detectándose mayor diversidad en la región Norte, en comparación con los asentamientos de la región Centro. En la región Norte, el 74% de las variantes fueron de origen europeo, con el 26% restante de otras clases, mientras que la totalidad de las variantes presentes en la región Centro (100%) fueron de origen europeo (tabla 1).

Tabla 1: Distribución de variantes de HPV16 en las regiones bajo estudio

Variantes HPV16	Región Norte	Región Centro
EP	17 (50%)	19 (53%)
E-350G	5 (15%)	17 (47%)
E-6862C	3 (9%)	---
Af1-a	6 (18%)	---
Af2-a	2 (6%)	---
AA-a	1 (2%)	---

No se detectó asociación estadísticamente significativa cuando se analizó la distribución de variantes entre las muestras con diagnóstico histopatológico LSIL y HSIL por medio de la prueba de χ^2 (tabla 2).

Tabla 2: Distribución de variantes de HPV16 de acuerdo al diagnóstico histopatológico de la población bajo análisis

variante HPV16	Normal	Lesiones	LGSIL	HGSIL
EP	20 (56%)	16 (44%)	8 (22%)	8 (22%)
E-350G	11 (50%)	11 (50%)	7 (32%)	4 (18%)
E-6862C	2 (nc)	1 (nc)	1 (nc)	—
Af1-a	3 (50%)	3 (50%)	3 (50%)	—
Af2-a	1 (nc)	1 (nc)	1 (nc)	—
AA-a	---	1 (nc)	—	1 (nc)

Nc: no comparable debido a bajo número de muestras.

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas mediante análisis por la prueba de χ^2 .

Discusión

Está comprobado que una infección cervical persistente con HPV16 es un factor de riesgo importante para el desarrollo de lesiones premalignas y cáncer cervical.¹⁸

Últimamente se sugirió que diversas variantes naturales de HPV16 en una población pueden presentar comportamientos biológicos diferentes, algunas de ellas asociadas a lesiones cervicales de alto grado y cánceres agresivos.^{19,20}

La población aborígen guaraní estudiada presenta una elevada prevalencia de variantes europeas (87%), un resultado concordante con el único estudio realizado a nivel mundial, en el que se informa un 76% de variantes europeas en cánceres cervicales de América Central y América del Sur.¹⁷

Por otra parte, del 12% de las variantes no europeas presentes en mujeres guaraníes, la variante africana-1 es la más prevalente, con un 9%. Estos resultados contrastan con los de Yamada y col., quienes detectaron un 20% de variantes asiático americanas presentes en carcinomas de esta región mundial y sólo un 3% de variantes africanas.¹⁷

Se conoce que los genomas de HPV son muy estables, los eventos mutacionales y de recombinación son muy raros, ocurren con frecuencias que no difieren de aquellas humanas.² Es por ello interesante destacar la relación entre diversidad de variantes virales detectadas y frecuencia estimada de contactos entre las aborígenes residentes en las dos regiones en estudio. En consecuencia, la detección de variantes africanas sólo presentes en mujeres aborígenes guaraníes residentes de la región Norte (tabla 1) podría asociarse a contactos con individuos de esa ascendencia provenientes del sur de Brasil, descendientes de esclavos introducidos durante la dominación portuguesa.

Si comparamos los resultados obtenidos en este trabajo con los comunicados por Picconi y col. sobre variantes de HPV16 presentes en población indígena quechua argentina,²¹ ambos coinciden en destacar una limitada presencia de variantes no europeas en estas dos poblaciones aborígenes residentes en los extremos opuestos del Norte argentino. Hipotéticamente, el impacto de la colonización española habría impulsado una circulación de variantes europeas en ambas poblaciones mencionadas.

Sin embargo, a diferencia de las guaraníes, el 10% de las variantes no europeas presentes en quechuas es de origen asiático-americano o asiático, sin detección de variantes africanas. Este hecho podría asociarse a la idea de una distribución viral más ancestral en esta etnia, proveniente de la migración de individuos asiáticos por el estrecho de Behring, con una posterior distribución geográfica a lo largo de la cordillera andina.

Actualmente existen informes que asocian una mayor frecuencia de infección genital por variantes asiático-americanas o de la subclase E350G de HPV16 con lesiones cervicales y cánceres.^{12,22} Esto no se verificó en la población guaraní analizada, en donde la distribución de las diversas variantes de HPV16 detectadas en mujeres con citología normal y con lesiones de diferente grado fue estadísticamente no significativa. Aun así, la única variante asiático- americana detectada en guaraníes provino de una paciente con lesión de alto grado (tabla 2).

Sobre la base de resultados diversos y contrastantes recabados en diferentes poblaciones a nivel

mundial y debido a que algunas de estas variaciones de secuencia génica tienen el potencial de modificar la estructura proteica de la cápside viral y, por ende, su antigenicidad, es importante la continuidad del estudio de su prevalencia y del análisis de su asociación a lesiones de alto grado y cánceres, tratando de establecer si verdaderamente las variantes virales de HPV16 y de otros tipos de alto riesgo oncogénico presentan comportamientos biológicos diferentes que ameriten su detección particular y su asignación como parámetro relacionado a una progresión diferencial de lesiones cervicales.

Los autores no manifiestan "conflictos de interés".

BIBLIOGRAFÍA

1. Tonon SA, Picconi MA, Zinovich JB, y col. Human Papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with a high incidence of cervical carcinoma. *Inf Dis Obstet Gynecol* 1999;7:237-43.
2. Burd EM. Human Papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Reviews* 2003; 16:1-17.
3. Muñoz N, Mendez F, Posso H, y col. Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J Infect Dis* 2004; 190:2077-87.
4. Hildesheim A, Wang SS. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Res* 2002; 89: 229-240.
5. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324:17-27.
6. Bernard HU. Coevolution of papillomaviruses with human populations. *Trends Microbiol* 1994; 2:140-3.
7. Tonon SA, Picconi MA, Zinovich JB, y col. Human papillomavirus cervical infection in Guarani Indians from the rainforest of Misiones, Argentina. *Int J Infect Dis* 2004; 8:13-19.
8. Myers G, Baker C, Munger K, y col. Human Papillomaviruses, a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos N.M. 1998 Report No.: LA-UR 97-4059.
9. Ho L, Chan S-Y, Burk BC, y col. 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.* 1993; 67:6413-23.
10. Kirnbauer, R, Taub J, Greenstone H, y col. Efficient self-assembly of human papillomavirus type 16 L1 and L1-L2 into virus-like particles. *J. Virol.* 1993; 67:6929-6936.
11. Ellis JR, Keating PJ, Baird J, y col. The association of an HPV16 oncogene variant with HLA-B7 has implications for vaccine design in cervical cancer. *Nat Med* 1995 ;1:464-70.
12. Villa LL, Sichero L, Rahal P, y col. Molecular variants of human papillomavirus types 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. *J Gen Virol* 2000; 81:2959-68.
13. Xi LF, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, Hughes JP, Wheeler CM. Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:796-802.
14. Conrad-Stoppler, M, Ching K, Stoppler H, y col. Natural variants of the HPV 16 E6 protein differ in immortalizing activity and ability to degrade p53. *J. Virol.* 1996; 70:6987-6993.
15. Bernard HU, Chan SH, Manos MM. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by PCR amplification, restriction fragment length polymorphism, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis* 1994; 170:1077-85.
16. Wheeler CM, Yamada T, Hildesheim A, Janison S. Human papillomavirus type 16 sequence variants: identification by E6 and L1 lineage-specific hybridization. *J Microbiol* 1997; 35:11-9.
17. Yamada, T, Manos MM, Peto J, y col. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. *J Virol* 1997; 71:2463-72.
18. Zur Hausen H. Papillomaviruses Causing Cancer: Evasion From Host-Cell Control in Early Events in Carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:690-98.
19. Zehbe I, Wilander E, Delius H, Tommasino M. Human papillomavirus 16 E6 variants are more prevalent in invasive cervical carcinoma than the prototype. *Cancer Res* 1998; 58:829-33.
20. Xi LF, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, Hughes JP, Wheeler CM. Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:796-802.
21. Picconi MA, Alonio LV, Sichero L, y col. Human papillomavirus type-16 variants in Quechua aborigines from Argentina. *J Med Virol.* 2003; 69:546-52.
22. Luxton J, Mant C, Greenwood B, y col. HPV16 E6 oncogene variants in women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Med Virol* 2000; 60:337-41.