

## EVALUACIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA

ANDREÍNA FERNANDES, ADRIANA PESCI-FELTRI, ISABEL GARCÍA FLEURY, VINCENT GUIDA, JOSÉ MANUEL SALAZAR, CARYNA RODRÍGUEZ, ELÍAS KASR, RICARDO BLANCH, MARÍA CORRENTI

LABORATORIO DE GENÉTICA MOLECULAR. INSTITUTO DE ONCOLOGÍA Y HEMATOLOGÍA, MPPS UNIDAD DE PATOLOGÍA MAMARIA, SERVICIO DE GINECOLOGÍA HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CARACAS

### RESUMEN

**OBJETIVO:** El cáncer de mama representa 16 % de todos los cánceres femeninos a nivel mundial, en Venezuela es la primera causa de muerte entre la población femenina. Recientemente se ha demostrado la presencia de genotipos de virus de papiloma humano de alto riesgo, como el 16, 18 y 33, en muestras de cáncer de mama de distintas poblaciones alrededor del mundo, siendo reportada una frecuencia variable de infección viral entre un 20 %- 85 %. En Venezuela no existe ningún tipo de estudio que determine la asociación entre la infección por VPH y el cáncer de mama, por lo que el presente trabajo busca evaluar el papel etiológico del virus de papiloma humano como agente infeccioso potencialmente oncogénico en el desarrollo de esta patología. **MÉTODO:** Se evaluó la presencia del genoma de VPH en 15 muestras de cáncer de mama con diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante, mediante el estuche INNO-LIPA *Genotyping Extra*. **RESULTADOS:** Genoma viral fue encontrado en un 33,33 % del total de muestras, siendo los genotipos más frecuentes el 33 y 51 con 40 %, respectivamente, seguidos del tipo 18, con 20 %. **CONCLUSIONES:** Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la infección viral y la edad de las pacientes. Sin embargo, son necesarios otros estudios para poder establecer una relación directa entre la infección por VPH y el desarrollo del cáncer de mama.

**PALABRAS CLAVE:** Cáncer, mama, VPH, carcinogénesis, factor de riesgo.

### SUMMARY

**OBJECTIVE:** The breast cancer accounts for 16 % of all female cancers in the worldwide and in Venezuela is the leading cause of death among the women. Recently was demonstrated the presence of high risk genotypes of the Human Papillomavirus, such as 16, 18 and 33 in the breast cancer samples from different populations around the world, and being reported a variable frequency of the viral infection between a 20 % -85 %. In Venezuela there is no type of study to determine the association between the Human Papillomavirus infection and the breast cancer, so in this paper seeks to evaluate the etiological role of the Human Papillomavirus how a potentially oncogenic infectious agent, in the development of the breast cancer. **METHOD:** To do this work, we assessed the presence of Human Papillomavirus genome in 15 breast cancer samples diagnosed with infiltrating ductal carcinoma by the INNO-LIPA *Genotyping Extra* kit. **RESULTS:** The viral genome was found in a 33.33 % of the total number of samples, being the most frequent genotypes 33 and 51 with 40 %, respectively, followed by the type 18, with 20 %. **CONCLUSIONS:** We found in our work statistically significant association between the viral infection and the age of the patients. However, further studies are needed to establish a direct relationship among the Human Papillomavirus infection and the development of the breast cancer.

**KEY WORDS:** Breast, cancer, HPV, carcinogenesis, risk factor.

---

Recibido: 12/06/2013 Revisado: 18/10/2014

Aceptado para publicación: 15/11/2014

Correspondencia: Dra. Andreína Fernandes. Laboratorio Genética Molecular. Calle Minerva, detrás de la

---

Facultad de Odontología, Ciudad Universitaria de Caracas, UCV. Caracas, Venezuela. Tel: 0414-2754878. E-mail: andreinafernandes@yahoo.es.

---

## INTRODUCCIÓN

**L**o cáncer de mama es la patología oncogénica más frecuente en las mujeres tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo, representando el 16 % de todos los cánceres femeninos. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2004 murieron 519 000 mujeres por esta enfermedad y, aunque se le considera como una afección del mundo desarrollado, un 69 % de las defunciones por esa causa se registran en los países en desarrollo <sup>(1)</sup>. La incidencia de la enfermedad varía dentro de las regiones y los países, probablemente debido a las diferencias raciales y étnicas, en los recursos para los programas de salud y en el estilo de vida, además de la accesibilidad de las mujeres a dichos programas <sup>(2)</sup>.

En Venezuela, según el Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), para el año 2008 el cáncer de mama fue la primera causa de muerte por cáncer en la población femenina, reportándose 1 510 muertes anuales, sobrepasando al cáncer de cuello uterino <sup>(3)</sup>.

Actualmente se conocen varios factores de riesgo del cáncer de mama, sin embargo, en la mayoría de las mujeres que sufren esta enfermedad no es posible identificar factores de riesgo específicos <sup>(4)</sup>. El ambiente, los genes y el estilo de vida se conjugan para incrementar o disminuir la probabilidad de desarrollar este cáncer. Distintos eventos tempranos o tardíos en la vida de la paciente pueden influenciar sobre el riesgo de padecer cáncer de mama, sin embargo, es complicado explicar por qué algunas mujeres desarrollan la enfermedad y otras no <sup>(5)</sup>.

Los factores reproductivos que incrementan el riesgo de desarrollar cáncer de mama se pueden dividir en aquellos que involucran la exposición prolongada a estrógenos endógenos

y los que involucran la exposición prolongada a estrógenos exógenos. Dentro del primer grupo encontramos menarquía precoz, menopausia tardía, nuliparidad y primer parto posterior a los 40 años. En el segundo grupo encontramos el uso de anticonceptivos orales y de tratamientos de sustitución hormonal. Dentro de los factores físicos se encuentran el sobrepeso u obesidad en la menopausia, el sedentarismo y hábitos tabaquicos y alcohólicos <sup>(4,5)</sup>.

Por otra parte, existen factores genéticos y biológicos que también pueden afectar el desarrollo de esta enfermedad. Los antecedentes familiares de cáncer de mama y la condición genética del paciente multiplican el riesgo de desarrollarlo. Algunas mutaciones, sobre todo en los genes *BRCA1*, *BRCA2* y *p53* se asocian a un riesgo elevado de ese tipo de cáncer. Sin embargo, esas mutaciones son raras y explican solo entre un 5 % - 10 % de la carga total de cáncer mamario. Por otro lado, la presencia o ausencia de la expresión del receptor estrogénico (ER) en tumores de mama es fundamental para el tratamiento y la sobrevida del paciente <sup>(5,6)</sup>.

Desde hace unos 20 años, con la creación y aplicación de métodos moleculares, se ha encontrado evidencia sobre la participación de agentes infecciosos en el desarrollo de distintos tipos de cáncer y se ha estimado que aproximadamente el 25 % de los cánceres tienen un origen infeccioso, principalmente de virus y bacterias <sup>(7)</sup>. Recientemente se comenzó a estudiar el papel del virus de papiloma humano (VPH) en el desarrollo del cáncer de mama y se ha propuesto como un posible factor de riesgo, sin embargo, son pocos los estudios que se han realizado al respecto y la evidencia es débil. En este sentido, son importantes los trabajos que incluyan métodos de detección viral con una alta sensibilidad.

A pesar de su potencial oncogénico, la infección por VPH es un fenómeno transitorio que puede revertirse espontáneamente o permanecer

en estado latente en el 80 % de casos detectados, por lo que se le considera como una causa necesaria pero insuficiente para el desarrollo de malignidad. Así, en una pequeña proporción de los casos, las infecciones asociadas con VPH de alto riesgo pueden persistir en lesiones típicas con una alta carga viral durante años, y una fracción de estas lesiones puede progresar eventualmente a tumores invasivos. Aunque existen varios cofactores asociados para que ocurra este proceso, el tipo de VPH implicado y la incapacidad del sistema inmune para eliminar la infección son los factores más importantes en determinar la prevalencia y/o evolución de las manifestaciones clínicas asociadas al VPH <sup>(8,9)</sup>.

Este virus es una causa importante en la morbi-mortalidad por cáncer. Los genotipos de alto riesgo oncogénico 16 y 18 causan el 70 % de todos los cánceres cervicales invasivos <sup>(10)</sup>. Aunque la relación entre el VPH y los diversos cánceres epiteliales es desconocida, este virus contribuye con el desarrollo de cáncer de cavidad oral, orofaríngeo, peneano, anal, vulvar y vaginal <sup>(11)</sup>.

Los reportes acerca de la distribución de la infección por VPH en cáncer de mama no solo son limitados, sino también muy controversiales. Varios autores no han encontrado ninguna relación entre la presencia de secuencias genómicas del VPH y el desarrollo de cáncer de mama <sup>(12-14)</sup>. Pero por otro lado, ha sido reportada una frecuencia moderada de infección por VPH en pacientes de cáncer de mama, que oscila entre un 20 %- 48 %, mientras que otros autores reportan una frecuencia elevada entre 60 %- 85 % <sup>(15-24)</sup>.

Estas evidencias permiten establecer una posible relación entre el cáncer de mama y la infección por VPH, a partir de la cual se pudiera considerar a la infección viral como un posible factor de riesgo en el desarrollo de una enfermedad que actualmente causa tantas muertes a nivel mundial entre la población

femenina. Es por ello que en este trabajo nos planteamos evaluar la presencia del VPH como agente infeccioso potencialmente oncogénico, en el desarrollo de cáncer de mama.

## MÉTODO

Se evaluaron biopsias frescas de cáncer de mama, de pacientes de la Unidad de Patología Mamaria del Servicio de Ginecología, del Hospital Universitario de Caracas, quienes fueron intervenidas quirúrgicamente entre febrero de 2011 y marzo de 2012. La muestra total para el estudio fue de 15 pacientes con diagnóstico de carcinoma ductal infiltrante (CDI) en los distintos estadios, según la clasificación TNM. El promedio de edad de las pacientes fue de 55,27 años (Rango: 37 - 84). Los estadios de cáncer se distribuyeron de la siguiente forma: 2 E0, 2 EI, 8 EII y 3 EIII. A cada paciente se le realizó una encuesta para recolectar datos clínicos y socio-culturales, y se les hizo firmar un consentimiento informado. Este protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética del Hospital Universitario de Caracas.

### Criterios de selección

#### Inclusión

- Pacientes atendidas en la Unidad de Patología Mamaria del Hospital Universitario de Caracas, con diagnóstico de CDI en estadios 0, I, II, III y IV.

#### Exclusión

- Pacientes con diagnóstico de enfermedad autoinmune u otro tipo de cáncer no relacionado con el tumor primario, objetivo de este estudio.
- Mujeres embarazadas.
- Haber recibido quimioterapia o radioterapia o inmunosupresores.
- Negación a participar en el estudio.

## EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL MATERIAL GENÉTICO

Para realizar la extracción de DNA a partir de las biopsias mamarias se utilizó el estuche de extracción *QIAMP DNA mini kit (250)* (*QIAGEN. Hilden, Alemania*<sup>®</sup>), siguiendo las indicaciones de la casa comercial. La evaluación de la calidad del DNA se llevó a cabo con el protocolo BIOMED-2 <sup>(25)</sup> el cual consta de 5 pares de iniciadores de genes control, que amplifican productos de 100, 200, 300, 400 y 600 pb (Cuadro 1).

En el Cuadro 1 se muestran las secuencias para los iniciadores de cada uno de los genes seleccionados. La mezcla de reacción se preparó utilizando 0,4 µL de DNTP's (100 mM), 5 µL de cada iniciador (100 pM), 6,5 µL de Buffer 10X, 5 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 0,5 µL de Taq Pol y 27,6 µL de H<sub>2</sub>O libre de nucleasas, para un volumen final de 50 µL. Las condiciones de amplificación fueron 7 min a 95 °C, 35 ciclos de 30 s a 45 °C, 40 s a 60 °C y 40 s a 70 °C y una amplificación final de 15 s a 70 °C.

## DETECCIÓN DE VPH

La detección y genotipificación de las

secuencias de VPH, a partir de las biopsias de mama, se realizó utilizando el estuche *INNO-LIPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics, Bélgica)*<sup>®</sup>, siguiendo las recomendaciones de la casa comercial. Para la amplificación por PCR se utilizó el estuche de amplificación (*INNO-Lipa HPV Genotyping Extra Amp, Innogenetics*<sup>®</sup>) con iniciadores SPF10 biotinilados de amplio espectro.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar diferencias entre los grupos se realizó un estadístico exacto de Fisher. Un valor de P<0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

## RESULTADOS

De las 15 pacientes seleccionadas con cáncer de mama, todas mostraron integridad en el DNA de la muestra, evaluado mediante la amplificación de los genes control (Dato no mostrado). El promedio de la edad de la menarquía fue de 12,4 años (Rango 9-16), el 46,67 % de las pacientes tenía antecedentes de cáncer en su familia, el 53,33 % y el 60 % afirmaron el uso de tabaco y alcohol, respectivamente, y el 53,33 % de las

Cuadro 1. Secuencias de iniciadores para la estandarización del protocolo de calidad de DNA, BIOMED-2.

GEN	FOWARD	REVERSE	TAMAÑO (pb)
AF4/exón 3a	5'GGAGCAGCATTCCATCCAGC3'	5'CATCCATGGGCCGGACATAA3'	600
AF4/exón 11a	5'CCGCAGCAAGCAACGAACC3'	5'GCTTTCCTCTGGCGGCTCC3'	400
PLZF/exón 1b	5'TGCGATGTGGTCATCATGGTG3'	5'CGTGTCATTGTCGTCTGAGGC3'	300
RAG1/exón 2c	5'TGTTGACTCGATCCACCCCA3'	5'TGAGCTGCAAGTTTGGCTGAA3'	200
TBXAS1/exón 9d	5'GCCCGACATTCTGCAAGTCC3'	5'GGTGTGCGCGGAAGGGTT3'	100

a: gen AF4 humano (AF4, exón 3, número de entrada en el GenBank: Z83679, exón 11, número de entrada en el GenBank: Z83687); b: gen de la leucemia promielocítica humana (PLZF, exón 1, número de entrada en el GenBank: AF060568); c: gen de activación de la recombinación humana (RAG1, exón 2, número de entrada en el GenBank: M29474); d: gen de la tromboxina sintetasa humana (TBXAS1, exón 9, número de entrada en el GeneBank: D34621).

pacientes utilizó anticonceptivos orales.

Luego de realizar la detección y genotipificación mediante el uso del *INNOLIPA Genotyping Extra*, 5 de las 15 muestras de cáncer de mama (33,33 %) fueron positivas para la presencia de VPH. Las 5 muestras presentaron infecciones únicas con los genotipos de alto riesgo oncogénico 33 y 51 en un 40 %, cada uno, seguidos por el 18 en un 20 %.

En el Cuadro 2 se presenta la frecuencia de VPH de acuerdo a varias características clínico-patológicas. De todas las características estudiadas, la edad fue la única que presentó asociación estadísticamente significativa ( $P = 0,014$ ) con la infección de VPH. Sin embargo, el número de partos y el tamaño del tumor estuvieron muy cerca del valor predictivo ( $P = 0,086$ ;  $P = 0,070$ , respectivamente). En el caso de edad de la menarquía, número de parejas y uso de tabaco, no hubo asociación estadísticamente significativa, reportando valores intermedios de  $P$  ( $P = 0,112$ ;  $P = 0,178$ ;  $P = 0,163$ , respectivamente), al igual que para el uso de alcohol, el uso de anticonceptivos orales y los antecedentes familiares de cáncer, variables que presentaron valores mayores ( $P = 0,252$ ;  $P = 0,392$ ;  $P = 0,326$ , respectivamente). Finalmente, aunque la infección por VPH fue detectada con mayor frecuencia en pacientes con ganglios linfáticos positivos para enfermedad, no fue estadísticamente significativo ( $P = 0,252$ ).

## DISCUSIÓN

El papel etiológico del VPH en algunos tipos de cáncer extra-genitales es un tema muy controversial, particularmente, en el caso del cáncer de mama donde existen dos grupos que aportan datos, tanto a favor como en contra de un posible rol de la infección viral como factor de riesgo oncogénico en el desarrollo de la enfermedad.

Dentro del grupo de investigadores que afirman la presencia del genoma de VPH en muestras de cáncer de mama, reportan una

frecuencia entre un 20 %- 85 %<sup>(26)</sup>. En este trabajo encontramos una frecuencia intermedia de infección viral de 33,33 % para las muestras de cáncer de mama de pacientes del Hospital Universitario de Caracas, estableciendo un primer punto de comparación dentro de la población venezolana. Todos los genotipos reportados son de alto riesgo oncogénico, siendo los más frecuentes el 33 y 51, con un 40 % cada uno, y el tipo 18 con 20 %; dichos genotipos están asociados con el cáncer de cuello uterino.

Aunque los trabajos realizados en Italia, Noruega, Brasil, Estados Unidos, Japón, México y Chile reporta al VPH-16 como el genotipo más frecuentemente asociado con lesiones de cáncer de mama<sup>(7,14,15,16,18,21,22)</sup>, estudios realizados en China, Siria y Australia reportan a los genotipos 33 y 18 como los más frecuentes encontrados en tejido de pacientes con dicha patología<sup>(17,19,20,23)</sup>. En base a estos reportes, se puede sugerir que la distribución de la infección por VPH en pacientes con cáncer de mama presenta un patrón similar al observado en cuello uterino, el cual depende de factores como las diferencias geográficas, étnicas y raciales, según lo reportado por Correnti y col.,<sup>(11)</sup> quienes realizaron un estudio retrospectivo y reportaron que el patrón de infección por VPH en los casos de cáncer de cuello uterino en mujeres venezolanas presentaba ciertas variaciones con respecto a los patrones reportados en otros países.

Sin embargo, la presencia de secuencias virales en las biopsias de cáncer de mama no es una condición suficiente para establecer una relación causal en el desarrollo de la malignidad. En lesiones malignas de cuello uterino, la integración del DNA de VPH de alto riesgo en el genoma del hospedero es un paso importante, porque permite la interrupción del gen E2, un regulador negativo de los genes oncogénicos E6/E7, resultando en la desregulación de la transcripción de dichos genes<sup>(21)</sup>. De igual forma, estudios epidemiológicos han demostrado una asociación entre la carga viral y la progresión de neoplasias intra-epiteliales

Cuadro 2. Frecuencia de casos positivos para VPH, según características clínico-patológicas.

		Casos Totales N	Vph Negativo N (%)	Vph Positivo N (%)	Valor Pa
Número de casos		15	10 (66,67)	5 (33,33)	
Edad	<40	3	2 (66,67)	1 (33,33)	0,014
	41 - 50	5	4 (80)	1 (20)	
	51 - 60	3	1 (33,33)	2 (66,67)	
	61>	4	3 (75)	1 (25)	
Edad de la menarquía	9 - 12	10	7 (70)	3 (30)	0,112
	13 - 16	5	3 (60)	2 (40)	
Número de partos	0	1	1 (100)	0	0,086
	1 - 3	8	4 (50)	4 (50)	
	4 - 6	5	4 (80)	1 (20)	
	>7	1	1 (100)	0	
Número de parejas	0	1	1 (100)	0	0,178
	1	5	4 (80)	1 (20)	
	2	6	3 (50)	3 (50)	
	3	3	2 (66,67)	1 (33,33)	
Anticonceptivos orales	Si	8	5 (62,5)	3 (37,5)	0,392
	No	7	5 (71,43)	2 (28,57)	
Tamaño del tumor	Tis	2	2 (100)	0	0,070
	T1	2	1 (50)	1 (50)	
	T2	7	4 (57,14)	3 (42,86)	
	T3	2	1 (50)	1 (50)	
	T4	2	2 (100)	0	
Ganglios linfáticos	Positivo	8	4 (50)	4 (50)	0,252
	Negativo	7	6 (85,71)	1 (14,29)	
Antecedentes de cáncer	Si	8	6 (75)	2 (25)	0,326
	No	7	4 (57,14)	3 (42,86)	
Tabaco	Si	8	4 (50)	4 (50)	0,163
	No	7	6 (85,71)	1 (14,29)	
Alcohol	Si	9	5 (55,56)	4 (44,44)	0,252
	No	6	5 (83,33)	1 (16,67)	

VPH: Virus de papiloma humano. aValor P calculado con el estadístico exacto de Fisher (P<0,05).

cervicales (NIC) II y III <sup>(27)</sup>. Debido a esto, se realizarán estudios de integración del genoma de VPH y de cuantificación de la carga viral para obtener nuevos parámetros de comparación y que permitan establecer si existe una relación directa entre la infección por VPH y el desarrollo de cáncer de mama. En este sentido, Khan y col., y Aguayo y col., <sup>(21,24)</sup> reportan una carga viral promedio de 5,4 y 9,2 copias/célula, respectivamente, siendo valores muy bajos en comparación a los reportados en cuello uterino; sin embargo, es conocido que una sola copia del genoma de VPH por célula es suficiente para que ocurra la transformación neoplásica, como es el caso de las células SiHa, las cuales portan 1 - 2 copias del genoma de VPH 16 por célula. También hay que tomar en cuenta que se trata de patologías diferentes en las que puede variar la infección del virus.

Como ya se mencionó, la prevalencia reportada de la infección por VPH en muestras de cáncer de mama muestra una gran variación a nivel mundial. Además de las características geográficas, étnicas y la carga genética, esta variabilidad puede deberse al número de muestras evaluadas, a las diferencias metodológicas, especialmente en cuanto a la sensibilidad y a la carga viral presente <sup>(21)</sup>. Por ello recomendamos incrementar el tamaño de la población estudiada, estandarizar métodos adecuados para la detección viral en este tipo de muestras y considerar nuevas variables, como la carga viral, la integración genética y la condición inmunológica de la paciente.

El genoma de VPH fue encontrado en un 33,33 % de las muestras de cáncer de mama de pacientes venezolanas, reportando infecciones únicas con los genotipos de alto riesgo 33, 51 y 18. Esta frecuencia se encuentra dentro del rango reportado a nivel mundial por otros autores. Sin embargo, son requeridos estudios adicionales para elucidar el papel del VPH en el desarrollo del cáncer de mama.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto Misión Ciencias LPL-2007001088. Agradecemos al Prof. Armando Rodríguez por la realización de las pruebas estadísticas.

## REFERENCIAS

1. OMS. Organización Mundial de la Salud. Disponible en: URL:<http://www.who.int/es/>.
2. Tfayli A, Temraz S, Abou R, Shamseddine A. Breast Cancer in low- and middle-income countries: An emerging and challenging epidemic. *J Oncol*. 2010;2010:490631.
3. MPPS - Ministerio del Poder Popular para la Salud. Anuario de mortalidad 2008. Caracas, Venezuela. Disponible en: URL:<http://www.mpps.gob.ve>.
4. Porter P. Global trends in breast cancer incidence and mortality. *Salud Publica Mex*. 2009;51(Suppl 2):141-146.
5. Lacey J, Kreimer A, Buys S, Marcus P, Chang S, Leitzmann M, et al. Breast cancer epidemiology according to recognized breast cancer risk factors in the prostate, lung, colorectal and ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial Cohort. *BMC Cancer*. 2009;9:84.
6. Balmain A, Gray J, Ponder B. The genetics and genomics of cancer. *Nat Genet*. 2003;33(Suppl):238-244.
7. de Villiers E, Sandstrom R, zur Hausen H, Buck C. Presence of papillomavirus sequences in condylomatous lesions of the mamillae and in invasive carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res*. 2005;7:R1-R11.
8. Menzo S, Ciavattini A, Bagnarelli P, Marinelli K, Sisti S, Clementi M. Molecular epidemiology and pathogenic potential of underdiagnosed human papillomavirus types. *BMC Microbiol*. 2008;8:112.
9. De Guglielmo Z, Rodríguez A, Ávila M, Veitía M, Fernandes A, Correnti M. Virus de papiloma humano y factores de riesgo. *Rev Venez Oncol*. 2010;22(1):32-38.
10. Correnti M, Medina F, Cavazza M, Rennola A, Avila M, Fernandes A. Human papillomavirus (HPV) type distribution in cervical carcinoma, low-grade, and high-grade squamous intraepithelial lesions in Venezuelan women. *Gynecol Oncol*. 2011;121:527-

- 531.
11. Whiteside M, Siegel E, Unger E. Human Papillomavirus and molecular considerations for cancer risk. *Cancer*. 2008;113(10):2981-2989.
  12. Wredel D, Luqmani Y, Coombes R, Vousden K. Absence of HPV 16 and 18 DNA in breast cancer. *Br J Cancer*. 1992;65:891-894.
  13. Gopalkrishna V, Singh U, Sodhari P, Sharme J, Hedau S, Mandal K, et al. Absence of human papillomavirus DNA in breast cancer as revealed by polymerase chain reaction. *Breast Cancer Res Treat*. 1996;39:197-202.
  14. de Cremoux P, Thioux M, Lebigot I, Sigal-Zafrani B, Salmon R, Sastre-Garau X. No evidence of Human Papillomavirus DNA sequences in invasive breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;109:55-58.
  15. Di Lonardo A, Venuti A, Marcante ML. Human papillomavirus in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;21:95-100.
  16. Hennig EM, Sou Z, Thoresen S, Holm R, Kvinnsland S, Nesland JM. Human papillomavirus 16 in breast cancers of women treated for high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN III). *Breast Cancer Res Treat*. 1999;53:121-135.
  17. Yu Y, Morimoto T, Sasa M, Okazaki K, Harada Y, Fujiwara T, et al. Human papillomavirus type 33 in breast cancers in Chinese. *Breast Cancer*. 2000;7(1):33-36.
  18. Damin A, Kara R, Zettler C, Caleffi M, Alexandre C. Evidence for an association of human papillomavirus and breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat*. 2004;84(2):131-137.
  19. Kan C-Y, Iacopetta B, Lawson J, Whitaker N. Identification of human papillomavirus DNA gene sequences in human breast cancer. *Br J Cancer*. 2005;93:946-948.
  20. Akil N, Yasmeen A, Kassab A, Ghabreu L, Darnel A, Moustafa A. High-risk human papillomavirus infections in breast cancer in Syrian women and their association with Id-1 expression: A tissue microarray study. *Br J Cancer*. 2008;99:404-407.
  21. Khan N, Castillo A, Koriyama C, Kijima Y, Umekitas Y, Ohi Y, et al. Human papillomavirus detected in female breast carcinomas in Japan. *Br J Cancer*. 2008;99:408-414.
  22. de León DC1, Montiel DP, Nemcova J, Mykyskova I, Turcios E, Villavicencio V, et al. Human Papillomavirus (HPV) in breast tumors: Prevalence in a group of Mexican patients. *BMC Cancer*. 2009;9:26. doi: 10.1186/1471-2407-9-26.
  23. Heng B, Glenn W, Ye Y, Tran B, Delprado W, Lutze-Mann L, et al. Human papilloma virus is associated with breast cancer. *Br J Cancer*. 2009;101:1345-1350.
  24. Aguayo F, Khan N, Koriyama C, González C, Ampuero S, Padilla O, et al. Human papillomavirus and Epstein-Barr virus infections in breast cancer from Chile. *Infect Agent Cancer*. 2011;6:7.
  25. van Dongen J, Langerak A, Brüggemann M, Evans P, Hummel M, Lavender F, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombination in suspect lymph-proliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4 CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17:2257-2317.
  26. Headu S, Kumar U, Hussain S, Shukla S, Pande S, Jain N, et al. Breast cancer and human papillomavirus infection: No evidence of HPV etiology of breast cancer in Indian women. *BMC Cancer*. 2011;11:27.
  27. Flores R, Papenfuss M, Klimecki W, Giuliano A. Cross-sectional analysis of oncogenic HPV viral load and cervical intra-epithelial neoplasia. *Int J Cancer*. 2006;118:1187-1193.