# Cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano: La historia que no termina

Alejandro López Saavedra[1] y Marcela Lizano Soberón[1].

1 Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer. UNAM - INCan.
Subdirección de investigación básica. Instituto Nacional de Cancerología. México D.F.

## Resumen

A NIVEL MUNDIAL, el cáncer cérvicouterino es la segunda causa de muerte por neoplasias malignas en la mujer. Sin embargo, gracias a la citología y a la histopatología se le puede detectar tempranamente y tratar oportunamente, reduciendo el impacto de esta enfermedad. Sumado a estas medidas, el panorama se torna más favorable al contar ahora con vacunas que prometen disminuir este cáncer, especialmente en los países que presentan mayor número de casos. La relación entre el cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano, propuesta a principios de los años 80's por el doctor Harald zur Hausen, continúa siendo hoy explorada por diversos estudios. Algunos de los resultados se exponen en la presente revisión, lo que nos ayuda a tener una mayor comprensión de la biología del virus y de su papel en la carcinogénesis. Como ejemplo de ello, se han identificado nuevas funciones biológicas de las proteínas virales que pueden afectar el ciclo viral, la respuesta celular y muy posiblemente influyan en el desarrollo de lesiones cervicales y su progresión a cáncer. Por otro lado, también se sugiere que las diferencias biológicas y funcionales entre las llamadas variantes virales, pudieran tener impacto en la etiología del cáncer. La distribución geográfica y el potencial oncogénico de estas variantes virales proporcionan datos que ayudarán a un diseño más eficiente de vacunas y protocolos de vacunación. La suma de estos estudios ofrece un panorama más detallado de la biología del virus, de nuevas interacciones de éste con la célula hospedera, de la importancia de las variantes virales y de posibles blancos terapéuticos; lo que hace que la relación entre el cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano, sea una historia que no termina.

**Palabras clave:** VPH, cáncer cérvicouterino, variantes, ciclo viral

Correspondencia a:
***Alejandro López Saavedra.***
Laboratorio de Carcinogénesis, Subdirección de Investigación Básica.
Instituto Nacional de Cancerología.
Av. San Fernando 22, Col. Sección XVI. CP 14080. Del. Tlalpan. México, D. F.
Tel: 58280400 ext. 168. e-Mail: alejannb@yahoo.com

## Epidemiología y Etiología del Cáncer Cérvicouterino

Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer cérvicouterino (CaCu) es la segunda mayor causa de mortalidad femenina por cáncer en todo el mundo, con unas 300.00 muertes al año. El 80% de los casos corresponden a los países en vías de desarrollo (1) y cerca de 500 000 casos nuevos se presentan cada año. Tan solo en el año 2002 se presentaron 493 243 y de estos, 273 505 fueron decesos (2).

En México, en el año 2002, se presentaron 12 512 nuevos casos de cáncer cérvicouterino, de los cuales 5 777, el 46% de los casos, fueron decesos (2). Esta enfermedad fue la primera causa de muerte entre las mujeres mexicanas con cáncer, ocupando un 16.6% de otros cánceres *(Figura 1)*. La mayoría de las mujeres que desarrollan este cáncer tienen entre 40 y 50 años de edad. Sin embargo, cada vez es más común ver mujeres jóvenes infectadas, que a edades de 20 y 30 años se les diagnostica cáncer cérvicouterino.

### EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Casi todos (99,8%) los casos de cáncer de cuello uterino se deben a tipos específicos de un virus DNA tumoral transmitido por vía sexual, que se denomina virus del papiloma humano (VPH). El enlace entre el CaCu y el VPH fue demostrado a principios de los años 80's por el doctor Harald zur Hausen y la infección es un requisito necesario para el desarrollo de esta enfermedad3. La infección por VPH puede ser causa de otros carcinomas ano genitales incluyendo de pene(25), vagina(26), vulva (27) y ano(28).

### HISTORIA DEL VPH CON EL CaCu

Por mucho tiempo se sospechó una etiología infecciosa para las verrugas, esto se demostró al fin en el siglo XIX. Uno de los primeros reportes de transmisión de verrugas en humanos fue por un accidente ocurrido en 1845 a un fabricante de velas de cera, que mientras estaba removiendo un condiloma acicular con su instrumento se lastimó debajo de la uña.

## Figura 1

MUERTE EN MUJERES POR CÁNCER EN MÉXICO PARA EL AÑO 2002

Mortalidad en mujeres con cáncer en México para el año 2002. El 16.6 % de los casos, fueron decesos por cáncer cervicouterino (2). Esta enfermedad fue la primera causa de muerte entre las mujeres mexicanas con cáncer.

Fuente:
http://www-dep.iarc.fr/
GLOBOCAN 2002
2002, IARC

Tiempo después apareció en el lugar de la lesión una verruga, que luego de destruirla repetidamente reaparecía, hasta que la uña fue finalmente removida.

En otro experimento, el investigador Ullmann inoculó extractos de papilomas laríngeos en heridas hechas por el mismo en su brazo. Después de 9 meses brotó una verruga en el sitio de inoculación (4).

Las verrugas genitales y el CaCu siempre fueron referidos como manifestaciones de enfermedades venéreas comunes, tales como sífilis y gonorrea. Esta teoría fue rebatida por una escandalosa publicación hecha en 1917. Se usó un extracto de condiloma de pene, obtenido de un joven estudiante de medicina que no presentaba síntomas de enfermedad venérea alguna. Luego el extracto fue inoculado en el antebrazo del autor y el de su asistente, así como en la mucosa genital de una "virgo intacta". Después de 2.5 meses la desafortunada mujer desarrolló condiloma genital y en los brazos de los varones aparecieron verrugas (5). Estos y otros experimentos concluyeron que las verrugas genitales representaban enfermedades distintas causadas por un agente transmisible.

El concepto de que algunas verrugas pueden progresar a la malignidad fue establecido por los estudios de Shope, Rous y otros, que estudiaron la transmisión de verrugas que aparecen de manera natural en los conejos comúnmente llamados de cola de algodón. Estos investigadores descubrieron que las lesiones formadas en conejos domésticos, después de inocularlos con extracto de verrugas de los conejos de cola de algodón, eran sensibles a la progresión maligna(6). También se demostró que tales extractos causaban la aparición de verrugas solo en conejos y no en otros animales, lo que ilustra la especificidad del virus por su hospedero. El primer virus del papiloma fue aislado de conejos por Richard Shope en 1933.

El Dr. Harald zur Hausen fue el primero en demostrar, por medio de experimentos de hibridación, que las verrugas genitales y los tejidos de cáncer de cérvix, contienen genomas del virus del papiloma humano (7, 8, 9, 10).

## FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN

El riesgo de contraer un VPH genital está influenciado por la actividad sexual, por lo que el CaCu sigue un patrón típico de enfermedades transmitidas sexualmente.

- Promiscuidad. Hay una fuerte asociación entre el número de parejas que han tenido tanto la mujer como su compañero a lo largo de su vida y la adquisición del VPH (11).
- Actividad sexual a temprana edad.
- Tener historial de otras enfermedades transmitidas sexualmente.
- Verrugas genitales, test de papanicolaou con resultados anormales.
- Pareja sexual con cáncer de cérvix o de pene.
- Edad. La infección es más común en mujeres jóvenes sexualmente activas, de 18 a 30 años de edad, después de los 30 años decrece la prevalencia. El CaCu es más común después de los 35 años, lo que sugiere infección a temprana edad y progresión lenta a cáncer (12, 13).
- Persistencia viral. Común entre los tipos virales de alto riesgo y factor determinante en el desarrollo a cáncer. La persistencia puede inducir cambios genéticos secundarios dado que las proteínas virales interfieren con los puntos de control del ciclo celular e inducen inmortalización de los queratinocitos.
- Uso prolongado de anticonceptivos orales. La región larga de control, LCR por las siglas en inglés, en el genoma viral, contiene elementos de respuesta a glucocorticoides, inducibles por hormonas esteroidales como la progesterona (componente activo de los anticonceptivos orales) y la dexametasona. Estudios han reportado el uso de anticonceptivos orales y la alta positividad al DNA viral (14).
- Coinfección con otros virus, como el del herpes simple (HSV) tipo 2, citomegalovirus (CMV), herpesvirus humano tipos 6 y 7(HHV-6), detectados todos en el cérvix.
- Carga viral. Correlaciona directamente con la severidad de la enfermedad. El VPH 16 puede alcanzar una carga viral más alta que otros tipos virales.
- Predisposición genética. Representa el 27% del efecto de los factores subyacentes para el desarrollo del tumor. La herencia afecta la susceptibilidad a la

infección por VPH, la capacidad para resolverla y el tiempo de desarrollo de la enfermedad (15).
- Variantes virales intratipo.

## PREVALENCIA, REGRESIÓN Y PERSISTENCIA

La prevalencia de infección por VPH alrededor del mundo en mujeres va de un 2% a un 44%[16], más alta entre mujeres jóvenes, decayendo conforme la edad aumenta[17]. Además, la incidencia de infección con tipos virales oncogénicos parece ser más alta que aquella con tipos virales no oncogénicos (18, 19).

La mayoría de las lesiones leves o moderadas revierten espontáneamente en individuos inmunocompetentes (20). Se sabe que más del 70% de las adolescentes sexualmente activas y mujeres jóvenes adquieren una infección por VPH. Sin embargo, la mayoría son transitorias y solo cerca del 25% desarrollan una lesión intraepitelial de bajo grado (LSIL por las siglas en inglés bajo el sistema Bethesda de clasificación de células displásicas cervicales). Después, solo del 20 a 40% de estas LSIL progresarán a lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL). Esto significa que aquellas mujeres que en alguna ocasión adquieren un VPH, solo el 5 o 10% de ellas desarrollarán una HSIL, mientras que cerca del 90% de las mujeres infectadas no mostrarán evidencia alguna del tipo viral adquirido después de 12 a 36 meses (21, 22). Sin embargo, en aquellos con una deficiencia inmune, heredada o inducida farmacológicamente, hay una fuerte tendencia para que la infección persista y malignice en caso de infección con VPH de alto riesgo oncogénico. Si el virus permanece en forma latente, una mujer que parece haber tenido una regresión de su infección entre sus visitas de seguimiento estaría aún en riesgo de desarrollar alguna lesión asociada al VPH.

Se ha encontrado que la infección con múltiples tipos virales de VPH está asociada con persistencia (23). Los estudios de Bachtiary y van der Graaf sugieren que la infección múltiple está asociada con un mayor riesgo de progresión de la enfermedad (24). No está claro si esto es debido a la susceptibilidad del hospedero, la interacción entre los virus o la probabilidad de progresión independiente en cada tipo viral.



## DESARROLLO DE LESIONES Y CÁNCER

El resultado usual de la infección por VPH es una verruga o papiloma. Las verrugas de la piel pueden ser verrugas planas (superficiales) o verrugas plantares (mas profundas). Las verrugas genitales, o condilomas, se transmiten por contacto sexual, el 90% de estas son causadas por los tipos virales 6 y 11 (23).

Los virus genitales, tanto oncogénicos como no oncogénicos, pueden causar LSIL en la zona de transformación del cuello uterino. LSIL, también conocido como NIC 1 (neoplasia intraepitelial cervical, grado 1) bajo otro sistema de clasificación, son manifestaciones transitorias de la infección viral productiva. Se caracteriza por presentar mayor actividad mitótica y contenido de células inmaduras en el tercio inferior del epitelio. Este se diferencía y madura, mostrando anormalidades menores de la célula. La zona de transformación del cuello uterino es la unión entre el epitelio columnar del endocervix y el epitelio escamoso del ectocervix. Es un sitio de continuos cambios metaplásicos, más activos en la pubertad y durante el primer embarazo y declinan después de la menopausia. Una metaplasia escamosa atípica, inducida por algún virus y que se desarrolle en esta región, puede progresar a una HSIL, que también se conoce como NIC 2 o NIC 3, las verdaderas precursoras del CaCu y que se caracterizan por presentar mayor actividad mitótica y contenido de células inmaduras en los tercios central y superior la lesión. HSIL es comúnmente positivo a los tipos virales oncogénicos que evitan la maduración y diferenciación, produciendo una replicación continua de células inmaduras y eventualmente la acumulación de anormalidades genéticas que favorecen la malignidad. LSIL puede establecerse al inicio, al mismo tiempo o en ausencia de HSIL.

El CaCu de células escamosas es el más común, mientras que el 10 % de los casos son de origen glandular, es decir adenocarcinoma. Este también contiene VPH pero la correlación es menos pronunciada y es dependiente de la edad. Cerca del 50% de las mujeres con adenocarcinoma in situ (AIS)

tienen también NIC y es a menudo encontrado en pacientes que han sido operados por carcinoma escamoso. El adenocarcinoma invasor puede ser puro o mezclado con carcinoma de células escamosas, con lo que se denomina carcinoma adenoescamoso. La incidencia de estos cánceres aumenta en los países desarrollados sobre todo en mujeres jóvenes, se cree que esto puede deberse al incremento en el consumo de anticonceptivos orales.

### DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

La detección temprana y el tratamiento oportuno del VPH en lesiones precancerosas pueden prevenir la progresión a cáncer. Los métodos principales de diagnóstico han sido la histopatología y métodos citológicos como el papanicolaou, que busca cambios en las células de la zona de transformación. Recientemente se han introducido los métodos moleculares para detectar VPH en muestras clínicas. El sistema actual de reporte para clasificar la citología cervical es el de Bethesda. Las pacientes con resultados de papanicolaou anormales que no tienen una lesión cervical seria son evaluadas por colposcopia y por toma de biopsia o cono.

La escisión por medio del asa electro quirúrgica es buen tratamiento para las lesiones escamosas no invasivas. El cáncer que comienza a invadir se trata con histerectomía o con radioterapia de alta energía (18 MV). El objetivo es destruir células malignas en el cérvix, tejidos paracervicales y nodos linfáticos regionales. El cáncer localmente avanzado es tratado con radioterapia dirigida al tumor y sitios de esparcimiento.

## PREVENCIÓN

### VACUNAS

Zhou y colaboradores (1991) desarrollaron las partículas tipo virus (virus - like particles, VLP) expresando los genes L1 y L2 de VPH 16 en células eucariontes (30). Posteriormente otros científicos detallaron la técnica y demostraron que solo L1 era suficiente para el ensamble de las VLP's (31). Recientemente se reportaron resultados exitosos de la aplicación de la vacuna profiláctica VLP de L1 en 2 pruebas fase 2B multicéntricas, y mostraron protección al 100% contra infección persistente de VPH 16 y VPH 18 (32). Existen evaluaciones internacionales en fase 3 de una vacuna profiláctica bivalente, VPH 16 y 18 y otra tetravalente VPH 16, 18, 6, 11, que han mostrado resultados satisfactorios y muy prometedores. La Organización Panamericana de la Salud (OPS), que es la Oficina Regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud, inició el pasado mes de agosto un proceso interno de preparación para la introducción de dicha vacuna, la cual fue prevista para mediados de este año 2006, en los mercados de los países miembros. También se mencionó el muy probable alto costo, por lo que se tendrá primero que hacer análisis y perfiles de precios (120).

### BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

El virus del papiloma, VP, pertenece a la familia Papillomaviridae, una familia recientemente reconocida como distinta de los polyomavirus por el Consejo Internacional para la Taxonomía de los Virus, (ICTV) (33). Estos virus están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Infectan específicamente el epitelio escamoso de más de 20 especies diferentes de mamíferos, así como aves y reptiles (34, 35).

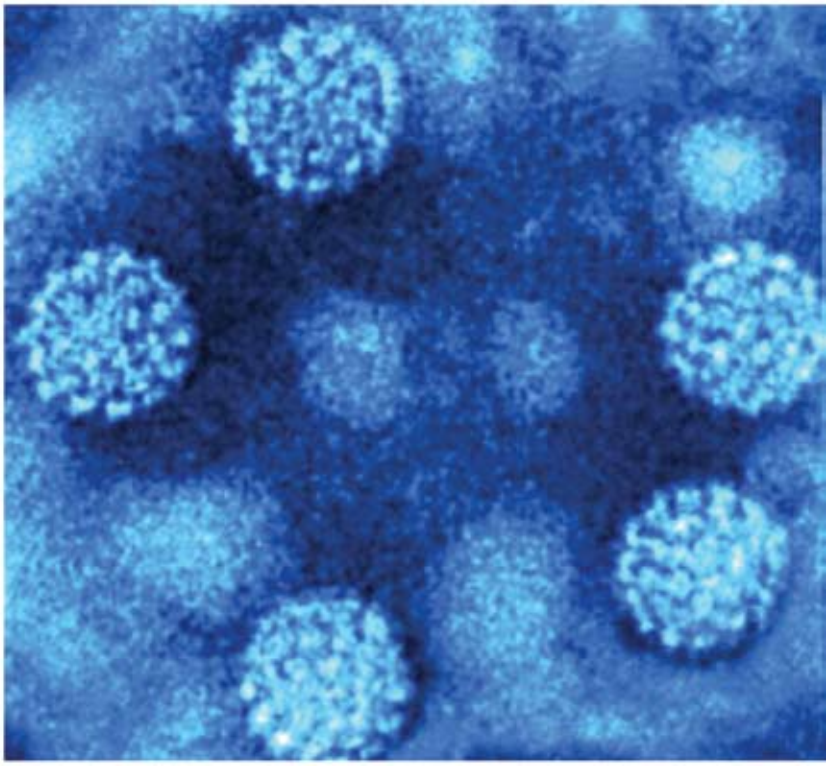
La partícula viral del papiloma humano tiene una cápside de 72 capsómeros (60 hexámeros y 12 pentámeros), con un diámetro aproximado de 55 nm y que contiene al genoma viral *(Figura 2)*. Los capsómeros están hechos de dos proteínas estructurales: L1 en mayor proporción y L2. El VPH es relativamente estable y debido a que no tiene una envoltura, permanece infeccioso en un ambiente húmedo por meses.

### EL GENOMA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

El genoma del VPH consiste de una molécula de DNA circular de doble cadena, aproximadamente de 8 Kb. Se divide en tres regiones: la región larga de control, LCR, que no contiene marco de lectura alguno; la región que corresponde a las proteínas tempranas (E1 a E8) y la región que corresponde a las proteínas tardías (L1 y L2). Ejemplo de la organización del genoma viral se muestra en la (*Figura 3*).

## FIGURA 2·

PARTÍCULAS VIRALES DE VPH

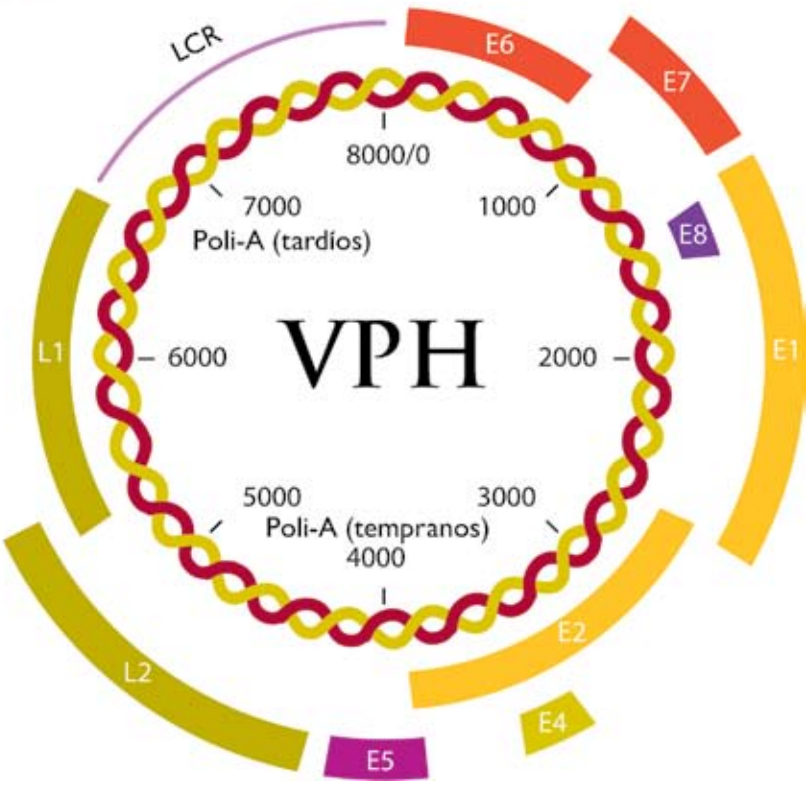


Las partículas de VPH consisten de 72 cápsomeros (60 hexámeros y 12 pentámeros), con un diámetro aproximado de 55 nm. Los capsómeros están hechos de dos proteínas estructurales: L1 en mayor proporción y L2.

Fuente:
http://images.search.yahoo.com/search/images?ei=UTF-8&fr=sfp&p=human+papillomavirus

## FIGURA 3·

ORGANIZACIÓN DEL GENOMA DE VPH




El genoma del VPH es una molécula de ADN circular de doble cadena. Se divide en tres regiones: la región larga de control, LCR, que no contiene marco de lectura alguno; la región temprana, que contiene a los genes E1 a E8; y la región tardía que contiene a los genes L1 y L2, los cuales constituyen la cápside.
Con el permiso de impresión y modificación por parte de Taylor & Francis Books (UK).

Fuente:
The Health's Professional's HPV HANDBOOK, 1: Human papillomavirus and cervical cancer. 2004. The European Consortium for Cervical Cancer education. Taylor & Francis Group

## La proteína E6

El gen E6, de aproximadamente 450 a 500 pb, codifica para una proteína de casi 150 aminoácidos con un peso molecular de 16 a 18 kDa. La proteína tiene un potencial oncogénico débil en algunas líneas celulares y coopera con E7 para la plena capacidad transformante e inmortalizante.

E6 es de las que se expresan muy tempranamente durante una infección por VPH. Esto le confiere varias funciones que alteran el ambiente celular, como por ejemplo el bloqueo de la apoptósis mediante la degradación de p53, la alteración de la transcripción de genes celulares a través de la interacción con p300 y CBP, e incremento de la vida celular por la sobre activación de la telomerasa.

La acción clave de E6 de los VPH de alto riesgo (E6 – AR) es inhibir la función de P53, una proteína supresora de tumores, mediante su degradación por la vía de la ubiquitina (36, 37). Para ello E6 requiere a la proteína celular asociada a E6 (E6-AP). Esta proteína reemplaza a Mdm2, que en células normales no infectadas es quien degrada a P53 *(Figura 4)*. Este cambio reduce dramáticamente la vida media de P53 (desde 3 horas hasta 20 minutos) y el nivel de proteína en las células de CaCu a menos de la mitad del nivel presente en las células normales. La mayoría de las proteínas E6 de los VPH de bajo riesgo (E6 – BR) no se unen a P53 o lo hacen débilmente y no lo degradan.

E6 también puede retener a P53 en el citoplasma bloqueando su translocación al núcleo y así inhibiendo su función independientemente de su degradación (38). En consecuencia E6 inhibe la capacidad de P53 para activar o reprimir la transcripción de sus genes blanco. E6 puede superar la apoptósis dependiente e independiente de P53. A este último respecto se ha visto que E6 interactúa con Bak, una proteína proapoptótica que se expresa en altos niveles en las capas superiores del epitelio en diferenciación (39). El incremento de P53, que se daría por la proliferación inducida por el VPH, así como la consecuente inducción de apoptósis, probablemente mataría a una célula infectada por VPH antes de que la replicación de este ocurriera. Por tanto la modulación de los niveles de P53 por parte de E6 es importante para una infección productiva.

En el *Cuadro 1* se resume la interacción de E6 con otras proteínas celulares, que se ha establecido gracias a nuevos estudios en el tema, así como las posibles consecuencias funcionales que le puede acarrear a la célula.

## La proteína E7

El gen E7, de aproximadamente 300 a 320 pb, codifica para una proteína de aproximadamente 100 aminoácidos con un peso molecular de 10 kDa. E7 tiene la mayor capacidad transformante y actúa mediante la unión a proteínas celulares supresoras de tumores de la familia pRB, que a su vez interactúan con factores de transcripción de la familia E2F. La familia pRB controla la replicación celular (40). La unión de E7 a la forma activa de pRB conduce a la liberación de los factores de transcripción E2F independientemente de la presencia de factores de crecimiento externos, lo que promueve el progreso de la fase S del ciclo celular y por tanto la replicación celular *(Figura 4)* (41). E7 también se asocia con otras proteínas tales como desacetilasas de histonas, AP1 e inhibidores de los complejos CDK, como p21 y p27. Como resultado de la liberación de E2F se expresa ciclina E, importante para el progreso de la fase S. Estas interacciones inducen múltiples respuestas celulares, incluyendo la estabilización de P53 que normalmente contrarrestaría esta replicación celular, anormalmente estimulada, mediante el incremento de la apoptósis. Sin embargo la proteína E6 – AR degrada a P53 y por tanto bloquea esta respuesta celular. En el *Cuadro 2* se resume la interacción de E7 con otras proteínas celulares y las posibles consecuencias funcionales que le puede acarrear a la célula.

## La proteína E5

El gen E5, de aproximadamente 230 a 250 pb, codifica para una proteína de 90 aminoácidos con un

## Cuadro 1

### Proteínas celulares que se unen a E6 (I2I)

| Proteína celular blanco | Función celular de la proteína blanco | Degradación (+/-) | Posibles consecuencias de la interacción para la célula |
|---|---|---|---|
| AMF-1/Gps2 | Incrementa la actividad de P300. | + | Supresión de Gps2. Activación de la transcripción.. |
| Bak | Miembro de la familia Bcl2; proteína proapoptótica. | + | Efecto antiapoptótico |
| CBP/P300 | Coactivador de P53. Activación de genes de control del ciclo celular, de la diferenciación y de la respuesta inmune. | - | Regulación negativa de la transcripción dependiente de P53. |
| c-Myc | Factor de transcripción; inducción de apoptósis. | + | Impedir la apoptósis dependiente de c-Myc. |
| E6AP | Regulación de la transducción de señales en células en proliferación mediante la degradación de la cinasa Blk de la familia src. | + | Desregulación de estas señales de transducción. Factor escencial para la actividad degradativa de E6. |
| E6TP1 | Proteína activadora de la GTPasa (GAP) – Regulador negativo de Rab. | + | Inhibición de la señal mitogénica mediada por Rab. |
| ERC55 (E6BP) | Proteína de unión a calcio, participa en la diferenciación de las células epiteliales y en la inhibición de la apoptósis. | - | Inhibición de la diferenciación terminal de células epiteliales. Inhibición de la apoptósis independiente de P53. |
| hDLG/Sap97 | Homólogo humano de la proteína supresora de tumores de los discos largos de Drosophila, importante en la formación de polaridad en células epiteliales en diferenciación. Formación y mantenimiento de las uniones intercelulares. | + | Afecta la adhesión celular, polaridad y proliferación, lo que contribuye a la actividad invasora de las células transformadas. |
| hScrib | Homólogo humano de la proteína supresora de tumores Scrib de Drosophila, que controla la formación de las uniones intercelulares epiteliales e inhibe el crecimiento celular. | + | Pérdida de la adhesión celular y de la polaridad. |
| Factor regulatorio 3 del interferón | Inducción del ARNm del interferón β. Transactivador de los interferones. | - | Respuesta celular inadecuada a la infección viral (no hay interferencia con la replicación viral, ni incremento de MHC-1, ni activación de las células NK. |
| MAGI – 1/2/3 | Proteínas de la unión estrecha; formación de complejo con β-catenina. Regulador del supresor de tumores PTEN. | + | Afecta la señalilzación Akt. Inhibición de la apoptósis independiente de P53. |
| Mcm7 | Iniciación de la replicación del ADN. | + | Omisión del punto de arresto en G1. Posible modulación de la abundancia de Mcm7. |
| Mupp1 | Proteína de andamio con múltiples sitios PDZ. Posible papel en la transducción de señales. | + | Rompimiento del ensamblaje de los complejos de señalamiento en las membranas de las células epiteliales. |
| Paxilina | Proteína de adhesión focal; participa en la adhesión celular y en la regulación del citoesqueleto de actina. | - | Rompimiento del citoesqueleto de actina y de las interacciones de la matriz celular. |
| P53 | Proteína supresora de tumores. Regulación de la repuesta celular a los eventos mitogénicos. | + | Pérdida del control del ciclo celular. Efectos antiapoptóticos. |
| XRCC1 | Proteína de reparación del ADN. | - | Interferencia con la eficiencia de reparación. |

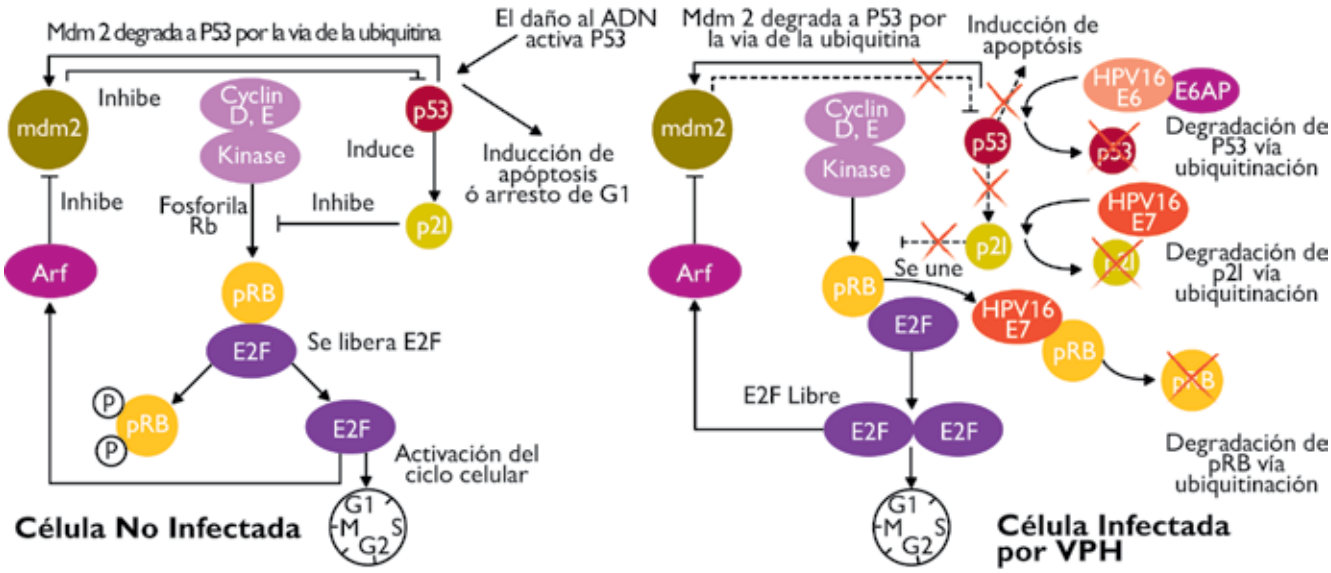
## Cuadro 2

### Proteínas celulares que se unen a E7 (121)

| Proteína celular blanco | Función celular de la proteína blanco | Posibles consecuencias de la interacción para la célula |
|---|---|---|
| Miembros de la familia AP1 | Fatores de transcripción | Abolición de la actividad de IRF-1 |
| α-glucosidasa | Enzima del control glucolítico | Activación alostérica que sobreconsume las reservas de glucógeno. Promoción de hiperproliferación celular |
| Ciclina A<br>Ciclina E | Actividad de cinasa | Activación de ciclina A y E |
| Cinasa de la histona H1 | Actividad de cinasa | Interferencia con la transición G2/M del ciclo celular |
| hTid-1 | Homólogo al supresor de tumores de Drosophila Tid56 dnaj, modulador de la apoptósis | Activación de los promotores que responden a E2F |
| IGFBP-3 (proteína de unión al factor de crecimiento tipo insulina) | Blanco transcripcional de P53 que limita la disponibilidad de IGF | Decremento en la cantidad de IGFBP |
| IRF-1<br>Factor transcripcional inducido por el interferón-γ | Regula la expresión del IFN-β | Inhibición de la activación del promotor del IFN-β mediada por el IRF-1, a través de una deacetilasa de histonas |
| Mi2β | Deacetilasa de histonas | Abolición de la actividad transcripcional de IRF-1 |
| Mpp2 | Factor de transcripción | Abolición de la actividad transcripcional de IRF-1 |
| M2 piruvato-cinasa (M2-PK) | Modulación de la actividad de la enzima glucolítica M2 | Cambio del balance desde la forma tetrámerica de alta afinidad por su sustrato hacia el estado dimérico de baja afinidad de la M2-PK |
| pRB | Regulación del ciclo celular mediante la acomplejación con los factores de transcripción E2F | Fosforilación de pRB y subsecuente liberación de E2F, ubiquitinación y subsecuente degradación |
| Proteínas pocket asociadas a pRB | Regulación del control del ciclo celular | Pérdida del control del ciclo celular y activación de genes específicos para la progresión del ciclo celular |
| P21CIP-1 | Inhibidor de cinasas dependientes de ciclinas | Estimulación del crecimiento mediante la pérdida del control del ciclo celular |
| P27KIP-1 | Inhibidor de cinasas dependientes de ciclinas | Estimulación del crecimiento mediante la pérdida del control del ciclo celular |
| P48 | Proteína regulatoria del interferón (componente de unión al ADN de ISGF3). Proteína mensajera | Inhibición de las vías de señalización del interferón por medio de la translocación de P48 a núcleo dada la estimulación del IFN-α |
| ATPasa subunidad 4 | Subunidad S4 del proteosoma 26S | Degradación de pRB mediante la unión directa la proteosoma |
| TAF110 (Factor asociado a la proteína de unión a la caja TATA) | Involucrada en el inicio de la transcripción; coactivador en la regulación de la transcripción | Modulación de la transcripción |
| TBP (Proteína de unión a la caja TATA) | Involucrada en el inicio de la transcripción | Interferencia con la activación de los promotores que responden a P53 |

FIGURA 4•

EFECTO DE E6 Y E7 EN EL CICLO CELULAR




Fuente:
The Health's Professional's HPV HANDBOOK, 1: Human papillomavirus and cervical cancer. 2004. The European Consortium for Cervical Cancer education. Taylor & Francis Group. pp 18 - 19. Con el permiso de impresión y modificación por parte de Taylor & Francis Books (UK).

Interacción entre proteínas virales y proteínas celulares involucradas en el ciclo celular. Las proteínas virales promueven la proliferación e impiden la apoptósis.

peso molecular de 14 kDa. Es una proteína de membrana e hidrofóbica que se halla principalmente en el retículo endoplásmico y Golgi, pero también en la membrana citoplasmática (42, 43, 44).

La función principal de la proteína E5 es acomplejarse y sobre regular la actividad de los receptores de factores de crecimiento, como el del factor de crecimiento epidermal (EGFR) o el del crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR) (45, 46, 47). E5 de VPH–16 y de VPB–1 se une también a la subunidad de 16 KDa de la ATPasa vacuolar (48). La ATPasa es un complejo proteico, de unión a membrana, cuya subunidad de 16 KDa forma el poro por lo que pasan los iones $H^+$ que acidifican el contenido de los endosomas. Se sabe que E5 de VPH–16 inhibe la acidificación de los endosomas, lo que resulta en la retención del receptor, en la prolongación de su señal activa y en el reciclaje del 40% de los receptores para anclarse de nuevo en la superficie en ausencia del ligando. Esto quizás explique el incremento en el número de EGFR observado en los queratinocitos que expresan E5 (44, 51).

Se ha visto en células de roedores que expresan E5 aumento en la expresión de c-Fos y c-Jun, en especial en presencia de EGF (49, 50). La LCR de los VPHs tiene sitios de unión a AP – 1 y en presencia de E5 aumenta la actividad transcripcional del promotor en células NIH3T3 que expresan E5, influyendo así en la producción de los mensajeros tempranos. Dado que el EGF es necesario en la fase G1 del ciclo celular, se sugiere que la actividad de E5 estimula a las células a través de esta fase y en S.

Si E5 inhibe la acidificación de los endosomas tardíos en los HFK, podría también afectar la interacción de los péptidos antigénicos con las moléculas del MHC-II (52). La molécula del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC-II) es una proteína heterodimérica compuesta de las subunidades $\alpha$ y $\beta$. Entrega péptidos antigénicos desde los compartimentos endocíticos hasta la superficie celular para ser reconocidos por las células T $CD4^+$. Los antígenos del MHC-II son sintetizados en el RE donde las subunidades $\alpha$ y $\beta$ se asocian a una chaperona llamada cadena invariante (*Ii*). En los com-

partimentos endocíticos, Ii del trímero αβIi es secuencialmente degradado por medio de cisteín y no cisteín - proteinasas hasta convertirse en el péptido inducido por leupeptina (LIP), de 21 – 22 kDa, en el pequeño péptido inducido por leupeptina (SLIP), de 12 – 14 kDa y en el péptido Ii asociado a la clase II (CLIP). CLIP es finalmente intercambiado por un péptido antigénico, proceso catalizado por HLA – DM. Luego el dímero αβ – péptido antigénico es expresado en la superficie celular como una molécula MHC-II madura. En la epidermis los queratinocitos humanos normalmente no expresan moléculas MHC-II, pero sí las de Langerhans. Se ha documentado que los queratinocitos pueden expresar moléculas MHC-II, tales como HLA – DR, – DP y – DQ en muchos desórdenes de la piel, lo que les permite funcionar como células presentadoras de antígenos e inducir una respuesta inmune. Los queratinocitos de prepucio también muestran actividad inmune (expresando HLA – DR, - DM y Ii) cuando son estimulados por interferón γ. La degradación proteolítica secuencial de *Ii* es dependiente del pH. Por tanto E5 afecta la maduración de la molécula αβ de MHC-II inhibiendo la acidificación de los endosomas donde *Ii* es digerido por proteasas que funcionan solo a pH ácido. E5 entonces podría disminuir el reconocimiento inmune de los queratinocitos infectados interrumpiendo la función de las proteínas MHC clase II.

## La proteína E1

El gen E1 es el más grande y de los mas conservados de los VP, casi 2 Kb de secuencia y de 67.5 (VPH 47) a 76.2 kDa (VPH 10) para la proteína nuclear de 593 (VPH 48) a 681 aminoácidos (VPH 10). La proteína se divide en tres regiones: un dominio amino terminal, que se sospecha regula las actividades de E1 residentes en el C-terminal, pues es blanco de una serie de fosforilaciones que influyen positiva o negativamente en la función; una región espaciadora de longitud variable y una región carboxilo terminal más grande, relacionada en función a las ATPasas y helicasas.

E1 es una 3' → 5' helicasa hexamérica dependiente de ATP, que participa en la replicación del DNA viral. Estas funciones de ATPasa y de helicasa hacen de esta proteína viral la única con actividad enzimática y se hallan codificadas en el domino carboxilo terminal.

E1 se une al origen de replicación, en una secuencia palindrómica de 18 pb rica en A y T que se halla en la LCR, formando hexámeros y dobles hexámeros. El hexámero rodea al DNA de modo que el sustrato pasa a través del centro del anillo hexámerico (53, 54). La unión de E1 al sitio de origen causa una curvatura, crítico para el correcto ensamblaje del complejo de iniciación y para las primeras etapas de desenrrollamiento de la doble hélice *(Figura 5)* (55, 56). E1 interacciona directamente con la DNA polimerasa α, mientras que esta necesita las proteínas RPA, que estabilizan la cadena sencilla del duplex abierto, topoisomerasas I y II y los cofactores PCNA y RFC (factor de replicación C) para que se lleve a cabo la replicación.

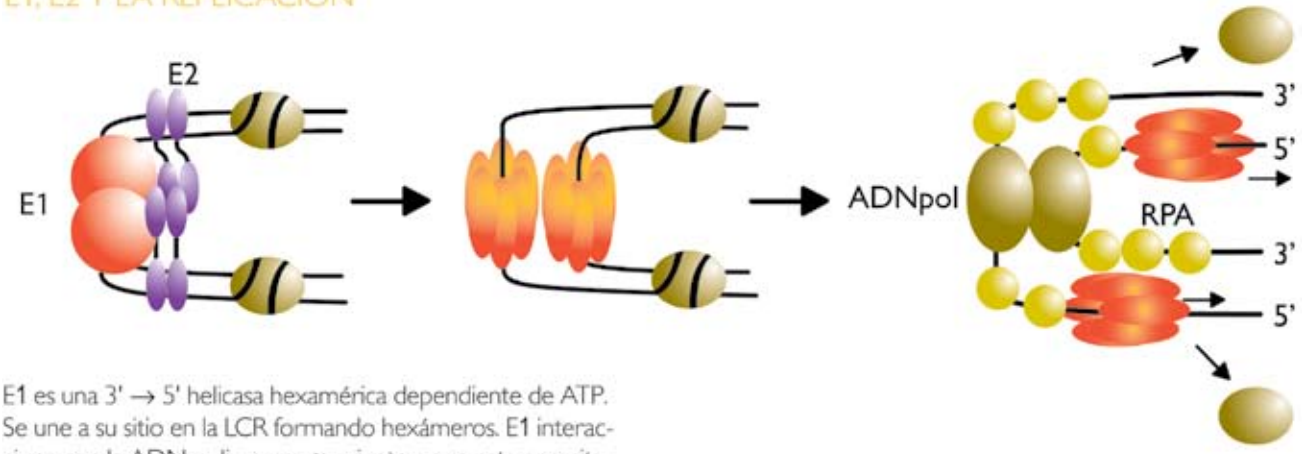
La unión de E1 a su sitio en la LCR depende a su vez de su acomplejamiento con la proteína viral E2, la cual aumenta la especificidad de E1 por su secuencia, así como su capacidad para desenrollar la doble hélice. Las interacciones E2-E1 hacen que E2 atraiga otras moléculas de E1 a un complejo inicial E2-E1-DNA. Conforme se ensamblan oligómeros más grandes de E1, E2 es finalmente desplazado mediante una reacción dependiente de ATP. Se ha demostrado recientemente que el dominio de unión al DNA de E1 (E1DBD) estimula la actividad transcripcional de E2 dependiente de E1, lo que sugiere que la interacción E1DBD - E2TAD funciona más en la regulación de la actividad transcripcional que en la replicación del DNA viral *(Figura 5)*. Algunas de las interacciones de E1 con otras proteínas celulares se resumen en el *Cuadro 3*.

## La proteína E2

El producto del gen E2, de aproximadamente 1100 pb, es una proteína nuclear de 45 kDa. Se divide en tres dominios funcionales. El primero, en el extremo amino terminal, es el dominio de activación (E2TAD), responsable de regular la transcripción y la replicación del DNA viral. Promueve la oligomerización e interacción entre moléculas de E2

## FIGURA 5•

### E1, E2 Y LA REPLICACIÓN




E1 es una 3' → 5' helicasa hexamérica dependiente de ATP. Se une a su sitio en la LCR formando hexámeros. E1 interacciona con la ADN polimerasa α, mientras que esta necesita las proteínas RPA, que estabilizan la cadena sencilla del duplex abierto, topoisomerasas I y II y los cofactores PCNA y RFC para que se realice la replicación. Sin embargo, la afinidad de E1 por su sitio de unión en la LCR depende de su acomplejamiento con el dominio N - terminal de E2.

Fuente:
http://www.l23bio.net/revues/ibouallaga/index.html (modificado)

## CUADRO 3•

### PROTEÍNAS CELULARES QUE SE UNEN A E1

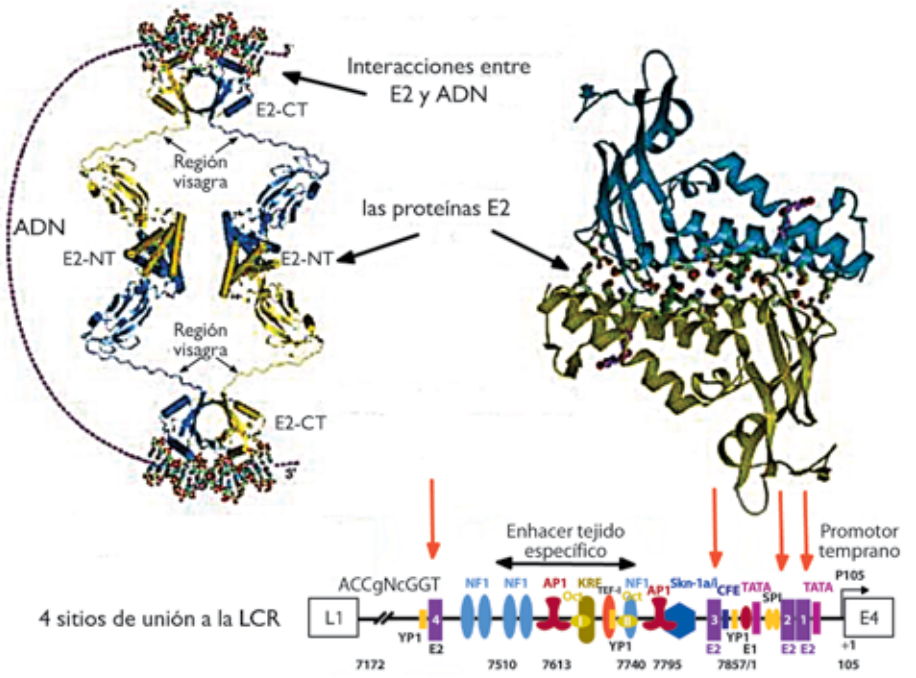
| PROTEÍNA CELULAR BLANCO | FUNCIÓN CELULAR DE LA PROTEÍNA BLANCO | POSIBLES CONSECUENCIAS DE LA INTERACCIÓN PARA LA CÉLULA |
|---|---|---|
| ADN Polimerasa α (ADN-Pα), subunidades p70 y p180 | Replicación | Atracción hacia el complejo de iniciación, una vez liberado E2 |
| RPA | Replicación | Estabilización de la cadena sencilla, una vez abierto el dúplex |
| Histona H1 (58) | Empaquetamiento de la cromatina | Descondensación de la cromatina por delante de la horquilla de replicación |
| Ini1/hSNF5 (59) | Regulación de la transcripción al remodelar la cromatina | Contribución de SWI / SNF en la replicación al remodelar la cromatina |
| Chaperona Hsp40 y Hsp70 (54) | Maduración de proteínas | Promoción de la unión de E1 hacia el ADN y de la formación de los dihexámeros en el sitio Ori. |

unidas al DNA en sitios distantes, provocando una curvatura en la molécula de DNA y otros cambios conformacionales (*Figura 6*) (60, 61). El segundo dominio es el de bisagra o dominio central, de longitud y secuencia más variables entre los VPs. En VPH 11 es importante para regular la función de E2 durante la transcripción del ARNm y la replicación viral, además que le da estabilidad al complejo E2 - DNA. El tercer dominio, en el extremo carboxilo terminal, es de dimerización y de unión al DNA, de casi 100 aminoácidos.

E2 se une al palíndrome de 12 pb ACCgNNNNcGGT, llamado el sitio de unión de E2 (E2BS), que sufre un cambio de conformación al unirse a la proteína. Las letras en minúsculas son las bases preferenciales pero no requeridas para la unión al DNA. La región NNNN se llama espaciadora, su longitud es conservada entre los VPs pero la secuencia varía con el tipo viral. El genoma de los VP-AR contiene 4 sitios E2BS ubicados en la LCR *(Figura 6)*, que se hallan hacia el 5' del promotor viral que regula la expresión de los genes tempra-

## FIGURA 6•

### INTERACCIÓN DE E2 CON LA LCR Y CON OTRAS PROTEÍNAS E2




E2 se une al genoma de los VP-AR que contiene 4 sitios de unión a E2, E2BS, ubicados en la LCR. Estos consisten de un palíndrome de 12 pb ACCgNNNNcGGT que se hallan hacia el 5' del promotor viral. La unión de E2 a su sitio promueve la oligomerización e interacción entre moléculas de E2 unidas al ADN en sitios distantes, provocando una curvatura en la molécula de ADN y otros cambios conformacionales.

4 sitios de unión a la LCR

Fuente:
http://images.search.yahoo.com/search/images?p=papilloma virus&ei=UTF-8&fr=FP-tab-img-t&b=21 (modificado)

nos. La unión de E2 al DNA provoca la represión o activación de dicho promotor y la replicación del DNA viral. A su vez, estas funciones dependen de la concentración intracelular de E2, así como del sitio, de los cuatro existentes, al que se haya unido. La unión al sitio más próximo del promotor, BS1, no solo interfiere con la unión de TBP a la caja TATA, sino también afecta la estabilidad del complejo de preinicio de la transcripción una vez que TBP ya se unió a su sitio. La unión a los sitios BS2 y BS3 también contribuye a la represión del promotor compitiendo con factores de transcripción como SP1. La unión a BS3 es necesaria para la replicación viral. E2 es más afín a BS4 y la unión a este sitio regula positivamente la expresión génica, aunque los mecanismos para que se lleve a cabo no son del todo claros. E2 puede también invocar al complejo de preinicio de la transcripción (PIC) e influye en el remodelaje de la cromatina (62), interactuando con el coactivador CBP/p300, el cual se sabe tiene una actividad de acetilación de histonas (HAT). La interacción es débil pero se sabe que E2 también se une a la proteína celular AMF-1/Gps2, quien también interactúa con el coactivador p300. Por tanto la unión de E2 a AMF-1 atrae a p300 y el resultado es la sobre expresión génica por un efecto aditivo (63).

E2 también tienen una función anti proliferativa, pues puede reprimir el crecimiento e inducir apoptósis, en parte mediante la represión de la transcripción de E6 y E7, así como por el consecuente aumento de P53 (64, 65, 66). E2 induce arresto en G1 por medio de la activación del complejo p21/WAF, inhibidor del complejo ciclina E/CDK2. Este arresto lleva a la célula transformada por VPH a senescencia. La reintroducción de E2 en células HeLa provoca muerte por apoptósis (65). A diferencia del arresto en G1, esta apoptósis inducida puede ser tanto independiente de P53 (66), como de secuencias virales. Esto se comprobó transduciendo, con un adenovirus que porta el gen E2 de VP, a la línea celular de osteosarcoma Saos, la cual es mutante a p53 y no tiene secuencias víricas en su genoma. Las células murieron por apoptósis.

## La proteína E4

La secuencia codificante de E4, aproximadamente 260 pb, está contenida dentro del marco de lectura de E2. La proteína E4, de 10 a 44 kDa, se expresa a partir de un ARNm procesado (E1^E4) de manera abundante durante las etapas tardías del ciclo viral y la replicación vegetativa del DNA viral (67, 68, 69). La expresión precede la síntesis de las proteínas estructurales del virus y el ensamblaje de las partículas virales. La proteína E4 se localiza en parte en los filamentos intermedios de queratina del citoplasma (IF) durante las LSIL causadas por VPH 16, pero también se halla de manera difusa en regiones perinucleares y citoplasmáticas. E4 causa el colapso de dichas queratinas y esto se ha relacionado con la liberación de los viriones.

E1^E4 de VPH 16 causa arresto en la fase G2 del ciclo celular cuando se expresa en células HeLa y SiHa. Esto sugiere un papel antagónico con la proliferación celular inducida por E7 durante la etapa productiva de la infección, así como el requerimiento de E1^E4 y E2 para inhibir la división celular durante el ciclo viral (70).

E4 puede expresarse junto con E1 y E2 durante la infección. El hecho de que ambas proteínas, E2 y E4, pueden inhibir el ciclo celular, sugiere que cooperan durante el ciclo viral. La expresión elevada de E2 y E4 en células epiteliales en cultivo provoca la acumulación de E2 en el citoplasma y co-localización de esta con E4. La adición de E4 incrementa o disminuye la transcripción mediada por E2, dependiendo de las concentraciones relativas de ambas proteínas. A las concentraciones fisiológicas hay un incremento de la actividad transcripcional del promotor P97. Esta evidencia sugiere que durante la infección productiva, E4 regula los niveles de la proteína nuclear E2 para facilitar la amplificación del genoma viral y la expresión de proteínas tempranas (71).

## La proteína E2 ^ E8

Recientemente se ha descrito una nueva proteína E2, resultado de una fusión del producto del pequeño marco de lectura E8 con parte de la proteína E2. Esta proteína de 20 kDa reprime la replicación viral, así como la transcripción y por tanto se creé que es importante para el mantenimiento del estado latente observado en las células basales del epitelio infectado (72, 73).

## Las proteínas L1 y L2

La proteína L2, de 43 a 53 kDa, es la minoritaria de la cápside viral, que como L1, se produce en células que expresan E4 (74). La proteína mayoritaria L1, de 57 kDa y que conforma cerca del 80 % de la cápside, se expresa después de L2. La cápside contiene 360 copias de L1 y aproximadamente 12 copias de L2, organizados en 72 capsómeros de una partícula icosaedral. La proteína L2 se acumula en estructuras nucleares conocidas como dominios oncogénicos de la proteína de leucemia pro-monocítica (PML) durante el ensamble del virus y atrae a L1 hacia estos dominios. Se ha sugerido que estos cuerpos PML son el sitio de la replicación del DNA viral (75) y que las proteínas de la cápside se acumulan en este sitio para facilitar el empaquetamiento.

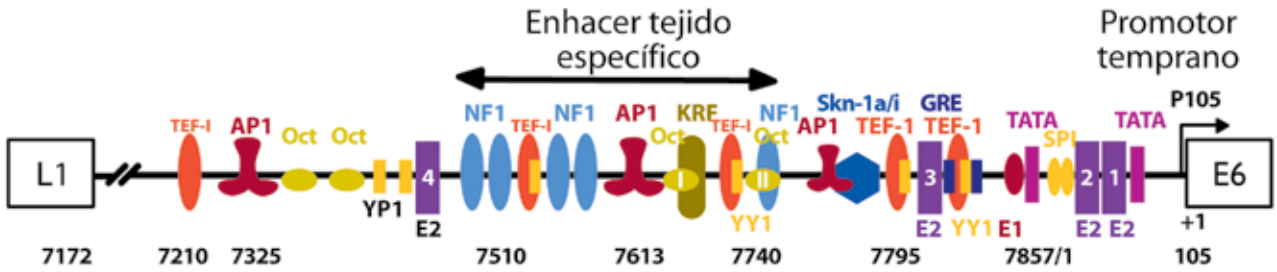
## LA REGIÓN LARGA DE CONTROL (LCR)

La región larga de control (LCR) es un segmento genómico, que no contiene marco de lectura alguno y que sí tiene numerosos elementos de respuesta en cis que gobiernan la expresión génica y la replicación viral. El tamaño varía según el tipo viral, extendiéndose de un 7 a 11% del genoma y de casi 850 pb en el caso de los VPH genitales.

La LCR puede dividirse en 3 partes: el promotor temprano, el amplificador o enhancer, de alrededor de 230 pb y la región más alejada del 5'. Numerosos factores, celulares y virales, interaccionan con esta región: por citar algunos, las proteínas virales E1 y E2, que ya se mencionaron anteriormente y que modulan la actividad transcripcional y la replicación del virus; componentes de la maquinaria basal de transcripción como SP1 y TBP; receptores de glucocorticoides que modulan positivamente la transcripción, así como otros factores que parecen intervenir en la especificidad por el tejido como

## FIGURA 7•

### LA REGIÓN LARGA DE CONTROL, LCR

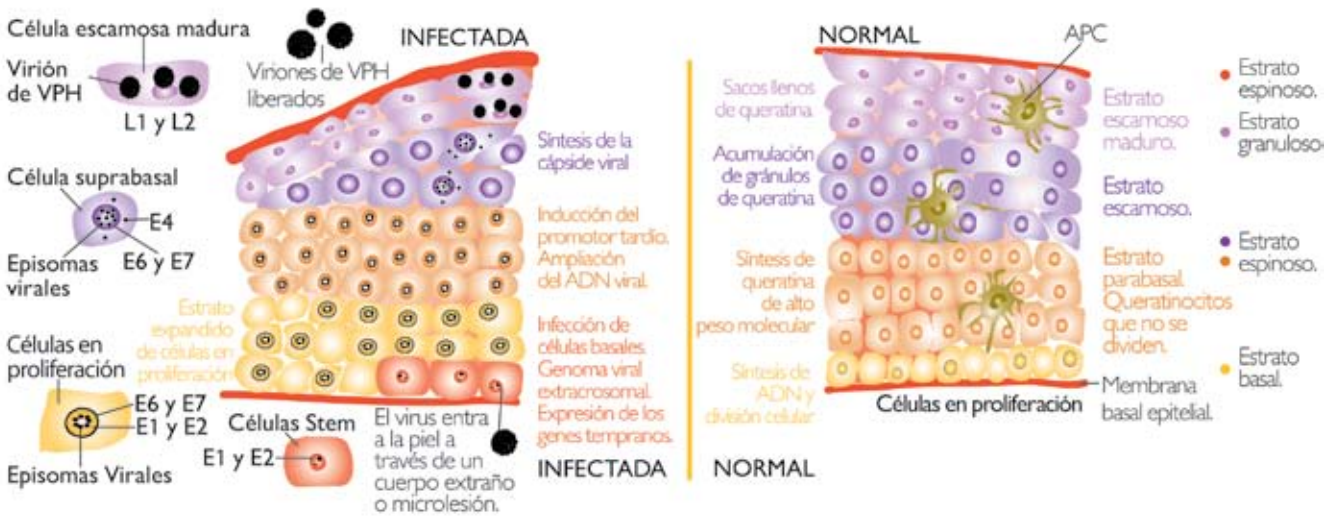



La LCR contiene numerosos elementos de respuesta en cis que gobiernan la expresión génica y la replicación viral. Factores celulares y virales interaccionan con esta región, como las proteínas virales E1 y E2, que modulan la actividad transcripcional y la replicación del virus; componentes de la maquinaria basal de transcripción como SP1 y TBP; receptores de glucocorticoides que modulan positivamente la transcripción, así como otros factores que parecen intervenir en la especificidad por el tejido como KRF, Skn – 1a/i , TEF, AP1 , etc.

Fuente:
http://www.123bio.net/revues/ibouallaga/index.html (modificado)

## FIGURA 8•

### EL CICLO VIRAL EN EL EPITELIO ESTRATIFICADO




Arquitectura de la célula epitelial estratificada del cérvix y expresión de las proteínas virales después de la infección. Las células germinales normales se dividen a lo largo de la membrana basal y maduran verticalmente a través del epitelio sin división posterior (derecha). Después de que el VPH infecta estas células en la membrana basal (izquierda), se expresan las proteínas tempranas. Bajo la influencia de estas proteínas, las células que están en división se expanden verticalmente y la diferenciación celular es retrasada e incompleta. Las proteínas virales se expresan secuencialmente con la diferenciación y los viriones se producen en las capas superiores del epitelio. Las células presentadoras de antígenos intraepiteliales (APC) son abatidas en una célula infectada por VPH. Figura impresa y modificada con el permiso de Nature Reviews Immunology. Macmillan Magazines Ltd.

Fuente:
Ian H. Frazer (2004). Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. Nature Reviews Immunology 4 (01.) 46-55.

KRF, Skn – 1a/i, TEF, AP1 , etc. (*Figura 7*) (76). Los VP infectan solo a los tejidos epiteliales de la piel y mucosas, fijándose primero a proteínas como integrina α-6 y heparán – sulfato (77, 78, 79). El promotor temprano, responsable de la transcripción de los oncogenes virales, es activo en células de tejido de cáncer cervical o en los queratinocitos de la piel. Sin embargo, no es activo en las células epiteliales del hígado (HepG2) o del seno (MCF7). Esta especificidad por el tejido, no muy común en muchos virus, corresponde al amplificador transcripcional o enhancer. Se conocen diversos factores proteicos de las células epiteliales asociados a la actividad transcripcional del promotor, que pertenecen a familias de proteínas cuyos miembros se hallan en diferentes cantidades en los diferentes tipos celulares (80-89). El complejo proteico que se ensambla en el enhancer, conocido como el enhanceosoma, interacciona con las proteínas del aparato basal de transcripción, que se unen en la región promotora hacia el extremo 3' del LCR, aumentando de esta manera la actividad transcripcional del promotor y por ende la expresión de los genes tempranos (81).

## El Ciclo Viral

En la (*Figura 8*) se resume el ciclo viral y a continuación se describe brevemente cada una de sus etapas.

### INFECCIÓN Y DESENSAMBLE DEL VIRIÓN

Las partículas infecciosas entran a las células basales o germinales a través de una abertura en el epitelio estratificado. Tal abertura puede ocurrir en condiciones donde la piel tenga alguna lesión o microtrauma. Para los VPH – AR como VPH 16, la formación de lesiones cervicales se facilita por la infección de células columnares que después formarán la capa basal del epitelio estratificado de la zona de transformación. No se ha identificado un receptor de membrana definido para la entrada del virus, aunque el complejo integrina α6 – β4 se ha propuesto como candidato. Además se ha visto que la entrada depende de la presencia de los proteglicanos de sulfato de heparina presentes en la membrana plasmática, que podrían ser el lugar de unión inicial previo a la unión con el receptor (77, 78, 79). La internalización del virus ocurre por endocitosis de vesículas cubiertas de clatrina (90). El desensamble del virión puede ser a través del rompimiento de enlaces disulfuro internos de la cápside, dado el ambiente reductor de la célula, lo que permitiría el transporte del DNA viral al núcleo de esta (91).

### MANTENIMIENTO DEL GENOMA

Después de la infección y desensamble en las células basales y para mantener su genoma episomal en bajo número de copias, 10 a 200 por célula, se expresan las proteínas E1 y E2 (92), que además facilitan la segregación correcta de los genomas durante la división celular. En VPH 31, en líneas celulares epiteliales, se ha visto que si hay una falla para expresar E1, se pierde el estado episomal y el genoma viral se integra al de la célula (93). La infección inicial es seguida por una fase proliferativa que conduce al incremento del número de células basales que contienen el genoma viral, lo que puede requerir la expresión de las proteínas E6 y E7 que estimulan el progreso de la fase de ciclo celular G1 a S.

### FASE PROLIFERATIVA

La expresión de E6 y E7, de un ARNm bicistrónico bajo el control del promotor temprano en la LCR, evita que la célula basal interrumpa el ciclo celular una vez que esta migra al estrato suprabasal del epitelio. Estas proteínas retardan la diferenciación celular (94) y promueven la proliferación mediante interacciones con proteínas celulares responsables del control del ciclo celular.

### AMPLIFICACIÓN DEL GENOMA Y SÍNTESIS DE LOS VIRIONES

Para que se produzcan viriones infecciosos, los VP deben amplificar su genoma y empaquetarlo en la partícula proteica. Esto ocurre en las capas superiores del epitelio, en el estrato espinoso, donde aumenta la actividad transcripcional del promotor tardío dependiente de la diferenciación. Este promotor se halla en el marco de lectura del gen E7 y promueve la transcripción de proteínas involucradas en la replicación del DNA viral, tales como E1, E2,

E4 y E5, así como las constituyentes de la cápside, L1 y L2. Para la replicación viral se necesita que E2 se una a la LCR y que promueva la unión de E1 en el sitio de origen de la replicación viral. El ensamble de las partículas virales ocurre en el estrato granuloso del epitelio y eventualmente las células infectadas se descaman de la capa superior de este. El virus es estable extracelularmente ya que es resistente a la desecación y puede ser transmitido directamente a otros individuos. Alternativamente las células infectadas permanecen en el ambiente antes de que el virus sea transmitido a una nueva superficie epitelial, como ocurre en virus que infectan superficies cutáneas. El VP no es lítico y se ha sugerido que la proteína E4 contribuye al egreso del virus de las capas superiores del epitelio mediante el rompimiento de los complejos de citoqueratina (95) *(Figura 8)*.

## NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN DE LOS VIRUS DEL PAPILOMA

El gen L1 es el más conservado del genoma viral y por tanto ha sido usado para identificar nuevos tipos virales. Un nuevo tipo viral es reconocido como tal solo si la secuencia nucleotídica del gen L1 difiere por poco mas del 10% de aquella del tipo viral conocido mas cercano. Diferencias de 2 a 10% definen a un subtipo viral, mientras que la diferencia menor a 2% define a una variante viral. Hasta la fecha se han descrito y secuenciado completamente 118 tipos virales y se ha identificado un número mayor de posibles nuevos tipos mediante la amplificación de regiones subgenómicas.

Los VP se clasifican en 3 niveles taxonómicos: Género, Especie y Tipo (96). Los diferentes géneros comparten menos del 60% de identidad en la secuencia de L1; las especies de un género comparten una identidad de secuencia de 60 a 70% y los tipos virales dentro de una especie comparten de 71 a 89% de identidad de secuencia. Los VP conocidos que infectan tanto a humanos como a animales forman 16 géneros que se identifican por letras griegas. Cinco de estos géneros se componen exclusivamente de VPH's y VP's identificados en algunos primates, todos los otros géneros contienen tipos encontrados en varios mamíferos y aves.

El género clínicamente más importante es el referido como los virus del papiloma-Alfa o VP-Alfa (en inglés Alpha-papillomavirus). Contiene a todos los tipos de VPH asociados a lesiones en mucosas o genitales. Los VP-Beta incluyen todos los tipos de VPH asociados con epidermodisplasia verruciformis (EV), una enfermedad neoplásica cutánea con componente genético. En aquellos portadores que no son genéticamente predispuestos a la enfermedad, los VP-Beta y los VP-Gama establecen infecciones asintomáticas, o en el peor de los casos producen pequeñas lesiones cutáneas neoplásicas benignas. Algunos de los virus de estos dos géneros también se han hallado asociados a cáncer de piel en individuos inmuno-suprimidos. El *Cuadro 4* resume la relación entre la taxonomía y patología de algunos VP's.

## LAS VARIANTES INTRATIPO DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Se especula que hace varios miles de años, cuando las especies humanas evolucionaron, los tipos de VPH ya existían con genomas muy parecidos a los de hoy en día. Las distancias genéticas entre los aislados virales evolucionaron en paralelo con los grupos étnicos humanos y con la dispersión de estos alrededor del mundo. Como consecuencia, ciertas variantes virales predominaron en grupos étnicos humanos definidos y aislados, como aquellos que colonizaron primero el continente americano hace unos 12 000 años. En México los inmigrantes europeos se mezclaron con los nativos y hoy en día la población contiene las variantes virales específicas de cada grupo étnico. Todos los tipos virales hoy en día, tienen variantes genómicas y estas difieren entre sí por 1 – 5% en su secuencia del DNA (106-109).

Además de los factores de riesgo para la progresión a CaCu ya mencionados, las variantes virales intratipo podrían ser otro factor de riesgo importante, pues diversos estudios sugieren que estas difieren biológicamente en su potencial oncogénico (97-105).

Los países en vías de desarrollo tienen incidencias más altas de cáncer cérvicouterino que los países desarrollados. Esta diferencia puede deberse a que

TABLA 4•

LOS TIPOS VIRALES DE PAPILOMA MÁS ESTUDIADOS Y SUS PROPIEDADES CLÍNICAS

FAMILIA: PAPILLOMAVIRIDAE

| GÉNERO | ESPECIE | TIPO (S) | PROPIEDADES |
|---|---|---|---|
| Virus del papiloma-Alfa | 4 | VPH -2, -27, -57 | Verrugas comunes de la piel, frecuentemente en verrugas genitales en niños. |
| | 5 | VPH -26, -51, -69, -82 | Lesiones benignas en mucosas, así como malignas de alto riesgo. |
| | 6 | VPH -53, -30, -56, -66 | Lesiones benignas en mucosas, así como malignas de alto riesgo. |
| | 7 | VPH -18, -39, -45, -59, -68, -70 | Lesiones malignas de alto riesgo en mucosas. VPH -18 más frecuente en adenocarcinomas que en carcinomas escamosos del cervix. |
| | 8 | VPH -7, -40, 43 | Lesiones cutáneas y mucosas de bajo riesgo. |
| | 9 | VPH -16, -31, -33, -35, -52, -58, -67 | Lesiones malignas de alto riesgo en mucosas. VPH -16 mas frecuente en carcinoma de cervix que en adenocarcinoma, y es el tipo viral más frecuente en las lesiones del cérvix |
| | 10 | VPH -6, -11, -13, -44, -74 | Lesiones benignas en mucosa. VPH -6 y -11 en verrugas genitales de hombres y mujeres, condyloma acuminata del cérvix, papilomas laríngeos. Algunas de estas lesiones pueden progresar a la malignidad. |
| Virus del papiloma-Beta | 1 | VPH -5, -8 (por citar solo dos tipos de un género más amplio) | Lesiones cutáneas benignas y malignas en pacientes EV e inmunosuprimidos. |
| Virus del papiloma-Gama | 1 | VPH -4, -65 (por citar solo dos) | Lesiones cutáneas benignas |
| Virus del papiloma-Delta | 4 | Virus del papiloma bovino -1 (VPB -1); (por citar solo uno) | Papilomas fibrosos en el ganado vacuno, papilomas sarcoides en caballos. |
| Virus del papiloma-Kappa | 1 | Virus del papiloma del conejo de cola de algodón (CRPV) | Lesiones cutáneas. |
| | 2 | Virus del papiloma oral en conejo (ROPV) | Lesiones en la cavidad bucal. |
| Virus del papiloma-Mu | 1, 2 | VPH -1, -63 | Lesiones cutáneas como verrugas de los pies. |
| Virus del papiloma-Un | 1 | VPH -41 (no relacionado con ningún otro tipo de VPH) | Lesiones cutáneas. |
| Virus del papiloma-Xi | 1 | VPB -3, -4 | Papilomas en el canal alimentario en ganado vacuno. |

estos últimos tienen acceso a mejores sistemas de salud pública. Sin embargo otra posibilidad es que las poblaciones están expuestas a cepas o variantes virales con diferentes propiedades patogénicas (106).

Las variantes intratipo de VPH 16 son las más estudiadas. Forman 5 ramas filogenéticas y por su distribución geográfica se clasifican como Europeas (E), Asiáticas (As), Asiático – americanas (AA), Africana – 1 (Af1) y Africana – 2 (Af2) (110, 111). También se han identificado ramas filogenéticas menores como la norteamericana – 1 (NA1) y AA – G183 / AA – c.

Por medio del análisis de secuencia de la LCR en VPH – 18, se han identificado tres ramas filogenéticas principales: Europea (E), Africana (Af) y Asiático – Amerindia (AAI), siendo esta última la clona de referencia o prototipo de VPH 18, la cual es un aislado de origen brasileño y que probablemente representa a las variantes de VPH 18 de los indígenas americanos (108).

Se ha sugerido que las variantes no europeas de VPH 16 y 18 se hallan involucradas con un riesgo mayor de progresión (103). Por ejemplo, las variantes AA de VPH 16 tienen una actividad trans-

cripcional mas elevada que aquella de otras ramas filogenéticas (102), mientras que las variantes no Europeas de VPH 18 tienen una actividad transcripcional más alta que aquella de las Europeas (112). Estas diferencias en la actividad transcripcional del promotor temprano o en la actividad biológica de proteínas virales, como se menciona mas adelante, podrían repercutir a su vez, en diferencias de la actividad patogénica para cada variante viral.

## SIGNIFICANCIA FUNCIONAL DE LA VARIACIÓN INTRATÍPICA

Dado que la LCR contiene sitios de unión a E2 y sitios de unión a factores de transcripción, las diferencias en la secuencia nucleotídica de la LCR y de los genes E2, entre las variantes virales, podrían repercutir de distinta manera en funciones tales como la modulación de la expresión de genes virales y la replicación. La variación en la secuencia de genes como E6 y E7 podría ser también de importancia funcional al modificar la estructura de estas proteínas y por ende su función.

Existen diversas publicaciones que han determinado tales diferencias funcionales en regiones genómicas específicas y se ha especulado que estas podrían repercutir en el potencial oncogénico de las variantes virales. Por ejemplo, se han asociado variantes virales específicas con persistencia en la infección o progresión de las lesiones (97,99,114-117). También se ha propuesto la correlación entre las variantes virales con el tipo histológico de las lesiones cervicales. Recientemente, en un estudio realizado por E. De la Cruz – Hernández y col. (2005), en el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) de la Ciudad de México, se observaron diferencias en los patrones de procesamiento alterno del producto transcrito (RNA) del gen E6 de variantes virales de VPH 18 pertenecientes a las familias Europea, Africana y Asiático – Amerindia. La variante Af presentó en mayor proporción el transcrito de E6 que corresponde a una proteína pequeña llamada E6*1, que mediante la formación de dímeros E6*1/E6, impide que P53 sea degradado eficientemente por la proteína completa E6. El transcrito correspondiente a esta última se halló en mayor proporción para la variante AAI. Esto indica que las variantes AAI y Af podrían diferir en su potencial oncogénico al poseer proteínas E6 con propiedades biológicas diferentes (118). Estas variantes de VPH 18 se caracterizaron en otro estudio previo realizado en el mismo instituto por Lizano M y col. (1997) (119) y se observó que diferían en el tipo histológico de las lesiones cervicales en las que se encontraron. La variante Af se halló solo en carcinomas escamosos, mientras que las variantes AAI y E se hallaron en tipos histológicos de pronóstico menos favorable, tales como carcinoma adenoescamoso y adenocarcinomas, siendo este último mas exclusivo para la variante AAI o Referencia. Mediante genes reporteros, se hicieron ensayos de expresión con estas mismas variantes virales de VPH 18 en un estudio en vías de publicación realizado por López – Saavedra A. Se halló también que la variante Af tiene una actividad transcripcional del promotor temprano de la LCR mucho menor que las variantes E y AAI. Esta actividad transcripcional disminuida podría correlacionar también con bajos niveles de producto transcrito de los oncogenes tempranos virales y por ende de las proteínas correspondientes, lo que asemeja esta variante Africana con un tipo viral de VPH de bajo riesgo oncogénico.

Estos datos y el conocimiento de la distribución geográfica de las variantes intratipo, son importantes para establecer una base de datos sobre la diversidad y patogenicidad de distintas especies, tipos y variantes de VPH, que ayude al diseño y optimización de protocolos de tratamiento y vacunación.

## Conclusiones

El cáncer cérvicouterino es aún un problema grave de salud femenina, en especial en aquellos países en vías de desarrollo, donde el acceso a los sistemas de salud, así como las cepas virales prevalentes en la región, con propiedades patogénicas diferentes, podrían tener gran influencia en la alta incidencia de este cáncer. Tan solo en América Latina y el Caribe se producen 37 600 muertes anuales, según estimaciones de la OPS. Sin embargo, los buenos resultados de los protocolos de vacunación en fases clínicas, hacen que con el advenimiento de las vacunas contra VPH, aunado todavía a la aplicación de los ya tradicionales métodos citológicos para prevención, se promete un panorama más favorable en los próximos años, esperando reducir la incidencia y casos de muerte por CaCu en mujeres.

Los estudios clínicos y científicos que aun se realizan, sobre la relación entre CaCu y VPH, hacen que esta sea una historia que no termina. Conocer la función de las proteínas virales, la forma en como se regulan estas a nivel transcripcional y postraduccional, así como su participación en el ciclo viral y celular, nos ayuda a tener una visión mas completa de la biología del VPH, de la relación de éste con su célula huésped y de su influencia en el desarrollo de lesiones cervicales, que eventualmente pueden progresar a cáncer invasor. El entender estos temas nos abre la puerta para diseñar programas mas eficientes de prevención y tratamiento. Al mismo tiempo, los esfuerzos que se realizan actualmente para identificar aquellas variantes virales con un mayor potencial oncogénico, podrán aportar información aplicable en el diseño de tales programas.

## Referencias


1. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J: Cancer incidence in five continents, vol VII. International Agency for Research on Cancer, Scientific Publications number 143. Lyon; IARC, 1997

2. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM: GLOBOCAN 2002; cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, iarc cancer base no. 5. Version 2.0, IARC-Press, Lyon, 2004. (http://www-dep.iarc.fr/)

3. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM. 1999: Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. Pathol J, 189: 12-19

4. Ullmann EV, 1923: On the aetiology of the laryngeal papilloma. Acta Oto-laryngol, 5:317-334.

5. Waelsch L, 1917: Übertragungsversuche mit spitzem Kondylom. Arch, Dermatol. Syph, 124:625-646

6. Rous P, Beard JW,1935: Progression to carcinoma of virus-induced rabbit papillomas. J. Exp. Med. 62: 523-545

7. de Villiers, EML, Zur Hausen H, 1981: Molecular cloning of viral DNA from human genital warts. J. Virol, 40: 932 – 935

8. Zur Hausen H, 1982: Human genital cancer; synergism between two virus infections and/or synergism between a virus infection and initiating events? Lancet II, 1370–1372

9. Zur Hausen H, 1996: Papillomavirus infections – a major cause of human cancers. Biochim. Biophys. Acta, 1288: 55–78

10. Zur Hausen H. 1999: Papillomaviruses inhuman cancers. Proc.Assoc. Am. Physicians 111: 581 – 587

11. Burk RD, Ho GY, Beardsley L: Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. J. Infect. Dis. 1996; 174(4): 679 – 89

12. Adam E, Berkova Z, Daxnerova Z, 2000: Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. Am. J. Obstet. Gynecol. 182: 257-264

13.Burk RD, Kelly P, Feldman J, 1996: Declining presence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. Sex. Transm. Dis. 23: 333-341

14. Negrini BP, Schiffman MH, Kurgan RJ. 1990: Oral contraceptive use, human papillomavirus in-

fection, and risk of early cytological abnormalities of the cervix. Cancer Res. 50 (15): 4670–5 •

15. Magnusson PKE, Lichtenstein P, Gyllenstein UB, 2000: Heritability of cervical tumors. Int. J. Cancer, 88: 698-701 •

16. Bosch FX, de Sanjose S: Chapter 1; Human papillomavirus and cervical cancer – burden and assessment of causality. J. Natl. Cancer Inst. Monogr, 2003: 3–13 •

17. Schiffman MH, 1992: Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. J. Natl. Cancer Inst. 84 (6): 394–8 •

18. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, 1999: Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. J. Infect Dis. 180 (5) 1415–23 •

19. Giuliano AR, Harris R, Sedjo RL, 2002: Incidence, prevalence and clearance of type–specific human papillomavirus infections; The Young Women's Health Study. J. Infect Dis. 186 (4): 462–9 •

20. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, 1999: Natural dysplasia of the uterine cervix. J. Natl. Cancer Inst. 91: 252-258 •

21. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, 1994. Persistente of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. J. Infect. Dis. 169 (2): 235 – 40 •

22. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, 1998: Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. N. Engl. J. Med. 338 (7): 423–8 •

23. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, 2003: Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N. Engl. J. Med. 348 (6): 518–27 •

24. Bachtiary B, Obermair A, Dreier B. 2002: Impact of multiple HPV infection on response to treatment and survival in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer.Int J Cancer. Nov 20.102(3):237-43 •

25. Rubin MA, Kleter B, Zhou M, 2001: Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: evidence for multiple independent pathways of penile carcinogénesis. Am. J. Pathol. 159 (4) 1211–8 •

26. Daling JR, Madeleine MM, Schwartz SM, 2002: A population–based study of squamous cell vaginal cancer; HPV and cofactors. Gynecol.oncol. 84(2): 263–70 •

27. Trimble CL, Hildesheim A, Brinton LA, 1996: Heterogeneous etiology of squamous carcinoma of the vulva. Obstet Gynecol. 87 (1): 59- 64 •

28. Clark MA, Hartley A, Geh JL, 2004: Cancer of the anal canal. Lancet Oncol. 5(3): 149–57 •

29. Andersson S, Rylander E, Larsson B, 2001: The role of human papillomavirus in adenocarcinoma carcinogenesis. Eur. J. Cancer 37: 246-250 •

30. Zhou J, Sun XY, Stenzel DJ, 1991: Expression of vaccinia recombinant HPV 16 L1 and L2 ORF proteins in epithelial cells is sufficient for assembly of HPV virion-like particles. Virology. 185 (1): 251–7 •

31. Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, 1992: Papillomavirus L1 major capsid protein self – assembles into virus – like particles that are highly immunogenic. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89(24): 12180–4 •

32. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, 2002: A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. N. Engl. J. Med. 347 (21): 1645–51 •

33. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, 2004: Classification of papillomaviruses. Virology, 324:17–27 •

34. HPV handbook 1: Human papillomavirus and cervical cancer. Walter Prendiville and Philip Davies. Taylor & Francis Group •

35.http://www.tulane.edu/~dmsander/WWW/335/Papovaviruses.html •

36. Hengstermann A, Linares LK, Ciechanover A, 2001: Complete switch from Mdm2 to human papillomavirus E6-mediated degradation of p53 in cervical cancer cells. Proc. Natl Acad Sci USA. 98: 1218–23 •

37. Mantovani F, Banks L, 2001: The human papillomavirus E6 protein and its contribution tomalignant progression. Oncogene. 20:7874–87 •

38. Mantovani F, Banks L, 1999: Inhibition of E6 induced degradation of p53 is not sufficient for stabilization of p53 protein in cervical cancer derived cell lines. Oncogene 18, 3309–3315 •

39. Krajewski S, Krajewska M, Reed JC, 1996: Immunohistochemical analysis of in vivo patterns of Bak expresión, a proapoptotic member of the Bcl-2 protein family. Cancer Res. 56, 2849 – 2855 •

40. Boyer SN, Wazer DE, Band V. 1996: E7 protein

of human papillomavirus 16 induces degradation of the retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteosome pathway. Cancer Res. 56: 4620 – 4 •

41. Munger K, Basile JR, Duensing S, 2001: Actividades biológicas y blancos moleculares de la oncoproteína E7 del virus del papiloma humano. Oncogen. 20: 7888–98 •

42. Burkhardt A, Willingham M, Gay C, 1989: The E5 oncoprotein of bovine papillomavirus is oriented asymmetrically in Golgi and plasma membranes. Virology 170, 334–339 •

43. Sparkowski J, Anders J, Schlegel R, 1995: E5 oncoprotein retained in the endoplasmic reticulum/cis Golgi still induces PDGF receptor autophosphorylation but does not transform cells. EMBO J. 14, 3055–3063 •

44. Martin P, Vass WC, Schiller JT, 1989: The bovine papillomavirus E5 trasnforming protein can stimulate the transforming activity of EGF and CSF–1 receptors. Cell 59, 21–32 •

45. Hwang ES, Nottoli T, DiMaio D, 1995: The HPV 16 E5 protein; expression, detection, and stable complex formation with transmembrane proteins in COS cells. Virology 211, 227–233 •

46. Petti L, Nilson LA Dimaio D, 1991: Activation of the platelet–derived growth factor receptor by the bovine papillomavirus E5 transforming protein. EMBO J. 10, 845–855 •

47. Valle G, Banks L, 1995. The human papillomavirus HPV – 6 and HPV – 16 E5 proteins co-operate with HPV – 16 E7 in the transformation of primary rodent cells. J. General Virology 76, 1239–1245 •

48. Conrad M, Bubb VJ, Schlegel R, 1993: The human papillomavirus type 6 and 16, E5 proteins are membrane associated proteins which associate with the 16-kilodalton pore-forming protein. J. Virol. 67, 6170–6178 •

49. Leechanachi P, Banks L, Moreau F, 1992: The E5 gene from human papillomavirus type 16 is an oncogene which enhances growth factor-mediated signal transduction to the nucleus. Oncogene 7, 19-25 •

50. Bouvard V, Matlashewski G, Gu ZM, 1994: The human papillomavirus type 16, E5 gene cooperates with the E7 gene to stimulate proliferation of primary cells and increases viral gene expression. Virology 203, 73–80 •

51. Straight SW, Herman B, McCance DJ, 1995: The E5 oncoprotein of human papillomavirus type 16 inhibits the acidification of endosomes in human keratinocytes. J. Virol. 69, 3185–3192 •

52. Benyue Z, Ping L, Exing W, 2003: The E5 protein of human papillomavirus type 16 perturbs MHC class II antigen maturation in human foreskin keratinocytes treated with interferon-γ. Virology 310, 100 – 108 •

53. Fouts ET, Yu X, Egelman EH, 1999: Biochemical and electron microscopic image analysis of the hexameric E1 helicase. J. Biol. Chem. 274, 4447-4458 •

54. Liu JS, Kuo SR, Makhov AM, 1998: Human Hsp 70 and Hsp 40 proteins facilitate human papillomavirus type 11 E1 protein to binding to the origen and stimulate cell-free DNA replication. J. Biol. Chem. 273, 30704–30712 •

55. Gillitzer E, Chen G, Stendlund A, 2000: Separate domains in E1 and E2 proteins serve architectural and productive roles for cooperative DNA binding. EMBO J 19, 3069–3079 •

56. Gillette TG, Lusky M, Borowiec JA, 1994: Induction of structural changes in the bovine papillomavirus type 1 origen of replication by the viral E1 and E2 proteins. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 8846 – 8850 •

57. Van GW, West M, Woytek K, 2002: Papillomavirus E1 proteins: Form, function, and features. Virus genes 24:3, 275-290 •

58. Swindle CS, Engler JA, 1998: Association of the human papillomavirus type 11 E1 protein with histone H1. J. Virol 72, 1994–2001 •

59. Lee D., Sohn H., Kalpana G. V. 1999: Interaction of E1 and hSNF5 proteins stimulates replication of human papillomavirus DNA. Nature. 399 (6735): 487-91 •

60. McBride A, Myers G: The E2 proteins. Human papillomavirus 1997. Los Alamos National Laboratory, p. III-54 - III-72 •

61. Hegde RS, 2002: The papillomavirus E2 proteins: Structure, function, and biology. Annu. Rev. Biomol. Struct. 31: 343–60 •

62. Lefebvre O, Steger G, Yaniv M, 1997: Synergistic transcriptional activation by the papillomavirus E2 protein occurs after DNA binding and correlates with a change in chromatin structure. J. Mol. Biol. 266: 465–78 •

63. Peng YC, Breiding DE, Sverdrup F, 2000: AMF-1/Gps2 binds p300 and enhances its interaction with

papillomavirus E2 proteins. Virol J. 74: 5872–9 •

64. Demeret, Desaintes C, Yaniv M, 1997: Different mechanisms contribute to the E2-mediated transcriptional repression of human papillomavirus type 18 viral oncogenes. J Virol. 71(12): 9343–9349 •

65. Desaintes C, Demeret C, Goyat S, 1997: Expression of the papillomavirus E2 protein in HeLa cells leads to apoptosis. EMBO J. 16(3):504-14 •

66. Desaintes C, Goyat S, Garbay S, 1999: Papillomavirus E2 induces p53-independent apoptosis in HeLa cells. Oncogene. 18(32):4538-45 •

67. Doorbar JA, Parton K, Hartley L, Banks T, 1990. Detection of novel splicing patterns in a HPV16-containing keratinocyte cell line. Virology 178:254–262 •

68. Nasseri M, Hirochika R, Broker TR, Chow L, 1987: A human papillomavirus type 11 transcript encoding an E1^E4 protein. Virology 159: 433–439 •

69. Breitburd F, Croissant O, Orth G, 1987: Expression of human papillomavirus type-1 E4 gene products in warts, p. 115–122. In B. M. Steinberg, J. L. Brandsma, and L. B. Taichman (ed), Cancer cells, vol. 5. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y •

70. Deborah E, Jackson J, Doorbar J, 2002: Identification of a G2 Arrest Domain in the E1^E4 Protein of Human Papillomavirus Type 16. Journal of virology. 76(19): 9806–9818 •

71. Sorathia, Davy C, Doorbar J: Regulation of E2-mediated transcription by 16 E4. Study ongoing •

72. Stubenrauch F, Laimins LA, 1999: Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. Semin Cancer Biol. 9: 379–86 •

73. Stubenrauch F, Zobel T, 2001: The E8 domain confers a novel long distance transcripcional repression activity on the E8E2C protein of high risk human papillomavirus type 31. J Virol. 75: 4139–49 •

74. Doorbar J, Foo C, Coleman N, 1997: Characterisation of events during the late stages of HPV 16 infection in vivo using high affinity synthesis fabs to E4. Virology. 238: 40–52 •

75. Day PM, Roden RBS, Lowy DR, 1998: The papillomavirus minor capsid protein, L2, induces localization of the major capsid protein, L1, and the viral transcription/replication E2, to PML oncogenic domains. J. Virol. 72: 142–50 •

76. Bouallaga, I, Thierry F, 1999: Control of Human Papillomavirus type 18 transcription: role in carcinogenesis. Recent Research Developments in Virology, 1, 369-383 •

77. Evander M, Frazer IH, Payne E, 1997: Identification of the alpha-6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. J. Virol, 71, 2449-2456 •

78. Giroglou T, Florin L, Schafer F, Streeck RE, Sapp M, 2001: Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. J. Virol. 75, 1565-1570 •

79. Yoon CS, Kim KD, Park SN and Cheong SW, 2001: Alpha (6) Integrin is the main receptor of human papillomavirus type 16 VLP. Biochem Biophys Res Commun, 283, 668-673 •

80. Thierry F, Spyrou G, Yaniv M, Howley P, 1992: Two AP1 sites binding JunB are essential for human papillomavirus type 18 transcription in keratinocytes. J. Virol, 66, 3740-3748 •

81. Bouallaga I, Massicard S, Yaniv M, 2000: An enhanceosome containing the Jun B/Fra-2 heterodimer and the HMG-I(Y) architectural protein controls HPV 18 transcription. EMBO Rep, 1, 422-427 •

82. Butz K, Hoppe-Seyler F, 1993: Transcriptional control of human papillomavirus (HPV) oncogene expression: composition of the HPV type 18 upstream regulatory region. J. Virol, 67, 6476-6486 •

83. Morris PJ, Dent CL, Ring CJ, Latchman DS, 1993: The octamer binding site in the HPV16 regulatory region produces opposite effects on gene expression in cervical and non-cervical cells. Nucleic Acids Res, 21, 1019-1023 •

84. Hoppe-Seyler F, Butz K, Zur Hausen H, 1991: Repression of the human papillomavirus type 18 enhancer by the cellular transcription factor Oct-1. J. Virol., 65, 5613-5618 •

85. Apt D, Chong T, Liu Y, Bernard HU, 1993: Nuclear factor I and epithelial cell-specific transcription of human papillomavirus type 16. J. Virol, 67, 4455-4463 •

86. Bauknecht T, Angel P, Royer HD,1992: Identification of a negative regulatory domain in the HPV 18 promoter; interaction with the transcriptional repressor YY1. EMBO J.11:4607–4617 •

87. Bauknecht T, Jundt F, Herr I, 1995: A switch region determines the cell type-positive or negative action of YY1 on the activity of the human papil-

lomavirus type 18 promoter. J. Virol, 69:1–12 •

88. Dong XP, Stubenrauch F, Beyer-Finkler E, Pfister H, 1994: Prevalence of deletions of YY1-binding sites in episomal HPV-16 DNA from cervical cancers. Int. J. Cancer. 58:803–808 •

89. May M, Dong XP, 1994: The E6/E7 promoter of extrachromosomal HPV-16 DNA in cervical cancers escapes from cellular repression by mutation of target sequences for YY1. EMBO J. 13:1460–1466 •

90. Day PM, Lowy DR, Schiller JT, 2003: Papillomavirus infect cells via a clathrin-dependent pathway. Virology. 307: 1- 1 •

91. Li M, Beard P, Estes PA, 1998: Intercapsomeric disulphide bonds in papillomavirus assembly and disassembly. J. Virol, 72: 2160-7 •

92. Wilson VG, West M, Woytek K, 2002: Papillomavirus E1 proteins: form, function, and features. Virus Genes. 24: 275-90 •

93. Frattini MG, Lim HB, Laimins LA, 1996: In vitro synthesis of oncogenic HPVs requieres episomal genomas for differentiation-dependent late gene expression. Proc. Natl. Acad. Sci. 93: 3062–7 •

94. Sherman L, Jackman A, Itzhaki H, 1997: Inhibition of serum - and calcium – induced differentiation of human keratinocytes by HPV 16 E6 oncoprotein: role of P53 inactivation. Virology. 237: 296–306 •

95. Doorbar J, Ely S, Sterling J, 1991: Specific interaction between HPV 16 E1 - E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. Nature. 352: 824–7 •

96. Hans-Ulrich B, 2005: The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. J. of Clinical Virology 32S. S1-S6 •

97. Conrad-Stöppler MC, Ching K, Stöppler H, 1996: Natural variants of the HPV 16 E6 protein differ in their abilities to alter keratinocyte differentiation and to induce p53 degradation. J Virol. 70: 6987–6993 •

98. Berumen J, Ordonez RM, Lazcano E, 2001: Asian–American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case control study. J. Natl. Cancer Inst. 93, 1325–1330 •

99. Da Costa MM, Hogeboom CJ, Holly EA, 2002: Increased risk of high-grade anal neoplasia associated with a human papillomavirus type 16 E6 sequence variant. J. Infect. Dis. 185, 1229–1237 •

100. Giannoudis A, Herrington CS, 2001: Human papillomavirus variants and squamous neoplasia of the cervix. J. Pathol. 193, 295–302 •

101. Giannoudis A, Duin M, Snijders PJ, 2001: Variation in the E2-binding domain of HPV-16 is associated with high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. Br. J. Cancer 84, 1058–1063 •

102. Kämmer C, Warthorst U, Torrez-Martinez N, 2000: Sequence analysis of the long control region of HPV 16 variants and functional consequences for P97 promoter activity. J. Gen. Virol. 81, 1975–1981 •

103. Villa LL, Sichero L, Rahal P, Caballero O, 2000: Molecular variants of human papillomavirus types 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. J. Gen. Virol. 81, 2959–2968 •

104. Xi LF, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, 1997: Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high grade cervical intraepithelial neoplasia. J. Natl. Cancer Inst. 89, 796–802 •

105. Xi LF, Critchlow CW, Wheeler CM, Koutsky LA, Galloway DA, 1998: Risk of anal carcinoma in situ in relation to human papillomavirus type 16 variants. Cancer Res. 58, 3839–3844 •

106. Calleja-Macias IE, Mina Kalantari AB, Huh J, 2004: Genomic diversity of human papillomavirus-16, 18, 31 and 35 isolates in a Mexican population and relationship to European, African and Native American variants. Virology 319. 315–323 •

107. Ho L, Chan SY, Burk RD, 1993: The genetic drift of HPV 16 is a means of reconstructing prehistoric viral spread and movement of ancient human populations. J. Virol. 67, 6413–6414 •

108. Ong CK, Chan SY, Campo MS, 1993: Evolution of HPV 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. J. Virol. 67, 6424–6431 •

109. Yamada T, Manos MM, Peto J, Greer CE, 1997: Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. J. Virol. 71, 2463–2472 •

110. Wheeler CM, Yamada T, Hildesheim A, Jenison SA, 1997: Human papillomavirus type 16 sequence variants: identification by E6 and L1 lineage-specific hybridisation. J Clin Microbiol. 35: 11–19 •

111. Yamada T, Manos MM, Peto J, 1997: Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. J Virol. 71: 2463–2472 •

112. Sichero L, Franco E, Villa LL, 2005: Different P105 promoter activities among natural variants of human papillomavirus type 18. The J. of Infeccious Diseases. 191: 739–42 •

113. Giannoudis A, Herrington CS, 2001: Human papillomavirus variants and squamous neoplasia of the cervix. J. of Pathology. 193: 295–302 •

114. Londesborough P, Ho L, Terry G, 1996: HPV genotype as a predictor of persistence and development of high-grade lesions in women with minor cervical abnormalities. Int J Cancer. 69: 364–368 •

115. Zehbe I, Wilander E, Delius H, Tommasino M, 1998: Human papillomavirus 16 E6 variants are more prevalent in invasive cervical carcinoma than the prototype. Cancer Res. 58: 829–833 •

116. Nindl I, Rindfleisch K, Lotz B, 1999: Uniform distribution of HPV 16 E6 and E7 variants in patients with normal histology, cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. Int J Cancer. 82: 203–207 •

117. Grodzki M, Besson G, Tommasino M: Increased risk for cervical disease progression of french women infected with the human papillomavirus 16 E6–350 G variant. Study ongoing •

118. de la Cruz–Hernández E, García–Carrancà A, Lizano–Soberón M, 2005: Differential splicing of E6 within human papillomavirus type 18 variants and functional consecuentes. J. of General Virology. 86, 2459–2468 •

119. Lizano M, Berumen J, Guido MC, Casas L, Garcia-Carranca A, 1997: Association between human papillomavirus type 18 variants and histopathology of cervical cancer. J Natl Cancer Inst 89, 1227–1231 •

120. http://www.ops-oms.org/Spanish/DD/PIN/ps050819.htm •

121. The health professional's HPV HANDBOOK, 1: Human papillomavirus and cervical cancer. 2004. The European Consortium for Cervical Cancer education. Taylor & Francis Group •