
Papel del virus del papiloma humano en el desarrollo del cáncer del cuello uterino.

José Núñez-Troconis

Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Palabras clave: virus del papiloma humano; fisiopatología del virus del papiloma humano; infección por el virus del papiloma humano; taxonomía de los virus del papiloma; genoma de los virus del papiloma; carcinogénesis.

Resumen. La presente revisión narrativa fue realizada con el objeto de investigar y recopilar información sobre la fisiopatología del Virus del Papiloma Humano (VPH) y los mecanismos virales para infectar a las células huéspedes, como sobrevive a los mecanismos inmunológicos innatos del huésped y los mecanismos para producir infecciones benignas y malignas del cuello uterino. La revisión de la literatura fue realizada electrónicamente en PubMed, Medline, ISI, DOAJ, Springer, Embase. Web of Knowledge, DOAJ, y Google Scholar, Hinari, JAMA Network, Oxford Academic y Research Life para los artículos escritos en inglés. Scielo, Lantidex, Imbiomed-L, Redalyc y Google Scholar fue revisados en búsqueda de artículos escritos en español. La búsqueda incluyó las palabras claves (MESH): fisiopatología del VPH, ciclo de vida del VPH, carcinogénesis del VPH, estructura genómica del VPH, mecanismo de infección del VPH, bases genéticas de la carcinogénesis del VPH, infección del VPH, taxonomía del VPH. Se buscaron, revisaron y analizaron las publicaciones desde enero de 1985 a agosto de 2021. Esta revisión narrativa nos permite entender como el VPH ocasiona la infección productiva y no productiva en las células de los epitelios escamosos estratificados del ser humano, en especial el del cuello uterino, nos explica cómo la infección por el virus puede producir lesiones benignas y lesiones malignas, y nos explica porque se clasifican en VPH-AR y VPH-BR, según su capacidad oncogénica. Estos procesos han permitido entender el comportamiento del virus y establecer tratamiento primario para el cáncer del cuello uterino.

Rol of the human papilloma virus in the development of cervical cancer.

Invest Clin 2023; 64 (2): 233 – 254

Keywords: human papillomavirus; physiopathology of human papillomavirus; infection by human papillomavirus; taxonomy of papillomavirus; genome of papillomavirus; carcinogenesis.

Abstract. The present narrative review was conducted to investigate and to compile information about the physiopathology of the Human Papilloma Virus (HPV) and the viral mechanisms of infection of the host's cells, as well as how the virus survives the host's innate immunological mechanisms and the mechanisms to produce cervical benign and malignant lesions. Literature searches were performed electronically in PubMed, Medline, ISI, DOAJ, Springer, Embase, Web of Knowledge, DOAJ, y Google Scholar, Hinari, JAMA Network, Oxford Academic and Research Life for original articles written in English and Scielo, Lantidex, Imbiomed-L, Redalyc, and Google Scholar for original articles written in Spanish. The searches included the keywords (MESH): physiopathology of HPV, HPV viral cycle, Carcinogenesis of HPV, HPV genomic structure, infection mechanism, and HPV taxonomy. Publications from January 1985 to August 2021 were reviewed. This narrative review allows us to understand how HPV produces productive and non-productive infection in the cells of the stratified squamous epithelium of the human being, especially that of the cervix, explains how infection by the virus can produce benign lesions and malignant lesions and explains why they are classified as HPV-HR and HPV-LR, according to their oncogenic capacity. These processes have made it possible to understand the behavior of the virus and establish primary treatment for the prevention of cervical cancer.

Recibido: 30-01-2022

Aceptado: 11-03-2023

INTRODUCCIÓN

Los virus del papiloma (VP) son virus muy antiguos que infectan a los vertebrados como los mamíferos, peces, reptiles, y aves capaces de infectar la piel y las mucosas tales como las del área anogenital, boca, y vías aéreas. En los humanos, los VP tienen preferencia por infectar epitelios escamosos diferenciados o estratificados, y la piel es uno de ellos ¹. Los VP se transmiten por contacto físico directo produciéndose un micro-trauma que permite la entrada del virus, sin pro-

ducir una enfermedad evidente ². Producen verrugas cutáneas planas o excrecentes y son capaces de causar cáncer ². Los VP fueron identificados por primera vez a principio del siglo XX en las verrugas presentes en la piel y se demostró que podían transmitirse de una persona a otra. En 1935, Francis Peyton Rous demostró que los VP causaban cáncer en la piel de los conejos; esa fue la primera vez que se demostró que un virus podía producir cáncer en mamíferos ³.

Los VP muestran una gran diversidad genotípica y una amplia variación en la pre-

sentación fenotípica de la infección ¹. Su clasificación ha sido algo complicada debido a varios factores. A diferencia de otros virus, los papilomavirus no generan una respuesta inmunitaria humoral adecuada y persistente, tanto en humanos o en otros mamíferos, por lo cual no ha sido posible desarrollar un sistema de clasificación por serotipos, a lo que se agrega la ausencia de modelos de infección celulares o de animales de laboratorio ^{3,4}. Para la clasificación de los papilomavirus se han tomado dos criterios básicos: a) el huésped, dado que estos virus son altamente específicos de especie y b) la secuencia genética, que permite la diferenciación entre los virus aislados; la secuencia más utilizada para la clasificación de los papilomavirus es la del gen L1. Se establece un nuevo tipo de VP cuando la secuencia del gen L1 varía en más de 10% respecto a tipos virales ya conocidos. Si la diferencia es de 2 a 10%, se les clasifica como subtipos virales y si la diferencia es menor a 2% se definen como variantes virales ⁵⁻⁷. En los primeros VP se empezó a utilizar la palabra tipo y un número, para denominar a los diferentes virus descubiertos, lo cual puede llevar a pensar que un tipo es equivalente a una especie de VP ^{5,8}.

Los virus de la familia *Papillomaviridae* fueron clasificados inicialmente como una subfamilia de los *Papovaviridae* en 1962, pero se reclasificaron en 2002 como una familia independiente. De acuerdo al International Committee on Taxonomy of Viruses en su actualización del 2020, la familia *Papillomaviridae* está dividida en 2 subfamilias: la *Firstpapillomavirinae* y la *Secondpapillomavirinae*. La subfamilia *Firstpapillomavirinae* tiene 53 géneros y 133 especies y la subfamilia *Secondpapillomavirinae* tiene 1 género ⁹⁻¹² (Tabla 1).

En relación a los VP que afectan al humano, Virus del Papiloma Humano (VPH), el Centro Internacional de Referencia del Virus del Papiloma Humano del Instituto Karolinska ha reportado hasta el 2023, la identificación de 229 diferentes tipos de VPH¹². Los géneros más evolucionados de la subfamilia

Firstpapillomavirinae son el Alpha, el Beta y el Gamma; estos virus han evolucionado con capacidad de infectar ciertos tipos de epitelios con estrategias específicas para sobrevivir. Muchos de los VPH pertenecientes a los géneros Beta y Gamma están asociados a infecciones asintomáticas o no visibles de la piel que se adquieren en la infancia, persistiendo a lo largo de la vida y produciendo partículas virales en pequeñas cantidades durante años o décadas ². Los VPH del género Mu infectan la piel de la palma de la mano y la planta de los pies produciendo verrugas profundas que generalmente desaparecen después de meses o años debido a una respuesta inmune de tipo celular. Los VPH del género *Alphapapillomavirus* afectan las mucosas orales y genito-anal de los humanos y los primates ¹; este género también incluye tipos que pueden sobrevivir sin producir ninguna patología. Este género ha sido dividido en dos grupos: los de bajo riesgo, que se asocian principalmente con verrugas genitales benignas y los de alto riesgo que se asocian por su alto potencial oncogénico como agentes etiológicos del cáncer del cuello uterino, vagina, vulva, pene y ano ^{4,5}.

Entre los VPH del género Alpha que son considerados de bajo riesgo se encuentran el 6, 7, 11, 30, 42, 43, 44, 45, 51, 54, 55, 61, 71, 72, 81 y cand90. Entre los VPH de alto riesgo o con capacidad oncogénica se encuentran: 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, y 70 ^{2,11,13}.

Los VPH pueden llegar a afectar hasta 20% de la población en un momento dado; la incidencia de la infección varía dependiendo del tipo del virus, del grupo etario de la población y la predilección del virus por el tejido mucoso o el tejido cutáneo ²⁻⁴. Este tipo de infección afecta al 10,4% de la población femenina, alrededor del mundo ¹⁴.

La persistencia de los genotipos de los VPH de alto riesgo, mencionados anteriormente, es la causante del cáncer del cuello uterino (CaCu), en especial los de los tipos 16 y 18. EL VPH es transmitido por contacto sexual y los factores de riesgo para desa-

rollar el CaCu incluyen sexarquia a edades tempranas, número de compañeros sexuales, uso prolongado de anticonceptivos orales, paridad, hábito tabáquico, enfermedades de transmisión sexual asociadas en especial el HIV e inmunosupresión crónica, entre otras ¹⁵.

Sin embargo, a pesar que el VPH es el factor más importante en el origen del CaCu y su transmisión es fácil y silente, la infección por VPH es transitoria, en el 90% de los casos en un plazo entre meses a 2 ó 3 años, la persistencia de la infección por el virus, en especial si es de alto grado, es uno de los factores virales más importantes en el desarrollo de las lesiones premalignas y malignas del cuello uterino ^{16,17}.

El objetivo de esta revisión narrativa es analizar la fisiopatología del virus que nos explica por qué algunas infecciones persisten y otras no y, como consecuencia sería la explicación del origen y evolución de las lesiones premalignas hacia el CaCu.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó la búsqueda bibliográfica en las páginas electrónicas de Pub Med, Google Scholar, Springer, Web of Knowledge, DOAJ, Hinari, Oxford Academic, JAMA Network, Embase, y Research Life en la literatura de habla inglesa y en Scielo, Latindex, Imbiomed-L, Redalyc y Google Scholar en la literatura de habla española. Se usaron y buscaron empleando los términos y/o palabras clave (MESH): fisiopatología del VPH, ciclo de vida del VPH, carcinogénesis del VPH, estructura genómica del VPH, mecanismo de infección y transformación del VPH, bases genéticas de la carcinogénesis del VPH, infección del VPH, taxonomía del VPH. La búsqueda se realizó usando palabras solas o usando la combinación de AND/Y u OR/O. Dentro de los criterios de inclusión se consideraron: a) artículos de fuentes primarias publicados en revistas indexadas con naturaleza de revisión,

artículos originales de investigación, estudios comparativos, estudios de evaluación, capítulos de libros y meta-análisis de acceso abierto; b) artículos en idioma inglés y español. Fueron excluidos de la revisión: cartas al editor, reportes de casos y estudios sin control. Igualmente, fueron excluidas las publicaciones que no tenían libre acceso. Si en más de una publicación se encontraba la misma población estudiada, se analizó la publicación más reciente o con mayor número de pacientes estudiados. Se revisaron los artículos publicados desde el año 1980 hasta agosto 2021.

Se encontraron 415 artículos durante la búsqueda primaria de la investigación. Se excluyeron 280 de ellos por no poseer acceso libre al texto completo o por no reunir otros criterios de inclusión para la revisión como se mencionó en el párrafo anterior. De los 135 artículos para la revisión y consulta del texto completo, 100 fueron elegidos para la revisión, los restantes 25 fueron excluidos por no reunir los criterios de inclusión, además 10 de ellos eran artículos repetidos.

Fisiopatología

Especificidad tisular

Los VP son virus con alto tropismo por el huésped y los tejidos, y muy rara vez se transmiten entre especies ¹⁸. Como mencionamos arriba, los VP tienen afinidad y preferencia por infectar epitelios escamosos diferenciados o estratificados, como la piel de los humanos y las mucosas tales como la genital, la anal, la bucal y la de las vías respiratorias ¹. Los VP se replican exclusivamente en las células de la capa basal de los tejidos o epitelios planos estratificados; estos epitelios tienen un proceso de maduración o diferenciación desde las capas basales hasta las capas superficiales. Este hecho es importante para la replicación de los VP. Estos virus penetran en estos epitelios a través de micro traumas y ganan las células basales las cuales son infectadas y así comienza el proceso de replicación del virus.

Unión, penetración, transcripción y replicación

Una vez que el virus gana la capa basal del epitelio plano estratificado, se produce una interacción entre la proteína L1 a nivel de su extremo carboxilo terminal y los azúcares sulfatados de la membrana de la célula huésped; de esa manera se produce la unión del virus a la membrana de la célula huésped¹⁹⁻²¹. Entonces, el virus es capaz de penetrar al interior de la célula o sea al citoplasma desde la membrana al interactuar con el receptor usando la vía α -6- β 4 integrina^{22,23}, proceso denominado endocitosis y es transportado a los endosomas²⁴⁻²⁶. Se han descrito dos sistemas de endocitosis para los VPH: el primero involucra un complejo proteico llamado clatrina²⁷, utilizado más que todo por los tipos 16 y 18; el segundo sistema consiste en un grupo de proteínas de las cuales la principal es la caveolina por lo que este sistema se denomina “endocitosis por caveolas” y es utilizado principalmente por el tipo 31²⁸. La proteína tardía L2 de la cápside rompe la membrana del endosoma a través de un péptido catiónico, la cápside experimenta un proceso de reducción química que daña los puentes disulfuros que estabilizan la cápside, originándose capsómeros y monómeros, los cuales son transportados al núcleo, junto con fragmentos pequeños de ADN viral, pudiendo atravesar los poros nucleares de un diámetro aproximado a 39 nm; con ello, el genoma viral y las proteínas de la cápside participarían en los procesos de transcripción génica, replicación del ADN y maduración de viriones²⁹⁻³². Durante el proceso de infección, la transcripción se realiza y el ADN se divide en estadios o marcos de lectura abierta tempranos y tardíos (siglas en inglés: ORF E y L²⁵). La transcripción de los ORFs E y L se realiza en la misma cadena del ADN y en la misma dirección. El precursor del ARN mensajero (ARNm) experimenta un proceso postranscripcional, el cual incluye el taponamiento y poliadenilación de los terminales 5' y 3', respectivamente, así como también, el em-

palme o acoplamiento. El uso eficiente de la información genética codificada implica el empalme o acoplamiento diferencial de los ARN y la utilización de ORFs superpuestos. Los ARNm tempranos codifican las proteínas reguladoras que pueden tener o exhibir propiedades transactivadoras, estas propiedades incluyen las proteínas que son requeridas para la replicación del ADN. La expresión de estas proteínas produce la depresión o disminución de la acción de enzimas de la célula huésped y también puede estimular la síntesis del ADN de la célula huésped. Antes de comenzar los eventos tardíos, la replicación del ADN viral se inicia en el núcleo de la célula. El transporte de las transcripciones produce las proteínas estructurales que están involucradas en la formación de la cápside. Las modificaciones post-transcripcionales de algunas proteínas virales tempranas (E) y tardías (L) incluyen la fosforilación, la N-acetilación, la ADP ribosilación y otros eventos. Algunas de las proteínas virales poseen o contienen secuencias, denominadas señales de localización nuclear, las cuales facilitan el transporte de proteínas al núcleo de la célula huésped donde ocurre el ensamblaje y maduración de los viriones; estos son liberados por la lisis de la célula huésped producida por el virus^{11,33}.

El genoma de muchos de los miembros de la familia *Papillomaviridae* que han sido secuenciados, contiene de 9 a 10 ORFs, denominados desde E1 a E8 sucesivamente, y L1 y L2. Las proteínas producto de los genes de los VPs se pueden dividir en: 1.- proteínas centrales: E1, E2, L1 y L2; y 2.- proteínas accesorias: E4, E5, E6 y E7 (Tabla 2). Las proteínas centrales están involucradas directamente en la replicación del genoma viral (E1 y E2) y en el ensamblaje del virus (L1 y L2) y son constantes o conservadas entre todos los VPs. Estas proteínas se manifiestan cuando la transcripción se produce durante el ciclo de vida viral. Las proteínas accesorias muestran una mayor variabilidad tanto al momento de expresarse y como en sus características funcionales, asimismo,

Tabla 2
Funciones de las proteínas del VPH.

Tipo de Proteína	Nombre	Funciones
No Estructurales	E1	Funciones de Helicasa. Esencial para la replicación y la transcripción
	E2	Esencial para la replicación y la transcripción, segregación genómica y encapsidación
	E4	Regula la expresión de los genes tardíos, controla la maduración viral y la salida de los viriones
	E5	Estimula la actividad transformante de E6 y E7, promueve la fusión celular ocasionando aneuploidía e inestabilidad cromosómica
	E6	Se une e induce la degradación de la p53, inhibiendo la apoptosis, interactúa con el sistema inmunitario innato, contribuye a la evasión de la respuesta inmunitaria y a la persistencia del virus, activa la expresión de la Telomerasa
	E7	Se une e induce la degradación de la pRB, incrementa la actividad de la actividad de la Cinasas dependiendo de Ciclinas, afecta la expresión de los genes en la fase S del ciclo celular por interacción directa con el Factor de transcripción E2F y las Histona Desacetilasa, contribuye a la evasión a la Respuesta Inmune
	L1	Proteína principal de la capsida, reconoce receptores de la célula huésped, es altamente inmunogénica e induce la formación de anticuerpos neutralizantes
Estructurales	L2	Proteína secundaria de la capsida, participa en la unión, entrada y transporte al núcleo del virión a la célula, liberación de genoma viral y en el ensamble de los viriones

los genes que codifican estas proteínas accesorias, modifican la célula infectada para facilitar la replicación del virus y permitir su supervivencia². Algunos de sus miembros no poseen la ORF E3 y la ORF E8. Las proteínas que codifican los ORFs E, con una posible excepción de la E4, son polipéptidos no estructurales que están involucrados en la transcripción, en la replicación del ADN y en la transformación, mientras que aquellas proteínas que son codificadas por las ORFs L, son proteínas estructurales. La replicación del genoma viral es iniciada en forma bidireccional por la unión específica de las proteínas E1 y E2^{11,33}.

Una vez que se produce la infección de la célula por el VPH, la expresión genómica del virus es controlada por múltiples promotores y un patrón complejo de empalme de ARNm que permite a diferentes produc-

tos genómicos virales que se expresan en diferentes etapas durante el ciclo de vida viral^{33,34}.

Propiedades antigénicas

Los VP no producen una respuesta inmunológica humoral en humanos y en otros mamíferos infectados, sin embargo, la proteína tardía L1 posee ciertos tipos de dominios y la proteína tardía L2 posee grupos específicos de epítopes, lo que ha permitido obtener las llamadas "Partículas parecidas al Virus" a base de las proteínas L1 o L1 y L2, las cuales generan una respuesta antigénica humoral¹¹.

Propiedades biológicas

Los VP son virus altamente específicos de la especie del huésped y de los tipos de tejido. Los VPH requieren la diferenciación

terminal de las células del epitelio infectado para lograr su replicación y formación o producción de los viriones. Como se ha mencionado anteriormente, la infección comienza principalmente vía de una microlesión o microtrauma en el epitelio que permite a los viriones o partículas virales penetrar en las células de la capa basal de los epitelios o mucosas por lo que la transmisión del virus ocurre por un contacto cercano y sucede por la liberación de los viriones desde la superficie de las verrugas y las lesiones papilomatosas, las cuales, poseen o contienen frecuentemente una gran cantidad de estas partículas dentro de las capas superficiales diferenciadas del epitelio afectado ¹¹.

Incidencia y transmisión

La incidencia de los VPH que afectan el área anogenital se eleva abruptamente en la población al iniciarse las relaciones sexuales (no necesariamente se necesita la penetración). La transmisión del virus se produce durante el acto sexual por el micro-trauma que se origina en el epitelio, el cual, permite la penetración del virus. Debido a que esta infección es generalmente asintomática, altamente transmisible y pasa desapercibida o sea no es notoria, se disemina rápidamente. La transmisión a través de fómites ha sido mencionada pero no es una vía importante ^{2,35}. Cualquier persona puede adquirir simultáneamente o secuencialmente, múltiples nuevas infecciones de diferentes tipos de VPH debido a que la respuesta inmune natural de cada persona a la infección es variable, débil, y específica a un tipo particular de VPH. Las infecciones concurrentes por diferentes tipos de VPH son raras contrario a lo que se piensa ³⁶, pero no se interfieren mutuamente ^{37,38}. Algunos estudios demuestran que la incidencia de la infección por VPH en nivel del cuello uterino, cae o disminuye con el aumento de la edad y la paridad. Se cree que es debido a un menor número de nuevos contactos sexuales y al desarrollo de una inmunidad natural contra el virus ^{39,40}.

El porcentaje del llamado “aclaramiento del virus” o la desaparición de la infección viral es inicialmente rápido, pero luego continua en forma lenta y gradual. Las infecciones persistentes que pasan de 2 a 3 años, son poco comunes y más del 90% desaparecen entre 2 y 7 años ^{2,37}. El virus, bien sea, completamente eliminado de los tejidos, o suprimido por los mecanismos de la inmunidad celular a niveles muy bajos que el ADN viral no es detectado por los métodos de biología molecular sensibles, en otras palabras, el virus entraría en un periodo de latencia ². Hoy en día no es posible distinguir con certeza entre latencia y aclaramiento del virus. Una prueba de ADN o ARN del VPH positiva posterior a una prueba negativa puede significar una nueva infección o una reactivación de una infección latente. En el cuello uterino, la proporción de reactivación de la infección en comparación con la adquisición de una nueva infección aumenta con la edad, la disminución del número de parejas sexuales y probablemente la disminución de los controles inmunológicos; estos hallazgos pudieran ayudar a explicar el aumento de la prevalencia del VPH en los pacientes de mayor edad, que ha sido observada en varios grupos poblacionales ^{2,41,42}.

Prevalencia y persistencia

La prevalencia del VPH se debe a 2 factores: a la incidencia y a la persistencia exagerada de la infección viral. Ha sido demostrado que la prevalencia de la infección del VPH es bastante variable dependiendo del área o región geográfica, de la edad, de la conducta sexual, del control inmunológico que posea el huésped contra el virus y los efectos que tenga el tratamiento de las lesiones producidas por el virus sobre todo en las regiones donde existan métodos de pesquisa adecuados ⁴³.

La infecciones latentes y reactivadas pueden contribuir en un pequeño porcentaje al cáncer cervical en mujeres de mayor edad ². Algunos estudios reportan que muchas de las lesiones precancerosas son precedidas por infecciones persistentes ^{2,44}. Diferentes autores

mencionan que hay 3 clases de cofactores que influyen la persistencia de la infección por VPH y que determinan si esa persistencia es suficientemente larga para permitir el desarrollo de la lesión precancerosa y del cáncer del cuello uterino ^{2,45}. Estos cofactores serían: 1.- factor viral; 2.- factor huésped; y 3.- factor estilo o conducta de vida sexual

1. El factor viral: se refiere a la capacidad oncogénica del tipo de VPH y la carga viral que infecte al huésped e inflencie el desarrollo de lesiones precancerosas y cancerosas ^{2,45}.
2. El factor huésped: se refiere a la capacidad inmunológica natural que determina el futuro de la infección ^{2,45}.
3. El factor conducta: se refiere al hábito del cigarrillo, multiparidad, uso prolongado de pastillas anticonceptivas, inicio a edades tempranas de las relaciones sexuales, múltiples compañeros sexuales, deficiencias nutricionales ⁴⁶⁻⁴⁸. Se han mencionado otros factores como la coinfección con la *Chlamydia trachomatis*, el *Herpes Virus Simple Genital* tipo 2, y el virus de la inmunodeficiencia adquirida ⁴⁶⁻⁴⁸. La influencia del factor conducta es relativamente modesta, sin embargo, incrementa el riesgo relativo de desarrollar lesiones precancerosas en un 1,5 a 2 veces una vez adquirida la infección por VPH ^{9,49}.

Ciclo de vida viral

El desarrollo de la lesión viral por el VPH, bien sea la producida por un tipo de bajo o alto grado, requiere, como hemos mencionado, el acceso del virus a las células de la capa basal del epitelio y que esta barrera sea sobrepasada; a nivel del cuello uterino, esto ocurre en la zona de transformación donde las células están en permanente transformación. Una vez que el VPH está dentro de las células de la capa basal del epitelio, las cuales, están en constante división y diferenciación, condición necesaria de los VPH para infectar la célula y establecerse en el núcleo donde se replica; esto se con-

sidera como un infección no productiva de enfermedad y lo hace en un número bajo de copias episomales (de 20 a 30 copias por célula infectada); allí se replica usando la maquinaria de replicación del ADN de la célula huésped para sintetizar su ADN en un promedio de una copia por ciclo celular ^{3,50-53}. Para que la infección sea persistente se requieren cambios en el microambiente celular tales como el aumento de los niveles de diferentes factores de crecimiento que pudieran jugar un papel importante en el establecimiento o persistencia de un reservorio de la infección viral en las células de la capa basal del epitelio ⁵⁴⁻⁵⁷. La capacidad del VPH para infectar, replicarse, y conducir a la producción de una lesión cancerosa depende de la función de las proteínas virales, la posición de la célula en el epitelio donde se encuentran estas proteínas expresadas y si la expresión genómica viral está adecuadamente controlada en un sitio epitelial particular ². La célula basal infectada, se divide, madura y se convierte en una célula parabasal, intermedia y superficial, está sometida a un programa de expresión genómica que está unido al proceso de diferenciación.

La amplificación del genoma viral ocurre en las capas intermedias del epitelio mientras que el ensamblaje viral y su liberación ocurren en las capas superficiales ^{33,54,58}. La amplificación del genoma viral requiere de la acción combinada de múltiples genes virales tales como E6, E7, E2 y la helicasa E1, pero el mantenimiento de la replicación del virus en la capa basal del epitelio dependería de los factores replicativos de la célula huésped infectada ^{33,55,59}. Como se mencionó anteriormente, el virus en las capas superficiales cambia al modo de ADN circular de replicación y su amplificación aumenta en número de copias, sintetiza las proteínas de la cápside y se produce el ensamblaje viral ^{13,60}.

La diferenciación o maduración de la célula basal infectada está sometida a un programa de diferenciación que la convierte en la célula epitelial suprabasal, como mencionamos anteriormente, involucra cambios

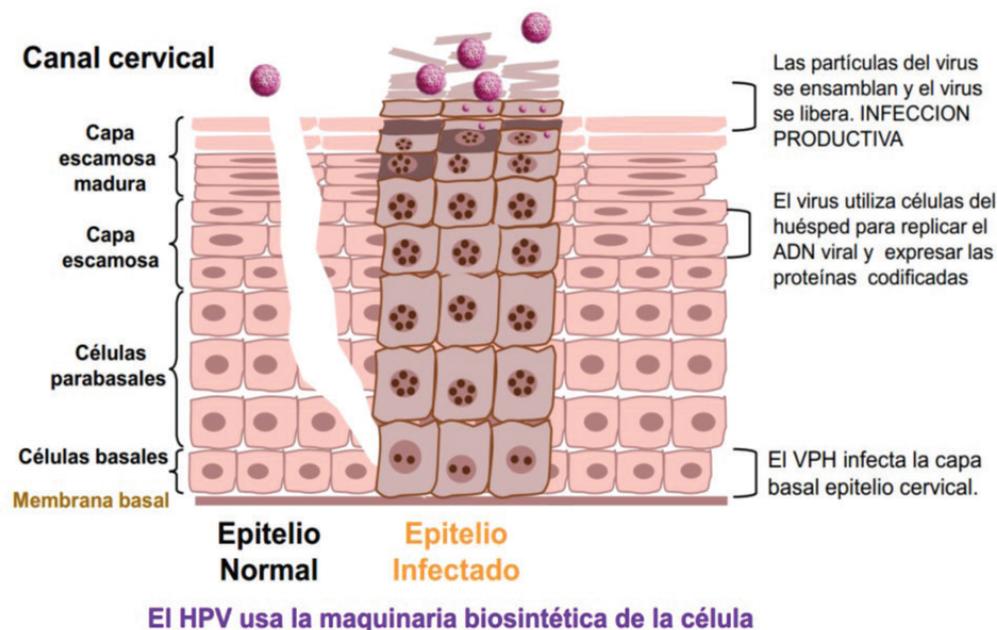
temporales en la actividad del promotor y en los patrones de empalme del ARNm que facilitan la producción de diferentes productos o proteínas génomicas en los diferentes estadios del proceso de diferenciación o maduración programada^{34,61-63}. La función de las proteínas virales es modulada por la modificación postraduccionales incluidas la fosforilación y la escisión proteolítica⁶¹.

Puesto que los VPH solo codifican de 8 a 10 proteínas, necesitan y emplean los factores de replicación de la célula huésped para regular la transcripción y la replicación viral. La replicación del VPH comienza con factores de la célula huésped los cuales interactúan con la región LCR del genoma viral y comienza la transcripción de los genes virales E6 y E7. Los productos de los genes E6 y E7 desregulan el ciclo de crecimiento de la célula huésped mediante la unión e inactivación de las proteínas supresoras de tumores, ciclinas celulares y dependientes de ciclina quinasas^{13,64}. La función de estos productos durante la infección productiva del VPH es subvertir las vías que regulan el ciclo de cre-

cimiento de la célula huésped y modificar el ambiente celular de manera de facilitar la replicación viral en una célula que está completamente diferenciada y ha salido o perdido su propio ciclo celular^{13,64} (Fig. 1).

El crecimiento celular está regulado por 2 proteínas celulares: la proteína supresora de tumor: p53 y la proteína retinoblastoma (pRB)⁶⁵. El producto o la proteína del gen VPH E6 se une a la p53 lo que origina una rápida degradación a través de una ubiquitina ligasa celular⁶⁵. Esta degradación tiene el mismo efecto que una mutación inactivadora⁶¹. Entre las actividades normales de p53 es controlar la fase G1 del ciclo celular; como consecuencia, se bloquean el arresto, la apoptosis y la reparación del ADN celular, de manera que la proteína E6 del VPH puede unirse y formar complejos con al menos otras 6 proteínas celulares¹³.

La proteína E6, constituida por 150 aminoácidos, se liga o se une al Zinc; gran parte de sus funciones biológicas depende de la integridad de 4 residuos de cisteína⁶⁶. Ella forma un complejo con p53 y la enzima ubi-



(Adaptado de Frazer IH. *Nat Rev Immunol* 2004; 4:46-54)

Fig. 1. Ciclo de vida del HPV en el cérvix.

quitina ligasa produciendo la degradación de la p53, proceso que se desencadena frente a una carga viral elevada o ante mutaciones del ADN celular. El gen p53 se encuentra en el cromosoma 17 y su proteína p53 en condiciones basales o normales permite detener el ciclo celular en la fase G1, efecto mediado por la proteína p21cip/WAF1, la cual inhibe las quinasas dependientes de ciclinas o activan el mecanismo de apoptosis mediante la activación del gen bax. De esta manera, la función protectora del genoma celular es alterada por la proteína E6. Otras funciones de esta proteína son: amplificar la actividad de la telomerasa, inducir la síntesis de ADN mutado y aumentar la integración del ADN viral al ADN de la célula huésped ⁶⁶.

La proteína del gene E7 del VPH está constituida por 100 aminoácidos que se unen al Zinc, se une a la forma hipofosforilada (ya que experimenta una fosforilación) de las proteínas de la familia RB a través de su extremo N-terminal; esta unión rompe el complejo formado entre la pRB y el factor de transcripción celular E2F-1, el cual permite la transcripción de los genes cuyos productos o proteínas son requeridas para que la célula entre en la fase S del ciclo celular. El gen de la proteína RB se localiza en el cromosoma 13. La interacción entre el factor de transcripción celular E2F-1 en la fase G1 del ciclo celular inhibe la expresión de los genes relacionados con la replicación del ADN celular y la proliferación celular⁶⁶; de esta forma, permite la expresión de la timidina quinasa, la c-myc, la polimerasa A, la PCNA, la Ki-67, la proteína mantenimiento de microcromosomas, la p16 y las ciclinas A y E ⁶⁷. La proteína E7 también se puede asociar o unirse a otras proteínas celulares mitóticamente interactivas como la ciclina ⁶⁴. Otras de las funciones de la E7 que han sido descritas son: 1.- La unión a la quinasa de la histona H1, lo que favorece la acción transformante de la célula ⁶⁶; 2.- La inhibición de la proteína p16^{ink4A} que en condiciones basales frena la multiplicación celular ⁶⁸; 3.- Efecto muta-

génico; 4.- Producir aneuploidías; 5.- Favorecer la integración del genoma viral al de la célula huésped ⁶⁶. De esta manera ambas proteínas, E6 y E7, favorecen la proliferación e inmortalización del virus en las células con mayor carga de ADN mutado.

La proteína E5 es sintetizada en el genoma viral localizándose principalmente en la membrana de la célula huésped e interactuando con algunos factores como el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor p185-neu y los factores estimulantes de colonias; de esta manera, podría estimular la acción de estos diferentes factores vinculados a la proliferación celular; otro mecanismo asociado a esta proteína E5 es la de activar la vía de la proteína quinasa activada por mitógenos, la cual, está asociada a la proliferación y diferenciación celular ⁶⁹. La proteína del gene E5 induce un aumento de la actividad de la MAP quinasa, por lo tanto, mejora la respuesta de la célula a los factores que intervienen en el crecimiento y la diferenciación; esto resulta en una proliferación continua y en un retardo de la diferenciación de la célula huésped.

Las proteínas de los genes E1 y E2 son sumariadas a continuación; la E2 es una proteína dimerica que forma un complejo con la E1, y la proteína del gen E2 es una proteína que se une al ADN que bloquea la transcripción de los genes E6 y E7 y permite que el producto o proteína del gen E1 -el cual es una proteína multimérica con actividad de ATPasa y de helicasa-, se una al ADN viral a nivel de LCR ^{3,21} y ambas formen un complejo de iniciación con ciclinas, principalmente la E, quinasas dependientes de ciclinas, la ADN polimerasa A, en la región p68, y con proteínas de la célula huésped ^{21,70,71}. En este proceso la E2 es fosforilada por quinasas a nivel de los residuos de serina 298 y 301, regulando de esa forma su unión a la E1 ^{21,72}. Asimismo, la E2 suprime al promotor P97 del VPH 16 o el P105 del VPH 18, que están ubicados próximo al gen TATA box de dichos virus, encargados de la transcripción de las

proteínas E6 y E7, reduciendo de esta forma la síntesis de dichas proteínas ^{21,73}. También, la E2 activa directamente la síntesis de la p53 lo que produce la detención del ciclo celular en G1 y por supuesto la apoptosis ^{21,74}. Todas estas uniones o complejos inician la replicación del genoma viral como elementos extracromosomales en la fase S del ciclo celular y el número de copias del virus es mantenido en forma constante en la célula infectada y con bajo nivel de transcripción.

La transcripción de las proteínas E6 y E7 es regulada y controlada por la proteína E2 lo que permite la liberación de las proteínas p53 y pRB, eso hace que el proceso normal de diferenciación celular de la célula huésped continúe. Luego, un promotor tardío activa los genes de la cápside, L1 y L2; las partículas virales son ensambladas en el núcleo y forman el virión; los viriones, son liberados por las células epiteliales superficiales al descamarse. Las proteínas E1 ^ E4 son la mayormente expresadas en las capas superficiales de los epitelios infectados por los VPH, en especial la E4, y constituyen aproximadamente el 30% del contenido proteico viral en la célula infectada; se sintetizan como una proteína mixta involucrando los genes E1y E4 debido a un ARNm empalmado, los cuales, codifican 5 aminoácidos del ORF E1 empalmado a la proteína codificada por el ORF E4 ^{75,76}. Ellas forman complejos hexaméricos capaces de unirse a la red de citoqueratina de la célula huésped, a través de su región N-terminal produciendo su desestabilización, igualmente, produce alteración del potencial de membrana de la mitocondria. La región C-terminal de la proteína permite su unión a la proteína del gen DEAD-box, alterando sus funciones como tipo helicasa, ATPasa, recambio de ARN y estabilización del ribosoma⁷⁷. La región intermedia de ella (aminoácidos 17 al 45) detiene el ciclo celular en la fase G2, a través de la unión a ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas y por el bloqueo de E7. Como consecuencia, la célula pierde su soporte estructural por la alteración del citoesqueleto, produciéndose un daño mito-

condrial y del metabolismo energético ⁷⁶. La proteína E4 juega un papel en la maduración y liberación de los viriones del VPH, pero no parece ser citolítico en el proceso de replicación por lo que el ADN viral se encuentra en las células de las capas del epitelio, pero los viriones intactos se encuentran solo en las capas superiores del epitelio ¹³.

La proteína de gen E2 que es sintetizada posteriormente, tiene la función de bloquear la transcripción de los genes E6 y E7, lo que resulta en la liberación de las proteínas p53 y la pRB y, permitir que la proteína del gen E1 se una al principio de la replicación viral localizada en el LCR; esta unión inicia la replicación del genoma viral como elementos extracromosómicos en la fase del ciclo celular S1. Luego las partículas virales son ensambladas en el núcleo y liberadas en las capas superficiales del epitelio estratificado ¹³. Es posible que, durante la etapa de amplificación del genoma viral, la inhibición de las oncoproteínas E6 y E7, el daño al citoesqueleto, el trastorno mitocondrial-energético y la apoptosis permitan una mayor diseminación del virus, siempre que las proteínas de la cápside, L1 y L2, hayan sido sintetizadas formando con el ADN viral los nuevos viriones infectantes ²¹.

En la Tabla 2 se resume la función de las proteínas virales.

Lesiones premalignas y malignas del cuello uterino

Las neoplasias intraepiteliales cervicales (NICs) y el cáncer del cuello uterino (CaCu) son unos de los mejores ejemplos para entender como una infección viral puede producir una transformación maligna. La infección por los VPH de alto riesgo (VPH-AR) interfiere con la función de las proteínas celulares y con la expresión de los productos de los genes de la célula ¹³.

En las lesiones benignas producidas por el VPH, el ADN viral está localizado fuera de los cromosomas o en forma episomal, a nivel del núcleo; en las NICs y CaCu, el ADN del VPH está generalmente integrado al genoma

o al ADN de la célula huésped. En algunos casos, la forma episomal y la forma integrada al ADN celular están presentes simultáneamente en la célula huésped^{13,78}.

El evento central e importante para la transformación maligna de las células infectadas es la integración del ADN del HPV-AR al ADN celular; esta integración interrumpe o bloquea el ORF E2, lo que ocasiona la pérdida de su expresión^{5,13,78,79}. Este bloqueo de la función del gen E2, la cual normalmente regula la transcripción de los genes E6 y E7, conduce a un incremento de la expresión de ellos. En los VPH-AR, las proteínas E6 y E7 tienen una alta afinidad por la p53 y pRB, esta unión altera la función normal de estas proteínas celulares que intervienen en el control del ciclo celular originando un aumento de la tasa de proliferación e inestabilidad genómica. Como consecuencia la célula infectada acumula cada vez más un ADN dañado que no puede ser reparado. La proteína E6 forma un complejo E6-AP al degradar o bloquear la p53^{80,81}, el resultado del bloqueo de la p53 es la pérdida de la capacidad que tiene dicha proteína de producir el arresto o detención del crecimiento celular y la apoptosis lo que trae como consecuencia el daño al ADN de la célula infectada^{82,83}. Asimismo, como mencionamos anteriormente se afectan otras vías independientes de la p53 como son: 1. La activación de la telomerasa⁸⁴; 2. La inhibición de la degradación de la familia SRC tirosina quinasas Blk⁸⁵ y 3. La unión o la degradación de proteínas celulares en el dominio PDZ⁸⁶. Estas vías afectadas juegan un papel adicional en la transformación oncogénica inducida por el VPH-AR. La proteína E7 además de degradar o inhibir la pRB y provocar la liberación del factor de transcripción E2F y la sobreexpresión de la p16^{Ink4A}, también interactúa y degrada las llamadas “proteínas de bolsillo”: la p107 y la p130^{87,88}. Por otra parte, la proteína E5 es la otra oncoproteína que estimula la actividad transformadora del factor de crecimiento epidérmico y parece tener importancia en la fase inicial de la infección, como menciona-

mos anteriormente⁸⁹, pero no está claro qué papel juegan las otras proteínas tempranas: E1, E2 y E4, en el proceso de malignización. Las 2 proteínas estructurales L1 y L2 no se encuentran expresadas en las células premalignas ni malignas. Los genes E6 y E7 inactivan los genes supresores de tumor como la p53 y la pRB, respectivamente, como hemos mencionado anteriormente; esta capacidad que tienen los VPH-AR ha permitido diferenciarlos de los VPH-BR.

La inmortalización del virus en las células infectadas requiere de la cooperación de las proteínas E6 y E7, sin embargo, la proteína E7 por sí sola, en niveles muy elevados, es capaz de inmortalizarse en la célula infectada^{13,90}, como mencionamos anteriormente la alteración de las proteínas celulares conlleva a un aumento de su proliferación y a una inestabilidad genómica y como consecuencia se acumula en la célula infectada e inmortalizada por el VPH, más y más daño en su ADN, de tal forma, que se hace imposible su reparación y eventualmente, las mutaciones acumuladas conducen a la célula hacia una transformación maligna; en adición a los oncogenes activados y a la inestabilidad cromosómica, se agregan la metilación del ADN celular y viral, la activación de la telomerasa y factores hormonales e inmunológicos que contribuyen a esta transformación maligna de la célula infectada. La progresión de las lesiones premalignas al CaCu toma en ocasiones más de 2 décadas, aunque algunos pacientes pueden desarrollar el CaCu más rápido que otras, incluso entre 1 a 2 años^{13,91}.

En las infecciones por los VPH-BR generalmente, la proteína E6 no se une a la p53 en niveles detectables y la proteína E7 se une a la pRB con una baja afinidad^{13,82}.

Inmunopatología de la infección del VPH

La inflamación crónica está asociada con el desarrollo de procesos malignos, entre ellos el CaCu. Aproximadamente un tercio de los tumores cancerosos están ligados a procesos inflamatorios debido a microorganismos⁹². En el caso del CaCu, durante el

evento inflamatorio crónico se produce una sobrerregulación de las citocinas y la presencia de células del sistema inmune en el tejido del CU que modulan la inflamación como también la progresión o regresión de la lesión premaligna del CU ^{92,93}.

Varios mecanismos presentes en las personas inmunocompetentes poseen un papel crítico en prevenir el inicio y la evolución de la lesión activa o subclínica de la infección del VPH. Estos mecanismos de defensa permiten que la mayoría de las infecciones por el virus se eliminen después de un tiempo relativamente corto con poca a ninguna secuela de la infección. Hay evidencias indican que la regresión de las lesiones inducidas por el VPH es la consecuencia de la respuesta inmune mediada por células ⁹⁴.

La producción y liberación de varias citoquinas por células cervicales y por células componentes del sistema inmune innato tales como los macrófagos, células asesinas naturales y leucocitos tipo linfocitos pueden ser activadas por estímulos antigénicos, que incluyen la infección por VPH ^{92,94}. El VPH es capaz de inducir un bloqueo o disminución de la expresión del interferón (IFN), un aumento de la interleucina 10 (IL-10) y del factor de crecimiento transformante- β 1 (TGF- β 1) para producir una inmunosupresión local que junto con los antígenos de superficies tumorales forman una red que inhibe la respuesta inmune antitumoral ⁹⁵.

Boccardo y col. ⁹⁴ también han mencionado que la respuesta inmune debida a la pre-

sencia de la infección viral se debe a que el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina-1 (IL-1) y el interferón-alfa y beta (IFN- α y β) inhiben in vitro la transcripción de los oncogenes virales y el crecimiento de líneas celulares que posee el genoma viral. Sin embargo, como es sabido, un pequeño número de casos evaden la respuesta inmune, provocando que la infección persista, provocando el desarrollo de lesiones premalignas y CaCu. La infección viral persistente se ha relacionado con la inflamación crónica que como se mencionó arriba es un cofactor en el desarrollo de tumores cancerosos ⁹⁶.

Según Tindle ⁹⁷, un aspecto clave de la persistencia o eliminación de la infección del VPH, es que el virus logre evadir o no la respuesta inmune innata del huésped en vez de inhibirla. Esto se debe a que se logre o no, una combinación de factores que incluyen la restricción de la replicación e infección del virus en los sitios anatómicos específicos, la ausencia de lisis celular y una disminución de los niveles de expresión de las proteínas virales. Otros factores que pueden contribuir a evitar el sistema inmunológico del huésped son también, la disminución a la exposición a este sistema que desencadena potentes mecanismos antivirales e inmunomoduladores tales la activación de la vía IFN y la producción del TNF- α e IL-1. En la Tabla 3 se puede observar el efecto de las diferentes citocinas sobre la evolución de la neoplasia intraepitelial cervical.

Tabla 3

Efectos de las citocinas en la evolución de la neoplasia intraepitelial cervical

Neoplasia intraepitelial cervical	Citocinas
Previene progresión	IL-2, INF- γ , IL-12, IL-21, IL-10, IL-32, IL-37, and TGF- β 1
Inducen progresión	IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-32, TGF- β 1, MCP-1, y RANTES
Efecto dual	IL-10, IL-32, and TGF- β 1

Reproducido con permiso de: Carrero YN, Callejas DE, Mosquera JA. In situ immunopathological events in human cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer: Review. *Transl Oncol.* 2021 May;14(5):101058. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101058. Epub 2021 Mar 4.

Regresión de la infección y latencia del VPH

La progresión de la infección por el VPH al CaCu solo ocurre en un porcentaje pequeño de mujeres infectadas por el virus ya que la mayoría de esas infecciones son aclaradas o eliminadas⁹⁸⁻¹⁰⁰. La infección es predominantemente una infección limitada por sí misma con una duración media de aproximadamente 8 a 12 meses⁵; el tipo de VPH que sea más persistente tiene más probabilidad de incorporarse al genoma de la célula infectada y llegar a producir su transformación maligna. La persistencia del virus en la célula es el factor clave en la patogenicidad del tipo del VPH⁷⁹. El VPH tipo 16 es el tipo más probable de persistir que cualquier otro tipo^{5,41,100}, es decir, su capacidad oncogénica viene dada por su habilidad de persistir y producir lesiones NIC y CCU en comparación con otros tipos oncogénicos y no oncogénicos (5). Sin embargo, hay varios VPHs de BR como son: 54, 61 y 71, que persisten como los de AR, pero no son capaces de progresar y producir la transformación maligna de la célula (5). En resumen, la persistencia de la infección viral es un mecanismo común usado tanto por los tipos de AR y BR, sin embargo, los tipos de AR y en especial el tipo 16 por su elevada prevalencia y capacidad oncogénica son promotores de la progresión de la infección hacia la malignización de la célula huésped⁵.

A pesar de los esfuerzos que realiza el virus para evadir los mecanismos defensivos del huésped, casi todas las infecciones que persisten inicialmente son controladas inmunológicamente². A pesar de que se puede lograr la eliminación temprana de la infección por las respuestas inmunológicas innatas del huésped, la regresión de la lesión requiere una respuesta eficaz de las células T que implica linfocitos T citotóxicos CD8 + antígenos específicos y las células CD4 + T helper 1 (TH1) (que producen IL-2 e IFN- γ) que reconocen las proteínas virales E6, E7 y E2. Estas células circulantes, los linfocitos T CD8 + y CD4 + se infiltran en

la lesión y superan en número a las células reguladoras CD25 +¹⁰¹. A pesar de esta intensa respuesta local, la respuesta sistémica de las células a antígenos específicos T es débil, a menudo transitoria y difícil de medir o determinar que los efectores celulares han sido identificados, la regresión de los CIN 1 producidos por el VPH 16 no se correlaciona con la presencia de las células citotóxicas granzima B + CD8 + y CD56 +^{101,102}. Asimismo, el agravamiento de la lesión precancerosa está asociado con un bajo número o ausencia de antígenos específicos de células T circulantes, y a medida que se empeora la lesión las células regulatorias CD25+ dominan el infiltrado celular local¹⁰³. Debido a que las células del epitelio afectado están inmunocomprometidas, las quimioquinas y sus receptores, que son necesarios para la presencia de las células T intraepiteliales, se encuentran disminuidos¹⁰⁴. Más aún, los niveles locales de IFN- γ están disminuidos y los niveles del IL-10 y el TGF- β (citocinas que bloquean la producción de citocinas proinflamatorias e inhiben la proliferación de las células TH-1 y de las células citotóxicas) están incrementados. Estudios realizados en conejos y perros con virus del papiloma para sus especies han sido utilizados como modelos para estudiar el comportamiento de los VPH en los epitelios humanos; en estos animales, una vez infectados por el virus se produce una infiltración linfocitaria con regresión de la lesión entre la semana 8 y 12 de post-infección y para la semana 16 se observa un epitelio sano^{105,106}. Este patrón de comportamiento de la infección y mecanismo defensivo ha sido reportado también en el ganado vacuno¹⁰⁷.

Sin embargo, la eliminación de la infección productiva o de un NIC 1 producida por el VPH por el sistema inmune del huésped no necesariamente conduce a una eliminación total de genoma viral en las células basales del epitelio, es decir, se mantiene el virus en forma latente o sea una infección latente^{97,104,108,109}, lo cual encaja bien con la observación de que el mantenimiento del genoma

viral requiere solo una expresión limitada del gen viral y el sistema de vigilancia por las células inmunes innatas que se encuentra en la capa basal del epitelio previene una reactivación de la infección del VPH. Zhang y col.¹¹⁰ han sugerido que durante la infección latente la expresión de los genes está restringida a los E1 y E2 y no se requiere los genes E6 y E7.

Cuando se compara la prevalencia de la infección del VPH en la población general, el número de casos o lesiones que progresan al cáncer es bajo (7). Rodríguez y col.⁴¹ reportaron que un 67% de las infecciones se elimina o aclara en un plazo de 12 meses, sin embargo, si la infección persiste por lo menos 12 meses, el riesgo de desarrollar un NIC2+ en 30 meses es del 21% y el riesgo es más elevado en mujeres menores de 30 años infectadas con el VPH 16, si la infección persiste por lo menos 12 meses. El riesgo de progresión de una displasia leve o NIC 1 a una displasia severa o NIC 3 es del 1% por año mientras que el riesgo de progresión de una displasia moderada o NIC 2 a displasia severa o NIC 3 es del 16% en 2 años y del 25% en 5 años¹³.

CONCLUSIÓN

Los mecanismos y procesos descritos previamente nos explican como el VPH produce la infección productiva y no productiva en las células de los epitelios escamoso estratificados del ser humano en especial el del cuello uterino. Nos explican además como la infección por el virus puede producir lesiones benignas y lesiones malignas, asimismo nos explica él por qué se clasifican en VPH de AR y BR. Estos procesos han permitido entender el comportamiento del virus y establecer el tratamiento primario para la prevención del CaCu.

Numero ORCID de autor

- José Núñez-Troconis:
0000-0002-5334-7265

REFERENCIAS

1. **Willemsen A, Bravo IG.** Origin and evolution of papillomavirus (onco)genes and genomes *Phil. Trans. R. Soc. B* 2019 374: 20180303. <http://doi.org/10.1098/rstb.2018.0303>.
2. **Schiffman M, Doorbar J, Wentzensen N, de Sanjosé S, Fakhry C, Monk BJ, Stanley MA, Franceschi S.** Carcinogenic human papillomavirus infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16086. doi: 10.1038/nrdp.2016.86.
3. **Van Doorslaer K, Bernard HU, Chen Z, de Villiers EM, zur Hausen H, Burk RD.** Papillomaviruses: evolution, Linnaean taxonomy and current nomenclature. *Trends Microbiol.* 2011;19(2):49-50. doi: 10.1016/j.tim.2010.11.004.
4. **Santos-López G, Márquez-Domínguez L, Reyes-Leyva J, Vallejo-Ruiz V.** Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2015;53(2): S166-S171. Disponible en: <https://www.re-dalyc.org/articulo.oa?id=457744942008>
5. **Burk RD, Chen Z, Van Doorslaer K.** Human papillomaviruses: genetic basis of carcinogenicity. *Public Health Genomics*. 2009;12(5-6):281-290. doi: 10.1159/000214919.
6. **Conway MJ, Meyers C.** Replication and assembly of human papillomaviruses. *J Dent Res*. 2009;88(4):307-317. doi: 10.1177/0022034509333446
7. **Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA.** The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*. 2012; 30 (Suppl 5):F55-70. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.083.
8. **Senba M, Mori N.** Mechanisms of virus immune evasion lead to development from chronic inflammation to cancer formation associated with human papillomavirus infection. *Oncol Rev*. 2012; 6(2):e17. doi: 10.4081/oncol.2012.e17
9. **Ochoa-Carrillo FJ.** Virus del papiloma humano. Desde su descubrimiento hasta el desarrollo de una vacuna. Parte I/III. *GAMO* 2014;13:308-315. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-gaceta-mexicana-oncologia-305-articulo-virusdep>

10. **Taxonomy.** ICTV. Disponible en: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>. Revisado en marzo 14, 2023.
11. **Papillomaviridae.** *Virus taxonomy.* 2020 Release. ICTV 9th Report. Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses2011/w/dsdna_viruses/121/papillomaviridae. Revisado en: marzo 14, 2023
12. **Human reference clones.** International Human Papillomavirus Reference Center. Swedish National HPV Reference Laboratory. Karolinska Institutet. Disponible en https://www.hpvcntr.se/human_reference_clones/. Revisado en marzo 14, 2023.
13. **Burd EM.** Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16(1):1-17. *doi: 10.1128/CMR.16.1.1-17.2003.*
14. **Núñez-Troconis, J.** Epidemiología del virus del papiloma humano. *Invest Clin* 63(2): 170 - 184, 2022. <https://doi.org/10.54817/IC.v63n2a07>.
15. **Bosch FX, de Sanjosé S.** The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers.* 2007; 23(4):213-27. *doi: 10.1155/2007/914823.*
16. **Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, Muñoz J, Bosch FX, de Sanjosé S.** ICO/IARC information centre on HPV and cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 17 June 2019 (updated 2019-07-27 08:33:24). Revisado en enero 15, 2022.
17. **Brown AJ, Trimble CL.** New technologies for cervical cancer screening. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012 Apr;26(2):233-42. *doi: 10.1016/j.bpobgyn.2011.11.001.*
18. **Mistry N, Wibom C, Evander M.** Cutaneous and mucosal human papillomaviruses differ in net surface charge, potential impact on tropism. *Virol J.* 2008;5:118. *doi: 10.1186/1743-422X-5-118.*
19. **Joyce JG, Tung JS, Przysiecki CT, Cook JC, Lehman ED, Sands JA, Jansen KU, Keller PM.** The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J Biol Chem* 1999;274(9):5810-22. *doi: 10.1074/jbc.274.9.5810.*
20. **Giroglou T, Florin L, Schäfer F, Streeck RE, Sapp M.** Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. *J Virol.* 2001;75(3):1565-70. *doi: 10.1128/JVI.75.3.1565-1570.2001.*
21. **Rivera R, Delgado Jorge, Paniel V, Barrero R, Larraín A.** (2006). Mecanismo de infección y transformación neoplásica producido por virus del papiloma humano en el epitelio cervical. *Rev Chilena Obstet Ginecol* 71(2), 135-140. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262006000200011>
22. **Evander M, Frazer IH, Payne E, Qi YM, Hengst K, McMillan NA.** Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. *J Virol* 1997;71(3):2449-2456. *doi: 10.1128/JVI.71.3.2449-2456.1997. PMID: 9032382.*
23. **McMillan NA, Payne E, Frazer IH, Evander M.** Expression of the alpha6 integrin confers papillomavirus binding upon receptor-negative B-cells. *Virology* 1999;261(2):271-279. *doi: 10.1006/viro.1999.9825.*
24. **Selinka HC, Giroglou T, Sapp M.** Analysis of the infectious entry pathway of human papillomavirus type 33 pseudovirions. *Virology* 2002;299(2):279-287. *doi: 10.1006/viro.2001.1493.*
25. **Day PM, Lowy DR, Schiller JT.** Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology* 2003;307(1):1-11. *doi: 10.1016/s0042-6822(02)00143-5.*
26. **Bousarghin L, Touzé A, Sizaret PY, Coursaget P.** Human papillomavirus types 16, 31, and 58 use different endocytosis pathways to enter cells. *J Virol* 2003;77(6):3846-3850. *doi: 10.1128/jvi.77.6.3846-3850.2003.*
27. **Kirchhausen T, Owen D, Harrison SC.** Molecular structure, function, and dynamics of clathrin-mediated membrane traffic. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014;6(5):a016725. *doi: 10.1101/cshperspect.a016725.*
28. **Anderson RG.** Caveolae: where incoming and outgoing messengers meet. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(23):10909-10913. *doi: 10.1073/pnas.90.23.10909.*
29. **Merle E, Rose RC, LeRoux L, Moroiannu J.** Nuclear import of HPV11 L1 capsid protein is mediated by karyopherin alpha-2beta1 heterodimers. *J Cell Biochem* 1999;74(4):628-637.

30. Nelson LM, Rose RC, Moroianu J. Nuclear import strategies of high risk HPV16 L1 major capsid protein. *J Biol Chem* 2002;277(26):23958-64. doi: 10.1074/jbc.M200724200.
31. Day PM, Baker CC, Lowy DR, Schiller JT. Establishment of papillomavirus infection is enhanced by promyelocytic leukemia protein (PML) expression. *Proc Natl Acad Sci U SA*. 2004;101(39):14252-14257. doi: 10.1073/pnas.0404229101.
32. Zhang P, Monteiro da Silva G, Deatherage C, Burd C, DiMaio D. Cell-penetrating peptide mediates intracellular membrane passage of Human Papillomavirus L2 Protein to trigger retrograde trafficking. *Cell* 2018 Sep 6;174(6):1465-1476.e13. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.031.
33. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)* 2006;110(5):525-541. doi: 10.1042/CS20050369.
34. Schwartz S. Papillomavirus transcripts and posttranscriptional regulation. *Virology* 2013;445,187-196. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.04.034>
35. Liu Z, Rashid T, Nyitray AG. Penises not required: a systematic review of the potential for human papillomavirus horizontal transmission that is non-sexual or does not include penile penetration. *Sex Health* 2016;13(1):10-21. doi: 10.1071/SH15089.
36. Sundström K, Ploner A, Arnheim-Dahlström L, Eloranta S, Palmgren J, Adami HO, Ylitalo Helm N, Sparén P, Dillner J. Interactions Between High- and Low-Risk HPV Types Reduce the Risk of Squamous Cervical Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015;107(10):djv185. doi: 10.1093/jnci/djv185.
37. Vaccarella S, Franceschi S, Herrero R, Schiffman M, Rodríguez AC, Hildesheim A, Burk RD, Plummer M. Clustering of multiple human papillomavirus infections in women from a population-based study in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis* 2011;204(3):385-390. doi: 10.1093/infdis/jir286.
38. Wentzensen N, Nason M, Schiffman M, Dodd L, Hunt WC, Wheeler CM. New Mexico HPV Pap Registry Steering Committee. No evidence for synergy between human papillomavirus genotypes for the risk of high-grade squamous intraepithelial lesions in a large population-based study. *J Infect Dis* 2014;209(6):855-864. doi: 10.1093/infdis/jit577.
39. de Araujo-Souza PS, Ramanakumar AV, Candeias JM, Thomann P, Trevisan A, Franco EL, Villa LL; Ludwig-McGill. Cohort Study. Determinants of baseline seroreactivity to human papillomavirus type 16 in the Ludwig-McGill cohort study. *BMC Infect Dis* 2014;14: 578. doi: 10.1186/s12879-014-0578-0.
40. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis* 2010;202(12):1789-1799. doi: 10.1086/657321.
41. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, Solomon D, Burk R. Proyecto Epidemiológico Guanacaste Group. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(7):513-517. doi: 10.1093/jnci/djn044.
42. Núñez-Troconis J, Delgado M, González J, Mindiola R, Velásquez J, Conde B, Whitby D, Munroe DJ. Prevalence and risk factors of human papillomavirus infection in asymptomatic women in a Venezuelan urban area. *Invest Clin* 2009;50(2):203-212.
43. Schiffman M 2, Castle PE, Jeronimo J, Rodríguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007;370(9590):890-907. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61416-0.
44. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, Kitchener H, Segnan N, Gilham C, Giorgi-Rossi P, Berkhof J, Peto J, Meijer CJ. International HPV screening working group. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet* 2014;383(9916):524-532. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62218-7.
45. de Martel C, Shiels MS, Franceschi S, Sirmard EP, Vignat J, Hall HI, Engels EA, Plummer M. Cancers attributable to infec-

- tions among adults with HIV in the United States. *AIDS* 2015 Oct 23;29(16):2173-81. doi: 10.1097/QAD.0000000000000808.
46. **International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S.** Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006;118(6):1481-1495. doi: 10.1002/ijc.21493.
 47. **International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodhill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S.** Cervical carcinoma and reproductive factors: collaborative reanalysis of individual data on 16,563 women with cervical carcinoma and 33,542 women without cervical carcinoma from 25 epidemiological studies. *Int J Cancer* 2006;119(5):1108-1124. doi: 10.1002/ijc.21953.
 48. **International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodhill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S.** Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet* 2007;370(9599):1609-1621. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61684-5.
 49. **Gargano JW, Nisenbaum R, Lee DR, Ruffin MT 4th, Steinau M, Horowitz IR, Flowers LC, Tadros TS, Birdsong G, Unger ER.** Age-group differences in human papillomavirus types and cofactors for cervical intraepithelial neoplasia 3 among women referred to colposcopy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21(1):111-21. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0664.
 50. **Pyeon D, Pearce SM, Lank SM, Ahlquist P, Lambert PF.** Establishment of human papillomavirus infection requires cell cycle progression. *PLoS Pathog* 2009;5(2):e1000318. doi: 10.1371/journal.ppat.1000318.
 51. **Flores ER, Lambert PF.** Evidence for a switch in the mode of human papillomavirus type 16 DNA replication during the viral life cycle. *J Virol* 1997;71(10):7167-7179. doi: 10.1128/JVI.71.10.7167-7179.1997.
 52. **Gilbert DM, Cohen SN.** Bovine papilloma virus plasmids replicate randomly in mouse fibroblasts throughout S phase of the cell cycle. *Cell* 1987;50(1):59-68. doi: 10.1016/0092-8674(87)90662-3.
 53. **Hoffmann R, Hirt B, Bechtold V, Beard P, Raj K.** Different modes of human papillomavirus DNA replication during maintenance. *J Virol* 2006;80(9):4431-4439. doi: 10.1128/JVI.80.9.4431-4439.2006.
 54. **Doorbar J.** Latent papillomavirus infections and their regulation. *Curr Opin Virol* 2013;3(4):416-421. doi: 10.1016/j.coviro.2013.06.003.
 55. **Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J.** Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia. *Viruses* 2015;7(7):3863-3890. doi: 10.3390/v7072802.
 56. **Cladel NM, Hu J, Balogh K, Mejia A, Christensen ND.** Wounding prior to challenge substantially improves infectivity of cottontail rabbit papillomavirus and allows for standardization of infection. *J Virol Methods* 2008;148(1-2):34-39. doi: 10.1016/j.jviromet.2007.10.005.
 57. **Valencia C, Bonilla-Delgado J, Oktaba K, Ocádiz-Delgado R, Gariglio P, Covarrubias L.** Human papillomavirus E6/E7 oncogenes promote mouse ear regeneration by increasing the rate of wound re-epithelization and epidermal growth. *J Invest Dermatol* 2008;128(12):2894-2903. doi: 10.1038/jid.2008.156.
 58. **Doorbar J.** The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005;32 Suppl 1:S7-15. doi: 10.1016/j.jcv.2004.12.006.
 59. **Egawa N, Nakahara T, Ohno S, Narisawa-Saito M, Yūgawa T, Fujita M, Yamato K, Natori Y, Kiyono T.** The E1 protein of human papillomavirus type 16 is dispensable for maintenance replication of the viral genome. *J Virol* 2012;86(6):3276-3283. doi: 10.1128/JVI.06450-11.

60. Flores ER 2, Allen-Hoffmann BL, Lee D, Sattler CA, Lambert PF. Establishment of the human papillomavirus type 16 (HPV-16) life cycle in an immortalized human foreskin keratinocyte cell line. *Virology* 1999;262(2):344-354. doi: 10.1006/viro.1999.9868.
61. Bernard HU. Regulatory elements in the viral genome. *Virology* 2013;445(1-2):197-204. doi: 10.1016/j.virol.2013.04.035.
62. Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci* 2006;11:2286-2302. doi: 10.2741/1971.
63. Bodily JM, Hennigan C, Wrobel GA, Rodríguez CM. Regulation of the human papillomavirus type 16 late promoter by E7 and the cell cycle. *Virology* 2013;443(1):11-19. doi: 10.1016/j.virol.2013.04.033.
64. Syrjänen SM, Syrjänen KJ. New concepts on the role of human papillomavirus in cell cycle regulation. *Ann Med* 1999;31(3):175-187. doi: 10.3109/07853899909115976.
65. Thomas M, Pim D, Banks L. The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. *Oncogene* 1999;18(53):7690-7700. doi: 10.1038/sj.onc.1202953.
66. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: Evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *JNCI* 2000;92(9):690-698. <https://doi.org/10.1093/jnci/92.9.690>
67. Middleton K, Peh W, Southern S, Griffin H, Sotlar K, Nakahara T, El-Sherif A, Morris L, Seth R, Hibma M, Jenkins D, Lambert P, Coleman N, Doorbar J. Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. *J Virol* 2003;77(19):10186-10201. doi: 10.1128/jvi.77.19.10186-10201.2003
68. Nakahara T, Nishimura A, Tanaka M, Ueno T, Ishimoto A, Sakai H. Modulation of the cell division cycle by human papillomavirus type 18 E4. *J Virol* 2002;76(21):10914-10920. doi: 10.1128/jvi.76.21.10914-10920.2002.
69. Gu Z, Matlashewski G. Effect of human papillomavirus type 16 oncogenes on MAP kinase activity. *J Virol* 1995;69(12):8051-8056. doi: 10.1128/JVI.69.12.8051-8056.1995.
70. Conger KL, Liu JS, Kuo SR, Chow LT, Wang TS. Human papillomavirus DNA replication. Interactions between the viral E1 protein and two subunits of human dna polymerase alpha/primase. *J Biol Chem* 1999;274(5):2696-2705. doi: 10.1074/jbc.274.5.2696.
71. Masterson PJ, Stanley MA, Lewis AP, Romanos MA. A C-terminal helicase domain of the human papillomavirus E1 protein binds E2 and the DNA polymerase alpha-primase p68 subunit. *J Virol* 1998;72(9):7407-7419. doi: 10.1128/JVI.72.9.7407-7419.1998.
72. Penrose KJ, McBride AA. Proteasome-mediated degradation of the papillomavirus E2-TA protein is regulated by phosphorylation and can modulate viral genome copy number. *J Virol* 2000;74(13):6031-6038. doi: 10.1128/jvi.74.13.6031-6038.2000.
73. Desaintes C, Demeret C, Goyat S, Yaniv M, Thierry F. Expression of the papillomavirus E2 protein in HeLa cells leads to apoptosis. *EMBO J* 1997;16(3):504-514. doi: 10.1093/emboj/16.3.504.
74. Webster K, Parish J, Pandya M, Stern PL, Clarke AR, Gaston K. The human papillomavirus (HPV) 16 E2 protein induces apoptosis in the absence of other HPV proteins and via a p53-dependent pathway. *J Biol Chem* 2000;275(1):87-94. doi: 10.1074/jbc.275.1.87.
75. Davy CE, Jackson DJ, Wang Q, Raj K, Masterson PJ, Fenner NF, Southern S, Cuthill S, Millar JB, Doorbar J. Identification of a G(2) arrest domain in the E1 wedge E4 protein of human papillomavirus type 16. *J Virol* 2002;76(19):9806-9818. doi: 10.1128/jvi.76.19.9806-9818.2002.
76. Raj K, Berguerand S, Southern S, Doorbar J, Beard P. E1 empty set E4 protein of human papillomavirus type 16 associates with mitochondria. *J Virol* 2004;78(13):7199-7207. doi: 10.1128/JVI.78.13.7199-7207.2004.
77. Wang Q, Griffin H, Southern S, Jackson D, Martin A, McIntosh P, Davy C, Masterson PJ, Walker PA, Laskey P, Omary MB, Doorbar J. Functional analysis of the human papillomavirus type 16 E1=E4 protein provides a mechanism for in vivo and in vitro keratin filament reorganization. *J Virol* 2004;78(2):821-833. doi: 10.1128/jvi.78.2.821-833.2004.

78. Yoshinouchi M, Hongo A, Nakamura K, Kodama J, Itoh S, Sakai H, Kudo T. Analysis by multiplex PCR of the physical status of human papillomavirus type 16 DNA in cervical cancers. *J Clin Microbiol* 1999;37(11):3514-3517. doi: 10.1128/JCM.37.11.3514-3517.1999
79. García-Tamayo J, Molina J, Blasco-Olae-txa. El virus del papiloma humano y el cáncer cervical: Una revisión de la historia actualizada sobre la investigación del cáncer del cuello uterino en Venezuela. *Invest. Clín* 2010;51(2):193-208. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332010000200004&lng=es.
80. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990;63(6):1129-1136. doi: 10.1016/0092-8674(90)90409-8.
81. Scheffner M2, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993;75(3):495-505. doi: 10.1016/0092-8674(93)90384-3.
82. Kessis TD, Slebos RJ, Nelson WG, Kastan MB, Plunkett BS, Han SM, Lorincz AT, Hedrick L, Cho KR. Human papillomavirus 16 E6 expression disrupts the p53-mediated cellular response to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(9):3988-3992. doi: 10.1073/pnas.90.9.3988.
83. Matlashewski G, Banks L, Pim D, Crawford L. Analysis of human p53 proteins and mRNA levels in normal and transformed cells. *Eur J Biochem* 1986;154(3):665-672. doi: 10.1111/j.1432-1033.1986.tb09449.x.
84. Veldman T, Horikawa I, Barrett JC, Schlegel R. Transcriptional activation of the telomerase hTERT gene by human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein. *J Virol* 2001;75(9):4467-4472. doi: 10.1128/JVI.75.9.4467-4472.2001.
85. Oda H, Kumar S, Howley PM. Regulation of the Src family tyrosine kinase Blk through E6AP-mediated ubiquitination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(17):9557-9562. doi: 10.1073/pnas.96.17.9557.
86. Kiyono T, Hiraiwa A, Fujita M, Hayashi Y, Akiyama T, Ishibashi M. Binding of high-risk human papillomavirus E6 oncoproteins to the human homologue of the Drosophila discs large tumor suppressor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(21):11612-11616. doi: 10.1073/pnas.94.21.11612.
87. Dyson N, Howley PM, Münger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989;243(4893):934-937. doi: 10.1126/science.2537532.
88. Kiyono T, Foster SA, Koop JI, McDougall JK, Galloway DA, Klingelutz AJ. Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature* 1998;396(6706):84-88. doi: 10.1038/23962.
89. Münger K, Phelps WC, Bubbs V, Howley PM, Schlegel R. The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes. *J Virol* 1989;63(10):4417-4421. doi: 10.1128/JVI.63.10.4417-4421.
90. Halbert CL, Demers GW, Galloway DA. The E7 gene of human papillomavirus type 16 is sufficient for immortalization of human epithelial cells. *J Virol* 1991;65(1):473-478. doi: 10.1128/JVI.65.1.473-478.1991.
91. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(3):252-258. doi: 10.1093/jnci/91.3.252.
92. Carrero YN, Callejas DE, Mosquera JA. In situ immunopathological events in human cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer: Review. *Transl Oncol* 2021 May;14(5):101058. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101058. Epub 2021 Mar 4.
93. Hemmat N, Bannazadeh Baghi H. Association of human papillomavirus infection and inflammation in cervical cancer. *Pathog Dis* 2019 Jul 1;77(5):ftz048. doi: 10.1093/femspd/ftz048.
94. Boccardo E, Lepique AP, Villa LL. The role of inflammation in HPV carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2010 Nov;31(11):1905-12. doi: 10.1093/carcin/bgq176. Epub 2010 Sep 5.

95. Torres-Poveda K, Bahena-Román M, Madrid-González C, Burguete-García AI, Bermúdez-Morales VH, Peralta-Zaragoza O, Madrid-Marina V. Role of IL-10 and TGF- β 1 in local immunosuppression in HPV-associated cervical neoplasia. *World J Clin Oncol* 2014 Oct 10;5(4):753-63. doi: 10.5306/wjco.v5.i4.753.
96. Singh N, Baby D, Rajguru JP, Patil PB, Thakkannavar SS, Pujari VB. Inflammation and cancer. *Ann Afr Med* 2019 Jul-Sep;18(3):121-126. doi: 10.4103/aam.aam_56_18.
97. Tindle RW. Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. *Nat Rev Cancer* 2002 Jan;2(1):59-65. doi: 10.1038/nrc700.
98. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S3/42-51. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.06.018.
99. Woodman CB, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P, Yates M, Rollason TP, Young LS. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001;357(9271):1831-1836. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04956-4.
100. Rodríguez AC 2, Burk R, Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Solomon D, Guillen D, Alfaro M, Viscidi R, Morales J, Hutchinson M, Wacholder S, Schiffman M. The natural history of human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia among young women in the Guanacaste cohort shortly after initiation of sexual life. *Sex Transm Dis* 2007;34(7):494-502. doi: 10.1097/01.olq.0000251241.03088.a0
101. Woo YL, Sterling J, Damay I, Coleman N, Crawford R, van der Burg SH, Stanley M. Characterising the local immune responses in cervical intraepithelial neoplasia: a cross-sectional and longitudinal analysis. *BJOG* 2008;115(13):1616-21; discussion 1621-1622. doi: 10.1111/j.1471-0528.2008.01936.x.
102. van der Burg SH, de Jong A, Welters MJ, Offringa R, Melief CJ. The status of HPV16-specific T-cell reactivity in health and disease as a guide to HPV vaccine development. *Virus Res* 2002; 89(2):275-84. doi: 10.1016/s0168-1702(02)00196-x
103. Visser J, Nijman HW, Hoogenboom BN, Jäger P, van Baarle D, Schuurinġ E, Abdulahad W, Miedema F, van der Zee AG, Daemen T. Frequencies and role of regulatory T cells in patients with (pre)malignant cervical neoplasia. *Clin Exp Immunol* 2007;150(2):199-209. doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03468.x
104. Moore RA, Nicholls PK, Santos EB, Gough GW, Stanley MA. Absence of canine oral papillomavirus DNA following prophylactic L1 particle-mediated immunotherapeutic delivery vaccination. *J Gen Virol* 2002;83(Pt 9):2299-2301. doi: 10.1099/0022-1317-83-9-2299.
105. Christensen ND, Cladel NM, Reed CA, Han R. Rabbit oral papillomavirus complete genome sequence and immunity following genital infection. *Virology* 2000;269(2):451-461. doi: 10.1006/viro.2000.0237.
106. Nicholls PK, Moore PF, Anderson DM, Moore RA, Parry NR, Gough GW, Stanley MA. Regression of canine oral papillomas is associated with infiltration of CD4+ and CD8+ lymphocytes. *Virology*. 2001;283(1):31-39. doi: 10.1006/viro.2000.0789.
107. Knowles G, O'Neil BW, Campo MS. Phenotypical characterization of lymphocytes infiltrating regressing papillomas. *J Virol* 1996;70(12):8451-8458. doi: 10.1128/JVI.70.12.8451-8458.1996.
108. Maglennon GA, McIntosh P, Doorbar J. Persistence of viral DNA in the epithelial basal layer suggests a model for papillomavirus latency following immune regression. *Virology* 2011;414(2):153-163. doi: 10.1016/j.virol.2011.03.019.
109. Maglennon GA, McIntosh PB, Doorbar J. Immunosuppression facilitates the reactivation of latent papillomavirus infections. *J Virol* 2014;88(1):71071-6. doi: 10.1128/JVI.02589-13.
110. Zhang P, Nouri M, Brandsma JL, Iftner T, Steinberg BM. Induction of E6/E7 expression in cottontail rabbit papillomavirus latency following UV activation. *Virology* 1999;263(2):388-394. doi: 10.1006/viro.1999.9950.