



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), septiembre-octubre 2024,
Volumen 8, Número 5.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i5

PAPEL DE E6 DE LOS VPH EN EL DESARROLLO DE CÁNCER CERVICAL

ROLE OF HPV E6 IN THE DEVELOPMENT OF CERVICAL CANCER

Soledad Hidalgo-Jaimes

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Eduardo Luis Lomelí-Merino

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Dorisel Rodríguez-García

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Miguel Ángel Mendoza-Catalán

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Napoleón Navarro-Tito

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Eric Genaro Salmerón-Bárceñas

Instituto Politécnico Nacional, México

Berenice Illades-Aguilar

Universidad Autónoma de Guerrero, México

José Ángel Cahua-Pablo

Universidad Autónoma de Guerrero, México

César Sotelo-Leyva

Universidad Autónoma de Guerrero, México

Ana Elvira Zacapala- Gómez

Universidad Autónoma de Guerrero, México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rem.v8i5.13897

Papel de E6 de los VPH en el Desarrollo de Cáncer Cervical

Soledad Hidalgo-Jaimes¹

17432558@uagro.mx

Licenciatura en Químico Biólogo Parasitólogo
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

Eduardo Luis Lomelí-Merino

11106859@uagro.mx

Licenciatura en Químico Biólogo Parasitólogo
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

Dorisel Rodríguez-García

14412838@uagro.mx

Licenciatura en Químico Biólogo Parasitólogo
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

Miguel Ángel Mendoza-Catalán

mamendoza@uagro.mx

<https://orcid.org/0000-0002-6247-8590>

Laboratorio de Investigación
en Bioactivos y Cáncer
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

Napoleón Navarro-Tito

nnavarro@uagro.mx

<https://orcid.org/0000-0003-4911-0545>

Laboratorio de Biología Celular del Cáncer
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

Eric Genaro Salmerón-Bárceñas

egsb.1990@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-1830-6724>

Departamento de Biomedicina Molecular
Centro de Investigación y de Estudios
Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Berenice Illades-Aguiar

billades@uagro.mx

<https://orcid.org/0000-0003-3937-335X>

Laboratorio de Biomedicina Molecular
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

José Ángel Cahua-Pablo

jcahua@uagro.mx

<https://orcid.org/0000-0001-6557-0707>

Laboratorio de Investigación
en Epidemiología Clínica y Molecular
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

César Sotelo-Leyva

cesarsotelo@uagro.mx

<https://orcid.org/0000-0002-4710-4590>

Laboratorio de bioprespección
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

Ana Elvira Zacapala-Gómez

zak_ana@yahoo.com.mx

<https://orcid.org/0000-0003-4935-6094>

Laboratorio de Investigación
en Bioactivos y Cáncer
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Universidad Autónoma de Guerrero
Chilpancingo, México

¹ Autor principal

Correspondencia: zak_ana@yahoo.com.mx

RESUMEN

El cáncer de cérvix (CaCU) es una de las principales causas de muerte por cáncer femenino en todo el mundo. La infección por virus del papiloma humano (VPH) es uno de los principales factores de riesgo, la infección por el VPH-16 representa más de la mitad de todos los casos de CaCU en todo el mundo. El alto potencial oncogénico del VPH-16 es principalmente por la expresión de la proteína viral E6, quien se caracteriza por 2 dedos de zinc, uno en cada extremo. Esta oncoproteína es responsable de la inestabilidad genómica, la interrupción del ciclo celular, inhibición de la respuesta inmune, la proliferación celular, la inmortalización, y la transformación maligna de las células infectadas por VPH. Todos los VPH en su genoma tienen codificada a E6, las características de E6 son dadas por su secuencia nucleotídica, lo que se relaciona con su potencial oncogénico diferencial entre genotipos y variantes del VPH. El objetivo de este estudio fue analizar a la oncoproteína E6 del VPH para comparar sus características y asociarlas con la capacidad de E6 para desarrollar CaCU. La afinidad por sus proteínas blanco, su estabilidad, y su tasa de transcripción se relaciona con su potencial oncogénico.

Palabras clave: cáncer cervical, neoplasia intraepitelial, oncoproteína E6, VPH



Role of HPV E6 in the Development of Cervical Cancer

ABSTRACT

Cervical cancer (CaCU) is one of the leading causes of female cancer death worldwide. Human papillomavirus (HPV) infection is one of the main risk factors, HPV-16 infection accounts for more than half of all CaCC cases worldwide. The high oncogenic potential of HPV-16 is mainly due to the expression of the viral protein E6, which is characterized by 2 zinc fingers, one at each end. This oncoprotein is responsible for genomic instability, cell cycle arrest, inhibition of the immune response, cell proliferation, immortalization, and malignant transformation of HPV-infected cells. All HPVs have E6 encoded in their genome; the characteristics of E6 are given by its nucleotide sequence, which is related to its differential oncogenic potential between HPV genotypes and variants. This study aimed to analyze the HPV E6 oncoprotein to compare its characteristics and associate them with the capacity of E6 to develop CaCU. The affinity for its target proteins, stability, and transcription rate are related to its oncogenic potential..

Keywords: cervical cancer, intraepithelial neoplasia, oncoprotein E6, HPV

Artículo recibido 26 agosto 2024

Aceptado para publicación: 16 septiembre 2024



INTRODUCCIÓN

El CaCU es una patología multifactorial, los factores genéticos relacionados con el desarrollo de CaCU son déficit de alfa 1 antitripsina, inactivación de p53, deleciones homocigóticas, transcripciones aberrantes, alteraciones cromosómicas y susceptibilidad genética. Además de factores ambientales, hábitos como el tabaquismo (15 cigarrillos al día) y alcoholismo que conducen a inmunosupresión; y factores relacionados con datos ginecológicos como el inicio de vida sexual a temprana edad, multiparidad por la vía vaginal (cinco o más partos), uso de anticonceptivos orales por más de cinco años, número de compañeros sexuales e infección por varios agentes de transmisión sexual, como parásitos, p. ej. Trichomonas, bacterias como Gardnerella vaginalis, Chlamydia trachomati, y/o algunos virus como el herpes viral tipo II (HSV-2) (Fernández Pérez, Regueira Betancourt & Torres Fernández, 2016; Serrano Cogollor & López Díaz, 2017; Montero Lora et al., 2018; Saldaña Mestanza & Silva Guevara, 2018; Flores Hernández et al., 2019; Fernandes Durão, 2020). Sin embargo, la infección por VPH es el principal factor de riesgo para el desarrollo de esta patología (Serrano Cogollor & López Díaz, 2017).

Varios estudios demuestran en pacientes una relación entre la expresión de E6 con el desarrollo de cáncer cervical. Los niveles de expresión de ARNm de E6 son aumentados significativamente en pacientes VPH-16 positivos en relación a pacientes VPH-16 negativos ($p < 0.01$). De manera similar se presenta un aumento de la expresión de E6 del VPH en pacientes con infección persistente en relación con el grupo de infección transitoria ($p < 0,01$), carcinoma invasivo en comparación con HSIL ($p < 0,01$), HSIL en comparación con LSIL ($p < 0,01$), etapa T2/T3 en comparación con estadio T1 ($P = 0,017$), adenocarcinoma vs. carcinoma epitelial escamoso ($P=0,015$), y en estadio FIGO 2/3 en comparación con FIGO 1 ($P < 0,001$). Sin embargo, no se presentan cambios significativos entre LSIL y los grupos benignos ($p 0,97$). Finalmente, los niveles de expresión de E6 aumentan una vez que el genoma viral se integra en el hospedador (Padilla-Quirarte et al., 2016; Wu et al., 2018) (Stiasny et al., 2017).

Por lo anterior, la expresión de E6 se relaciona con su potencial oncogénico, Todos los VPH expresan a la proteína E6, sin embargo las características de la proteína E6 dependen del tipo viral o de la variante del VPH, se ha sugerido que la asociación entre la infección por VPH y el desarrollo de cáncer cervical



está relacionada con las características de E6 que se expresa durante la infección por VPH. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue analizar a la oncoproteína E6 del VPH para comparar sus características y asociarlas con la capacidad de E6 para desarrollar CaCU.

METODOLOGÍA

La investigación se realizó desde la búsqueda en motores de investigación como Google académico, Pudmed, y Researchgate. Las estrategias de búsqueda utilizadas en la presente investigación fueron mediante palabras clave como: cervical cancer, oncoprotein E6, HPV, HR-VPH-AR, LR-VPH-BR y operadores booleanos de and, or, not, en español e inglés. Se aplicaron filtros, relacionado con el año de publicación, considerando como los más relevantes aquellos más recientes y desde el año 2015. Se incluyeron los artículos que: 1) su información se relacionara con los temas a discutir en este artículo, 2) que la información se relacionara con otros artículos publicados, 3) que describieran su proceso metodológico y cumplen criterios que garantizan su rigurosidad. Se excluyeron investigaciones repetidas.

Los artículos seleccionados iniciaron un proceso en forma progresiva que se basó en: a) Lectura de los resúmenes, considerando solo a aquellos afines a los objetivos de la investigación. b) Lectura del artículo completo para considerar los lineamientos de la investigación presentada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cáncer cervical

El cáncer cervical (CaCU) sigue siendo un importante problema de salud pública, a nivel mundial es la cuarta causa más común de incidencia y mortalidad de cáncer en mujeres, con un estimado de 604.000 nuevos casos y 342.000 muertes por año. Además, es el cáncer más comúnmente diagnosticado en 23 países y la principal causa de muerte por cáncer en 36 países. La gran mayoría de los casos se presentan en África subsahariana y Asia Sudoriental (Sung et al., 2021).

El CaCU es una neoplasia maligna, caracterizada por la proliferación descontrolada de células presentes en la zona de transformación del cérvix (ZT) (Ledford, H., 2014), que es una porción de cérvix con células columnares que está siendo reemplazado o ha sido reemplazado por el epitelio escamoso (unión escamo-columnar) (de Mello, 2009). El principal factor que favorece el desarrollo de



CaCU es la infección por el virus de papiloma humano (VPH) (Cordero-Martínez y García-Pimentel, 2015; Bhatla et al., 2018).

Ciclo replicativo del VPH

El ciclo de vida del VPH ocurre en la unión escamoso-cilíndrica (Herfs et al., 2012; Egawa et al., 2015; Kranjec y Doorbar, 2016), y está estrechamente relacionado con el estado de diferenciación de las células epiteliales infectadas. El VPH infecta los queratinocitos basales que están expuestos como resultado de microabrasiones en la superficie epitelial (Doorbar et al., 2012; Herfs et al., 2012). La proteína de la cápside L1 se une a proteoglicanos de heparán sulfato (HSPG) en la membrana celular. Después de esto, L1 sufre un cambio conformacional que expone la región N-terminal de L2 de la cápside viral (Kines et al., 2009; Veríssimo-Fernandes et al., 2009), las convertasas de furina / proproteína (PC) escinden el extremo N-terminal expuesto de L2, para que el virus se internalice a la célula a través de la vía endocítica. Después, el virus atraviesa el sistema endosómico y viaja a la red trans-Golgi (TGN), posiblemente a través del retículo endoplásmico (ER), y finalmente al núcleo, donde ocurre la ruptura de la envoltura nuclear durante la mitosis (Aksoy, Gottschalk y Meneses, 2017). Al entrar al núcleo, el virus requiere la expresión de los genes E1 y E2 para inducir la generación de copias de su genoma. Estas proteínas se unen al origen viral de replicación y reclutan ADN-polimerasas celulares y otras proteínas necesarias para la replicación del ADN (Hamid, Brown y Gaston, 2009). El genoma viral se amplifica de 50-100 copias por célula, y se mantienen en un número de copias estable y reducido en células basales indiferenciadas mediante la replicación (Moody, 2017; Vonsky et al., 2019). En la capa suprabasal, la expresión de genes E1, E2, E5, E6 y E7 contribuyen al mantenimiento del genoma viral e induce la proliferación celular, aumentando la cantidad de células infectadas por VPH en el epitelio, lo que resulta en una mayor cantidad de células que producirán viriones infecciosos (Nakahara et al., 2005; Hamid, Brown y Gaston, 2009). La expresión de E6 y E7 permite el reingreso al ciclo celular tras la diferenciación, proporcionando factores celulares para la replicación productiva (Moody, 2017; Vonsky et al., 2019). Además, en la capa granular, las proteínas tardías mayor y menor de la cápside viral (L1 y L2, respectivamente), se expresan para ensamblar la cápside viral y formar nuevos viriones, que alcanzan la capa cornificada del epitelio y se liberan (Nakahara et al., 2005).



VPH

El VPH pertenece a la familia Papillomaviridae, que es capaz de infectar células epiteliales de la piel, mucosa oral y genital. Las partículas virales del VPH (viriones), tienen un diámetro de 50–55 nm y un peso molecular de 5×10^6 Da. El VPH se conserva evolutivamente, presentando una tasa de divergencia del 1% por 40.000–80.000 años. El VPH es un virus de ADN circular, con aproximadamente 8000 pb, que se asocia con proteínas similares a las histonas (Araldi et al., 2018).

El DNA de todos los papilomavirus presenta tres regiones: región que codifica para la expresión temprana de genes, región que codifica para la expresión tardía de genes y LCR). Las tres regiones del genoma del VPH están separadas por dos sitios de poliadenilación (pA): pA temprano (Ami) y pA tardío (AL) sitios. La región de expresión de genes tempranos de los VPH ocupa más del 50% del su genoma y presenta seis marcos de lectura abiertos (ORF) (E1, E2, E4, E5, E6 y E7), traducen proteínas individuales, involucradas en la transcripción, replicación y oncogénesis viral; dicha región se localiza en posición adyacente y rio abajo de la región larga de control (LCR) (Ramírez-Pineda et al., 2019). La región tardía de todos los genomas del virus del papiloma, cubre casi el 40% del genoma del virus, se encuentra abajo de la región temprana y codifica los ORF de L1 y L2 para la traducción de una proteína de la cápside principal (L1) y una menor (L2). La región LCR, también llamada región reguladora rio arriba (LCR o URR) (Burk, Chen y Van Doorslaer, 2009), un segmento de aproximadamente 850 pb (10% del genoma del VPH), no tiene función de codificación de proteínas, pero tiene el origen de replicación, así como múltiples sitios de unión a factores de transcripción que son importantes en la regulación de la ARN polimerasa II (Bernard, 2002; Zheng y Baker, 2006). También se ha demostrado que la LCR es la región más variable del genoma del VPH, debido a que no codifica a ningún gen, LCR puede acumular y tolerar más mutaciones; otros estudios han demostrado que las variaciones en LCR regulan la replicación del VPH y la actividad transcripcional de E6 y E7 (Burk, Chen y Van Doorslaer, 2009; Guan et al., 2012). Esta región contiene varios sitios de regulación transcripcional para proteínas virales y celulares (Cornet et al., 2012; Pientong et al., 2013; Mosmann et al., 2015), como E2, YY1, Oct-1, NF1, factor potenciador transcripcional-1 (TEF-1)(Xi et al., 2017; Fang et al., 2020). Ciertos cambios dentro de la región LCR pueden conducir a la adición o pérdida de sitios de unión para factores de transcripción (Pande et al., 2008).



El genoma del VPH-16 contiene dos promotores principales. El promotor P97 se encuentra río arriba del ORF E6 y es responsable de casi toda la expresión génica temprana (Zheng y Baker, 2006). El promotor P670 se encuentra dentro de la región ORF E7 y es responsable de la expresión génica tardía (Grassmann et al., 1996). Aunque se han descrito otros promotores menores en las regiones tempranas del genoma, sus actividades siguen siendo desconocidas (Zheng y Baker, 2006). El promotor VPH-16 P97, está controlado, principalmente por elementos cis, río arriba de LCR (Zheng y Baker, 2006). E2 funciona como represor de la transcripción de P97 (Zheng y Baker, 2006), la represión transcripcional solo se produce en células que albergan ADN de VPH-16 integrado (Bechtold, Beard y Raj, 2003).

Clasificación de genotipos

Los VPH se clasifican de acuerdo a la secuencia de nucleótidos del gen L1, la cual es altamente conservada. Los VPH que comparten similitud de la secuencia L1 de $\geq 70\%$, pertenecen al mismo género. El Comité Internacional de Taxonomía de Virus clasifica a los papilomavirus (PV) en 53 géneros, de los cuales solo 5 géneros incluyen PV que infectan a los humanos (VPH) (de Villiers et al., 2004), alphapapillomavirus, beta, gamma, mu y un (Toro-Montoya y Tapia-Vela, 2023). El género gamma incluye la mayoría de los VPH conocidos, con 99 tipos de VPH, seguidos por los géneros alpha con 65 tipos, alphapapillomavirus que incluyen la mayoría de los VPH de alto riesgo (VPH-AR), finalmente, beta con 54. Los géneros mu y nu incluyen solo 3 y 1 tipos, respectivamente (Gheit, 2019; Sendagorta-cudós, Burgos-cibrián y Rodríguez-Iglesias, 2019).

Se han identificado más de 200 tipos de VPH. Los tipos de VPH se definen por diferencias de 10% a nivel de nucleótidos (Bernard et al., 2010). Estos tipos virales se sub-clasifican de acuerdo a su riesgo para desarrollar cáncer: VPH de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82; probablemente alto riesgo: VPH 67, 30, 34, 85 y 97; de riesgo intermedio: 26, 53, y 66; bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 y 81 y de riesgo indeterminado: 69, 71 y 74, los genotipos de VPH de bajo riesgo (VPH-BR) causan principalmente condilomas, y los tipos de VPH-AR, están significativamente asociados con el desarrollo de neoplasias y cáncer (Muñoz et al., 2003; Barbieri et al., 2012; Piña-Napal et al., 2016; Schiffman et al., 2016; Gallegos-Bolaños et al., 2017; de Sanjosé, Brotons y Pavón, 2018; Vonsky et al., 2019).



En cada uno de estos tipos de VPH puede dividirse en linajes y sublinajes, formados por variantes con diferencias en la secuencia del genoma intratípico de 1.0-10% y 0.5-1.0%, respectivamente (Burk, Harari y Chen, 2013). El VPH-16 es ampliamente estudiado, por su potencial cancerígeno, está asociado con aproximadamente el 95% de todos los casos de CaCU, y en el 80% de los cánceres de cabeza y cuello (Illades-Aguilar et al., 2010; Guan et al., 2012; Ndiaye et al., 2014).

Los linajes del VPH-16 han evolucionado conjuntamente con poblaciones humanas específicas y fueron nombrados originalmente en base a observaciones epidemiológicas, porque la prevalencia de las variantes estaba racionada con una región geográfica particular, en base a eso se denominaron como: variantes africanas, norteamericanas, asiáticas y asiático-americanas. Actualmente, los principales linajes evolutivos del VPH-16 se conocen como A, B, C y D. Las variantes "europeas" (sublinajes A1, A2, A3 y A4) se han encontrado comúnmente en poblaciones europeas, variantes "africanas" (linajes B [Africano-a] y C [Africano-b] linaje B [africano-2a) en África, variantes "norteamericano" (sublinaje D1) en poblaciones de América del Norte, variantes "asiático-americanas" (sublinajes D2 y D3) en Asia, indios americanos, América Central y del Sur y España, y la variante "asiática" (sublinaje A4) en el sudeste asiático. La clasificación filogenética actual se enfoca en la similitud del DNA genómico del VPH, no en la región geográfica, en donde es más frecuente (Mirabello et al., 2016; Jendoubi-ferchichi et al., 2018).

Oncoproteína E6

El potencial oncogénico de los VPH-AR está asociada con la expresión de la oncoproteína E6, debido al papel que cumple para favorecer la carcinogénesis. La proteína E6 es relativamente una proteína pequeña, con una secuencia nucleotídica de 477 nt (83-459), que codifica para un péptido de 158 a.a. (aminoácidos), con un peso molecular aproximado de 16 a 18 kiloDaltones (kDa) (Jiang y Yue, 2014). La proteína E6 tiene un amplio contenido de α -hélices (6) y láminas β (7) como estructuras secundarias. Estas propiedades, hacen a la proteína E6 sea inestable e insoluble para purificar (Nominé et al., 2001a, 2001b); presenta en su extremo carboxilo motivos de unión PDZ (Zanier et al., 2012). E6 consta de dos dominios de unión a zinc (Dedos de zic), E6N y E6C, con un link de 36 aminoácidos (aa) y coordinado por cuatro residuos de cisteína de los motivos CxxC cada uno (Zanier et al., 2012; Brimer, Drews y



Vande Pol, 2017). El aminoácido R102 es importante porque une los dominios E6N y E6C a través de dos enlaces de hidrógeno (Conrady et al., 2021).

Todas las oncoproteínas E6 de los VPH mucosos de alto riesgo (hrm-HPV) presentan un motivo conservado de unión a proteínas con dominio PDZ (PBM) en el dominio C-terminal, que les permite unirse e inducir la degradación celular de proteínas multidominio que contienen dominios PDZ. Los dominios PDZ, fueron nombrados considerando a las primeras letras de tres proteínas que comparten dichos dominios (Proteína de densidad postsináptica (PSD95), supresor de tumores grandes del disco de *Drosophila* (Dlg1) y proteína zonula occludens-1 (zo-1), las cuales están involucrados en varios procesos que incluyen polaridad celular, adhesión celular y apoptosis (Kiyono et al., 1997; Lee, Weiss y Javier, 1997; Glaunsinger et al., 2000; Nakagawa y Huibregtse, 1999; Javier y Rice, 2011; Banks, Pim y Thomas, 2012; James y Roberts, 2016).

Además, la mayoría de las proteínas E6 de los papilomavirus de mamíferos contienen un dominio hidrófobo cargado, que reconoce péptidos de una estructura alfa helicoidal que presenta una secuencia consenso LxxLL conservada, interespaciada con residuos ácidos (Huibregtse, Scheffner y Howley, 1993; Chen et al., 1998; Vande Pol, Brown y Turner, 1998; Bohl et al., 2000; Vande Pol y Klingelutz, 2013). Las proteínas E6 se unen a motivos LxxLL accesibles de proteínas diana celulares. La unión al motivo LxxLL de diferentes proteínas varía dependiendo del género y tipo de E6 del VPH (Brimer, Drews y Vande Pol, 2017). Esto permite que las proteínas E6 recluten una variedad de proteínas celulares del huésped que contienen motivos LxxLL y que participan en una variedad de funciones aparentemente no relacionadas, como la proteína asociada a la ubiquitina ligasa E6 (E6AP) (Huibregtse, Scheffner y Howley, 1993), la proteína de adhesión focal paxilina (Vande Pol, Brown y Turner, 1998), MAML1 (Brimer et al., 2012; Tan et al., 2012; Meyers, Spangle y Munger, 2013), o el factor transcripcional regulador del interferón antivírico 3 (IRF3) (Ronco et al., 1998). En todas estas proteínas, el motivo LxxLL se encuentra en una región que permite la accesibilidad del motivo para la interacción con E6 (Suarez y Trave, 2018). La oncoproteína E6 no tiene actividad enzimática, la mayoría de su actividad es debido a interacciones proteína-proteína (Ristriani et al., 2001; Howie, Katzenellenbogen y Galloway, 2009; Jiang y Yue, 2014). E6 interactúa con una gran variedad de proteínas, pero las más estudiadas aparecen en la siguiente Tabla 1.



Si bien las actividades moleculares mejor estudiadas de las proteínas E6 están relacionadas con su capacidad para interactuar con proteínas celulares diana, se ha sugerido que tanto E6 interactúa también con ácidos nucleicos. Esta hipótesis se basó en el hecho de que E6 contienen dominios de unión a zinc con secuencias similares a los factores de transcripción, incluidas repeticiones de cuatro residuos de cisteína conservados. Un subconjunto de proteínas E6 de tipos de VPH mucosos de alto riesgo interactúa con alta afinidad y selectividad con ADN, los residuos responsables de la unión al ADN se localizaron dentro del dominio de unión al zinc C-terminal. También puede E6 unirse a ARN, lo que inhibe el empalme de pre-ARNm. Aún no se comprende bien cómo se utilizan estas propiedades de unión de ácidos nucleicos durante el ciclo de vida del virus y si contribuyen al fenotipo oncogénico (Suarez and Trave 2017).

E6 de VPH-AR vs. VPH-BR

La patogenicidad del VPH está determinada principalmente por la expresión de E6. Existen varios tipos de VPH, los cuales se clasifican de acuerdo a su potencial oncogénico en VPH-AR y VPH-BR (Egawa y Doorbar, 2017).

La expresión elevada de la proteína E6 de los VPH-AR favorecen la neoplasia, por todas sus funciones (Roman y Munger, 2013; Vande Pol y Klingelutz, 2013). La replicación del genoma del VPH-BR y VPH-AR ocurre en promedio una vez por ciclo celular, en células basales indiferenciadas / proliferantes, con una expresión génica viral limitada para minimizar la posibilidad de detección inmune (Egawa y Doorbar, 2017). Sin embargo, una de las principales diferencias que distinguen a los tipos de VPH-BR de los VPH-AR es que los primeros no suelen utilizar a E6 para activar la proliferación celular descontrolada en las células de las capas basales y parabasales. E6 de los VPH-BR no induce la división celular ocurre con los VPH-AR. La proliferación sin control en células con infección por VPH-BR es consecuencia de la alteración en la regulación transcripcional de genes celulares. Por lo anterior, los VPH-BR tienen escasa capacidad para favorecer la neoplasia y la progresión del cáncer. Por otro lado, la amplificación del genoma y el ensamblaje de la cápside son muy similares en todos los tipos de VPH, independientemente de su designación de alto o bajo riesgo (Egawa y Doorbar, 2017).



La regulación de la expresión génica E6 se lleva a cabo de manera diferente entre los tipos de VPH-AR y VPH-BR, en los tipos de VPH-AR se regula la expresión de E6/E7 en conjunto, mediante corte y empalme alternativo, mientras que los tipos de VPH-BR como el VPH11 usan promotores separados para controlar la expresión de estos genes. Esta regulación diferente activa más eficientemente la expresión del gen E6 de los VPH-AR, pero no la de los tipos de VPH-BR, la sobreexpresión de E6 ocurre en células basales y parabasales. Si bien la expresión de genes virales es suficiente para el mantenimiento y la persistencia del genoma de las células basales, está claro que situaciones que favorecen la sobreexpresión de E6 pueden conducir a neoplasias (Evans et al., 2014; Egawa et al., 2015; Egawa y Doorbar, 2017). Los tipos de VPH-AR tienen una marcada ventaja de replicación en las células que infectan, por las razones descritas anteriormente. Los tipos de VPH-BR no immortalizan los queratinocitos en cultivo y, hasta la fecha, ha resultado difícil reproducir de manera confiable su ciclo de vida productivo en cultivos organotípicos en balsa (Egawa y Doorbar, 2017).

Además, una de las diferencias importantes entre las oncoproteínas E6 de los tipos de VPH-AR y VPH-BR, es la presencia de un motivo de unión a proteínas (PBM) con extremo C-terminal PDZ (PSD-95/DLG/ZO-1) en las oncoproteínas E6 de VPH-AR, que está ausente en los tipos de VPH-BR. Las PBM tienen funciones como proteínas de andamiaje, y ensamblaje de complejos multiproteicos, varias proteínas contienen múltiples copias de estos dominios PDZ para la interacción proteína-proteína. Esta PBM, por lo tanto, representa una firma molecular del potencial oncogénico de las proteínas E6 de VPH-AR. Alteraciones en la secuencia del extremo C terminal del PBM de E6 es fundamental para determinar la preferencia de sustrato, una valina en el extremo C terminal de E6 del VPH-18, le confiere preferencia por las interacciones Dlg, pero con una leucina en el extremo C terminal en E6 del VPH-16 le confiere preferencia por Escribano. Además, el número de sitios de contacto refleja la fuerza de asociación entre E6 y sus diferentes blancos PDZ, E6 del VPH16 presenta una constante de disociación para MAGI-1 de 3,0 μM y E6 del VPH 18 de 1,5 μM (Ganti, et al., 2015).

Se ha demostrado que las proteínas E6 de los VPH-AR y VPH-BR interactúan con p53, sin embargo, difieren en los dominios de p53 con los que interactúan. E6 de los VPH-AR y VPH-BR pueden unirse al extremo C terminal de p53, pero solo las proteínas E6 de los HR-VPH son capaces de unirse a la región central de p53. Es esta unión de la región central la que se requiere para la degradación de p53.



También, se ha demostrado que tanto las proteínas E6 de VPH-AR y VPH-BR se unen a p300, aunque las proteínas E6 de VPH-AR se unen con mayor afinidad. Estudios in vivo han demostrado que solo las proteínas E6 de los VPH-AR inhiben la transactivación de p300. Finalmente, E6 de los VPH-AR y VPH-BR se une a Gps2, que participa en la supresión de las vías de señalización mediadas por la proteína G, la actividad de la quinasa N-terminal c-Jun y estimula la transcripción de los promotores del VPH. La degradación de Gps2 es mediada por E6 de los VPH-AR (pero no VPH-BR). E6 de los VPH-AR y VPH-BR interactúa con la proteína de mantenimiento del minicromosoma humano 7 (hMCM7), pero la unión de la proteína E6 del VPH-AR parece ser más fuerte que la de la proteína E6 VPH-BR; E6 del VP-18 media la degradación de MCM7 a través de E6AP y la participación proteasomal (Howie, Katzenellenbogen, y Galloway, et al., 2009) (Tabla 2).

Diferencias de E6 de los diferentes tipos de VPH-AR

En los VPH-AR existen cambios de nucleótidos en la secuencia que codifican para E6, sin embargo, destacaremos los más relevantes, centrándonos en los tipos 18, 16 y 33, por ejemplo en el aminoácido (aa) 28, el VPH-16 tiene una glutamina, el VPH-33 un ácido glutámico y el VPH-18 una treonina. En el aa 30 el VPH 16 y 18 tienen una arginina, pero el VPH-33 tiene una lisina. En el aa 70, el VPH-16 tiene una arginina, el VPH-33 una alanina, mientras que el VPH-18 al igual que la mayoría de los VPH de esta misma clasificación tiene una lisina. Estas diferencias son importantes porque del aa 30-66 se forma el dedo de zinc en el extremo amino terminal de E6 del VPH 16, los dedos de zinc son importante para mantener su estructura. Además se ha demostrado que en esa región E6 interactúa con E6AP, FADD, pro-Caspase 8 e IRF3, por lo anterior, modificaciones en estos aa o cercanos repercutiría en la interacción con estas proteínas relacionadas con apoptosis. Lo anterior se relaciona con las características de las E6 de los VPH-AR (White et al., 2012).

Diferencias entre E6 de los VPH-AR poco estudiadas son: la secuencia de localización nuclear: RPRKL, KCLKFYSK, y KQRHLDDKKQR que está presente en VPH-16 y que no es conservada en otros tipos de VPH (Mesplède, et al., 2014). Además, el 76% de las muestras positivas para VPH16 tienen VPH integrado, mientras que la integración es evidente en todas las muestras positivas para VPH18. Esto confirma las primeras observaciones de diferentes frecuencias de integración entre HPV16 y HPV18 (McBride, y Warburton 2017).



Otra diferencia es, las proteínas E6*I de HPV16, -18, -30, -33, -34, -35, -39, -68 y -70 comprenden de 50 a 55 aminoácidos, las de HPV26, -31, -51, -56, -66, -69 y -82 son mucho más cortos y su tamaño varía de 29 a 36 residuos. Estas proteínas E6*I más cortas carecen del primer par de cisteínas que coordinan el zinc dentro del dedo de zinc N-terminal de E6. Las proteínas E6*I de HPV56 y -66 también carecen de un motivo hidrofóbico conservado _xx_x_. Es importante mencionar que una pequeña eliminación dentro de este motivo hidrófobo de E6*I anula su capacidad para unirse a E6 de longitud completa, E6AP y para inhibir la degradación de p53 (Mesplède, et al., 2014).

Dependiendo del tipo de VPH-AR se derivan diferentes transcritos, a partir de los sitios de corte y empalme donante contenidos en el ORF E6 y de uno de los sitios de corte y empalme aceptor ubicados dentro de los ORF E7, E2 o E4. El patrón de empalme del VPH tipo 16 se ha estudiado exhaustivamente y se han identificado las siguientes transcripciones empalmadas: E6*I, E6*II, E6*III, E6^E7, E6^E7*I, E6^E7*II, E6*IV, E6*V y E6*VI. Por el contrario, las transcripciones descritas para HPV18 son: E6*I, E6*II, E6*III, E6^E7. Se sabe menos sobre las transcripciones resultantes del corte y empalme en el pre-ARNm de E6 de otros tipos de VPH-AR, como el VPH31 que tiene E6*I y E6^E4; HPV33 con E6*I, E6*II y E6*III; y HPV58 con E6*I y E6*II. Para otros tipos de VPH sólo se ha detectado el transcrito E6*I. Las isoformas generadas presentan diferentes funciones asociadas al desarrollo de cáncer, un mayor número de isoformas conduce a la regular mediante diferentes vías de la carcinogénesis. Pero no solo las isoformas son importantes. En células positivas a infección por VPH16 está aumentada la expresión de los factores de empalme 1, 2 y 3 ricos en serina/arginina (SRSF1, 2 y 3). Estas proteínas aumentan la estabilidad del ARNm de E6/E7 y protegen el transcrito de E6 de su decaída (Olmedo-Nieva et al., 2018) (Tabla 3).

Diferencias de E6 de las variantes del VPH-16

El VPH-16 es altamente oncogénico, las variantes del VPH-16 presenta diferencias en la secuencia del genoma intratípico de 1.0-10% (Burk, Harari y Chen, 2013). Las variantes son nombradas de acuerdo al nucleótido o aminoácido cambiado en la secuencia de E6 (Huertas- Salgado, et al., 2011). En un estudio reciente, Rodríguez Ruiz, 2019 muestran una comparación de las estructuras primarias de la referencia E6 del VPH-16 y sus variantes (referencia E6, E-G350, E-A176 / G350, E-C188 / G350, AAa y AAc). Aunque hay cambios de aminoácidos en cada variante en comparación con la E6 de



referencia, todos los aminoácidos mutados permanecen hidrófilos, excepto el cambio en I27R ubicado de E6 de la variante AAc. Esta mutación cambió la isoleucina (I), un aminoácido alifáticos que se presenta en el núcleo hidrofóbico de un pliegue proteico, a un aminoácido básico, arginina (R), cuya cadena lateral es capaz de presentarse en un núcleo positivo, esto aumentaría la estabilidad entre la interacción de E6 con E6AP.

Además, las variantes E-G350, E-C188/G350, E-A176/G350, AAa y AAc aumentan su afinidad para MAGI-1 en comparación con la E6 de referencia (sin mutaciones). Debido a que las E6 de las variantes presentan características fisicoquímicas diferentes, se observan cambios dinámicos muy marcados, particularmente en los extremos amino y carboxilo de las proteínas, donde hay una ganancia de flexibilidad en las variantes en comparación con la referencia E6. Diferencias en estructura y movilidad incrementaron la afinidad de las variantes E-C188/G350 y AAa por MAGI-1. E-C188/G350 aumenta tres veces su afinidad, aumentando los enlaces vinculantes en un 50% (Araujo-Arcos et al., 2022).

Varios estudios se han enfocado en determinar el papel oncogénico de las variantes de E6 del VPH16, que demuestras que un solo polimorfismo en su secuencia, puede modificar su capacidad para regular la apoptosis, migración, metástasis, proliferación etc. (Zehbe, et al., 2011; Niccoli, et al., 2012; López-Urrutia, et al., 2012; Jackson, et al., 2014).



ILUSTRACIONES, TABLAS, FIGURAS.

Tabla 1. Proteínas blanco de E6 de los VPH-AR

Procesos	Proteínas asociadas	Funciones de las proteínas	Efecto de la presencia de E6
Transcripción/ Replicación	<i>DNMT1</i>	DNMT1, desempeña un papel importante en el mantenimiento y la regulación de la metilación del ADN.	E6 puede regular positivamente la expresión y actividad de DNMT1, interactuando físicamente.
	<i>p300/CPB</i>	p300 se identificó como un coactivador de la transcripción con actividad HAT (Actividad histona acetil transferasa). Además de las histonas, p300 interactúa y acetila varios factores de transcripción, como HIF-1 (factor 1 inducible por hipoxia) y p53.	E6 se une a p300/CPB, un coactivador de p53, lo que induce la inactivación de p53.
	<i>c-myc</i>	Myc (factor de transcripción), regula la Expresión de hasta un 10-15% de los genes celulares que controlan los procesos metabólicos, las modificaciones, postraduccionales, la síntesis macromolecular, la proliferación celular y la apoptosis.	En las células infectadas con hr- HPV, la proteína E6 se une a c-Myc.
Respuesta inmune	Proteína tirosina cinasa 2 (tyrosine-protein kinase2, Tyk2	Las tirosinas cinasas (TC) son enzimas que sirven de mediadoras entre la recepción de una señal extracelular y la ejecución de una respuesta efectora. La activación de las TC se produce mediante la fosforilación o transferencia de grupos fosfatos al grupo hidroxilo de los residuos de tirosina de la enzima.	E6 se une a la proteína tirosina cinasa 2 (tyrosine-protein kinase2, Tyk2), una proteína transductora de señales de la vía Jak-STAT y, E6 funciona como un regulador negativo de esta vía, por lo tanto, interfiere en la activación de la vía de señalización del IFN- α .
	<i>IRF3</i>	El Factor de Regulación 3 (IRF3) es fundamental para la primera línea de defensa contra los patógenos, principalmente virus, a través de la inducción de IFN β .	La proteína E6 interfiere con la respuesta inmunológica ante la infección viral, mediante su unión al transactivador de transcripción IRF-3 afectando su función de activador transcripcional, lo que directamente interrumpe la expresión de los genes inducidos por el interferón.

Apoptosis	Bak	Las proteínas Bak constituyen un punto de control crítico en la vía mitocondrial de apoptosis y están localizadas tanto en la mitocondria como en el retículo endoplasmático (RE).	E6 se une a Bak (una proteína pro-apoptótica de la familia Bcl-2). Y bloquea apoptosis
	p53	La proteína p53 participa en la regulación de la proliferación celular y en la respuesta de la célula a estímulos de estrés; p53 induce tanto la parada del ciclo celular que previene la replicación de DNA dañado, como la activación de la apoptosis para eliminar células “defectuosas”.	E6 puede interrumpir la apoptosis mediante la degradación de p53
Proliferación celular	TERT	La telomerasa alarga el extremo del ADN iniciador por la adición de los desoxinucleósidos trifosfatados y así genera las repeticiones en tandem de los telómeros.	E6 se une a la telomerasa y activa la transcripción de la subunidad catalítica de esta enzima, lo cual ayuda al mantenimiento de las estructuras teloméricas contenidas al final de los cromosomas, permite la proliferación celular sostenida, e interfiere con la respuesta inmunológica ante la infección viral.
	p21 Y p27	P21 y p27 pertenecen a inhibidores de ciclina / inhibidores de quinasa, que juegan un papel importante en la progresión del ciclo celular.	Al unirse E6 al blanco transcripcional de p53 (p21) un inhibidor de cinasas dependientes de ciclinas o a p27 los inactiva.
Adhesión	Paxilina	La paxilina es de las proteínas reguladoras del citoesqueleto. Una función principal de paxilina radica en la integración y diseminación de señales de integrinas y factores de crecimiento para la adhesión celular eficiente.	Se ha encontrado una asociación entre la oncoproteína E6 y paxilina, induciendo alteraciones en el citoesqueleto de actina y de las interacciones de la matriz celular.
	hDLG/Sap97	hDLG/Sap97 es un homólogo humano de la proteína supresora de tumores de los discos largos de Drosophila, importante en la formación de la polaridad en células epiteliales en diferenciación. Formación y mantenimiento de las uniones intercelulares.	La unión de hDLG y E6 afecta la adhesión celular, polaridad y proliferación, lo que contribuye a la actividad invasora de las células transformadas.
	hScrib	Es un 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.

MAGUK

Las guanilato quininas asociadas a la membrana (MAGUK) regulan la adhesión celular y la transducción de señales en los sitios de contacto célula-célula. Los MAGUK se componen de motivos modulares de interacción proteína- proteína que incluyen dominios de homología L27, PDZ, Src (SH) 3 y guanilato quinasa que agregan moléculas de adhesión y receptores.

E6 mediante sus 4 motivos PDZ interactúa con miembros de la familia MAGUK. Dicha interacción conduce a la degradación de proteínas celulares y en consecuencia la pérdida de polaridad celular, además de la desestabilización de las uniones adherentes (célula-célula), que es el primer paso en el proceso invasivo.

(Reuver y Garner, 1998; Fanning y Anderson, 1999; Ishidate et al., 2000; Mantovani, Massimi y Banks, 2001; Laprise, Viel y Rivard, 2004; Valiente et al., 2005; López-Saavedra y Lizano-Soberón, 2006; Yeung et al., 2010; Lee y Zheng, 2010; Subbaiah et al., 2011; Sotelo et al., 2012; Hsu et al., 2012; Leonard et al., 2012; Oliva et al., 2012; Wawrzyniak, Anna Maria Kashyap y Zimmermann, 2013; Guerra et al., 2018; Román Collazo et al., 2019; Ramírez-Pineda et al., 2019; Peña-López, Romero-Bohórquez y Rincón-orozco, 2021).

CONCLUSIÓN

En este estudio se analizó a las características de E6 de los VPH, debido al papel de los VPH en el desarrollo de cáncer. Se clasifican como VPH-BR y VPH-AR, debido a su capacidad para desarrollar cáncer. Los VPH-BR están implicados en el desarrollo de verrugas. Los VPH-BR no suelen utilizar a E6 para activar la proliferación en las células de las capas basales y parabasales. La proliferación sin control en células con infección por VPH-BR es consecuencia de la alteración en la regulación transcripcional de genes celulares. Por lo anterior, los VPH-BR tienen escasa capacidad para favorecer la neoplasia y la progresión del cáncer. Además, la regulación de la expresión génica E6 es importante para el desarrollo de cáncer; en los tipos de VPH-AR se regula la expresión de E6/E7 en conjunto, mediante corte y empalme alternativo, mientras que los tipos de VPH-BR como el VPH11 usan promotores separados para controlar la expresión de estos genes. Esta regulación diferente activa más eficientemente la expresión del gen E6 de los VPH-AR. Además, los VPH-AR, en su proteína E6 presentan un dominio que les confiere preferencia por interacciones con proteínas Dlg, y mayor fuerza de asociación con sus diferentes blancos PDZ, en comparación con los VPH-BR. E6 de VPH-AR es capaz de inducir la degradación de p53, unirse con mayor afinidad con p300, inducir la degradación de Gps2, favorecer que la unión con hMCM7 sea más fuerte; en comparación con los VPH-BR. Por lo anterior, E6 de los VPH-AR tienen mayor potencial oncogénico.

Sin embargo, no todos los VPH-AR tienen la misma capacidad para desarrollar cáncer cervical. El VPH 18 frecuentemente se integra en el genoma celular, lo que lo hace altamente oncoenogénico. Además,



dependiendo del tipo de VPH-AR estos derivan diferentes transcritos de E6 (isoformas). El patrón de empalme del VPH tipo 16 favorece el desarrollo de cáncer, en comparación con los patrones de empalme de otros VPH-AR. Por todo lo mencionado, en cáncer cervical es más frecuente la infección por VPH-16.

Pero el VPH 16 presenta variantes, razón por la cual, en algunos casos la infección por VPH16 representa mayor riesgo y se presenta como un cáncer agresivo. E6 de la variante AAc presenta una mutación que aumenta la estabilidad de la interacción entre E6 y E6AP. Recordemos que esta unión favorece la degradación de proteínas supresoras de tumor. Además, las variantes E-G350, E-C188/G350, E-A176/G350, AAa y AAc aumentan su afinidad para MAGI-1 en comparación con la E6 de referencia (sin mutaciones). MAGI-1 es una proteína de adhesión que se ha visto involucrada en metástasis. E6 de las variantes presenta ganancia en la flexibilidad de su estructura en comparación con la E6 de referencia, lo que se relaciona con su potencial oncogénico. Las variantes del VPH 16 presentan diferente potencial oncogénico.

Por lo anterior, es importante realizar el diagnóstico del tipo y variante del VPH presente en la infección. Porque debido a sus características relacionadas con la expresión de su proteína E6, regulan el desarrollo de cáncer de manera diferente, presentando un riesgo diferencial en el desarrollo de cáncer.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aksoy, P., Gottschalk, E. Y. y Meneses, P. I. (2017). HPV entry into cells, Mutation research. Reviews in mutation research, 772, 13–22.
- Araldi, R. P., Sant'Ana, T. A., Módolo, D. G., de Melo, T. C., Spadacci-Morena, D. D., Stocco, R. C. et al. (2018). The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview, Biomedicine and Pharmacotherapy, 106, 1537–1556.
- Banks, L., Pim, D. y Thomas, M. (2012). Human tumour viruses and the deregulation of cell polarity in cancer, Nature Reviews Cancer, 12, 877–886.
- Barbieri, D. et al. (2012). Comparison of HPV sign Genotyping Test with INNO-LiPA HPV Genotyping Extra assay on histologic and cytologic cervical specimens, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 74(1), 43–48.



- Bechtold, V., Beard, P. y Raj, K. (2003). Human Papillomavirus Type 16 E2 Protein Has No Effect on Transcription from Episomal Viral DNA, *Journal of Virology*, 77(3), 2021–2028.
- Bernard, H.-U. (2002). Gene expression of genital human papillomaviruses and considerations on potential antiviral approaches, *Antiviral therapy*, 7(4), 219–237.
- Bernard, H.-U. et al. (2010). Classification of Papillomaviruses (PVs) Based on 189 PV Types and Proposal of Taxonomic Amendments, *Virology*, 401(1), 70–79.
- Betancort-Santana C. (2021) Virus del papiloma humano y cáncer de cuello uterino. Tesis doctoral no publicada. San Cristóbal de La Laguna. Facultad de Farmacia universidad la laguna.
- Bhatla, N., Aoki, D., Sharma, D. N., & Sankaranarayanan, R. (2018). Cancer of the cervix uteri. *International journal of gynecology & obstetrics*, 143, 22-36.
- Bohl, J. et al. (2000). Competitive Binding to a Charged Leucine Motif Represses Transformation by a Papillomavirus E6 Oncoprotein, *Virology*, 270(1), 163–170.
- Brimer, N., Drews, C. M. y Vande Pol, S. B. (2017). Association of papillomavirus E6 proteins with either MAML1 or E6AP clusters E6 proteins by structure, function , and evolutionary relatedness, *PLOS Pathogens*, 13(12), e1006781.
- Brimer, N., Lyons, C., Wallberg, A. E. and Vande Pol, S. B. (2012). Cutaneous Papillomavirus E6 oncoproteins associate with MAML1 to repress transactivation and NOTCH signaling, *Oncogene*, 31(43), 4639–4646.
- Burk, R. D., Chen, Z. y Van Doorslaer, K. (2009). Human Papillomaviruses : Genetic Basis of Carcinogenicity”, *Public Health Genomics*, 12(5–6), 281–290.
- Burk, R. D., Harari, A. y Chen, Z. (2013). Human papillomavirus genome variants, *Virology*, 445(1–2), 232–243.
- Chen, J. J. et al. (1998). Identification of an Helical Motif Sufficient for Association with Papillomavirus E6 *, *The Journal of Biological Chemistry*, 273(22), 13537– 13544.
- Conrady, M. C. et al. (2021). Structure of High-Risk Papillomavirus 31 E6 Oncogenic Protein and Characterization of E6 / E6AP / p53 Complex Formation”, *Journal of Virology*, 95(2), e00730-20.



- Cordero-Martínez, J. y García-Pimentel, M. (2015). Citologías alteradas y diferentes factores de riesgo para el cáncer cervicouterino”, *Revista de Ciencias Médicas. La Habana*, 21(2), 357–370.
- Cornet, I., Gheit, T., Franceschi, S., Vignat, J., Burk, R. D. and Sylla, B. S. (2012). Human Papillomavirus Type 16 Genetic Variants: Phylogeny and classification Based on E6 and LCR. *Journal of Virology*, 86 (12), 6855– 6860.
- de Mello, I. M. (2009). Zona de transformación, *Archivos Médicos de Actualización en Tracto Genital Inferior (AMATGI)*, 1(1), 24–26.
- de Sanjosé, S., Brotons, M. y Pavón, M. A. (2018). The natural history of human papillomavirus infection, *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 47, 2–13.
- de Villiers, E. et al. (2004). Classification of papillomaviruses, *Virology*, 324(1), 17– 27.
- Doorbar, J. et al. (2012). The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses, *Vaccine*, 30, F55– F70.
- Egawa, N. et al. (2015). Human papillomaviruses; Epithelial tropisms, and the development of neoplasia, *Viruses*, 7(7), 3863–3890.
- Egawa, N. y Doorbar, J. (2017). The low-risk papillomaviruses, *Virus Research*, 231, 119–127.
- Evans, M. F. et al. (2014). HPV E6/E7 RNA In Situ hybridization signal patterns as biomarkers of three-tier cervical intraepithelial neoplasia grade”, *PLoS ONE*, 9(3), e91142.
- Fang, L. et al. (2020). Genetic variability , phylogeny and functional implication of the long control region in human papillomavirus type 16 , 18 and 58 in Chengdu , China, *Virology Journal*, 17(1), 106.
- Fanning, A. S. y Anderson, J. M. (1999). PDZ domains : fundamental building blocks in the organization of protein complexes at the plasma membrane, *The Journal of Clinical Investigation*, 103(6), 767–772.
- Fernandes Durão, A. T. (2020). Gammapatías monoclonales: de la colección al diagnóstico de laboratorio. Tesis doctoral no publicada. Lisboa. Nueva Universidad de Lisboa.
- Fernández Pérez, M. D., Regueira Betancourt, S. M. & Torres Fernández, M., 2016. Preventable risk factors in some types of Cancer. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta.*, 41(11).



- Flores Hernández, J. L., García Arteaga, S., Flores Barrios, K. y Vargas Hernández, V. M., 2019. Factores de riesgo para lesiones precursoras de cáncer de cuello de útero. revista de enfermedades del tracto genital inferior, 12(1), 6-11.
- Gallegos-Bolaños, J. et al. (2017). High prevalence of co-infection between human papillomavirus (HPV) 51 and 52 in Mexican population”, BMC cancer, 17((1): 531), 1–8.
- Ganti, K. et al. (2015). The human papillomavirus E6 PDZ binding motif: From life cycle to malignancy, Viruses, 7(7), 3530–3551.
- Gheit, T. (2019). Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology. Frontiers in Oncology. 9(335). 2-5.
- Glaunsinger, B. A. et al. (2000). Interaction of the PDZ-protein MAGI-1 with adenovirus E4-ORF1 and high-risk papillomavirus E6 proteinn, Oncogene, 19(46), 5270– 5280.
- Grassmann, K. et al. (1996). Identification of a differentiation-inducible promoter in the E7 open reading frame of human papillomavirus type 16 (HPV-16) in raft cultures of a new cell line containing high copy numbers of episomal HPV-16 DNA, Journal of Virology, 70(4), 2339–2349.
- Guan, P. et al. (2012). Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: A meta-analysis from cervical infection to cancer, International Journal of Cancer, 131(10), 2349–2359.
- Guerra, F. et al. (2018). Moléculas de adhesión y proteínas oncogénicas de virus de papiloma humano en la progresión de cáncer de cuello uterino”, Revista de la Asociación Bioquímica Argentina, 82(2), 30–35.
- Hamid, N. A., Brown, C. y Gaston, K. (2009). The regulation of cell proliferation by the papillomavirus early proteins”, Cellular and Molecular Life Sciences, 66(10), pp. 1700–1717.
- Harden, M. E. and Mungerb K. (2017). Human Papillomavirus Molecular Biology. Mutat Res Rev Mutat Res. 2017;772:3–12.
- Herfs, M. et al. (2012). A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109(26), pp. 10516–10521.
- Howie, H. L., Katzenellenbogen, R. A. y Galloway, D. A. (2009). Papillomavirus E6 proteins, Virology, 384(2), 324–334.



- Hsu, C.-H. et al. (2012). The HPV E6 oncoprotein targets histone methyltransferase for modulating specific gene transcription, *Oncogene*, 31(18), 2335–2349.
- Huertas-Salgado, A., Martín-Gómez, D. C., Moreno, P., Murillo, R., Bravo, M. M., Villa, L. and Milano, M. (2011). E6 molecular variants of human papillomavirus (HPV) type 16: An updated and unified criterion for clustering and nomenclature. *Virology*, 410 (1), 201-212.
- Huibregtse, J. M., Scheffner, M. y Howley, P. M. (1993). Localization of the E6-AP Regions That Direct Human Papillomavirus E6 Binding, Association with p53, and Ubiquitination of Associated Proteins, *Molecular and Cellular Biology*, 13(8), 4918–4927.
- Illades-Aguar, B. et al. (2010). Prevalence and distribution of human papillomavirus types in cervical cancer, squamous intraepithelial lesions, and with no intraepithelial lesions in women from Southern Mexico, *Gynecologic Oncology*, 117(2), 291–296.
- Ishidate, T. et al. (2000). The APC-hDLG complex negatively regulates cell cycle progression from the G0 / G1 to S phase”, *Oncogene*, 19, 365–372.
- James, C. D. y Roberts, S. (2016). Viral Interactions with PDZ Domain-Containing Proteins— An Oncogenic Trait?, *Pathogens*, 5((1) 8), 1–22.
- Javier, R. T. y Rice, A. P. (2011). MINIREVIEW Emerging Theme : Cellular PDZ Proteins as Common Targets of Pathogenic Viruses, *Journal of Virology*, 85(22), 11544–11556.
- Jendoubi-ferchichi, M. et al. (2018). Phylogeny and Classification of Human Papillomavirus (HPV) 16 and HPV18 Variants Based on E6 and L1 genes in Tunisian Women with Cervical Lesions, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 19(12), 3361–3366.
- Jiang, P. y Yue, Y. (2014). Human papillomavirus oncoproteins and apoptosis (Review). *Experimental and therapeutic medicine*, 7(1), 3–7.
- Kines, R. C. et al. (2009). The initial steps leading to papillomavirus infection occur on the basement membrane prior to cell surface binding, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 106(48), 20458–20463.
- Kiyono, T. et al. (1997). Binding of high-risk human papillomavirus E6 oncoproteins to the human homologue of the Drosophila discs large tumor suppressor protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(21), 11612–11616.



- Kranjec, C. y Doorbar, J. (2016). Human papillomavirus infection and induction of neoplasia: a matter of fitness, *Current Opinion in Virology*, 20, 1–8.
- Laprise, P., Viel, A. y Rivard, N. (2004). Human Homolog of Disc-large Is Required for Adherens Junction Assembly and Differentiation of Human Intestinal Epithelial Cells*, *The Journal of Biological Chemistry*, 279(11), 10157–10166.
- Lee, H. y Zheng, J. J. (2010). PDZ domains and their binding partners : structure, specificity , and modification, *Cell Communication and Signaling*, 8(1), 1–18.
- Lee, S. S., Weiss, R. S. y Javier, R. T. (1997). Binding of human virus oncoproteins to hDlg SAP97, a mammalian homolog of the Drosophila discs large tumor suppressor protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(13), 6670–6675.
- Leonard, S. M. et al. (2012). Oncogenic Human Papillomavirus imposes an instructive pattern of DNA methylation changes which parallel the natural history of cervical HPV infection in young women, *Carcinogenesis*, 33(7), 1286–1293.
- López-Saavedra, A. y Lizano-Soberón, M. (2006). Cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano: La historia que no termina, en *Cancerología 1. México*, D. F., 31–55.
- Mantovani, F., Massimi, P. y Banks, L. (2001). Proteasome-mediated regulation of the hDlg tumour suppressor protein”, *Journal of cell science*, 104(23), 4285–4292.
- Mesplède, T. Gagnon, D., Bergeron-Labrecque, F., Azar, I., Sénéchal, H., Coutlée, F. et al. (2014) p53 Degradation Activity, Expression, and Subcellular Localization of E6 Proteins from 29 Human Papillomavirus Genotypes. *Journal of Virology*, 86(1) 95-106.
- Meyers, J. M., Spangle, J. M. y Munger, K. (2013). The Human Papillomavirus Type 8 E6 Protein Interferes with NOTCH Activation during Keratinocyte Differentiation, *Journal of Virology*, 87(8), 4762–4767.
- Mirabello, L. et al. (2016). HPV16 Sublineage Associations with Histology-Specific Cancer Risk Using HPV Whole-Genome Sequences in 3200 Women, *Journal of the National Cancer Institute*, 108(9), djw100.
- Montero-Lora, Y. Ramón Jiménez, R., Valverde Ramón, C., Escobedo Batista, F. E. and Hodelín Pozo, E. (2018). Main risk factors in the emergence of cervical cancer. *MEDISAN*, 22(5), 531-536.



- Moody, C. A. (2017). Mechanisms by which HPV induces a replication competent environment in differentiating keratinocytes. *Viruses*, 9(9), 261.
- Mosmann, J. P. et al. (2015). Mutation Detection of E6 and LCR Genes from HPV 16 Associated with Carcinogenesis, *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 16(3), 1151–1157.
- Muñoz, N. et al. (2003). Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer, *The New England Journal of Medicine*, 348(6), 518–527.
- Nakagawa, S. y Huibregtse, J. M. (2000). Human Scribble (Vartul) Is Targeted for Ubiquitin-Mediated Degradation by the High-Risk Papillomavirus E6 Proteins and the E6AP Ubiquitin-Protein Ligase, *Molecular and cellular biology*, 20(21), 8244–8253.
- Nakahara, T. et al. (2005). Human Papillomavirus Type 16 E1 \wedge E4 Contributes to Multiple Facets of the Papillomavirus Life Cycle, *Journal of Virology*, 79(20), 13150–13165.
- Ndiaye, C. et al. (2014). HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: A systematic review and meta-analysis, *The Lancet Oncology*, 15(12), 1319–1331.
- Niccoli, S., Abraham, S., Richard, C. & Ingeborg, Z. (2012). The Asian-American E6 Variant Protein of Human Papillomavirus 16 Alone Is Sufficient To Promote Immortalization, Transformation, and Migration of Primary Human Foreskin Keratinocytes. *journal of virology*, 86(22), 12384-96.
- Nominé, Y., Ristriani, T., Laurent, C., Lefèvre, J. F., Weiss, E. y Trave, G. (2001a). A strategy for optimizing the monodispersity of fusion proteins : application to purification of recombinant HPV E6 oncoprotein, *Protein Engineering*, 14(4), 297–305.
- Nominé, Y., Ristriani, T., Laurent, C., Lefèvre, J. F., Weiss, E. y Trave, G. (2001b). Formation of Soluble Inclusion Bodies by HPV E6 Oncoprotein Fused to Maltose-Binding Protein, *Protein Expression and Purification*, 32(1), 22–32.
- Oliva, C. et al. (2012). Role of the MAGUK Protein Family in Synapse Formation and Function, 72(1), 57–72.
- Pande, S. et al. (2008). Human Papillomavirus Type 16 Variant Analysis of E6 , E7 , and L1 Genes and Long Control Region in Biopsy Samples from Cervical Cancer Patients in North India, *Journal of clinical microbiology*, 46(3), 1060–1066.



- Peña-López, B. O., Romero-Bohórquez, A. R. y Rincón-orocho, B. (2021). Importancia de los interferones tipo I en la respuesta inmune antiviral contra el Virus del Papiloma Humano, *Salud UIS*, 53.
- Pérez-Pérez, N. et al. (2020). Prevalencia de los genotipos de HPV en lesiones pre invasoras de alto grado de malignidad y cáncer de cuello uterino en la población del Hospital de Clínicas. Montevideo-Uruguay, *Anales de la Facultad de Medicina*, 7(2), e202.
- Pientong, C., Wongwarissara, P., Ekalaksananan, T., Swangphon, P., Kleebkaow, P., Kongyingyoes, B., & Suthipintawong, C. (2013). Association of human papillomavirus type 16 long control region mutation and cervical cancer. *Virology journal*, 10, 1-9.
- Piña-Napal, J. C. et al. (2016). Molecular identification of human papilloma virus genotypes in patients with cervical cancer”, *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 20(3), 288–298.
- Ramírez-Pineda, A. T. et al. (2019). Filogenia y oncogénesis del virus del papiloma humano: una aproximación translacional al descubrimiento de biomarcadores para la detección de lesiones precancerosas de cérvix, *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(168), 351–365.
- Reuver, S. M. y Garner, C. C. (1998). E-cadherin mediated cell adhesion recruits SAP97 into the cortical cytoskeleton, *Journal of Cell Science*, 111(8), 1071–1080.
- Ristriani, T. et al. (2001). Specific Recognition of Four-way DNA Junctions by the C- terminal Zinc-binding Domain of HPV Oncoprotein E6, *Journal of Molecular Biology*, 305(4), 729–739.
- Rodríguez-Ruiz, H. A. et al. (2019). In silico prediction of structural changes in human papillomavirus type 16 (HPV16) E6 oncoprotein and its variants, *BMC Molecular and Cell Biology*, 20(1), 1–12.
- Román Collazo, C. et al. (2019). Virus de Papiloma Humano, cáncer cérvico uterino y modificaciones epigenéticas, *Revista Estudiantil CEUS*, 1(2), 15–22.
- Roman, A. y Munger, K. (2013). The papillomavirus E7 proteins, *Virology*, 445, 138–168.
- Ronco, L. V. et al. (1998). Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity, *Genes & Development*, 12(13), 2061–2072.



- Schiffman, M. et al. (2016). Carcinogenic human papillomavirus infection, *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 16086.
- Sendagorta-cudós, E., Burgos-cibrián, J. y Rodríguez-Iglesias, M. (2019). Infecciones genitales por el virus del papiloma humano, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(5), 324–334.
- Serrano Cogollor, L. & López Díaz, A. C., 2017. Módulo 1. Historia natural del VPH. Documento inédito. Madrid.
- Sotelo, N. S. et al. (2012). Cellular Biochemistry, *Journal of cellular biochemistry*, 113(8), 2661–2670.
- Suarez, I. y Trave, G. (2018). Structural Insights in Multifunctional Papillomavirus Oncoproteins, *Viruses*, 10((1): 37), 1–22.
- Subbaiah, V. K. et al. (2011). PDZ domains : the building blocks regulating tumorigenesis, *The Biochemical journal*, 439(2), 195–205.
- Sung, H. et al. (2021). Global Cancer Statistics 2020 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.
- Tan, M. J. A. et al. (2012). Cutaneous β -human papillomavirus E6 proteins bind Mastermind-like coactivators and repress Notch signaling, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(23), E1473–E1480.
- Tonikian, R. et al. (2008). A specificity map for the PDZ domain family, *PLoS Biology*, 6(9), 2043–2059.
- Toro-Montoya, A. I., & Tapia-Vela, L. J. (2023). Virus del papiloma humano (VPH) y cáncer. *Medicina & laboratorio*, 25(2), 467-483.
- Valiente, M. et al. (2005). Binding of PTEN to Specific PDZ Domains Contributes to PTEN Protein Stability and Phosphorylation by Microtubule-associated Serine / Threonine Kinases *, *The Journal of Biological Chemistry*, 280(32), 28936–28943.
- Vande Pol, S. B. y Klingelutz, A. J. (2013). Papillomavirus E6 oncoproteins, *Virology*, 445, 115–137.
- Vande Pol, S. B., Brown, M. C. y Turner, C. E. (1998). Association of Bovine Papillomavirus Type 1 E6 oncoprotein with the focal adhesion protein paxillin through a conserved protein interaction motif, *Oncogene*, 16(1), 43–52.



- Verissimo-Fernandes, J. et al. (2009). Prevalence of HPV infection by cervical cytologic status in Brazil, *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 105(1), 21–24.
- Vonsky, M. et al. (2019). Carcinogenesis Associated with Human Papillomavirus Infection. Mechanisms and Potential for Immunotherapy, *Biochemistry (Moscow)*, 84(7), 782–799.
- Wawrzyniak, Anna Maria Kashyap, R. y Zimmermann, P. (2013). Phosphoinositides and PDZ domain scaffolds, *Advances in experimental medicine and biology*, 991, 41–57.
- White, E. A. et al. (2012). Comprehensive Analysis of Host Cellular Interactions with Human Papillomavirus E6 Proteins Identifies New E6 Binding Partners and Reflects Viral Diversity, *Journal of Virology*, 86(24), 13174–13186.
- Xi, J. et al. (2017). Genetic variability and functional implication of the long control region in HPV-16 variants in Southwest China, *PLOS ONE*, 12(8), e0182388.
- Yeung, C. L. A. et al. (2010). HPV-16 E6 upregulation of DNMT1 through repression of tumor suppressor p53, *ONCOLOGY REPORTS*, 24(6), 1599–1604.
- Zanier, K. et al. (2012). Solution structure analysis of the HPV16 E6 oncoprotein reveals a self-association mechanism required for E6-mediated degradation of p53, *Structure*, 20(4), 604–617.
- Zheng, Z.-M. y Baker, C. C. (2006). Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation, *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 11(3), 2286–2302.

