

Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano

Gerardo Santos-López,^a Luis Márquez-Domínguez,^a Julio Reyes-Leyva,^a Verónica Vallejo-Ruiz^a

General aspects of structure, classification and replication of human papillomavirus

Human papillomavirus (HPV) refers to a group of viruses which belongs to a larger group, commonly referred to as *papillomaviruses*. These viruses are taxonomically located in the *Papillomaviridae* family. Papillomaviruses are small, non-enveloped with a genome of double-stranded DNA and they have affinity for epithelial tissue. Many of them are associated with human infection; they induce benign lesions of the skin (warts) and mucous membranes (condylomas), but they are also associated with some epithelial malignancies, such as cervical cancer and other tumors of the urogenital tract. *Papillomaviridae* contains 16 genera, which are named with a Greek letter prefix and the termination *papillomavirus*, e.g., *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, etcetera. From the clinical point of view, human papillomaviruses infecting the genital tract (which are located in the genus *Alphapapillomavirus*) have been divided into two groups: those of low risk, associated with benign genital warts, and those of high risk, with oncogenic potential, which are the etiological agents of cervical cancer. In this paper we review some relevant aspects of the structure, replication cycle and classification of human papillomaviruses.

Keywords Palabras clave

Human papillomavirus	Virus de papiloma humano
High risk HPV	VPH de alto riesgo
HPV classification	Clasificación del VPH

Los papilomavirus comprenden un grupo de virus pequeños, no envueltos con genoma de ADN de doble cadena, los cuales tienen afinidad por el tejido epitelial. Muchos de ellos están asociados con infección en humanos; producen lesiones en piel (verrugas) y en mucosas (condilomas), pero también están asociados con algunos procesos malignos en epitelio, especialmente con cáncer cervicouterino y otros tumores de tracto anogenital, así como de cabeza y cuello.¹⁻³

La asociación entre verrugas humanas y virus se documentó desde principios del siglo XX, cuando el italiano G. Ciuffo reportó que a partir de un filtrado libre de células se podía reproducir la presentación de verrugas. Más tarde, en 1935, R. Shope y E.W. Hurst demostraron que los papilomavirus pueden causar carcinoma de piel en un modelo de conejo y unos años más tarde la presencia del virus pudo ser comprobada visualmente mediante microscopía electrónica con los trabajos de M.J. Strauss en 1949.^{1,4,5}

Fue hasta principios de la década de 1970 que H. zur Hausen propuso que un virus podría ser el agente etiológico del cáncer cervical en humanos. Y en la década de 1980 su grupo demostró con un análisis de Southern blot la presencia de ADN de dos tipos de virus de papiloma en biopsias de cáncer cervical, nuevos por aquel entonces: los virus de tipo 16 y los de tipo 18.^{4,6} Durante el tiempo transcurrido, desde entonces muchos trabajos de investigación han definido la importancia del VPH en el cáncer y han mostrado que es el principal factor de riesgo para el desarrollo de cáncer cervicouterino y que existen variedades de estos virus que están directamente relacionadas con estos procesos de transformación y otras que no, lo cual permite tener herramientas para el diagnóstico y tratamiento de este importante problema de salud pública.

Estructura viral

Las partículas del VPH son icosaédricas, no presentan envoltura y miden entre 52 y 55 nm de diámetro. La cápside está constituida por 72 capsómeros pentaméricos de la proteína más abundante (L1) en un arreglo con número de triangulación (T) de 7 (figura 1). Otra proteína de la cápside denominada L2 se asocia internamente a un subgrupo de capsómeros formados por L1. Los viriones son resistentes a tratamientos con

^aLaboratorio de Biología Molecular y Virología, Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Instituto Mexicano del Seguro Social, Metepec, Atlixco, Puebla, México

Comunicación con: Gerardo Santos-López
Teléfono: (244) 444 0122
Correo electrónico: gerardo.santos.lopez@gmail.com

Recibido: 22/10/2014

Aceptado: 15/05/2015

Virus del papiloma humano (VPH) hace referencia a un grupo de virus que se encuentra a su vez en un grupo mayor denominado comúnmente papilomavirus, y que se ubica taxonómicamente en la familia *Papillomaviridae*. Los papilomavirus son virus pequeños, no envueltos con genoma de ADN de doble cadena y que tienen afinidad por el tejido epitelial. Muchos de ellos están asociados con infección en humanos; producen lesiones en piel (verrugas) y en mucosas (condilomas), pero también están asociados con algunos procesos malignos en epitelio, como cáncer cervicouterino y otros tumores del tracto anogenital. La familia *Papillomaviridae* contiene 16 géneros, los cuales son nombrados

con una letra griega como prefijo y con la terminación *papillomavirus*; por ejemplo: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, etcétera. Desde el punto de vista clínico, los papilomavirus humanos que infectan la mucosa del tracto genital (los cuales están ubicados en el género *Alphapapillomavirus*) han sido divididos en dos grupos: *los de bajo riesgo*, que se asocian principalmente con verrugas genitales benignas, y *los de alto riesgo*, que presentan un alto potencial oncogénico y son los agentes etiológicos del cáncer cervicouterino. En este artículo revisamos algunos aspectos sobresalientes de la estructura, el ciclo replicativo y la clasificación de los virus de papiloma humano.

Resumen

éter, ácidos y calor (50° por una hora). En los viriones no se han encontrado componentes de naturaleza lipídica ni glicosídica.^{1,7,8} Dentro de la cápside se ubica el genoma viral, que está constituido por ADN de doble cadena covalentemente circularizado.^{1,9}

Genoma y proteínas del virus

El genoma de los papilomavirus mide entre 6800 y 8400 pares de bases (pb) y se encuentra asociado con proteínas del hospedero, las histonas H2a, H2b, H3 y H4, en una estructura del tipo de la cromatina del hospedero.^{8,10}

El genoma ha sido dividido en tres regiones principales: una región reguladora no codificante de aproximadamente 1 kb, la cual se denomina región larga de control (LCR, long control region); una región que incluye genes de expresión temprana, que dan origen a proteínas no estructurales y una región que contiene los genes de expresión tardía, que dan origen a dos

proteínas estructurales. En total se encuentran 9 o 10 marcos de lectura abierta y en todos los papilomavirus están localizados en una sola de las hebras del ADN genómico (figura 2).^{1,11}

La LCR contiene elementos de respuesta para factores de transcripción celulares, tales como AP1, SP1, Oct1, etcétera, así como para las proteínas virales E1 y E2, que controlan la replicación y la expresión del genoma viral. Particularmente, se ha determinado que el VPH 16 posee elementos conocidos como PE (o p97) y PL (o p670), que son promotores que regulan la expresión de genes tempranos y tardíos, respectivamente, así como la presencia de ARNm con modificaciones de corte y empalme (splicing) durante la diferenciación de las células epiteliales.¹²

Los marcos de lectura se agrupan en dos conjuntos denominados genes de expresión temprana (E, early) y genes de expresión tardía (L, late). En el primer grupo se encuentran E1, E2, E4, E5, E6 y E7, mientras que en el segundo se encuentran L1 y L2.^{11,12} En algu-

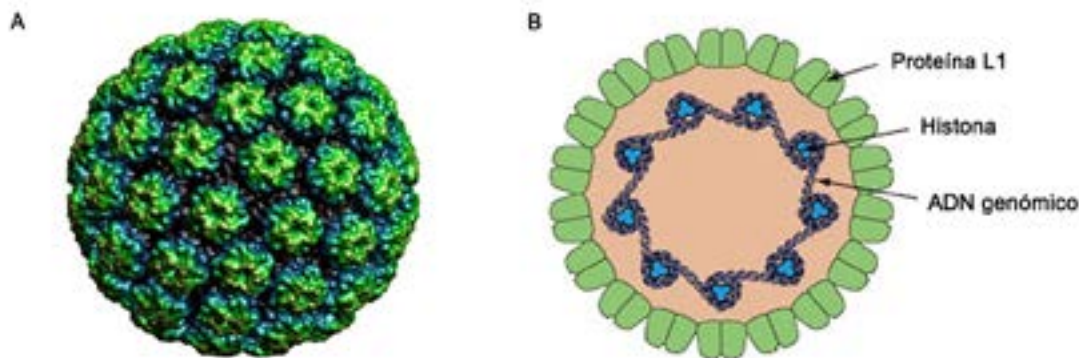


Figura 1 Estructura de los papilomavirus. A) Imagen en 3D de un virión que ha sido reconstruido por medios informáticos a partir de imágenes obtenidas por microscopía crioelectrónica y de la proteína L1 cristalizada. Obtenida de VIPER db: http://viperd.b.scripps.edu/info_page.php?VDB=110t, consultado el 24 de mayo de 2013. B) Diagrama de la cápside del VPH, donde se observa la proteína principal de la cápside L1, así como el genoma viral empaquetado con histonas celulares. Obtenida de Viral Zone: <http://viralzone.expasy.org/>.

nos papilomavirus se pueden identificar dos marcos de lectura adicionales, denominados *E3* y *E8*.¹³

Las proteínas codificadas en el genoma que forman parte de la estructura del virión son solo dos: *L1* y *L2*. Las demás proteínas virales cumplen diferentes funciones durante el ciclo replicativo. En el cuadro I se resumen las funciones generales de las proteínas del VPH.

Ciclo replicativo

Los papilomavirus tienen una alta especificidad por células epiteliales escamosas. En estas células es donde se lleva a cabo la síntesis de nuevas partículas virales. El ciclo replicativo de los papilomavirus se divide comúnmente en dos etapas, denominadas temprana y tardía. Estas etapas están ligadas al estado de diferenciación de la célula epitelial presente en el tejido.^{1,11,12}

El establecimiento del virus en el tejido requiere de la infección de los queratinocitos basales, frecuentemente a través de lesiones o abrasiones en el tejido,

lo cual sugiere que es necesaria la presencia de células con actividad mitótica.¹² La introducción de los viriones en la célula es iniciada por la interacción de la proteína *L1* con heparán-sulfato y sindecano 3 en la superficie celular.^{14,15} Se ha implicado también a la integrina alfa-6 en el ingreso del virus a la célula, cuya interacción induce señales que llevan a inhibir la apoptosis a través de Ras/MAP y PI3K/Akt.^{16,17}

La mayoría de los papilomavirus parece entrar a la célula mediante endocitosis dependiente de clatrina mediada por receptor. El desnudamiento del virión y la salida del genoma viral ocurren en el endosoma. Posteriormente la proteína *L2* y el genoma migran al núcleo. Hay varios trabajos que muestran la importancia de la proteína *L2* en este proceso.^{1,11,12}

Una vez dentro del núcleo, el genoma es transcrito en una serie de procesos complejos que involucra la presencia de múltiples promotores, patrones diversos de modificación del ARNm (splicing), así como una producción diferenciada de los mismos entre distintas células.¹

La *E1* y la *E2* son de las primeras proteínas en expresarse, lo cual genera un control en el número de copias del genoma viral episomal (no integrado al genoma celular). Esas proteínas se mantienen entre 20 y 100 copias por célula. Ambas forman un complejo para reclutar la maquinaria de polimerización celular y factores accesorios para la replicación del genoma.^{1,11} En la capa suprabasal la expresión de los genes *E1*, *E2*, *E5*, *E6* y *E7* contribuye al mantenimiento del genoma viral e induce la proliferación celular, incrementando el número de células susceptibles de ser infectadas, lo cual redundará en una mayor producción viral. En las zonas donde se encuentran las células más diferenciadas se mantiene la expresión de los genes *E1*, *E2*, *E6* y *E7*, además se comienza a expresar el gen *E4*, que tiene la función de amplificar la replicación del genoma viral, incrementando significativamente el número de copias del genoma, mientras que se activa la transcripción de los genes tardíos *L1* y *L2*, involucrados en el ensamble y en la salida de los nuevos viriones.^{11,12,18}

Las funciones tardías de los papilomavirus, tales como la síntesis de ADN viral, de las proteínas de la cápside, así como el ensamble de los viriones ocurren exclusivamente en queratinocitos diferenciados. La regulación transcripcional de los genes tardíos es dirigida por un promotor específico que solo responde en queratinocitos diferenciados. Poco es lo que se sabe del proceso de ensamble y liberación de las partículas virales; sin embargo, la encapsidación del genoma es asistida por *L2* y es facilitada por *E2*. Las partículas se han observado en la capa granular del epitelio, pero no en estratos inferiores. Se asume que el virus no es citolítico y la liberación de las partículas virales no ocurre antes de la capa cornificada del epitelio queratinizado; sin embargo, los mecanismos son aún desconocidos.^{1,11,12,18}

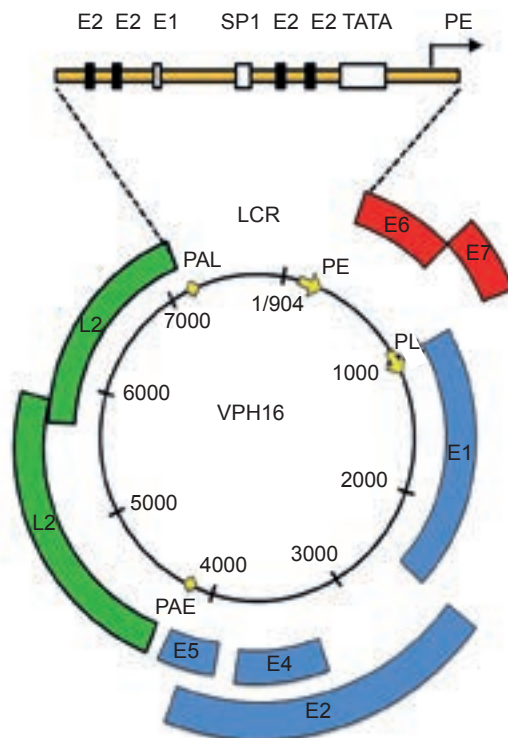


Figura 2 Diagrama del genoma del virus del papiloma humano tipo 16. Se trata de un genoma de doble cadena circularizado de 7904 pares de bases. Se señalan los promotores PE y PL, para la expresión de los genes tempranos y tardíos, respectivamente, así como de los elementos PAE y PAL, que son señales de poliadenilación para los genes tempranos y tardíos, respectivamente. En la parte superior se observa una amplificación de la región larga de control (LCR) con diferentes elementos de respuesta a factores de transcripción virales y celulares. Figura tomada y modificada de Doorbar *et al.*¹²

Cuadro I Proteínas del virus del papiloma humano y funciones asociadas^{10,13,18}

Tipo de proteína	Nombre	Funciones o actividades asociadas
No estructurales	E1	Tiene funciones de helicasa. Es esencial para la replicación y la transcripción
	E2	Esencial para replicación y transcripción viral, segregación genómica y encapsidación
	E4	Regula la expresión de 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 generando aneuploidía e inestabilidad cromosómica, contribuye a la invasión de la respuesta inmunitaria
	E6	Se une e induce la degradación de la proteína supresora de tumores p53, inhibiendo la apoptosis; interactúa con proteínas del 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 proteína supresora de tumores pRB; incrementa la actividad de cinasas dependientes de ciclinas; afecta la expresión de genes de fase S por interacción directa con factores de transcripción E2F y con histona desacetilasa; contribuye a la evasión de la respuesta inmunitaria
	Estructurales	L1
L2		Proteína secundaria de la cápside. Participa en la unión del virión a la célula, en su entrada a la célula y su transporte al núcleo, la liberación del genoma y el ensamble de los viriones

La denominación de E o L se refiere a temprana (early) o tardía (late), de acuerdo con su síntesis o funciones durante el ciclo replicativo. Algunos papilomavirus tienen marcos de lectura para las proteínas E3 y E8, aunque aún se desconocen sus funciones

Las proteínas *E6* y *E7* han sido ampliamente estudiadas y se sabe que son muy importantes en la transformación celular. La proteína *E6* de los virus de alto riesgo, por ejemplo, es capaz de unirse e inducir la degradación de la proteína supresora de tumores p53, lo cual hace que la célula infectada no entre en proceso de apoptosis y pueda seguir albergando el virus. Algo similar sucede con la proteína *E7*, que se une e induce la degradación de la proteína supresora de tumores pRB con consecuencias similares. Se ha asociado selectivamente a la proteína *E6* y su efecto sobre p53 en la discriminación de virus de alto riesgo con los de bajo riesgo, ya que los primeros poseen una proteína *E6* muy activa contra p53, mientras que la *E6* de los virus de bajo riesgo tiene una menor afinidad por p53 y estos casi no tienen efecto sobre ella.^{2,19,20}

Otra importante característica, usualmente asociada a los virus de alto riesgo, es que el genoma viral se integra al genoma de la célula, mientras que en los virus de bajo riesgo el genoma permanece de manera episomal. Este proceso de integración se ha asociado con el paso de una lesión de alto grado a cáncer invasivo. Se ha reportado que en más de la mitad de los casos de cáncer con infección VPH 16 y la mayoría con infección por VPH 18 tienen integrado el genoma viral. No se han identificado de manera específica sitios en los que se da la integración del genoma viral; sin embargo, se ha detectado que ocurre en sitios frágiles de regiones de inestabilidad genómica. En las etapas tempranas de la infección los genes *E6* y *E7* son reprimidos por la

proteína *E2*; empero, cuando el genoma viral se integra al genoma celular, se interrumpe el gen *E2* y se pierde la síntesis de su proteína y por tal motivo las proteínas *E6* y *E7* se incrementan, con lo cual la célula puede ser transformada, inmortalizada y consecuentemente puede aparecer el cáncer.^{2,19-21}

Clasificación de los papilomavirus

La clasificación de los papilomavirus ha sido algo complicada debido a varios factores. A diferencia de otros virus, los papilomavirus no generan una respuesta inmunitaria humoral consistente, ya sea en humanos o en otros mamíferos, por lo cual no ha sido posible desarrollar un sistema de clasificación por serotipos, a lo cual se agrega la carencia de modelos de infección celulares o de animales de laboratorio.^{8,22}

Para la clasificación inicial de los papilomavirus se toman dos criterios básicos: a) el hospedero, ya que se trata de virus que son altamente específicos de especie, y, b) las secuencias genéticas, que permiten la distinción entre diferentes aislamientos de manera detallada.⁸ La secuencia más utilizada para la clasificación de los papilomavirus es la del gen *L1*, que es altamente conservado, aunque se han utilizado también otros genes como *E6* y *E7*. Se establece un nuevo tipo de papilomavirus cuando las secuencias del gen *L1* varían en más de 10 % respecto a tipos virales ya conocidos. Si la diferencia es de 2 a 10 %, se les clasi-

fica como subtipos virales y si la diferencia es menor a 2 % se definen como variantes virales.^{23,24}

Un hecho importante que puede causar confusión es que desde el hallazgo de los primeros papilomavirus 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 papilomavirus.^{6,8} De acuerdo con la clasificación actual en una especie, pueden estar virus que han sido nombrados como tipos diferentes; por ejemplo, en la especie virus del papiloma humano 16, se incluyen los virus tipos 16, 31, 33, 35, 52, 58 y 67. Este dato puede consultarse en la versión en línea de la clasificación de los *papillomavirus* del Comité Internacional de Taxonomía Viral (http://ictvdb.bio-mirror.cn/Ictv/fs_papil.htm, con acceso el 24/05/2013).

En resumen, los papilomavirus forman una familia denominada *Papillomaviridae*, la cual contiene hasta el año 2013, un total de 170 miembros reconocidos como papilomavirus humanos.²⁴ Los miembros están agrupados en 16 géneros, los cuales son nombrados con una letra griega como prefijo y con la terminación *papillomavirus*. Por ejemplo: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, etcétera. Dentro de cada género existen las especies; por ejemplo, en el género *Alphapapillomavirus* hay 15 especies, entre ellas el virus de papiloma humano 16, que, como hemos mencionado, tiene variedades genéticas que pueden ser nombradas con un número diferente.^{6,8}

Desde el punto de vista clínico, los papilomavirus humanos que infectan la mucosa del tracto genital (los cuales están ubicados en el género *Alphapapillomavirus*) han sido divididos en dos grupos: los de bajo riesgo, que se asocian principalmente con verrugas genitales benignas y los de alto riesgo, que presentan un alto potencial oncogénico y son los agentes etiológicos del cáncer cervicouterino.²⁵

En un trabajo multinacional (de nueve países) en 2003 se analizaron muestras de cáncer cervical de 1918 mujeres, con las cuales se propuso la clasificación epidemiológica de VPH de alto o bajo riesgo, de acuerdo con la presencia de tipos determinados en las muestras analizadas.²⁶ Básicamente se propusieron 15 tipos de VPH como de alto riesgo: (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82); tres tipos como de probable alto riesgo (26, 53 y 66) y 12 como de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108).

En un análisis de 2012 se reporta que el VPH tipo 16 es causante del 54.4 % de los casos de cáncer cer-

vicouterino en el ámbito global, seguido por el tipo 18 con 16.5 %, mientras que los tipos 52, 31, 45, 33 y 58 como causantes del 3 al 5 % de los casos.²⁷

Los virus tipo 16 y tipo 18 son los mejor estudiados desde diferentes puntos de vista; por ello, se cuenta con información más detallada de su variación genética, lo cual ha llevado a su subclasificación en variantes. Así, el virus tipo 16 presenta las variantes europea (E), asiática (As), asiático-americana (AA), norteamericana (NA), africana-1 (Af1) y africana-2 (Af2),²⁸ mientras que el tipo 18 presenta las variantes europea (E), africana (Af) y asiático-amerindia (AAI).²⁹

Con el fin de facilitar la nomenclatura de los papilomavirus de importancia médica, se ha creado otra forma de nombrarlos. Todos los papilomavirus que están relacionados con cáncer se ubican en el género *Alphapapillomavirus*. Al graficar un árbol filogenético, los virus constituyentes pueden quedar agrupados en ramas que, en lugar de ser nombradas como especie, lo cual ya se mencionó en este texto, se pueden numerar progresivamente del 1 al 14, formando grupos que se han nombrado como alfa 1 o A1 hasta alfa 14 o A14.^{24,30} Así, por ejemplo en el grupo alfa 9 se encuentran los virus tipo 16, 31, 33, 35, 52, 58 y 67, es decir, que están ubicados en la especie virus del papiloma humano tipo 16, como se mencionó previamente.

Notas finales

Aunque los virus de papiloma han sido ampliamente estudiados por su importancia en relación con la salud humana, aún falta investigar muchos aspectos de la estructura, el ciclo replicativo y la patogénesis para poder enfrentar los problemas que causan. No obstante, también hace falta realizar estudios epidemiológicos en diferentes poblaciones para definir si existen más tipos virales asociados con cáncer y también para definir la clase de vacunas y los tipos virales que deberán contener en el futuro, así como establecer mejores formas de identificación y clasificación genética de los virus y su potencial para causar cáncer.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

- Howley PM, Lowy DR. Papillomaviruses. In: Knipe DM, Howly PM, editors. *Fields Virology*. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins;

2007. p. 2299-354.
- Lizano M, Berumen J, Garcia-Carranca A. HPV-related carcinogenesis: basic concepts, viral types and variants. *Arch Med Res*. 2009;40(6):428-34.
- Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S.

- Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(2):467-75.
4. Zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology.* 2009;384(2):260-5.
 5. Sarid R, Gao SJ. Viruses and human cancer: from detection to causality. *Cancer Lett.* 2011;305(2):218-27.
 6. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology.* 2010;401(1):70-9.
 7. Belnap DM, Olson NH, Cladel NM, Newcomb WW, Brown JC, Kreider JW, et al. Conserved features in papillomavirus and polyomavirus capsids. *J Mol Biol.* 1996;259(2):249-63.
 8. Bernard HU, Burk RD, de Villiers EM, zur Hausen H. Family - Papillomaviridae. *Virus Taxonomy.* San Diego: Elsevier; 2011. p. 235-48.
 9. Garcea RL, Chen XS. Papillomavirus Structure and Assembly. In: Garcea RL, Di Maio D, editors. *The Papillomaviruses.* New York, USA: Springer; 2007.
 10. Hiller T, Iftner T. The human papillomavirus. In: Prendiville W, Davies P, editors. *HPV Handbook.* London, U.K.: Taylor & Francis Group; 2004. p. 11-26.
 11. Conway MJ, Meyers C. Replication and assembly of human papillomaviruses. *J Dent Res.* 2009;88(4):307-17.
 12. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine.* 2012;30 (Suppl 5):F55-70.
 13. Semba 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:e17. doi: 10.4081/oncol.2012.e17. eCollection 2012.
 14. De Witte L, Zoughlami Y, Aengeneyndt B, David G, van Kooyk Y, Gissmann L, et al. Binding of human papilloma virus L1 virus-like particles to dendritic cells is mediated through heparan sulfates and induces immune activation. *Immunobiology.* 2007;212(9-10):679-91.
 15. Knappe M, Bodevin S, Selinka HC, Spillmann D, Streeck RE, Chen XS, et al. Surface-exposed amino acid residues of HPV16 L1 protein mediating interaction with cell surface heparan sulfate. *J Biol Chem.* 2007;282(38):27913-22.
 16. 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):2449-56.
 17. Fothergill T, McMillan NA. Papillomavirus virus-like particles activate the PI3-kinase pathway via alpha-6 beta-4 integrin upon binding. *Virology.* 2006;352(2):319-28.
 18. Fernandes JV, Fernandes TAAM. Human papillomavirus: biology and pathogenesis. In: Broek DV, editor. *Human papillomavirus and related diseases from Bench to Bedside a clinical perspective.* Rijeka, Croatia: InTech; 2012. p. 3-40.
 19. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(8):550-60.
 20. Leto M, Santos Junior GF, Porro AM, Tomimori J. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. *An Bras Dermatol.* 2011;86(2):306-17.
 21. Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res.* 2004;64(11):3878-84.
 22. 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; author reply 50-1.
 23. Picconi MA, Alonio LV, Garcia Carranca A, Lizano M, Cervantes Vazquez G, Distefano AL, et al. [Molecular variants of human papillomavirus (HPV) types 16 and 18 in adenocarcinomas of the cervix]. *Medicina (B Aires).* 2000;60(6):889-94.
 24. De Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology.* 2013. 445(1-2):2-10. doi: 10.1016/j.virol.2013.04.023. Epub 2013 May 16.
 25. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004;324(1):17-27.
 26. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-27.
 27. Crow JM. HPV: The global burden. *Nature.* 2012;488(7413):S2-3.
 28. Ong CK, Chan SY, Campo MS, Fujinaga K, Mavromara-Nazos P, Labropoulou V, et al. Evolution of human papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. *J Virol.* 1993;67(11):6424-31.
 29. Yamada T, Wheeler CM, Halpern AL, Stewart AC, Hildesheim A, Jenison SA. Human papillomavirus type 16 variant lineages in United States populations characterized by nucleotide sequence analysis of the E6, L2, and L1 coding segments. *J Virol.* 1995;69(12):7743-53.
 30. Burk RD, Chen Z, Harari A, Smith BC, Kocjan BJ, Maver PJ, et al. Classification and nomenclature system for human Alphapapillomavirus variants: general features, nucleotide landmarks and assignment of HPV6 and HPV11 isolates to variant lineages. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat.* 2011;20(3):113-23.