

VIRUS PAPILOMA HUMANO. BIOLOGÍA MOLECULAR, GENÉTICA Y MECANISMO ONCOGÉNICO. PARTE II

*Dra. Elizabeth Ball**

Elizabeth Ball. **Virus Papiloma Humano. Biología Molecular, Genética y Mecanismo Oncogénico, Parte II.** Derm. Venez, 1999, 37: 5-10

RESUMEN

La relación causal entre la infección por el virus papiloma humano (VPH) y el cáncer cervical y anogenital es clara y definitiva. En la segunda parte de esta revisión se discute extensamente el mecanismo molecular de la oncogénesis viral, los aspectos inmunológicos involucrados en la infección y la oncogenicidad del virus. Finalmente se presentan dos modelos clínicos de oncogénesis viral asociados con inmunosupresión como son los pacientes con epidermodisplasia verruciforme y los transplantados renales. El mecanismo oncogénico del virus depende definitivamente de la expresión de los oncogenes E6 y E7, sin embargo, se requiere de factores ambientales y de fallas en los mecanismos de control e inmunidad celular del huésped para que ocurra el desarrollo del tumor.

Palabras claves: epidermodisplasia verruciforme - inmunología - oncogénesis oncoproteínas trasplante renal - virus papiloma humano.

ABSTRACT

The causal association between human papillomavirus infection and cervical and anogenital cancer is clear and definite. In the second part of this review I discuss extensively the molecular mechanism of viral oncogenesis and the immunological aspects of the infection and oncogenicity of the virus. Finally two models or viral oncogenesis associated with immunosuppression, namely epidermodysplasia verruciformis and renal transplant patients, are presented. The oncogenic mechanism of the virus depends on the expression of the oncogenes E6 and E7, however, environmental factors and a failure in the cell-mediated immune response of the host are required for the development of tumors.

Key words: epidermodisplasia - human papilloma - oncogenesis oncoproteins - renal transplant - verruciformis virus.

VIRUS PAPILOMA HUMANO (VPH) Y ONCOGENESIS

La progresión de lesiones benignas producidas, por VPH a lesiones malignas comparte una serie de características.¹

1. Sólo algunos de los tipos de virus tienen potencial oncogénico.

2. Hay un largo periodo de latencia entre la infección inicial y el desarrollo de cáncer (Ca) invasivo, estimado entre 5 a 20 años.
3. Existen una serie de cofactores involucrados en la conversión maligna. Los carcinomas, espinocelulares (CEC) en pacientes con epidermodisplasia verruciforme (EV) y en transplantados renales (TR) ocurren primordialmente en áreas de exposición solar. El tratamiento de papilomas laríngeos con radioterapia aumenta la probabili-

dad de conversión maligna del papiloma. En el Ca de cuello uterino se ha implicado el hábito tabáquico.

4. En pacientes con Ca cervical, el tejido afectado con frecuencia presenta áreas de menor grado de malignidad adyacentes a áreas de mayor grado. Estudios de hibridación in situ demuestran que el mismo tipo de VPH se encuentra en lesiones de todos los grados de severidad, indicando cambios secuenciales del mismo proceso.

* Médico Dermatólogo Docente del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Caracas UCV.

MECANISMO ONCOGÉNICO DEL VPH

Los Virus oncogénicos pueden originar tumores al infectar animales apropiados. En líneas celulares cultivadas producen 2 fenómenos: transformación e inmortalización.^{2,3} La transformación es un cambio genético y estable en los parámetros de crecimiento celular producido por la introducción de un gen viral; el gen puede inducir aumento de la tasa de división celular, alteración de los requerimientos nutricionales, las células se hacen independientes de factores de crecimiento, o se hacen resistentes a los factores que inducen la diferenciación celular y pierden la inhibición por contacto célula-célula que controla la división celular.^{1,2,3} Las células epiteliales cultivadas, por ejemplo los queratinocitos, se dividen sólo por un número limitado de generaciones, luego envejecen y mueren. La introducción de un oncogen hace que estas células cultivadas se hagan "inmortales".⁴

Los dos productos genéticos necesarios para transformar e inmortalizar las células epiteliales humanas son los originados de los genes E6 y E7 del VPH. Las evidencias que soportan el papel causal de estos oncogenes en el desarrollo de tumores son las siguientes: los oncogenes E6/E7 se expresan en forma constante en células cancerosas; los mecanismos que regulan la expresión de E6/E7 están ausentes en las células cancerosas; E6/E7 son capaces de inmortalizar células y promover la inestabilidad del genoma de la célula huésped; el bloqueo de la función de los genes E6-E7 lleva a la re-versión del fenotipo maligno de las células cancerosas.¹ Estas oncoproteínas se unen e interactúan respectivamente con las proteínas celulares p53 y pRb que son proteínas reguladoras del ciclo celular.

Interacción entre la oncoproteína E6 y la proteína p53:

p53 es un factor de transcripción celular, es decir, un factor que controla la expresión de genes específicos. Actúa como un guardián del ciclo celular preservando la fidelidad de la replicación del DNA. Las mutaciones de p51 son la anomalía genética más comúnmente

encontrada, en los tumores humanos. Si el DNA celular es dañado, los niveles de p53 aumentan y se produce una detención del ciclo celular en G1, permitiendo su reparación. Además, p53 induce apoptosis en células con daño irreparable del DNA.^{4,6,11} La oncoproteína E6 del VPH de alto riesgo se une a p53 a través de una proteína llamada E6-AP, necesaria para la formación del complejo E6-p53. La formación de este complejo, a través de la activación del mecanismo proteolítico de la ubiquitina, produce la de-gradación de p53.⁸ La oncoproteína E6 del VPH de bajo riesgo, no inactiva a p53 porque sólo se une a su extremo C-terminal y esta interacción no produce la degradación de p53.⁵ La de-gradación de p53 impide una adecuada reparación del DNA, lo cual lleva a inestabilidad del genoma, mutaciones, alteraciones cromosómicas y formación de tumores.^{4,6,7,10,11,12}

Interacción entre E7 y pRb: la pRb es una fosfoproteína cuya función es regular la entrada de la célula al ciclo de división celular. La mutación del gen de la pRb se ha encontrado en familias con riesgo hereditario de Ca, incluyendo el retinoblastoma del ojo de la infancia.^{4,7,13} Durante el ciclo celular la pRb experimenta ciclos de fosforilación y defosforilación. La forma no fosforilada es la forma activa que suprime la división celular. Durante la fase tardía de la mitosis, la pRb es defosforilada, se une al factor de transcripción E2F, lo secuestra e impide que este factor transcriba los genes necesarios para que la célula entre a la fase S del ciclo celular, de modo que la célula se detiene en la fase G1 del ciclo celular (fase de reposo).

Durante la fase S, G2 y la mitosis temprana, la pRb es fosforilada por enzimas quinasas ciclino-dependientes y pasa a su forma inactiva, permitiendo la labor del factor de transcripción

La oncoproteína E7 se une a pRb en el mismo sitio de unión que el factor de transcripción E2F desplazando a este último de modo que queda libre para activar la replicación y transcripción del DNA. La inactivación funcional de pRb, permite la progresión de la célula a la fase S del ciclo celu-

lar (fase de replicación del DNA). La oncoproteína E7 de los VPH de bajo riesgo interactúa con la pRb con menor afinidad y eficacia.^{4,7,13,14}

Cooperación entre E6 y E7 en la transformación maligna: los estudios experimentales demuestran que es necesaria la acción cooperadora y la expresión continua de los genes E6 y E7 para la inmortalización celular. Se ha especulado que E7 produciría las mutaciones y E6 impediría la reparación de estas mutaciones mediante la degradación de p53.^{7,10}

En los VPH de alto riesgo, la expresión de E6 y E7 es controlada por factores celulares del huésped (genes), capaces de restringir la transcripción de VPH en células normales. Estos genes reguladores podrían ser el blanco principal de eventos mutagénicos. Los VPH de bajo riesgo, aunque estimulan la proliferación celular, son aparentemente incapaces de inducir mutaciones y la progresión tumoral dependería más de factores externos no bien conocidos. La conversión maligna con estos tipos de VPH es rara y cuando ocurre, se producen carcinomas verrugosos, localmente invasivos, pero sin potencial metastásico.⁷

Rol de la integración viral en la transformación maligna:

el DNA integrado se define como la unión covalente del DNA viral al DNA cromosomal. En contraste, el DNA episomal es un DNA circular libre en el núcleo capaz de replicarse y producir viriones. La integración del DNA del VPH, se observa principalmente en carcinomas invasivos (Ca). Las lesiones premalignas por lo general presentan DNA episomal. En infección por VPH 16 y 18 ocurre integración del DNA, no así en infecciones por VPH de bajo riesgo 6 y 11.^{7,15} El sitio de integración del VPH en el genoma del huésped parece ser un fenómeno aleatorio. En algunos casos, la integración del genoma del VPH ocurren en la vecindad de oncogenes conocidos tales como el c-myc (situado en el cromosoma 8). Una hipótesis atractiva es que la integración del genoma viral en la vecindad de un oncogen, proporcionaría un ambiente propicio para la proliferación celular y progresión de una lesión preneoplásica a cáncer.⁷⁰ Existe

especificidad sobre el sitio en el cual se rompe el genoma viral para integrarse al genoma celular. La integración por lo general ocurre en la región E1 - E2 del genoma. Las proteínas E1 y E2 actúan primordialmente reprimiendo la actividad del promotor que permite la transcripción de los oncogenes E6 y E7. En los Ca cervicales VPH + con integración del DNA, E1 y E2 dejan de expresarse y sólo E6 y E7 se siguen expresando.¹⁰

Control celular de la expresión de oncogenes virales: desde 1977 se ha manejado la hipótesis de que existen mecanismos de control celular que, regulan la expresión de oncogenes virales. Los estudios experimentales han demostrado 3 grupos de factores celulares que influyen en la expresión de los oncogenes E6 y E7.⁷

1. **Citocinas:** la producción de citocinas deriva tanto de células infectadas por VPH como de células infiltrantes del sistema inmune. Las principales citocinas inhibitorias de la expresión de oncogenes del VPH son el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , interleucina (IL)-1, factor nuclear, IL-6, factor de crecimiento transformador (TGF)- β , interferones, y factor de crecimiento epidérmico (EGF).¹⁶ Además las citocinas son capaces de inhibir la proliferación de queratinocitos infectados por VPH, estimular la diferenciación de clones de linfocitos T dirigidos contra queratinocitos infectados o transformados por VPH e inhibir las metástasis de tumores asociados a VPH.¹⁷

2. **Señales mediadoras intracelulares que controlan la expresión de E6 y E7:** se ha demostrado que existe un gen supresor de tumores localizado en el cromosoma 11, el cual al ser transferido a células de Ca cervical resulta en supresión del fenotipo maligno. Este gen que hipotéticamente se ha llamado factor de interferencia celular, inhibe la transcripción del VPH. Su mutación podría anular uno de los mecanismos celulares necesarios para inhibir la expresión de E6 y E7.^{7,12}

3. **Factores de transcripción celular que suprimen la transcripción del VPH:** la región LCR del genoma del

VPH tiene sitios de unión para numerosos factores de transcripción celular que regulan la transcripción de los oncogenes E6/E7.⁷ Los factores de transcripción celular que inhiben la transcripción de los oncogenes son:

Receptores nucleares del ácido retinoico (RAR): el ácido retinoico reprime la transcripción del VPH tanto en células malignas como no malignas. Sin embargo, sólo en células no malignas, el ácido retinoico induce la expresión de sus propios receptores, sugiriendo que las células malignas presentan una disregulación de los RAR, permitiendo que ocurra la transcripción viral.⁷

• **Gen YY1:** es un gen represor de la transcripción tanto en células malignas como no malignas. Las mutaciones de este gen aumentan la transcripción del VPH.⁷

Hallazgos inmunológicos asociados a infección por VPH

• Las células cancerosas VPH+ son resistentes al efecto citolítico de las células asesinas naturales (NK).¹⁸

• Los macrófagos, activados reconocen selectivamente y destruyen células neoplásicas infectadas por VPH 16. Además, inducen la expresión de la proteína MCP-1 (proteína quimiotáctica de macrófagos) que reprime la expresión de oncogenes E6 y E7.^{7,18}

• **Citocinas:** las células epiteliales cervicales normales expresan IL-1, IL-6, IL-8, FNT- α y GM-CSF. La síntesis de estas citocinas se encuentra significativamente reducida en Ca, VPH.

+La disminuida expresión de estas citocinas pudiera influir negativamente en los procesos inflamatorios y de inmunidad de la mucosa cervical y disminuir la actividad de las células NK sobre las células epiteliales cervicales.¹⁸

La densidad de las células de Langerhans en la mayoría de las lesiones por VPH está muy reducida en comparación con la epidermis normal.¹⁸

• La expresión de las moléculas de la clase I del CMH está muy reducida o ausente en más del 75% de las lesiones, NIC y Ca Cervicales.¹⁸

• Ciertos tipos de antígenos (Ags) de la clase II del CMH influyen en el desarrollo de las neoplasias asociadas a VPH. El riesgo de Ca cervical aumenta en mujeres HLA-DQW3. Pacientes trasplantados renales tienen mayor riesgo de desarrollar Ca de piel.^{18,19}

El modelo hipotético actual sobre el mecanismo oncogénico del VPH sería el siguiente: en células normales existe una fuerte regulación de la transcripción de los oncogenes virales, acoplada con el estado de diferenciación celular, que previene el comportamiento displásico e invasivo de la célula infectada. La fase temprana de desarrollo del carcinoma se origina de una serie de eventos que interrumpen la cascada de mecanismos reguladores intracelulares. Una de las modificaciones más importantes afectaría un gen aún no identificado localizado en el cromosoma 11. Otros genes reguladores alterados por las mutaciones producidos por los oncogenes, actuarían como cofactores adicionales. El segundo nivel de control celular ocurriría a nivel de los factores de transcripción celular: modificaciones del factor represor de la transcripción YY1 contribuiría con la activación de la transcripción de los genomas del VPH.^{4,7,10,12,20,21} El tercer nivel de protección contra la progresión a Ca inducida por VPH es el control inmunológico.^{15,18,19} La respuesta de inmunidad celular juega un rol importante en el control de las neoplasias asociadas a VPH. Las verrugas y neoplasias por VPH ocurren con más frecuencia en poblaciones con depresión de la inmunidad celular. Existen 2 modelos de enfermedad, humana en los cuales hay un aumento de la incidencia de Ca de piel en combinación con infección por VPH y defectos en la inmunidad celular: la epidermodisplasia verruciforme y los pacientes trasplantados renales que reciben terapia inmunosupresora.

Epidermodisplasia Verruciforme

Es un raro desorden genético descrito por Lewandowsky y Lutz en 1922. Es una enfermedad poligénica y multifactorial que involucra mecanismos genéticos, infecciosos y ambientales.²² Se cree que la herencia es autosómica recesiva, aunque se han reportado casos asociados al cromosoma X y puede ser familiar o esporádica. Un rasgo característico de la enfermedad es la incapacidad de reconocer y rechazar tipos de VPH específicos inofensivos en la población general. Una vigilancia inmunológica genéticamente determinada previene el crecimiento invasivo y las metástasis de los tumores de piel. La EV representa el primer modelo natural de oncogénesis viral cutánea en humanos.^{19,23,24,25} Las lesiones benignas se asocian con varios tipos de VPH, con frecuencia los pacientes están infectados con varios tipos simultáneamente. En los Ca de piel se encuentra principalmente VPH 5 y 8.^{23,24,25}

Manifestaciones clínicas: los primeros cambios cutáneos aparecen a los 5-8 años de edad. Los más característicos son máculas hipocrómicas, eritematosas o hiperpigmentadas que aparecen sobre todo en el tronco y lesiones tipo verrugas planas abundantes y confluentes ampliamente distribuidas sobre la superficie corporal, sobre todo en caray extremidades. Si los pacientes están infectados exclusivamente por los VPH asociados a EV sus condiciones generales son buenas. En cambio, los pacientes con infección mixta por VPH asociados a EV y VPH 3 tienen un severo defecto en su inmunidad celular y están propensos a infecciones virales y bacterianas. La conversión maligna ocurre en el 50% de los casos. A partir de los 30 años y sobre todo en la 4ta-5ta década de la vida, comienzan a aparecer CEC, queratosis actínicas múltiples y enfermedad de Bowen, sobre todo en zonas fotoexpuestas y traumatizadas. Las lesiones maculares y los papilomas tipo queratosis seborreicas raramente se malignizan. Los CEC son localmente destructivos, pero crecen muy lentamente y no metastatizan, aún si se localizan cerca de las mucosas. Se han reportado casos aislados de tumores

como linfomas, astrocitoma cerebral y adenocarcinoma intestinal, pero no hay indicios de su relación directa con el VPH. La inmunosupresión pudiera ser un factor predisponente para el desarrollo de estos tumores.^{22,23,24,25}

Aspectos inmunológicos: el defecto específico de la inmunidad celular parece relacionarse con una alteración en la presentación del Ag al linfocito T (LT) en la epidermis o con un defecto en la citotoxicidad natural. Las células de Langerhans no presentan cambios significativos.^{26,27} Otros defectos inmunológicos en EV son los siguientes: disminución en la población de LT y LT CD4+; baja respuesta in vitro a mitógenos; incapacidad de sensibilizarse al DNCB y un defecto específico de la respuesta de los LT y NK a los Ags específicos de los VPH asociados a EV. La luz UV actuaría como cofactor adicional induciendo mutaciones del antioncogen p53, produciendo una inmunosupresión inespecífica y alterando aún más el mecanismo de presentación del Ag. Otro cofactor sería el traumático, ya que los carcinomas espinocelulares (CEC) se desarrollan con frecuencia en áreas sometidas a traumatismo.^{5,23,24,25}

VPH y Cáncer de piel en trasplantados renales

En los pacientes trasplantados renales (TR) que reciben terapia inmunosupresora la incidencia de verrugas

y de Ca de piel es alta y proporcional a la intensidad y duración de la inmunosupresión.²⁸ Al finalizar al primer año postransplante, el 15% de estos pacientes presentan verrugas. A los 5 años la incidencia aumenta en un 77-87%. El Ca de piel, sobre todo CEC en áreas fotoexpuestas, se presenta en el 12% de los pacientes a los 5 años postransplante^{29,30} y en el 40% a los 9 años postransplante.³¹ En pacientes TR, el riesgo estimado de desarrollar CEC es de 5 a 250 veces mayor y el de desarrollar EBC es 450 veces mayor que en la población general.³² Los factores de riesgo incluyen la edad, radiación solar y el grado de inmunosupresión. El mecanismo molecular de la oncogénesis en los estados de inmunosupresión no es aún bien conocido. El VPH parece iniciar un proceso de carcinogénesis expresando las proteínas E6 y E7 que se asocian con proteínas supresoras de tumores codificadas por las células del huésped, facilitando la replicación viral y eliminando la respuesta de apoptosis de la célula huésped ante la infección viral.³³

Aunque los estudios epidemiológicos indican una fuerte asociación entre el número de verrugas y la frecuencia de Ca, los datos concernientes a la detección del DNA de VPH en las lesiones de piel de TR son conflictivas. Algunos autores han encontrado una alta prevalencia de DNA de VPH en Ca de piel, mientras que otros no han aislado ningún tipo de VPH.^{29-34,38} (Cuadro 1).

Cuadro 1 Detección de DNA de VPH en Ca de piel en trasplantados renales (Diferentes estudios*)				
Año	Autor	Técnica	%CEC VPH+***	Tipo de VPH
1989	Barr	Dot-Blot	60% (n=25)**	5,8
1991	Dyall-Smith	PCR	0%	-
1993	Euvrard	Hib. In situ	47% (n=30)	1,2,16,18
1993	Soler	PCR, Hib. In situ, Southern Blot	71% (n=24)	6,11
1994	Shamanin	PCR	55% (n=20)	20,29, otros
1994	Tieben	PCR	21% (n=24)	5,8,14,36, otros

** n= es el número de CEC estudiados
* (Referencias 29,34,35,36,37,38)
*** % carcinomas espinocelulares positivos para genoma VPH

Las discrepancias observadas en estos estudios reflejan las diferentes técnicas utilizadas y su diferente especificidad y sensibilidad. Es posible también que ocurra contaminación del material o que el VPH esté presente en forma casual.^{31,39}

Recientemente de Jong-Tieben y col. estudiaron 96 biopsias de lesiones de pacientes TR y determinaron DNA de VPH con una técnica de PCR mucho más sensible que las utilizadas anteriormente. Las lesiones en las cuales se tipificó VPH incluían: CEC, EBC, enfermedad de Bowen, queratosis actínicas y queratoacantomas. De las 55 lesiones en las que se pudo tipificar el VPH, un 23% presentaron varios tipos simultáneamente. Todas las muestras contenían tipos de VPH que están restringidas sólo a los pacientes con EV, sin embargo el tipo 5 y 8 (que son los más frecuentes en EV) no fueron aislados; tampoco encontraron VPH 6 ni 11 a diferencia de otros estudios.⁴⁰ Los datos de este trabajo indican que con frecuencia más de un tipo de VPH está presente en una misma lesión de los pacientes TR. La presencia de DNA de VPH de los tipos asociados a EV en un alto porcentaje de las lesiones malignas y premalignas, soporta el rol de estos tipos de VPH en el desarrollo de Ca de piel en los TR. Pero por otro lado, la presencia de múltiples tipos de VPH en una misma lesión hablaría a favor de que el VPH es sólo un pasajero o "espectador inocente" o incluso un contaminante procedente de verrugas vulgares muy frecuentes en este grupo de pacientes. Otra hipótesis planteable es que el VPH sea importante para la iniciación pero no para el mantenimiento del fenotipo maligno.⁴⁷

Mac Gregor y col. estudiaron 115 tumores de piel provenientes de un grupo de pacientes TR y de un grupo de pacientes sanos, se encontró que aprox. el 50% de las lesiones de ambos grupos de pacientes presentaban mutaciones en el gen de la p53. En el grupo de TR, 78% de las muestras histológicas demostraban cambios citopáticos virales. Sin embargo, en ninguna de las muestras encontraron DNA de VPH de los tipos oncogénicos. Los autores concluyen que estos tipos oncogénicos no intervienen en el de-

sarrollo de Ca de piel en los TR y que las mutaciones del gen de la proteína p53 y no su inactivación por las oncoproteínas virales, son importantes en la biología de estos tumores.⁴²

Conclusión

La biología molecular del VPH es interesante y compleja. La prevalencia de infección por este virus se ha incrementado en los últimos años, debido a los cambios en el comportamiento sexual. Los estudios sobre el VPH se han intensificado dadas las evidencias epidemiológicas y experimentales de su relación con Ca cervical y anogenital. El VPH también se ha relacionado con otros tipos de Ca incluyendo Ca de piel, cavidad oral, nasal, laringe y el raro Ca periungueal. La mayoría de los estudios sobre la oncogénesis del virus se han realizado en Ca cervical. El mecanismo oncogénico depende principalmente de la actividad de los oncogenes E6 y E7 de los VPH de alto riesgo. Su ex-presión es necesaria pero no suficiente para la conversión maligna y se requiere de otros desencadenantes tales como factores ambientales, fallas en los mecanismos de control celular e inmunidad del huésped para que ocurra el desarrollo del tumor. La relación del VPH con Ca de piel en pacientes con EV es clara y definitiva. En los pacientes TR esta relación es aún controversial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Shah KV, Gissman L: Experimental evidence on oncogenicity of papillomavirus. In: Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Eds: Muñoz N, Bosch FX, Jensen OM. International Agency for Research on Cancer Lyon 1989. Cap. 5: 105-111.
2. Virus Oncógenos. Microbiología Médica. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. eds. Décima edición 1985. Editorial El Manual Moderno.
3. Latchman D: Transcription-factor Mutations and Disease. New Eng J Med 1996; 334 (1): 28-33.
4. Androphy EJ: Molecular Biology of Human Papillomavirus Infection and Oncogenesis. J Invest Dermatol 1994; 103 (2):248-56.

5. Majewski S, Jablonska S: Human papillomavirus-associated tumors of the skin and mucosa. J Am Acad Dermatol 1997; 36: 659-85
6. Perry ME, Levine A: Tumor-suppressor p53 and the cell cycle. Current Opinion in Genetics and Development 1993; 3: 50-54.
7. Zur Hausen H: Molecular Pathogenesis of Cancer of the Cervix and Its Causation by Specific Human Papillomavirus, Types. Current Topics in Microbiology and Immunology 1994; 186:131-52.
8. Iluibrigtse JM, Schffner M, Beaudenon S, et al. A family of proteins structurally and functionally related to the E6-AP ubiquitin-protein ligase. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 2563-7.
9. Li X, Coffino, P. High-risk human papillomavirus E6 protein has two distinct binding sites within p53, of which only one determines degradation. J Virol 1996; 70: 4509-16.
10. Schffner M, Romanczuk II, Munger K, et al: Functions of Human Papillomavirus Proteins. Curr Top Microbiol Immunol 1994; 185: 83-97.
11. Activación Linfocitaria e Infección por el Virus Papiloma Humano. Curso de Inmunología Básica y Clínica en la Práctica Médica. Comité Editor: Baroja Lorea M, Machado 1. Spagnuolo, Caldera L, Mondolfi A, Tassinari P.
12. Zur Hausen H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. J Cancer Res Clin Oncol 1996; 122: 3-13.
13. Hollingsworth RE, Hensley CE, Lee Wen-Hwa: Retinoblastoma protein and the cell cycle. Current Opinion in Genetics and Development 1993; 3: 55-62.4.
14. Huibrigtse JM, Scheffner M. Mechanisms of tumor suppressor protein inactivation by the human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins. Semin Virol 1994; 5: 357-67.
15. Crum CP, Noug GJ: Genital Papillomavirus and Related Neoplasms. Raven Press. New York 1991.
16. Kyo S, Inoue M, Ilayasaka N, et al. Regulation of early gene expression of human papillomavirus type 16 by inflammatory cytokines. Virology 1994; 200: 130-9.
17. Tindle RSV, Frazer IH. Immune response to human papillomaviruses and the prospects for human papillomavirus-specific immunisation. Curr Top Microbiol Immunol 1994; 186: 218-53.
18. Wu Tzyy-Chou: Immunology of the human papilloma virus in relation to cancer. Current Opinion in immunology 1994; 6: 746-54.

19. Zur Hausen H, de Villiers EM: Human Papillomaviruses. *Ann Rev Microbiol* 1994; 48: 427-47.
20. Mc Dougall JK: Immortalization and transformation of human cells by human papillomaviruses. *Curr Top in Microbiol Immunol* 1994; 186: 101-19.
21. Mac Gregor JM, Rustin MHA: Human papilloma virus and skin cancer. *Postgrad Med J* 1994; 70: 682-5
22. Majewski S, Breitburd F, Skopinska M, Croissant O, et al: A mouse model for studying epidermodysplasia-*verruciformis*-associated carcinogenesis. *Int J Cancer* 1994; 56: 727-30.
23. Jablonska S: Human Papillomavirus: Epidermodysplasia *Verruciformis*. In: *Dermatology in General Medicine*. Fitzpatrick TB., eds. Vol 2, cap. 213:2621-27. Cuarta Edición 1993, Mc Graw-Hill.
24. Jablonska S, Majewski S: Epidermodysplasia *Verruciformis*: Immunological and Clinical Aspects. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 1994; 186: 157-175.
25. Majewski S, Jablonska S. Epidermodysplasia *verruciformis* as a model of human papillomavirus-induced genetic cancer of the skin. *Arch Dermatol* 1995 131: 1312-8.
26. Cooper KD, Androphy EJ, Lowy D, et al. Antigen presentation and T-cell activation in epidermodysplasia *verruciformis*, *J Invest Dermatol* 1990; 94: 769-76.
27. Majewski S, Malejczyk J, Jablonska S, et al, Natural cell-mediated cytotoxicity against various target cells in patients with epidermodysplasia *verruciformis*. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22: 423-7.
28. Euvrard S, Kanitakis J, Pouteil-Noble C, et al. Comparative epidemiologic study of premalignant and malignant epithelial cutaneous lesions developing after kidney and heart transplantation. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33: 222-9.
29. Barr BB, Mc Laren K, Smith IW, et al: Human papillomavirus infection and skin cancer in renal allograft recipients. *Lancet* 1989; 124-9.
30. Boyle J. MacKie RM. Briggs JD: Cancer, warts and sunshine in renal transplant patients. *Lancet* 1984; 1: 702-5.
31. Proby CM, Shamanin IV, Rausch C, et al. Novel human papillomaviruses identified in skin cancer from renal transplant recipients [abstract]. *Br J Dermatol* 1995; 132:644.
32. Mc Gregor JM, Morris R, Smith CFI, et al. Immunosuppression and the multistage model of tumorigenesis: clinical observations in renal transplant recipients [abstract]. *Br J Dermatol* 1995; 1312: 644.
33. Morris JDH, Eddleston ALWF, Crook T. Viral infection and cancer. *Lancet* 1995; 346: 754-8.
34. Dyal-Smith D, Trowel] H, Mark A, Dyal-Smith M: Cutaneous squamous cell carcinomas and papillomaviruses in renal transplant recipients: a clinical and molecular biological study. *J Dermatol Sci* 1991; 2; 139-146.
35. Euvrard S. Chardonnet Y. Pouteil-Noble C. Kanitakis J, et al: Association of skin malignancies with various and multiple carcinogenic and noncarcinogenic human papillomaviruses in renal transplant recipients. *Cancer* 72: 198-206, 1993.
36. Soler C, Chardonnet Y, Allibert P, Euvrard S, et al: Detection of mucosal human papillomavirus types 6/11 in cutaneous lesions from transplant recipients, *J Invest Dermatol* 1993; 101: 286-291.
37. Shamanin V, Glover M, Rausch C, Proby C, et al: Specific types of human papillomavirus found in benign proliferations and carcinomas of the skin in immunosuppressed patients. *Cancer Res* 1994; 54: 4610-4613.
38. Tieben LM, Berkhout RJM, Smits HL, Bouwes Bavinck .IN, et al: Detection of epidermodysplasia *verruciformis*-like human papillomavirus types in malignant and premalignant skin lesions of renal transplant recipients. *Br J Dermatol* 1994; 131: 226-3.
39. Kawashima M, Favre M, Obalek S, et al. Premalignant lesions and cancer of the skin in the general population: evaluation of the role of human papillomaviruses. *J Invest Dermatol* 1990; 95: 537-42.
40. de Jong-Tieben LM, Berkhout RJM, Smits HL, et al: High Frequency of Detection of Epidermodysplasia *Verruciformis*-Associated Human Papillomavirus DNA in Biopsies from Malignant and Premalignant Skin Lesions from Renal Transplant Recipients. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 367-71.
41. Shamanin V, Zur Hausen H, Lavergne D, et al. ILPV infections in non-melanoma skin cancers from renal transplant recipients and non-immunosuppressed patients. *J Nail Cancer Inst* 1996; 88: 802-11.
42. Mc Gregor JM, Farthing A, Crook T, et al: Posttransplant skin cancer. A possible role for p53 gene mutation but not for oncogenic human papillomaviruses. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 701-6.