

## Generalidades de Papilomavirus con énfasis en equinos

Juliana Mira Hernández<sup>1</sup>

### ■ Resumen

Los papilomavirus son reconocidos como agentes causales de una gran variedad de enfermedades proliferativas en muchas especies. Estos virus son altamente especie específicos y se sugiere que cada especie animal tiene su propio grupo de virus. Con el descubrimiento de papilomavirus específicos como causantes primarios de cáncer cervical, el estudio sobre esta familia de virus creció en los últimos 30 años, lo que llevó a la expansión de investigaciones en medicina veterinaria. Las enfermedades en caballos asociadas a papilomavirus incluyen: papilomatosis clásica, papiloma/papilomatosis genital y placa aural. A pesar de algunas similitudes en las lesiones, el curso y la distribución de éstas varía dependiendo del tipo de virus implicado.

**Palabras clave:** Caballo, *Papilomaviridae*, virología.

<sup>1</sup> MV, Est MSc Universidad Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Bolsista CNPq.



## Papillomavirus overview with equine emphasis

### ■ Abstract

Papillomaviruses are recognized as causal agents of a variety of proliferative diseases in many species. These viruses are high species-specific and it is suggested that each animal species harbor its own set of viruses. With the discovery of specific papillomaviruses as primary causes of cervical cancer, the study of this family of viruses grew in the last 30 years, leading to the expansion of research in veterinary medicine. Papillomavirus-associated diseases in horses include: classical papillomatosis, genital papillomas/papillomatosis and aural plaques. Despite the similarity in lesion, the course and lesion distribution varies depending on the type of virus involved.

**Key words:** Horse, *Papillomaviridae*, virology.

## Visão geral de Papillomavirus com ênfase em equinos

### ■ Resumo

Os papilomavirus são reconhecidos como agentes causais de uma variedade grande de doenças proliferativas em muitas espécies. Estes vírus são altamente espécie específicos e é sugerido que cada espécie animal tem seu próprio grupo de vírus. Com o descobrimento de papilomavirus específicos como causativos primários do câncer cervical, o estudo sobre esta família de vírus se acrescentou nos últimos 30 anos, o que levou à expansão de pesquisas em medicina veterinária. As doenças associadas aos papilomavirus

em cavalos incluem: papilomatosis clássica, papiloma/papilomatosis genital e placa aural. Apesar de as lesões terem algumas semelhanças, o curso e a distribuição variam dependendo do tipo de vírus envolvido.

**Palavras importantes:** Cavalo, *Papillomaviridae*, virologia.

### ■ Introducción

La familia Papillomaviridae es una de las familias virales más antiguas y grandes, y se encuentra en activa expansión, pero ha sido difícil hacer un buen reconocimiento de esto ya que el aislamiento de los papilomavirus en cultivos celulares es imposible, dificultando la identificación, experimentación y caracterización de las alteraciones celulares y patológicas producidas por la infección. Sin embargo, en los últimos 30 años con los avances en biología molecular, se han podido establecer algoritmos filogenéticos para la comparación de secuencias genómicas y subgenómicas, lo cual es favorecido por el genoma relativamente estable de estos virus. De acuerdo con el ICTV (Comité Internacional de Taxonomía de Virus) la familia Papillomaviridae está compuesta por 16 géneros, que algunas veces coinciden con las propiedades biológicas y patológicas, y otras sólo tienen relaciones moleculares (Alfieri, Wosiacki & Alfieri, 2007; Rector y Van Ranst, 2013; Bernard, 2008; King, Adams, Carstens y Lefkowitz, 2012; Mahy, 2009).

Los papilomavirus (PV) son altamente especie/tejido-específicos e infectan diferentes especies de mamíferos como por ejemplo humanos, animales domésticos y silvestres, y algunas aves (Alfieri et al., 2007; Lowy y Schiller, 1985; Bernard, 2013; Quinn y Markey, 2003; Murphy, Gibbs, Horzinek y Studdert, 1999), causando proliferaciones epiteliales benignas y malignas. A pesar de las lesiones benignas (verrugas)

generalmente tener una regresión espontánea, algunas infecciones son prolongadas llevando a cáncer (Nicholls y Stanley, 2000, Bernard, 2013). La transmisión de este virus requiere contacto cutáneo o de mucosa muy cercano (Rector et al., 2013; Quinn et al, 2003; MacLachlan y Dubovi, 2011).

La papilomatosis en caballos fue descrita por primera vez el siglo IX por el maestro de establos de Califa de Bagdad. Estos tumores a veces benignos y persistentes continúan siendo una molestia para el caballo y sus dueños, pues esta es una enfermedad infecciosa que impide al animal participar en exhibiciones y subastas (Ghim, Rector, Delius, Sundberg, Jenson y Van Ranst, 2004).

Actualmente han sido aislados diferentes tipos de papilomavirus de lesiones dermatológicas de caballos en todo el mundo, debido a este avance en el conocimiento sobre estos virus en los últimos 10 años, se hace importante actualizar la información en el tema con el fin de mejorar la calidad de la medicina equina.

## Características de los papilomavirus:

### **Clasificación**

Un nuevo aislamiento viral es reconocido después de secuenciar el marco abierto de lectura L1 (open reading frame ORF L1), y este tener una diferencia superior a 10% con otros papilomavirus cuyas secuencias sean conocidas y estén disponibles en bancos genómicos. Una diferencia en dos y 10% de homología define un subtipo y una inferior a 2% una variante viral. Los virus de diferentes géneros presentan menos del 60% de semejanza en la secuencia de nucleótidos del ORF L1 y entre el 23 a 43% de semejanza en la secuencia completa del genoma viral. Para las especies virales pertenecientes a un mismo género debe existir una semejanza en la secuencia del ORF L1 del 60 al 70% (De Villiers, Fauquet, Broker, Bernard y Hausen, 2004; Alfieri

et al., 2007; Bernard, Burk, Chen, van Doorslaer, zur Hausen y De Villiers, 2010; MacLachlan et al., 2011). Existen controversias respecto a la clasificación de los papilomavirus, pero la guía general es dictada por el ICTV. El criterio para la clasificación taxonómica usada por el ICTV ha sido basado en la relación de las secuencias genómicas, el rango de hospederos naturales, el tropismo celular y de tejido, la patogenicidad y citopatología, el modo de transmisión, y la propiedad físico-químicas y antigénicas del virus (De Villiers, 2013; Van Doorslaer, Bernard, Chen, De Villiers, zur Hausen y Burk, 2011; King et al., 2012; Carter y Saunders, 2007). Existe además una base de datos sobre secuencias genómicas de papilomavirus, que sigue el mismo criterio de clasificación del ICTV con mayor organización, pero aun no es reconocida dentro del mismo y es llamado el Espisteme de Papilomavirus (Van Doorslaer, Tan, Xirasagar, Bandaru, Gopalan, Mohamoud, Huyen y McBride, 2012).

La mayoría de los tipos de PV ya establecidos son aislados de humanos, con 148 PV humanos listados como genomas de referencia en el Episteme de Papilomavirus. Sin embargo con la introducción del método de amplificación en círculo (RCA) para secuencias específicas de DNA (Van Ranst, 2013; Johne Müller, Rector, van Ranst y Stevens, 2009), se ha dado a un crecimiento exponencial del número de genomas caracterizados de animales en la última década. Hasta el 2013 se habían caracterizado 112 tipos de PV no humanos que se encuentran disponibles en GenBank. Estos están distribuidos en 32 géneros diferentes, dejando solo los géneros Gamma, Mupa y Nupapapilomavirus exclusivamente de tipos que infectan humanos. Estos papilomavirus no humanos fueron colectados de 54 especies diferentes, pertenecientes principalmente al orden de los mamíferos, pero también de aves y reptiles (Van Ranst, 2013; McBride, 2008).

En el caso de los equinos se han aislado hasta la fecha siete tipos de papilomavirus de diferentes



lesiones y han sido caracterizados por análisis filogenético. También ha sido encontrado más de un tipo viral en la misma lesión (Torres y Koch, 2013). Los tipos ya descritos son: *Equus caballus papilomavirus* tipo 1 (EcPV-1), *Equus caballus papilomavirus* tipo 2 (EcPV-2), *Equus caballus papilomavirus* tipo 3 (EcPV-3), *Equus caballus papilomavirus* tipo 4 (EcPV-4), *Equus caballus papilomavirus* tipo 5 (EcPV-5), *Equus caballus papilomavirus* tipo 6 (EcPV-6) y *Equus caballus papilomavirus* tipo 7 (EcPV-7). El EcPV-1 se encuentra dentro del género Zetapapilomavirus y es característico de la papilomatosis cutánea, antiguamente descrita. El EcPV-2 se encuentra dentro del género Dyoiotapapilomavirus y fue aislado de lesiones de carcinoma de células escamosas (SCC) y de papilomas genitales. El EcPV-3 se encuentra en lesiones auriculares y pertenece al género Dyorhopapilomavirus. Los EcPVs 4, 5 y 6 también fueron aislados y caracterizados de lesiones auriculares (placa aural) y ubicados en los géneros Dyoiotapapilomavirus y Dyorhopapilomavirus, respectivamente. Y por último el EcPV-7 fue aislado de lesiones genitales, y ubicado en el género Dyorhopapilomavirus con los tipos 3 y 6 (O'Banion, Reichmann y Sundberg, 1986; Ghim et al., 2004; Bernard, Burk, Chen, et al., 2010; Lange, Tobler, Ackerman et al., 2011; Scase, Brandt, Kainbauer et al., 2010; Lange, Vetsch, Ackerman et al., 2013; Taniwaki, Magro, Gorino et al., 2013; Rector et al., 2013; Postey, Appleyard y Kidney, 2007).

### Estructura y propiedades de los viriones

Los papilomavirus son virus pequeños oncogénicos no envueltos, con 52 a 55 nm de diámetro. La cápside, con forma icosaédrica, está compuesta por 72 capsómeros de los cuales 60 se unen de manera hexavalente y 12 de pentavalente. Cada capsómero está compuesto por dos proteínas codificadas por el virus: una proteína principal (L1) y una secundaria (L2), estas son las mediadoras de la transmisión y los mecanismos de ingreso del virus (Alfieri et al., 2007; Day y Schelhaas, 2014; Quinn et al., 2003; King et al., 2012).

Estos virus tienen una molécula de DNA doble circular con 7,3 a 8 kpb, cuyo peso molecular es de  $5.0 \times 10^6$  daltons y representa el 12% del peso del virión (Nicholls et al., 2000; Ghim et al., 2004; Van Doorslaer, 2013; White y Howley, 2013; Bernard, 2008; Quinn et al., 2003; King et al., 2012). Dentro y fuera de la célula, el genoma viral está conjugado con histonas formando complejos similares a la cromatina celular. Esta partícula viral es resistente a las condiciones del medio y a solventes lipídicos (éter y cloroformo) (Alfieri et al., 2007; Day et al., 2014; Bernard, 2008; King et al., 2012).

### Estructura y organización genómica

A pesar del tamaño relativamente pequeño del genoma de los papilomavirus, su organización es muy compleja, sin existir diferencias en esta organización entre los diferentes géneros de la familia. Todos los marcos abiertos de lectura (ORF) están localizados en una sola hebra de DNA, lo que indica que solo una hebra es utilizada como molde para codificar las proteínas virales. Esta hebra codificante está dividida en dos segmentos principales: temprana (early-E) y tardía (late-L); el segmento E contiene ocho ORFs y el segmento tardío contiene dos ORFs (Alfieri et al., 2007; Van Doorslaer, 2013; White et al., 2013; Rector et al., 2013; Quinn et al., 2003; King et al., 2012).

El segmento E representa el 45% del genoma viral y codifica proteínas necesarias para las etapas iniciales de replicación y transcripción viral. En este mismo segmento se encuentran los ORFs que codifican las proteínas reguladoras (E1 y E2) y oncogénicas (E5, E6 y E7). Las proteínas iniciales se expresan en células recién infectadas, en infecciones no productivas y en células transformadas (Alfieri et al., 2007, Van Doorslaer, 2013; White et al., 2013, Rector et al., 2013; Gobeil, Yuan, Gault, Morgan, Campo y Nasir, 2009; King et al., 2012).

El segmento L representa el 40% del genoma viral y codifica para las proteínas de la cápside (L1 y L2), las cuales son producidas en las fases

tardías de la replicación y son encontradas solo en infecciones productivas. Los ORFs E1, E2, L1 y L2 son particularmente bien conservadas entre todos los papilomavirus (Alfieri et al., 2007; White et al., 2013; Rector et al., 2013; Wang y Roden, 2013; Buck, Day y Trus, 2013; King et al., 2012).

Entre los segmentos L y E se encuentra la región larga de control (long control region- LCR), la cual representa el 15% del genoma viral. Este segmento no codifica para ninguna proteína pero contiene elementos promotores y regiones regulatorias de la replicación viral, como por ejemplo elementos *cis* de regulación de la replicación y la transcripción, como también puntos de origen ori (Alfieri et al., 2007; Rector et al., 2013).

El genoma viral se puede encontrar en el núcleo de la célula infectada de dos formas físicas: la episomal (lesiones iniciales y benignas) y la integrada (células transformadas). De esta manera el genoma del papilomavirus se encuentra integrado al cromosoma de la célula hospedera como una única copia; esta integración se da de forma aleatoria (Alfieri et al., 2007).

### Ciclo de vida: ingreso y replicación

La mayoría de los trabajos sobre papilomavirus están centrados en el estudio de papilomavirus humano (HPV), particularmente en HPV 16 por ser la causa principal de cáncer cervical en mujeres. Por esto los modelos sobre expresión de genoma viral están basados en este virus, que con algunas modificaciones, es aplicable a los demás virus de los otros grupos (Doorbar, 2005).

**Tabla 1.** Proteínas codificadas por papilomavirus

PROTEÍNA	TAMAÑO (aminoácidos)	FUNCIÓN
E1	605	Con la proteína E2 son las primeras en ser producidas. Es una helicasa dependiente de ATP que se encarga de separar las hebras de DNA y actúa como factor de elongación en la replicación. Además interviene como proteína regulatoria en la oncogénesis viral.
E2	306	Está involucrada en la transcripción y replicación del DNA viral, además de actuar como proteína regulatoria de la oncogénesis.
E4	120	Son proteínas pequeñas y expresadas tardíamente. Están envueltas en la transformación de la célula, alterando la mitosis.
E5	44	Proteína de transformación celular que interactúa con receptores de factores de crecimiento, impidiendo la supresión del crecimiento celular. Altera el control del ciclo celular.
E6	137	Proteína de transformación celular que al ligarse al p53 (proteínas de supresión de tumores), causa su degradación. Altera el control del ciclo celular.
E7	127	Proteína de transformación celular que al ligarse al pRb o al p107 (proteínas de supresión de tumores), causa su degradación. Altera el control del ciclo celular.
L1	495	Proteína principal de la cápside (80% de la cápside). Tiene epítomos que inducen anticuerpos neutralizantes.
L2	469	Proteína secundaria de la cápside, con epítomos que inducen anticuerpos neutralizantes.

\*Adaptado de Alfieri et al (2007)



## Ingreso a la célula hospedera

La infección del virus inicia con la adhesión de los viriones a la superficie de las células del epitelio basal. El receptor responsable de la unión es una molécula conservada presente en la membrana celular, sin embargo su identidad es desconocida. El virus penetra probablemente por medio de endocitosis y es transportado por el citoesqueleto en dirección al núcleo. Durante esta etapa ocurre la desestructuración y pérdida de la cápside, proceso que aún se encuentra poco entendido. Utilizando los poros nucleares, el DNA viral penetra al núcleo de la célula (Alfieri et al., 2007; Quinn et al., 2003). Una particularidad interesante de estos virus es el tiempo prolongado de residencia en la superficie celular antes de la endocitosis del mismo (Day et al., 2014; Nasir y Brandt, 2013).

**Adhesión:** los PV inicialmente se unen a las cadenas glicosaminoglicano (GAG) de proteoglicanos de heparán sulfato (HSPG). En el caso de cultivo celular, los pseudoviriones de papilomavirus (PsV) pueden unirse a la matriz extracelular (ECM) a través de la interacción con HSPG y laminina-332. Algunos autores afirman que el virus no requiere un complejo proteico de HSPG específico para infectar, pero la especificidad de unión y posterior entrada a la célula es conferida a la secuencia de GAGs y su patrón de sulfatación (Day et al., 2014). Información sobre el virus sugiere que la adhesión es relativamente rápida pero la endocitosis bastante lenta (Schelhaas, Shah, Holzer, Blattman, Kühling, Day, Schiller y Helenius, 2012; Giroglou, Florin, Schäfer, Streeck y Sapp, 2001; Smith, Campos y Ozbun, 2007; Nasir et al., 2013). La razón para esta residencia prolongada en la superficie celular no ha sido determinada (Day et al., 2014).

**Cambios extracelulares de estructura:** la interacción del virus con HS-GAG induce la exposición de un epítipo lineal que se encuentra cubierto entre capsómeros, y también produce otros cambios conformacionales que llevan a la

exposición del extremo amino terminal de L2. Esta exposición parece requerir de ciclofilina extracelular B (CyPB/ isomerasa). Este extremo amino terminal de L2 contiene un sitio de clivaje furina/convertasa proproteína importante para la unión con la membrana celular. Hay reportes de que estos cambios estructurales disminuyen la afinidad del virus por el HSPG, lo cual es necesario para su unión a un receptor secundario y los pasos siguientes de entrada (desnudamiento y penetración) (Day et al., 2014).

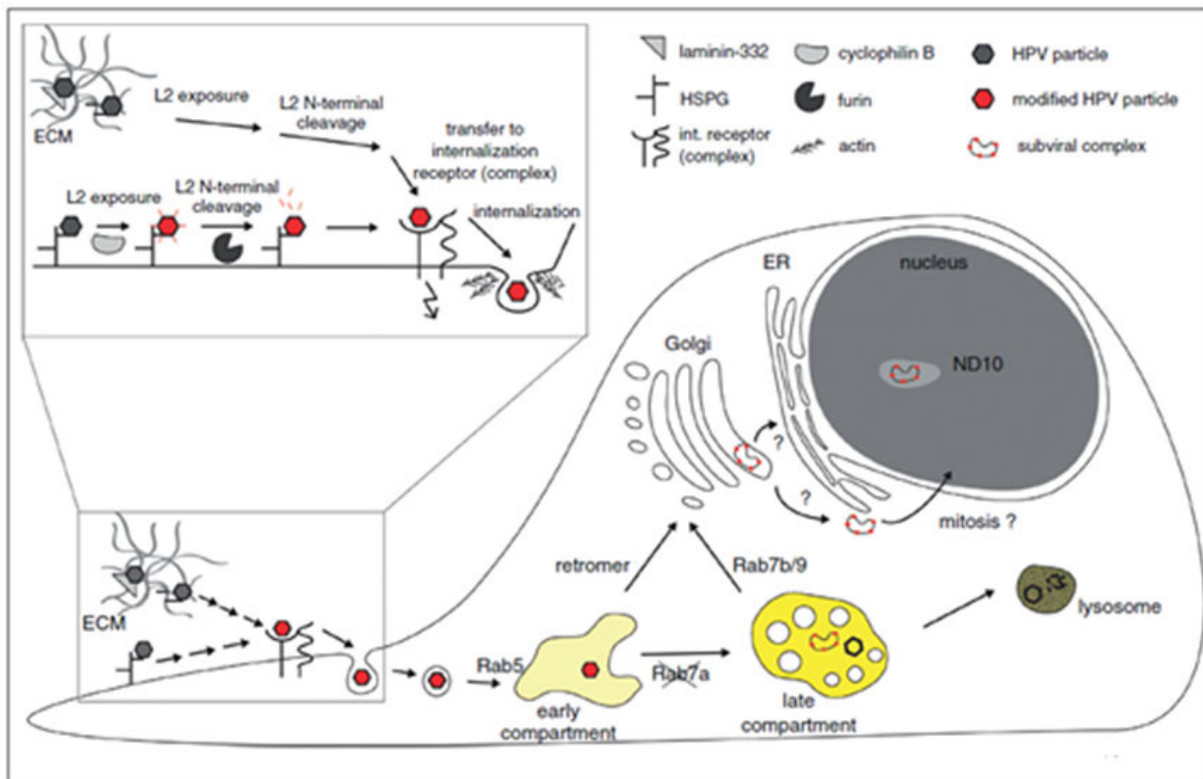
**Receptor de internalización:** la identidad del receptor putativo secundario sigue siendo un misterio a pesar de los esfuerzos por identificarlos. Esto podría indicar que tal vez no es una sola molécula. Sin embargo los receptores candidatos son: integrina alfa 6, tetraspanina CD151 y un heterotetrámero de anexina A2. Todos estos tienen la característica atractiva de ser altamente expresados en las células del epitelio basal, la cuales son el objetivo principal de infección de los PVs in vivo. La integrina alfa 6 y la anexina A2, no pueden ser considerados indispensables, pues células que carecen de estas son igualmente infectadas. Otros proponen que el mecanismo de entrada es a través de HSPG, pero ha sido difícil de probar pues células que carecen de éste son también infectadas (Day et al., 2014).

**Endocitosis:** en la literatura reciente sobre este tema tiene poca concordancia, pues algunos autores aseguran el ingreso mediado por clatrina y otros afirman que es por mecanismos independientes de clatrina, esto tal vez por los diferentes modelos experimentales y la alta complejidad de las vías de endocitosis del virus. Estudios soportan que este proceso es dependiente de actina e independiente de clatrina, caveolina y rafts lipídicos, y confirman la importancia de tetraspanina microdominios (TEM) como mediadores del ingreso (Day et al., 2014; Schelhaas, 2012).

**Señalización:** la unión del virus a receptores de membrana a menudo activa eventos de señalización que pueden facilitar la infección. La activación de la vía de quinasa Ras/MAPK por partículas similares a virus (VLP), ha sido sugerida como inductora de proliferación celular temprana después de la unión del virus a la superficie celular (Day et al, 2014; Yuan, Gault, Campo y Nasir, 2011).

**Transporte vesicular y desnudamiento:** luego de la endocitosis el virus es transportado al sistema endosomal, dependiente de Rab 5(miembro de la familia Rab GTPasa) en el compartimento temprano, luego este va a madurar y ser compartimento tardío. Durante este tiempo que el virus pasa dentro del endosoma, varios cambios estructurales acontecen, como por ejemplo el desnudamiento del virus. Aun no se ha establecido cual es activador del desnudamiento pero se ha sugerido que un cambio en el pH estimula este (Day et al., 2014).

**Figura 1.** Esquema de ingreso de PV a la célula (Day et al., 2014).



### Transcripción y expresión de proteínas virales

La expresión de las proteínas codificadas por estos virus es compleja debido a la presencia de múltiples factores promotores y formas alternativas de transcripción (White et al, 2013; Wang et al., 2013; Buck et al., 2013). Los primeros indicadores de transcripción aparecen aproximadamente cuatro semanas después de

la infección, cuando se detectan expresados los genes E1 y E2 (Alfieri et al., 2007; White et al. 2013).

En una infección productiva las células basales de la epidermis aumentan su tasa e proliferación, tal vez en respuesta a las proteínas expresas por el gen E5, al bloqueo de la proteína p53 por la



proteína E6 y el bloqueo de la proteína pRb por la proteína E7, interfiriendo de esta manera con el crecimiento vegetativo de la célula hospedera. Estas proteínas transformadoras pueden ser diferentes entre papilomavirus y su mecanismo de acción aún no se encuentra claramente establecido. Algunos virus como el papilomavirus bovino tipo 1 (BPV-1), pueden transformar la célula por si solos, y otros requieren la cooperación de algún oncogén celular activado como el HPV-16. En la mayoría de los casos, el DNA viral se mantiene en la célula tumoral, solo hay casos excepcionales como el BPV-4, cuyo DNA es perdido antes de la transformación de la célula (Alfieri et al., 2007; Nasir et al., 2013).

### Replicación del genoma viral

La replicación del DNA viral ocurre en el núcleo celular y es realizada en diferentes etapas de acuerdo con las fases de diferenciación de las células del epitelio (Alfieri et al., 2007), de hecho el virus infecta la células basales (Lowy et al., 1985). Inicialmente en las células debajo de la superficie de la dermis, el DNA viral es amplificado en un total de 50 a 400 copias por célula. Luego

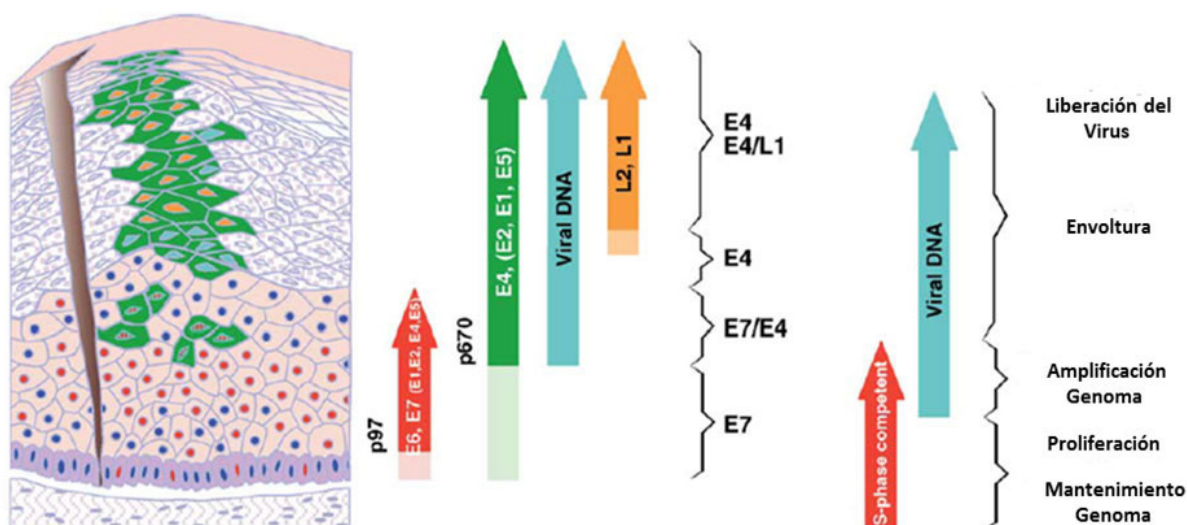
de esto el DNA pasa a ser replicado en conjunto con el ciclo de división celular y el número de copias virales por célula permanece constante. En las células diferenciadas de la epidermis, el DNA viral es amplificado en grandes cantidades y de forma descontrolada (Alfieri et al., 2007; Quinn et al., 2003).

### Montaje de la cápside y egreso

El montaje, maduración y la subsecuente producción de viriones ocurre en el núcleo celular. Las proteínas L1 y L2 son expresadas y el montaje de la cápside se da aun sin la presencia de DNA viral; esto es importante para la producción de partículas similares a virus (virus like particles-VLPs), las cuales sirven para la producción de vacunas (White et al., 2013; Buck et al., 2013; Alfieri et al., 2007).

Las partículas virales son liberadas por interferencia de la proteína codificada por el gen E4, que desestabiliza la red de queratina intracelular. Luego de esto los viriones son agrupados y liberados de las células (Alfieri et al., 2007).

**Figura 2.** Representación diagramática de la piel para evidenciar el patrón de expresión de HPV mientras la célula infectada migra hacia la superficie epitelial.



\*Adaptado de Doorbar (2005)

### Enfermedades causadas por el virus en equinos

**Papilomatosis clásica:** esta es causada por EcPV-1 y generalmente afecta caballos menores de 3 años de edad, sin predilección por raza o sexo reportada hasta el momento (Scott y Miller, 2003; Torres et al., 2013; Ghim et al., 2004; Postey et al., 2007). Es una enfermedad contagiosa, y su transmisión puede ser directa animal-animal o indirecta a través de fómites. Para la infección ocurrir es necesaria una lesión en la piel, y el periodo de incubación puede ser de 60 días o más (Johnson, 1998; Williams, 1997). Las lesiones comienzan como pápulas de un milímetro (mm) o menos, con una superficie brillante de coloración grisácea a blanca; en la medida que estas lesiones aumentan de volumen, desarrollan una superficie hiperqueratótica con numerosas proyecciones. Un animal puede presentar de 10 a 100 lesiones, la cuales cuando son muchas comienzan a coalescer (Torres et al., 2013; Bogaert y Martens, 2008).

Los sitios más comúnmente afectados por este virus son los labios y el hocico, aunque existen reportes en parpados, región paragenital y porción distal de los miembros (Johnson, 1998; Williams, 1997; Torres et al., 2013). Algunos autores reportan su presencia en genitales, pero esto ha sido desmentido por otros estudios (Torres et al., 2013).

Esta papilomatosis generalmente resuelve de forma espontánea luego de 4 meses, a veces hasta 9 meses. Si la lesión persiste por más tiempo es correcto sospechar que existe alguna alteración inmunológica en el animal. La mayoría de los caballos desarrolla inmunidad completa contra el virus y no es posible que sean reinfectados (Johnson, 1998; Bogaert et al., 2008).

**Papiloma / papilomatosis genital:** ha sido demostrada su asociación con EcPV-2 (Nasir et al., 2013; Torres et al., 2013; Knight, Munday,

Rosa y Kiupel, 2011; Lange et al., 2011). En un estudio reciente aislaron EcPV-7 de estas lesiones (Lange et al., 2013), pero al no ser realizado el análisis histopatológico de las mismas, es difícil establecer cuál es el verdadero rol de este tipo viral en las lesiones (Torres et al., 2013). Las lesiones son caracterizadas por pápulas o nódulos grisáceos suaves individuales o en placas. Estas lesiones se ubican en varios sitios cutáneos, así como en la mucosa oral, ocular y genital; pueden ser de unas pocas a cientos, caso en el cual el término correcto es papilomatosis genital (Postey et al., 2006; Knight et al., 2011; MacLachlan et al., 2011).

Algunos autores afirman que la papilomatosis genital, el carcinoma de células escamosas (SCC) in situ y el SCC invasivo, son diferentes etapas de una misma enfermedad causada por papilomavirus (Lange, Tobler, Lehner et al., 2012). Sin embargo son necesarios más estudios antes de concluir que EcPV-2 es causante de SCC en caballos (Torres et al., 2013).

Al igual que todos los virus pertenecientes a esta familia, EcPV-2 necesita una lesión epitelial para causar la infección (Alfieri et al., 2007). A pesar de esto algunos autores insinúan la posibilidad de transmisión sexual como es el caso del papilomavirus humano tipo 16 y 18 (Scase et al., 2010), pero se requieren más estudios al respecto.

**Placa aural:** también llamada acantosis pineal, placa fúngica, dermatitis hiperplásica auricular o papiloma auricular. Son lesiones bien demarcadas, brillantes, eritematosas o despigmentadas, generalmente cubiertas por una costra queratinosa blanquecina. Afectan el aspecto cóncavo de una o ambas orejas, y pueden ser individuales, múltiples o coalescentes. En algunos caballos puede cubrir la oreja entera (Johnson, 1998; Williams, 1997; Scott et al., 2003; Fairley, Morley, Williams, Senior y Neill, 2014). No ha sido reportada predilección por



sexo, raza o edad; sin embargo es raramente diagnosticada en animales menores de un año (Torres et al., 2013; Torres, Malone, White et al., 2010; Sousa, Adorno, Marcondes, Oliveira-Filho, Conceição, Amorim y Borges, 2008). De éstas lesiones han sido aislados y reportados como causantes de la enfermedad el EcPV-3, 4, 5 y 6 (Lange et al., 2013; Taniwaki et al., 2013; Lange et al., 2011).

Los caballos con estas lesiones pueden ser asintomáticos o presentar cierto grado de hipersensibilidad en las orejas. Hasta el momento no existen casos de regresión espontánea como en el caso de la papilomatosis clásica (Johnson, 1998; Williams, 1997; Scott et al., 2003; White, Fuji, Valentine y Bildfell, 2004), y su tratamiento aún se encuentra en fase experimental de uso de imiquimod 5% tópico (Torres et al., 2010).

**Sarcoide equino:** son los tumores más prevalentes en caballos, alcanzando alrededor del 12% de la población equina afectada, generalmente causados por papilomavirus bovino tipo 1 (BPV-1) (Nasir et al., 2013; Bogaert et al., 2008; Brandt, Haralambus, Schoster, Kirnbauer y Stanek, 2008). A nivel histopatológico las células predominantes son fibroblastos transformados. Los sarcoides tienen generalmente una gran capacidad para penetrar e invadir la dermis, pero diseminación metastásica verdadera no ocurre. Una lesión de estas puede permanecer estable por años o mostrar un crecimiento exagerado y agresivo con alta infiltración en el tejido subyacente. Estas neoplasias no son letales, pero las fallas en el tratamiento y pérdida de la función del órgano afectado llevan a la eutanasia del animal (Bogaert et al., 2008; MacLachlan et al., 2011).

### Diagnóstico de los papilomavirus

El diagnóstico normalmente está basado en la apariencia clínica de las lesiones, ya que éstas tienen características fácilmente reconocibles. El uso de histopatología es importante para

descartar neoplasias de otro tipo. También ha sido reportado el uso de microscopía electrónica donde es posible visualizar las partículas virales en el tejido infectado, pero este método es costoso y se encuentra limitado a algunas instituciones académicas (Torres et al., 2013).

El secuenciamiento completo de los siete tipos de PV, permite la utilización de técnica como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para detección del genoma viral a partir de lesiones sospechosas de ser causadas por PV (Gorino, Oliveira-Filho, Taniwaki, Basso, Zakia, Araujo-Jr, Borges, 2013; Torres et al., 2013; Postey et al, 2007). Igualmente a través de inmunohistoquímica es posible detectar proteína viral dentro del núcleo de la células infectadas (Torres et al., 2013).

## ■ Conclusiones

Con el crecimiento en los avances en métodos y herramientas de estudio de los virus se ha facilitado el aislamiento y caracterización de diferentes tipos de virus de importancia clínica en medicina veterinaria. Es por esto que importante la publicación de revisiones sobre el tema que ayuden al desarrollo de la medicina equina y al mejoramiento de la academia en esta área.

La dermatología siempre ha sido un campo por estudiar en equinos, pues generalmente los profesionales que trabajan con esta especie no se preocupan por el estudio de las principales enfermedades de la piel del caballo, siendo las lesiones cutáneas causadas por papilomavirus de gran distribución en esta población.

## ■ Referencias

- Alfieri, A., Alfieri, A. y Wosiacki, S. (2007) Papillomaviridae. En: *Virologia Veterinária*. Editora UFSM, Santa Maria. p.397-412.
- Bernard, H, Burk, R.D, Chen, Z. et al. (2010) Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*; 401 (1): 70-79.
- Bernard, H.U. (2008) Genome Diversity and Evolution of Papillomaviruses. *Origin and Evolution of Viruses*. Elsevier; 417-427.
- Bernard, H.U. (2013) Taxonomy and phylogeny of papillomaviruses: An overview and recent developments. *Infection, Genetics and Evolution*; 18: 357-361.
- Bogaert, L y Martens, A. (2008) Papillomavirus in equine skin lesions. Department of Molecular Microbiology and Immunology, Los Angeles.
- Brandt, S, Haralambus, R, Schoster, A, Kirnbauer, R y Stanek, C. (2008) Peripheral blood mononuclear cells represent a reservoir of bovine papillomavirus DNA in sarcoid-affected equines. *Journal of General Virology*; 89: 1390-1395.
- Buck, C.B, Day, P.M y Trus, B.L. (2013) The papillomavirus major capsid protein L1. *Virology*, 445: 169-174.
- Carter, J. By Saunders, V.A. (2007) Virus taxonomy. En: *Virology: Principles and application*. John Wiley & Sons, West Sussex. p.115-120.
- Day, P.M y Schelhaas, M. (2014) Concepts of papillomavirus entry into host cells. *Current Opinion in Virology*; 4: 24-31.
- De Villiers, E.M. (2013) Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*; 445: 2-10
- De Villiers, E.M, Fauquet, C, Broker, T.R, Bernard, H.U y zur Hausen, H. (2004) Clasificación de papillomaviruses. *Virology*; 324: 17-27.
- Doorbar, J. (2005) The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology*; 32 (S): S7-S15.
- Fairley, R.A, Morley, C.M, Williams, S.D, Senior, D.A y Neill, M.A. (2014) Aural plaques in two imported horses in New Zeland. *New Zeland Veterinary Journal*; 62 (4): 232-233.
- Ghim, S.J, Rector, A., Delius, H., Sundberg, J.P, Jenson, A.B y Van Runst, M. (2004) Equine papillomavirus type 1: complete nucleotide sequence and characterization of recombinant virus-like particles composed of the EcPV-1 L1 major capsid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communication*; 324: 1108-1115.
- Giroglou, T., Florin, L., Schäfer, F., Streeck, R.E y Sapp, M. (2001) Human papillomavirus infection requires cell surface heparin sulfate. *Journal of Virology*; 75 (3): 1565-1570.
- Gobeil, P.A.M, Yuan, Z.Q, Gault, E.A, Morgan, I.M, Campo, M.S y Nasir, L. (2009) Small interfering RNA targeting bovine papillomaviruses type 1 E2 induces apoptosis in equine sarcoid transformed fibroblasts. *Virus Research*; 145: 162-165.
- Gorino, A.C, Oliveira-Filho, J.P, Taniwaki, S.A, Basso, R.M, Zakia, L.S, Araujo Jr, J.P y Borges, A.S. (2013) Use of PCR to estimate the prevalence of *Equus caballus* papillomavirus in aural plaques; 197: 903-904.
- Johne, R., Müller, H., Rector, A., van Ranst, M. y Stevens, H. (2009) Rolling-circle amplification of viral DNA genomes using phi29 polymerase. *Trends in Microbiology*; 17 (5): 205-210.
- Johnson, P.J. (1998) Dermatologic tumors (excluding sarcoides). *Equine Practice Vet Clin North Amer*. p.635.



- King, A.M.Q, Adams, M.J, Carstens, E.B y Lefkowitz, E.J. (2012) Papillomaviridae. En: *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses, ICTV. 9th Report.* p. 235-239.
- Knight, C.G, Munday, J.S, Rosa, B.V y Kiupel, M. (2011) Persistent, widespread papilloma formation on the penis of a horse: a novel presentation of equine papillomavirus type 2 infection. *Veterinary Dermatology*; 22: 570-574.
- Lange, C.E, Tobler, K, Ackerman, M y Favrot, C. (2011) Identification of two novel equine papillomavirus sequences suggests three genera in one cluster. *Veterinary Microbiology*; 149 (1-2): 85-90.
- Lange, C.E, Tobler, K, Lehner, A, et al. (2012) EcPV-2 DNA in equine papillomas and in situ and invasive squamous cell carcinomas supports papillomavirus etiology. *Vet Pathol.* <http://dx.doi.org/10.1177/0300985812463403>.
- Lange, C.E, Vetsch, Ackerman, M, Favrot, C y Tobler, K. (2013) Four novel papillomavirus sequences support a broad diversity among equine papillomaviruses. *Journal of General Immunology*; 94: 1365-1372.
- Lowy, D.R y Schiller, J.T. (1985) Papillomaviruses. *Clinics in Dermatology*; 3 (4): 1-6.
- MacLachlan, N.J y Dubovi, E.J. (2011) Papillomaviridae and Polyomaviridae. En: *Fenner Veterinary Virology.* 4th ed. Elsevier, Oxford. p.213-220.
- Mahy, B.W.J. (2009) Papillomaviridae. En: *The Dictionary of Virology.* Elsevier, Oxford. p. 234-235.
- McBride, A.A. (2008) Papillomaviruses in animals. En: *Encyclopedia of Virology.* 3th ed. Elsevier, Oxford. p.26-33.
- Murphy, F.A, Gibbs, E.P.J, Horzinek, M.C y Studdert, M.J. (1999) Papillomaviridae. En: *Veterinary Virology.* 3th Ed. Elsevier, Oxford.
- Nasir, L y Brandt, S. (2013) Papillomavirus associated diseases of the horse. *Veterinary Microbiology*; 167: 159-167.
- Nicholls, P.K y Stanley, M.A. (2000) The immunology of animal papillomaviruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 73: 101-107.
- O'Banion, M.K., Reichmann, M.E y Sundberg, J.P. (1986) Cloning and characterization of equine cutaneous papillomavirus. *J Comp Pathol*; 152 (1): 100-109.
- Postey, R.C, Appleyard, G.D y Kidney, B.A. (2007) Evaluation of equine papillomas, aural plaques and sarcoides for the presence of equine papillomavirus DNA and papillomavirus antigen. *Can J Vet Res*; 71 (1): 28-33.
- Quinn, P.J y Markey, B.K. (2003) Papillomaviridae. En: *Concise Review of Veterinary Microbiology.* Blackwell Publishing, Iowa. p.102-103.
- Rector, A y Van Ranst, M. (2013) Animal papillomaviruses. *Virology*; 445: 213-223.
- Scase, T, Brandt, S, Kainzbauer, et al. (2010) Equus caballus papillomavirus-2 (EcPV-2): an infectious cause for equine genital cancer? *Equine Vet J*; 42 (8):738-745.
- Schelhaas, M., Shah, B., Holzer, M., Blattmann, P., Külhing, L., Day, P.M, Schiller, J.T y Helenius, A. (2012) Entry of human papillomavirus type 16 by actin-dependent, clathrin- and lipid raft-independent endocytosis. *PLoS Pathogens*; 8 (4): 1-21.
- Scott, D.W y Miller, W.H. (2003) *Equine Dermatology.* WB Saunders, Filadelfia. p.700.

- Smith, J.L, Campos, S.K y Ozbun, M.A. (2007) Human papillomavirus type 31 uses a caveolin 1- and dynamin 2-mediated entry pathway for infection of human keratinocytes. *Journal of Virology*; 81 (18): 9922-9931.
- Sousa, N.R, Adorno, V.B, Marcondes, J.S, Oliveira-Filho, J.P, Conceição, L.G, Amorim, R.L y Borges, A.S. *Pes Vet Bras*; 28 (6): 279-284.
- Taniwaki, S.A, Magro, A.J, Gorino, A.C, Oliveira-Filho, J.P, Fontes, M, Borges, A.S y Araujo Jr, J.P. (2013) Phylogenetic and structural studies of a novel equine papillomavirus identified from aural plaques. *Veterinary Microbiology*; 162: 85-93.
- Torres, S.M, Malone, E.D y White, S.D, et al. (2010) The efficacy of imiquimod 5% cream (Aldara) in the treatment of aural plaque in horses: a pilot open-label clinical trial. *Vet Dermatol*; 21 (5): 503-509.
- Torres, S.M.F y Koch, S.N. (2013) Papillomavirus-Associated Diseases. *Vet Clin Equine*; 29: 643-655.
- Van Doorslaer, K. (2013) Evolution of *Papillomaviridae*. *Virology*; 445: 11-20.
- Van Doorslaer, K., Bernard, H.U, Chen, Z., De Villiers, E.M, zur Hausen, H y Burk, R.D. (2011) Papillomaviruses: evolution, Linnaean taxonomy and current nomenclature. *Trends in Microbiology*; 19 (2).
- Van Doorslaer, K., Tan, Q., Xirasagar, S., Bandaru, S., Gopalan, V., Mohamoud, Y., Huyen, Y. y McBride, A.A. (2013) The Papillomavirus Episteme: a central resource for papillomavirus sequence data and analysis. *Nucleic Acid Research*; 41 (D): D571-D578.
- Wang, J.W y Roden, R.B.S. (2013) L2, the minor capsid protein of papillomavirus. *Virology*; 445: 175-186.
- White, E.A y Howley, P.M. (2013) Proteomic approaches to the study of papillomaviruses-host interactions. *Virology*; 435: 57-69.
- White, K.S, Fuji, R.N, Valentine, B.A y Bildfell, R.J. (2004) Equine congenital papilloma: pathological findings and results of papillomavirus immunohistochemistry in five cases. *Veterinary Dermatology*; 15: 240-244.
- Williams, M.A. (1997) Papillomatosis: warts and aural plaques. En: *Current Therapy in equine Medicine*. WB Saunders, Filadelfia. p. 389.
- Yuan, Z.Q, Gault, E.A, Campo, M.S y Nasir, L. (2011) p38 mitogen-activated protein kinase is crucial for bovine papillomavirus type 1 transformation of equine fibroblasts. *Journal of General Virology*; 92: 1778-1786