



*VECTORES VIRALES COMO OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA LA REGRESIÓN DE
TUMORES PROVOCADOS POR EL VIRUS DEL PAPILOMA BOVINO*

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, 2022



*VECTORES VIRALES COMO OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA LA REGRESIÓN DE
TUMORES PROVOCADOS POR EL VIRUS DEL PAPILOMA BOVINO*

NICOLE ANDREA PICO TAMAYO

ASESORA INTERNA

RUTH MÉLIDA SÁNCHEZ MORA PH.D. EN BIOTECNOLOGÍA

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ, 2022

BOGOTÁ, 2022

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado especialmente a mis padres, Leida y Andres y a mi hermano, Kevin, quienes han sido y serán siempre mi mayor motivación para ser una mejor persona y una mejor profesional, al inculcarme valores y principios, enseñarme lo mejor de la vida y acompañarme a crecer hasta llegar a ser quien soy hoy y lo que quiero llegar a ser mañana.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud, en primer lugar, a la docente Ruth Mélida Sánchez Mora, ya que sin ella no habría sido posible el desarrollo de este trabajo, y en especial por su compromiso y vocación como docente, porque siempre estuvo dispuesta para apoyarme y guiarme de la mejor manera, no solo para construir un trabajo de investigación, sino para forjar una estudiante que pronto se convertirá en una profesional íntegra.

En segundo lugar a la ciencia, porque gracias a ella son posibles todos los avances orientados en mejorar la calidad de vida, y ayudar a muchas especies, en especial a los animales, a que vivan su vida de la mejor manera, sin que se vean afectados por las influencias del ser humano.

Por último, y no menos importante, a mis padres, porque siempre han creído en mí y me han enseñado a luchar por mis sueños, y a dar lo mejor de mí en cada una de las cosas que hago.

Tabla de contenido

Introducción -----	1
Objetivos -----	3
1. Marco teórico -----	
4	
1.1 Generalidades del Virus del Papiloma Bovino (VPB) -----	4
1.1.1 Taxonomía del VPB -----	4
1.1.2 Estructura del VPB -----	4
1.1.3 Clasificación de serotipos virales del VPB -----	5
1.1.4 Genoma del VPB -----	
6	
1.2 Epidemiología -----	6
1.3 Especies afectadas por el VPB -----	7
1.4 Infección natural por el VPB -----	8
1.4.1 Actividad transformadora de la oncoproteína E5 -----	9
1.4.2 Actividad transformadora de la oncoproteína E6 -----	10
1.5 Manifestaciones clínicas -----	10
1.5.1 Papilomatosis bovina -----	10
1.5.2 Sarcoidosis equina -----	11
1.6 Opciones terapéuticas para tratar el VPB -----	
12	
2. Antecedentes -----	14
3. Metodología -----	18
3.1 Tipo y alcance de la investigación -----	18
3.2 Población y muestra -----	18
3.3 Procedimiento, técnica o método -----	18

3.3.1 Búsqueda y revisión de información existente -----	18
3.3.2 Selección del material consultado -----	19
3.3.3 Clasificación de la información -----	20
4. Resultados y discusión -----	21
4.1 Regresión de tumores ocasionados por el VPB -----	21
4.2 Vectores virales como opción terapéutica en la regresión de tumores ocasionados por el VPB -----	22
4.3 Terapias utilizadas para la regresión de tumores en bovinos ocasionados por el VPB ---	25
4.3.1 Inmunización directa -----	25
4.3.2 Inmunización recombinante -----	25
4.4 Terapias utilizadas para la regresión de tumores en equinos ocasionados por el VPB ---	27
4.4.1 Terapias generales -----	27
4.4.2 Inmunización por medio de vacunas -----	28
5. Conclusiones -----	32
Referencias bibliográficas -----	

Lista de figuras

Pág.

Figura 1. Genoma del VPB tipo 1 indicando las distintas regiones codificantes -----	6
Figura 2. Distribución mundial de los genotipos de papilomavirus bovinos BPV-1 a BPV-13 descritos en artiodáctilos y perisodáctilos, asociados al desarrollo de papilomas y fibropapilomas -----	7
Figura 3. Mecanismo de carcinogénesis en la infección por Papilomavirus -----	9
Figura 4. Ubicación de las lesiones en bovinos con papilomatosis cutánea -----	11
Figura 5. Cuatro tipos clínicos de sarcoide equino. (a) Sarcoides fibroblásticos en el abdomen ventral; (b) sarcoides ocultas en el hombro; (c) sarcoide nodular en el párpado superior; (d) sarcoide verrugoso en la mandíbula -----	12
Figura 6. Diagrama de flujo descriptivo de las etapas de revisión bibliográfica para la obtención de información -----	20
Figura 7. Proceso de regresión tumoral en el cual está involucrado el IFN- γ producido por las células T CD8 ⁺ , y las quimiocina CXCL10, con su co-receptor CXCR3 -----	22
Figura 8. Resultados obtenidos de la vacunación en bovinos con L2 y L2+E7 -----	26
Figura 9. Representación gráfica del gen iNSA o B/E6E7 equino. El gen de la influenza A o B está truncado en los primeros 106 codones C-terminales, y las secuencias E6 y E7 del VPB-1 mezcladas se insertaron en el ORF de NS1 -----	30

Figura 10. Regresión de tumores en una yegua, inyectados intratumoralmente con
iNSA/E6E7 y/o iNSB7E6E7

----- 31

Lista de tablas

Pág.

Tabla No. 1. Clasificación taxonómica del VPB ----- 4

Tabla No. 2. Proteínas virales del VPB -----

5



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

**VECTORES VIRALES COMO OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA LA REGRESIÓN
DE TUMORES PROVOCADOS POR EL VIRUS DEL PAPILOMA BOVINO**

RESUMEN

La literatura reporta que los *Papillomavirus*, pequeños virus de ADN, son específicos de especie, y no suelen afectar a especies que no sean su originaria. Sin embargo, se han reportado casos de infecciones del Virus del Papiloma Bovino tipo 1 y 2, afectando no solo a bovinos sino también a equinos. En los bovinos, el VPB causa lo que comúnmente se conoce como papilomatosis bovina, la cual es una enfermedad que demuestra una regresión espontánea en la mayoría de los casos sin causar mayores consecuencias para los animales infectados, mientras que en los equinos, la enfermedad que se produce tras la infección por este mismo virus se denomina sarcoidosis equina, la cual es clínicamente más severa, no demuestra regresión natural y en ocasiones, conduce a la muerte del animal si no se trata de la mejor manera. Allí radica la importancia de indagar sobre nuevos tratamientos, especialmente para combatir la sarcoidosis equina, quienes demuestren una mayor eficacia para conservar la vida de los animales infectados. De esta manera, la presente monografía hace un recorrido bibliográfico para llegar a explicar cómo se produce el fenómeno de regresión espontánea de los tumores, qué factores influyen en este proceso y resalta el uso de vectores virales, especialmente de aquellos provenientes del Virus de la Influenza A y B, genéticamente modificados para que, gracias a la producción mejorada de IFN- γ , estimule la regresión de los tumores causados por el VPB en los equinos.

PALABRAS CLAVE: Virus del Papiloma Bovino VPB, Papilomatosis, Sarcoidosis, Vectores virales, Regresión tumoral.

Estudiante: Nicole Andrea Pico Tamayo

Asesor: Ruth M. Sánchez Mora **Institución:** Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Fecha: Octubre 2022

ABSTRACT

The literature reports that Papillomaviruses, small DNA viruses, are species specific, and do not usually affect species other than their original one. However, cases of Bovine Papillomavirus type 1 and 2 infections have been reported, affecting not only cattle but also horses. In cattle, BPV causes what is commonly known as bovine papillomatosis, which is a disease that shows spontaneous regression in most cases without causing major consequences

for infected animals, while in horses, the disease that occurs after infection by this same virus is called equine sarcoidosis, which is clinically more severe, does not show natural regression and sometimes leads to the death of the animal if it is not treated in the best way. Therein lies the importance of investigating new treatments, especially to combat equine sarcoidosis, which demonstrate greater efficacy in preserving the lives of infected animals. In this way, this monograph reviews the literature to explain how the phenomenon of spontaneous regression of tumors occurs, what factors influence this process and highlights the use of viral vectors, especially those from the Influenza Virus. A and B, genetically modified so that, thanks to the improved production of IFN- γ , it stimulates the regression of tumors caused by VPB in horses.

KEYWORDS: Bovine Papillomavirus VPB, Papillomatosis, Sarcoidosis, Viral vectors, Tumor regression.

Vectores virales como opción terapéutica para la regresión de tumores provocados por el Virus del Papiloma Bovino VPB

Introducción

La presente investigación abarca como punto central el uso de vectores virales como opción terapéutica para la regresión de tumores causados por el Virus del Papiloma Bovino VPB. Este virus de tipo ADN, perteneciente a la familia *Papillomaviridae*, se ha reportado mundialmente al causar enfermedades en bovinos y équidos, conocidas como papilomatosis bovina y sarcoidosis equina, respectivamente. Para el caso de los bovinos, el virus ocasiona una serie de lesiones en forma de verrugas o papilomas, las cuales se comportan como proliferaciones benignas, que, si bien, no afectan la vida del animal de manera alarmante, provocan consecuencias para el estado de salud del animal generando un retraso en el desarrollo, disminución en la ganancia de peso e, incluso, predisposición en el organismo para adquirir sobreinfecciones de origen bacteriano. Por otro lado, en los equinos, las manifestaciones clínicas son más severas debido a que las lesiones o sarcoides, de tipo tumoral, no demuestran una regresión natural, y se tornan recurrentes cuando el tratamiento no es el adecuado, llevando al animal, en el peor de los casos, a la muerte.

Debido a lo mencionado anteriormente, aparece la necesidad de investigar posibles tratamientos enfocados en la regresión de tumores ocasionados por el VPB, especialmente en equinos dada la severidad de sus manifestaciones clínicas, los cuales cuentan con un porcentaje de efectividad mayor a los tratamientos que comúnmente son usados, y además, que no representen ningún riesgo para la salud del animal al ser aplicados. Es así como se ha demostrado el uso de vectores de origen viral, especialmente basados en el Virus de la Influenza Humana A y B modificados genéticamente para eliminar de forma parcial el gen NS1, creando así tratamientos que promueven la regresión de tumores presentes en equinos, y que, acompañados con una estimulación adecuada de la respuesta inmune, han mostrado una gran efectividad para disminuir la cantidad de tumores presentes en equinos infectados y mitigar los daños que puede provocar el VPB en estos animales.

El objetivo de la presente revisión fue analizar el uso de vectores virales como opción terapéutica para la regresión de tumores provocados por el VPB, así como también caracterizar el proceso mediante el cual se lleva a cabo la regresión de tumores presentes en

animales ocasionados por el VPB, describir los virus que participan como vectores en las terapias enfocadas en la regresión de tumores provocados por el VPB, e identificar las terapias usadas para la regresión de tumores, tanto en bovinos como en equinos, causados por el mismo virus. De esta manera, para dar desarrollo a los objetivos planteados, se realizó una búsqueda exhaustiva en bases de datos de artículos científicos y libros, especialmente publicados en el idioma inglés, con un amplio rango en los años de su divulgación, los cuales permitieron obtener información precisa para entender, con un orden lógico, la temática trabajada.

Teniendo en cuenta lo anterior, se expone el marco teórico, en donde se presentan las características detalladas del virus, su patogenicidad y una aproximación inicial de las opciones terapéuticas utilizadas para su tratamiento. También se presentan los antecedentes, los cuales demuestran la trayectoria de trabajos de investigación que apoyan al el desarrollo del tema central y los diferentes puntos a tratar en la misma. Por otro lado, se explica la metodología usada para dar cumplimiento a los objetivos propuestos para la revisión, teniendo en cuenta su naturaleza cualitativa. Adicionalmente, se presentan los resultados obtenidos, dando respuesta a los objetivos planteados, y también, la discusión que resulta del mismo desarrollo de la temática planteada. Por último, se establecen las conclusiones finales de trabajo y las referencias bibliográficas utilizadas.

Objetivo general

Analizar el uso de vectores virales para la regresión de tumores provocados por el Virus del Papiloma Bovino como opción terapéutica.

Objetivos específicos

- Caracterizar el proceso mediante el cual se lleva a cabo la regresión de tumores ocasionados por el VPB.
- Describir los virus que participan como vectores en las terapias enfocadas en la regresión de tumores ocasionados por el VPB.
- Identificar las terapias usadas para la regresión de tumores, específicamente en bovinos, causados por el VPB.
- Establecer las terapias usadas para la regresión de tumores, específicamente en equinos, causados por el VPB.

1. Marco teórico

1.1 Generalidades del Virus del Papiloma Bovino (VPB)

Los papilomavirus bovinos pertenecen al género Papillomavirus, virus pequeños con un genoma de ADN, los cuales infectan a los humanos y a muchas otras especies de animales domésticos y salvajes, como es el caso de équidos y bovinos. Su principal característica es que causan lesiones hiperproliferativas en el epitelio cutáneo y las mucosas. Los PV son específicos de especie, ya que no afectan a otro huésped que no sea el natural, pero se ha presentado una excepción con el BVP tipo 1 y 2 que infectan caballos y otros équidos ^{1,2,3}.

1.1.1 Taxonomía del VPB

Según los parámetros del Comité Internacional de Taxonomía de Virus, el Virus del Papiloma Bovino se clasifica como se observa en la Tabla No. 1 ¹.

Tabla No. 1. Clasificación taxonómica del VPB.

Familia	<i>Papillomaviridae</i>
Género	<i>Xipapillomavirus, Deltapapillomavirus, Epsilonpapillomavirus.</i>
Especie	<i>VPB 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13.</i>
Clasificación de Baltimore	I

Elaboración propia. Fuente: Lunardi et al. Bovine Papillomaviruses - Taxonomy and Genetic Features. Current issues in Molecular Virology. IntechOpen. 2013.

1.1.2 Estructura del VPB

El Virus del Papiloma Bovino presenta simetría icosaédrica sin envoltura de 55 a 60 nm de diámetro que forma partículas paracristalinas en los núcleos de las células infectadas; contiene un ADN de doble cadena de aproximadamente 8.000 nucleótidos ensamblado por histonas celulares. Su cápside viral está compuesta por dos proteínas estructurales, L1 de 55 kDa, y L2 de 70 kDa. Asimismo, tal como se presenta en la Tabla No. 2, su genoma codifica para otras proteínas importantes en el proceso de replicación e infección en el huésped ¹.

Tabla No. 2. Proteínas virales del VPB.

TIPO	NOMBRE	FUNCIÓN
Proteínas no estructurales	E1	Reconocimiento del origen de replicación/actividad helicasa
	E2	Enganche de E1 al origen de la replicación/modulación de la transcripción de los primeros promotores virales
	E4	Supuesta función auxiliar en la salida del virión de las células infectadas
	E5	Interactúa con el receptor B del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y lo activa
	E6	Dirigida contra la proteína supresora de tumores p53
	E7	Se une a proteínas de la familia del retinoblastoma
Proteínas estructurales	L1	Componente de la cápside viral
	L2	Componente de la cápside viral

Fuente: Lunardi et al. Bovine Papillomaviruses - Taxonomy and Genetic Features. Current issues in Molecular Virology. IntechOpen. 2013.

2.1.3 Clasificación de serotipos virales del VPB

Los *Papillomavirus* (PV) bovinos están clasificados en tres géneros, el primero, *Xipapillomavirus*, con un tropismo especial por el epitelio, abarcan el VPB-3, VPB-4, VPB-6, VPB-9, VPB-10, VPB-11 y el VPB-12; el segundo, *Deltapapillomavirus*, asociados con fibropapilomas, que comprenden al VPB-1, VPB-2 y VPB-13; y el tercero, *Epsilonpapillomavirus*, en donde se encuentra el VPB-5, cuyo genoma comparte muchas semejanzas con los otros dos grupos de VPB, y el VPB-8^{2,3}.

Según Lunardi et al¹, cada tipo viral representa un genoma completo, quienes comparten en común la secuencia de nucleótidos del gen L1, que codifica la proteína principal de la cápside, y a su vez, muestran al menos un 10% de diferencia en comparación con la misma secuencia de cualquier otro PV previamente identificado⁴.

1.1.4 Genoma del VPB

El genoma de ADN circular de doble cadena de los *Papillomavirus*, en general, está conformado por tres regiones diferentes: la región de control largo (LCR, long control region) que contiene los elementos necesarios para la replicación y transcripción del ADN viral, y dos regiones que contienen marcos de lectura abiertos (ORF) correspondientes, por un lado, a genes tempranos, y, por otro lado, a genes tardíos. Esta característica de expresión temprana o tardía depende de si se expresan antes o después de que se lleva a cabo la síntesis de ADN destinado a la creación de nuevas partículas virales ^{5, 6, 7}. Se puede observar en la fig. 1 que los primeros genes codifican proteínas implicadas tanto en la replicación y transcripción del ADN viral como en la transformación celular, así como E1, E2, E4, E5, E6 y E7; los segundos genes codifican proteínas de la cápside, es decir L1 y L2 ^{2, 4, 8}.

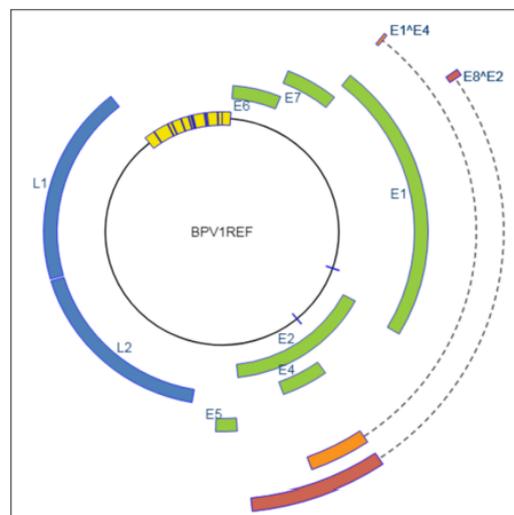


Figura 1. Genoma del VPB tipo 1 indicando las distintas regiones codificantes. Tomado de: Méndez I. Tipificación viral y características inmunopatológicas de la fibropapilomatosis bovina en diferentes regiones de San Luis Potosí. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 2019.

1.2 Epidemiología

Según reportes de la literatura, se han presentado, a nivel mundial, diferentes casos de infecciones ocasionadas por los diferentes genotipos del VPB, así como se observa en la fig. 2. Es importante destacar que cada uno de éstos se distribuyen de manera heterogénea y que algunos representan una incidencia mayor en diferentes lugares del mundo. Así, los genotipos que tienen mayor prevalencia al estar presentes en una mayor cantidad de países son el genotipo VPB-1 y VPB-2, al hallarse reportes, para el VPB-1, en Arabia Saudí, Nueva Zelanda, Brasil, India, Japón y Suecia, y para el VPB-2, en Alemania, Brasil, Japón, Italia, Portugal, Rumania, Nueva Zelanda y España. Por otro lado, para los genotipos VPB-3, VPB-7, VPB-8, VPB-9, VPB-11 y VPB-12, se conoce reportes únicamente en Japón y Brasil,

1.4 Infección natural por el virus

El virus del papiloma bovino VPB se propaga fácilmente por contacto directo entre animales infectados, con mayor facilidad entre los que están estabulados, a través de lesiones cutáneas, sangre contaminada y fómites, capaces de transmitir el virus, como cercas infectadas, narigueras, agujas hipodérmicas, instrumentos quirúrgicos, entre otros, además por manipulación de los animales con las manos del ordeñador, e incluso gracias a vectores artrópodos, principalmente garrapatas y tábanos, los cuales transportan el virus y facilita su entrada en los animales en el momento que ocasionan pequeñas lesiones en la piel sana cuando pican o muerden a los mismos ^{5, 14}.

Al tener contacto con la piel, el virus infecta directamente a los queratinocitos basales del epitelio, en donde se replican exclusivamente en el núcleo, y posteriormente se replica en los queratinocitos del estrato espinoso y granuloso ocasionando hiperplasia (crecimiento excesivo) del epitelio. Una vez infectada la célula, el virus puede seguir tres posibles vías:

1. El virus puede causar una infección latente sin cambios morfológicos en los queratinocitos.
2. En las células basales maduras el virus puede pasar de una infección latente a una productiva con formación de viriones completos infectantes, dando lugar a cambios morfológicos conocidos como citopatología viral, incluyendo hiperplasia epitelial, queratinocitos con citoplasma claro, núcleos picnóticos, y algunas veces cuerpos de inclusión intranucleares y/o intracitoplasmáticos.
3. El virus se puede integrar al genoma de la célula del huésped, resultando en transformación maligna de la célula y cambios morfológicos de neoplasia maligna, proceso observado en la fig. 3 ⁵.

El hecho de que se produzcan los cambios morfológicos y que se origine la hiperplasia celular, se debe a que los genes virales E5, E6 y E7, están asociados con la regulación del ciclo celular, y se han relacionado, además, con el proceso de promover el crecimiento celular al inactivar proteínas supresoras tumorales como el p53 y pRb. En consecuencia, se desencadena una proliferación celular descontrolada y con una nula capacidad para reparar el material genético provocando así una transformación maligna ^{5, 15}.

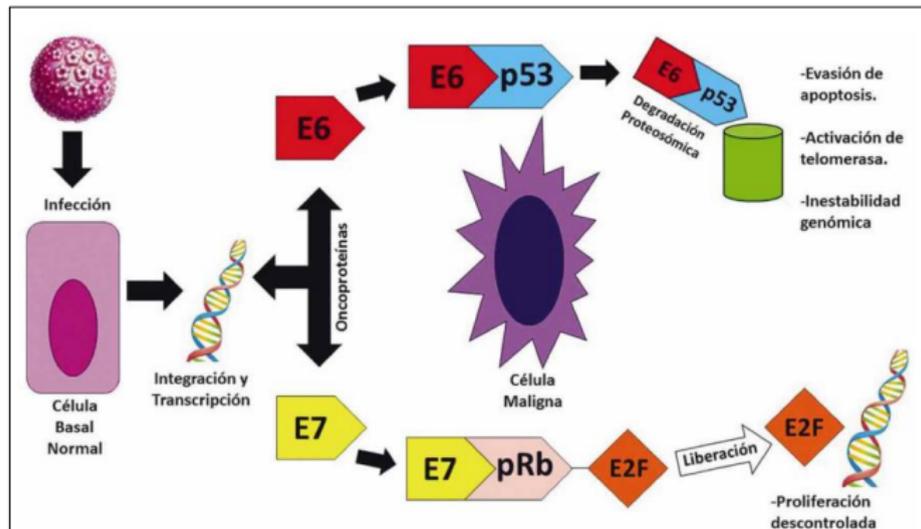


Figura 3. Mecanismo de carcinogénesis en la infección por Papilomavirus. Fuente: Méndez I. Tipificación viral y características inmunopatológicas de la fibropapilomatosis bovina en diferentes regiones de San Luis Potosí. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. 2019.

En adición, dependiendo el género del papillomavirus, las infecciones que se producen van a tener características diferentes. Así, las ocasionadas por los *Deltapapillomavirus*, van a transformar los fibroblastos subepiteliales, produciendo posteriormente una acantosis epitelial y papilomatosis; las infecciones ocasionadas por los *Xipapillomavirus*, provocan únicamente la transformación del epitelio, mientras que las causadas por los *Epsilonpapillomavirus*, causan tanto fibropapilomas como papilomas epiteliales ².

1.4.1 Actividad transformadora de oncoproteína E5

E5 es una proteína de membrana corta mayormente hidrofóbica, pero con pocos dominios hidrofílicos, que actúa como la principal proteína transformadora del VPB ⁷. En primer lugar, se une y activa el receptor del factor β de crecimiento derivado de plaquetas PDGF-R en células ya transformadas, formando complejos estables junto con el receptor, provocando su dimerización. Al estimular a PDGF-R se activa una cascada de señalización del receptor, que, en consecuencia, induce el crecimiento intracelular. Por otro lado, E5 también se une a la subunidad c de 16K de ductina, un componente de las vías comunicantes y la ATPasa vacuolar, provocando una regulación negativa de la comunicación intracelular de la célula infectada con sus vecinas sanas. Esta interacción provoca también la alcalinización del aparato de Golgi y los endosomas, impidiendo la salida de las moléculas del CMH de tipo I. Su ausencia en la superficie de las células facilita la evasión de la respuesta inmune del huésped. Además, la oncoproteína E5 activa algunas enzimas quinasas como Acck-2, MAP,

JNK, PI3 y c-Src impidiendo que se desarrolle de manera correcta el control del ciclo celular

20

1.4.2 Actividad transformadora de oncoproteína E6

La segunda proteína transformadora más importante del VPB es E6, cuya localización varía entre pequeñas fracciones de membrana y núcleo, y contiene dos dominios de dedos de zinc reconociéndose como una proteína activadora de la transcripción con unión al ADN. La función transformadora de E6 la realiza mediante la unión a dos moléculas. Primero a la proteína de unión a calcio ERC-55/E6BP, y segundo al coactivador transcripcional CBP/p300. La unión de estas proteínas con la influencia de E6 interfiere en las funciones celulares normales. Adicionalmente, la oncoproteína E6 se une a la proteína de adhesión focal paxilina, provocando una interrupción en el citoesqueleto, cuya función es vital para el mantenimiento de la morfología celular, la motilidad, la división y las interacciones de la célula con otras células y con la matriz celular; E6 también se une a la subunidad γ del complejo adaptador de clatrina AP-1, obstruyendo las vías del tráfico vesicular, importantes para el control de la proliferación y diferenciación celular ^{7, 20}.

1.5 Manifestaciones clínicas

1.5.1 Papilomatosis bovina

El signo más característico de esta enfermedad corresponde a la aparición de pequeños crecimientos nodulares en la piel, conocidos como verrugas, que se observan a simple vista, como lo demuestra la fig. 4, que en la mayoría de las ocasiones tienen una regresión espontánea, o duran hasta un tiempo máximo de 18 meses, hasta que se necrosan y abandonan la piel del animal. De igual manera, el resto de signos clínicos van a aparecer dependiendo del lugar en donde se ubiquen las lesiones. Por ejemplo, “si se localizan en espacio interdigital son dolorosos y pueden provocar cojeras o postración. En el tracto gastrointestinal rara vez exhiben manifestaciones clínicas pero pueden causar anorexia o timpanismo. En la glándula mamaria pueden dificultar el ordeño o complicarse con infecciones secundarias y generar mastitis. En vagina o pene pueden interferir con el coito, sangrar, infectarse e interferir con la reproducción” ^{5, 14}.



Figura 4. Ubicación de las lesiones en bovinos con papilomatosis cutánea. a) Cabeza y cuello y b) Dorso y tórax. Fuente: Cardona et al. Caracterización clínica, histopatológica e histoquímica del papiloma cutáneo en bovinos (*Bos taurus*) del departamento de Córdoba, Colombia. UDCA. 2018.

De manera específica, los serotipos del 1 al 6 se distribuyen de diferentes maneras en el cuerpo de los animales así: los serotipos VPB-1 y VPB-2 ocasionan papilomas en la zona de la cabeza, cuello y hombros, además de localizarse en el pene y la mucosa vaginal; el serotipo VPB-3 causa papilomas cutáneos persistentes; el serotipo VPB-4 está implicado en la aparición de papilomas en el tracto digestivo; el serotipo VPB-5 causa papilomas en el pezón de tipo “grano de arroz”; y el serotipo VPB-6 ocasiona papilomas aplanados (en forma de fronda) también en el pezón ³.

1.5.2 Sarcoidosis equina

La sarcoidosis equina constituye una enfermedad que genera tumores dermatológicos en caballos, burros, mulas y cebras ^{18, 21, 22}. A diferencia de los papilomas bovinos, los sarcoides equinos no demuestran regresión natural ni espontánea, y, aunque no hacen metástasis, pueden ser recurrentes si no se tratan de manera adecuada. En la literatura se han descrito diferentes tipos clínicos, tal como se observa en la fig. 5. El tipo fibroblástico presenta ulceración agresiva en la epidermis; los tipos ocultos corresponden a placas alopécicas planas, con hiperqueratosis o presencia de nódulos en su superficie; los sarcoides nodulares son masas redondas que no ocasionan ningún tipo de daño al epitelio, pero, la piel suprayacente puede desprenderse o adherirse a la porción fibroblástica del tumor; los sarcoides de tipo verrugoso tienen una apariencia de protuberancias de pequeño tamaño, típica de las lesiones provocadas por los virus del papiloma. Con frecuencia, se observan casos de animales que presentan sarcoides mixtas, compuestas por dos o más tipos de sarcoides. Las lesiones de tipo nodular, verrugoso y oculto suelen permanecer estables a lo

largo del tiempo por muchos años, y, de manera espontánea, cambiar drásticamente y evolucionar a un tumor que crece rápido, generalmente de tipo fibroblástico, que es muy difícil de tratar ²¹.



Figura 5. Cuatro tipos clínicos de sarcoide equina. (a) Sarcoides fibroblásticos en el abdomen ventral; (b) sarcoides ocultas en el hombro; (c) sarcoide nodular en el párpado superior; (d) sarcoide verrugoso en la mandíbula. Fuente: Bogaert et al. Bovine papillomavirus load and mRNA expression, cell proliferation and p53 expression in four clinical types of equine sarcoid. *Journal of General Virology*. 2007.

1.6 Opciones terapéuticas para tratar el VPB

Como se ha mencionado anteriormente, en la mayoría de los casos las lesiones papilomatosas retroceden naturalmente sin causar consecuencias más graves al animal infectado, pero, en situaciones particulares, relacionadas con una mala higiene o cuidados inadecuados, las lesiones pueden ser recurrentes, además de persistir y progresar en carcinomas, y es aquí cuando se vuelve indispensable una intervención terapéutica para tratar y erradicar la infección por completo. El tratamiento de estas enfermedades ha estado limitado pues no hay medicamentos que demuestren una efectividad del 100%, y es por esto que se han desarrollado gran variedad de tratamientos con el fin de controlar la infección por el VPB ^{23, 24}.

Dentro de los tratamientos usados para el control de la infección causada por el BPV tanto en equinos como en bovinos, se encuentra una amplia variedad de procedimientos y medicamentos con una efectividad variada. Por ejemplo, la cirugía se lleva a cabo únicamente cuando las lesiones presentes en el cuerpo del animal son pocas, removiendo la totalidad de las verrugas, lo cual lo convierte en un procedimiento poco práctico, que en la

mayoría de casos no se realiza. Por otro lado, la vacunación es otra de las formas más comunes de tratamiento y prevención de la enfermedad ^{13, 24}. Las vacunas que se han implementado desde el año 1990 están basadas en el uso de la proteína BPV L1 obtenida de manera recombinante de organismos procariotas, y también en la obtención de partículas sintéticamente similares al virus mediante el uso de células eucarióticas, que tienen como propósito inducir inmunidad en el huésped, pero que no demostraron una protección eficaz contra la infección ²⁵. Adicionalmente, las vacunas autógenas que se elaboran con sangre o tejidos de verrugas de animales infectados también se implementan como medida de control, pero no es efectiva en la mayoría de los animales afectados ^{12, 25}.

Otras alternativas son el uso y suministro de medicamentos como el 4.4 Diacetato de Diazoaminodibenzamidina, el clorobutanol, inmunomoduladores como la ivermectina y el levamisol, infusiones intravenosas de bismuto, amonio, ácido salicílico, etilenodinitrilo tetracetato de calcio, cobre o cloruro de magnesio, otros tratamientos de origen homeopático provenientes de la planta Thuja e incluso células inactivadas de *Propionibacterium* ^{12, 13, 23, 25}.

Particularmente, para la sarcoidosis equina no existe una terapia eficaz que facilite el tratamiento de los animales afectados, y como esta enfermedad es clínicamente más severa, se recurre a procedimientos como la escisión, la crioterapia y la inmunomodulación local, que en la mayoría de los casos, no presenta los resultados esperados. La escisión quirúrgica presenta consecuencias pues provoca en el animal afectado una hiperproliferación de las lesiones, debido a la activación del VPB que está latente en el tejido aparentemente normal rodeando a la lesión ²⁰. Por lo tanto, en los últimos años se han desarrollado vacunas basadas en vectores del virus de la influenza A y B que inducen la regresión de tumores, las cuales prometen un futuro alentador para todos los animales afectados con el VPB ²⁶.

2. Antecedentes

En un artículo publicado en la revista *Infectious Agents and Cancer* por Corteggio et al⁷ en el año 2013, se plantea el objetivo de identificar el papel que cumplen las oncoproteínas E5 y E7 del VPB en los tumores que estos mismos provocan, describiendo sus características biológicas, centrándose específicamente en los patrones de expresión de estas proteínas en tumores presentes tanto en bovinos como en equinos. Allí, se realiza una descripción inicial del Virus del Papiloma Bovino, el cual pertenece a la familia *Papillomaviridae*, y en general, corresponden a pequeños virus de material genético ADN, que infectan a diferentes especies, especialmente bovinos y équidos, causando lesiones hiperproliferativas benignas en el epitelio mucoso y cutáneo, y en el peor de los casos, tumores malignos. El VPB se clasifica en 13 serotipos, los cuales son específicos de especie, pero se ha demostrado que el VPB tipo 1 y 2, infecta adicionalmente a équidos, búfalos y bisontes.

En esta revisión se demuestra cómo los tumores provocados por este virus suelen retroceder espontáneamente en la mayoría de los casos, sin embargo, cuando no son intervenidos ni tratados de la manera más adecuada, se convierten en cáncer, con la influencia de varios factores. Principalmente, el VPB cuenta con una proteína transformadora conocida como E5, cuya actividad es oncogénica pues contribuye a la transformación celular debido a que activa el receptor β celular para el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF β -r), adicionalmente, disminuye la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I (CMH I) en la superficie de las células disminuyendo la posibilidad de que se produzca la presentación del antígeno y se desencadene la respuesta inmune, e incluso, inhibe la comunicación intracelular estimulando la expresión de conexinas.

Por otro lado, se demuestra que la participación de la oncoproteína E7, en conjunto con la proteína E5, durante el desarrollo del cáncer es crucial para el establecimiento del tumor. E7 provoca una sobreexpresión de la integrina $\beta 1$, quien es importante para el proceso de regulación de la proliferación y diferenciación de los queratinocitos; y también, interfiere en las respuestas celulares que conducen al rechazo de tumores. Así, conocer el papel que cumplen estas oncoproteínas en el proceso de desarrollo del tumor es importante para generar posibles estrategias de prevención y control de estas enfermedades.

Por otro lado, Nasil y Brandt²² en el año 2013 dan a conocer de manera más detallada la relación entre la infección causada por el VPB y la especie equina. El propósito de esta revisión bibliográfica es describir la estructura y función de las proteínas virales que expresan los VPB, discutir el papel que cumplen los serotipos virales VPB 1 y 2 en la patogénesis de los sarcoides equinos, y presentar evidencia sobre un nuevo virus del papiloma equino (EcPV-2) quien participa en la patogenia de los cánceres genitales equinos.

Los autores mencionan que el VPB 1 y 2 están asociados con la aparición y desarrollo de tumores cutáneos en caballos, burros, mulas y cebras, denominados sarcoides, los cuales hacen referencia a tumores no metastásicos pero localmente agresivos, que pueden ser clasificados por sus características morfológicas en seis tipos clínicos: formas leves ocultas y verrugosas, tipos nodulares y fibroblásticos más graves, sarcoidosis muy progresivas que invaden hasta los ganglios linfáticos, y sarcoidosis mixtas, que agrupan diferentes tipos de lesiones. La infección entre especies se ha demostrado debido a una adaptación por mutaciones genéticas que demuestran una función mejorada de las oncoproteínas E6 y E7 en fibroblastos equinos.

Debido a la locación, tamaño y número de las lesiones, su tendencia de resistir y reaparecer de una manera más agresiva posterior al tratamiento, esta enfermedad puede comprometer de manera integral el bienestar y estado natural de los animales afectados y causar pérdidas económicas para los sistemas que de ellos dependen. Es por esto que el conocimiento de estos hechos orienta la percepción de que es importante el desarrollo de nuevas terapias que sean verdaderamente efectivas y que no provoquen efectos secundarios al ser aplicadas en los animales, para garantizar una mejor supervivencia y optimización de los recursos económicos, cuando sea el caso.

Adicionalmente, en un estudio realizado por Zeng et al²⁷, desarrollaron una investigación enfocada en investigar los factores críticos para el rechazo inmunomediado del carcinoma cutáneo de células escamosas (SCC). Para esto, desarrollaron un modelo de rechazo utilizando ratones de laboratorio inmunosuprimidos con un medicamento, en los cuales se realizó un trasplante de SCC. Posteriormente, se retiró el medicamento inmunosupresor, lo cual estimuló el rechazo tumoral de los tumores trasplantados. Así, gracias a un agotamiento

individual de los subconjuntos inmunitarios CD8⁺, CD4⁺, células T $\gamma\delta$ y células Natural Killer se estableció el papel fundamental de cada uno de ellos para la regresión de los SCC.

Por lo tanto, para entender cómo funciona la regresión tumoral, se obtuvo como resultado que la regresión de tumores en estos casos fue dependiente de IFN- γ . Esto fue demostrado ya que cuando se neutralizó la acción del IFN- γ , se anuló la regresión del SCC, se redujo la infiltración de células T CD8⁺, fundamentales para la respuesta inmune, y se afectó la secreción de quimiocinas CXCL9, CXCL10 y CCL5 dentro del microambiente tumoral, impidiendo la interacción con sus respectivos receptores, necesaria para que se produzca toda la respuesta en secuencia. Además, también se reveló una relación entre la expresión de CXCL10 y la cantidad de linfocitos T CD8⁺ presentes en los tumores. Esto debido a que cuando se retira el medicamento inmunosupresor, se bloquea la unión de los receptores CXCL10 con su ligando CXCR3, impidiendo la infiltración de los CD8⁺ en el tumor.

Ahora bien, con el fin de identificar todos aquellos vectores provenientes de virus que han sido usados para terapias antitumorales, Hefferon²⁸ en el año 2017, destaca la utilidad de las plantas, pues son consideradas como útiles en la industria tecnológica pues proporcionan un medio para la obtención de medicamentos, combatir enfermedades infecciosas y otros usos. De los virus que afectan a las plantas se han obtenido vectores de expresión, los cuales producen una mejor utilidad en un periodo de tiempo muy corto en comparación con otras fuentes de vectores, y han demostrado ser útiles para terapias contra el cáncer.

Es así como esta revisión plantea que se han diseñado vectores de expresión de tres generaciones, de las cuales, la tercera ha demostrado ser útil para el tratamiento contra el cáncer, ya que los virus de plantas son usado como nanopartículas que estimulan una mejor respuesta inmune al ser aplicadas directamente en el tumor. Dentro de los virus que han demostrado utilidad en este ámbito se destacan el Virus X de la Papa (PVX) y el Potexvirus del Mosaico de la Papaya (PapMV).

Ahora bien, con el propósito de identificar tratamientos enfocados en la regresión de tumores provocados por el VPB, específicamente en bovinos, Campo et al²⁹ evaluó la efectividad de unas nuevas vacunas profilácticas y terapéuticas contra el VPB tipo 4, creadas utilizando proteínas recombinantes. Teniendo en cuenta estos hechos, se estudió la posibilidad de que la proteína L2 del VPB-4 potencie la acción antitumoral de E7.

Para esto, se produjo de manera recombinante las proteínas L2 y E7 utilizando bacterias *E. coli*, que fueron aplicadas en 3 grupos de animales. Los resultados posteriores a la aplicación de los recombinantes, demostraron que algunas de las terapias utilizadas para la regresión de tumores causados por el VPB en bovinos, especialmente las basadas en vacunas L2 y L2 en combinación con E7, confieren un alto grado de protección, un efecto casi seguro debido a la presencia de la proteína L2, y son bastante útiles para el tratamiento de animales en estos casos. Adicionalmente, estos hechos aseguran la idea de que para los bovinos, es más efectivo el tratamiento contra la regresión de tumores, además de que los animales se pueden tratar sin que esto implique efectos negativos para la salud de los mismos.

Para finalizar, Jindra et al²⁶ en el año 2021 planteó la posibilidad de un nuevo tratamiento útil para la regresión de tumores causados por el VPB, específicamente en equinos, teniendo en cuenta que los sarcoides comprometen de manera severa la salud y bienestar de los animales, debido a la tendencia a resistir al tratamiento y reaparecer de forma más grave. Así pues, los investigadores desarrollan vectores del Virus de la Influenza A y B, que contienen un gen NS1 truncado, quien asegura la inducción de interferón y, además, coexpresa las oncoproteínas del VPB 1 E6 y E7.

Además, en el estudio realizaron un ensayo que involucró a 29 caballos portadores de sarcoide inducido por VPB 1, a los cuales se les inyectó intratumoralmente con los vectores denominados iNSA/E6E7 y/o iNSB/E6E7. El tratamiento indujo una respuesta antitumoral sistémica reflejada por la regresión sincrónica de las lesiones inyectadas y no inyectadas. Se demostró la regresión completa del tumor en 10/29 caballos. Nueve de estos pacientes gravemente afectados con un historial de intentos terapéuticos fallidos no respondieron o solo transitoriamente al tratamiento. Por consiguiente, las vacunas basadas en vectores INSA/E6E7 e iNSB/E6E7 demostraron ser seguros y efectivos para reducir significativamente la carga tumoral incluso en casos graves.

Para concluir, los hallazgos presentados son prometedores, a pesar de que no se haya demostrado una regresión en todos los casos sometidos a estudio. Esto indica que se deben perfeccionar los vectores, mecanismos y procedimientos utilizados con el fin de asegurar en un futuro cercano, que esta enfermedad pueda ser combatida en la mayoría de países en

donde se presenta, y controlar la transmisión e infección que provoque el VPB a diferentes poblaciones de animales.

3. Metodología

3.1 Tipo y alcance de la investigación

El tipo de investigación de este estudio es cualitativo, con alcances exploratorios, descriptivos y correlacionales, ya que abarca un tema que, hasta la fecha, es poco estudiado, abriendo campo a la investigación desde los ambientes académicos, además, propone unas bases consolidadas para nuevos proyectos orientados hacia el mismo tema de estudio gracias a revisiones bibliográficas, con el fin de sugerir posibles aplicaciones de algunas terapias para el tratamiento de las enfermedades producidas por el VPB, y apoyar la estrategia del uso de vectores virales para la regresión de tumores, específicamente en equinos, provocados por el mismo virus.

3.2 Población y muestra

La presente investigación plantea como población al conjunto de artículos científicos consultados en diferentes bases de datos reconocidas, los cuales aparecen tras la búsqueda inicial del concepto central de la investigación; dentro de la muestra se incluyen artículos científicos, nacionales e internacionales, indexados, que cumplan con los respectivos criterios de validez e inclusión, publicados en idioma español e inglés, comprendidos entre los años 1979 y 2021.

3.3 Procedimiento, técnica o método

3.3.1 Búsqueda y revisión de información existente

Se realiza una búsqueda inicial de información general, ordenada de manera lógica y secuencial, que permite descomponer el tema central desde lo más básico y conceptual como lo son las generalidades del Virus del Papiloma Bovino, sus características y patogenia, hasta

su relación con las enfermedades producidas en equinos y bovinos, agregando datos sobre los tratamientos utilizados para su tratamiento en los animales y nuevas estrategias a utilizar. Para esto, fue necesario consultar bases de datos como Springer Link, Scielo, Science Direct, Pubmed, Elsevier, NCBI y Google académico, las cuales se encuentran disponibles en Internet, y tienen libre acceso gracias al convenio con la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

De manera adicional, y con el fin de ejecutar una búsqueda más integral, se utilizan las palabras clave como Virus del Papiloma Bovino, Papilomatosis, Sarcoidosis, Vectores virales y Regresión tumoral, en las bases de datos anteriormente mencionadas. También, complementa la búsqueda con el uso de conectores booleanos “*and, not y or*” con el fin de concretar los artículos encontrados.

3.3.2 Selección del material consultado

Seguido de la respectiva revisión del material consultado, se procede a establecer si la información encontrada en los artículos es pertinente y relevante para la investigación, teniendo en cuenta a que responda a los objetivos planteados y que cumpla con los criterios de inclusión mencionados a continuación.

- Artículos preferiblemente en inglés con acceso a texto completo.
- Artículos que justifiquen el mecanismo por el cual se produce la regresión espontánea de los tumores asociados con el VPB.
- Artículos que expliquen los vectores virales usados en terapias enfocadas en la regresión de tumores ocasionados por el VPB.
- Artículos que desarrollen las terapias usadas para la regresión de tumores tanto en equinos como en bovinos, ocasionados por el VPB.
- Artículos publicados entre 1979 y 2021.

Por otro lado, se descartan los artículos que, además de incumplir con los criterios de inclusión, cumplen con los siguientes criterios de exclusión:

- Artículos sin acceso a texto completo.
- Artículos cuyo contenido no permite cumplir con el objetivo de la revisión bibliográfica.
- Artículos publicados fuera del rango de fecha establecida.

3.3.3 Clasificación de la información

Una vez seleccionado el total de 48 referencias bibliográficas, siguiendo el diagrama de flujo descriptivo mostrado en la fig. 6, distribuidas en el rango de fechas de 1979 hasta 2021, se procedió a clasificar esta información según el orden de presentación de los antecedentes y el marco referencial, así como los resultados, la discusión y las conclusiones. De esta manera, los artículos permiten dar un completo desarrollo y orden a la presente revisión, al permitir explicar las características principales del virus, su patogenicidad, las manifestaciones clínicas que provoca en los animales a quienes afecta, posibles opciones terapéuticas para su tratamiento, y la reciente implementación de vectores virales como opción para la regresión de tumores provocados por el mismo virus.

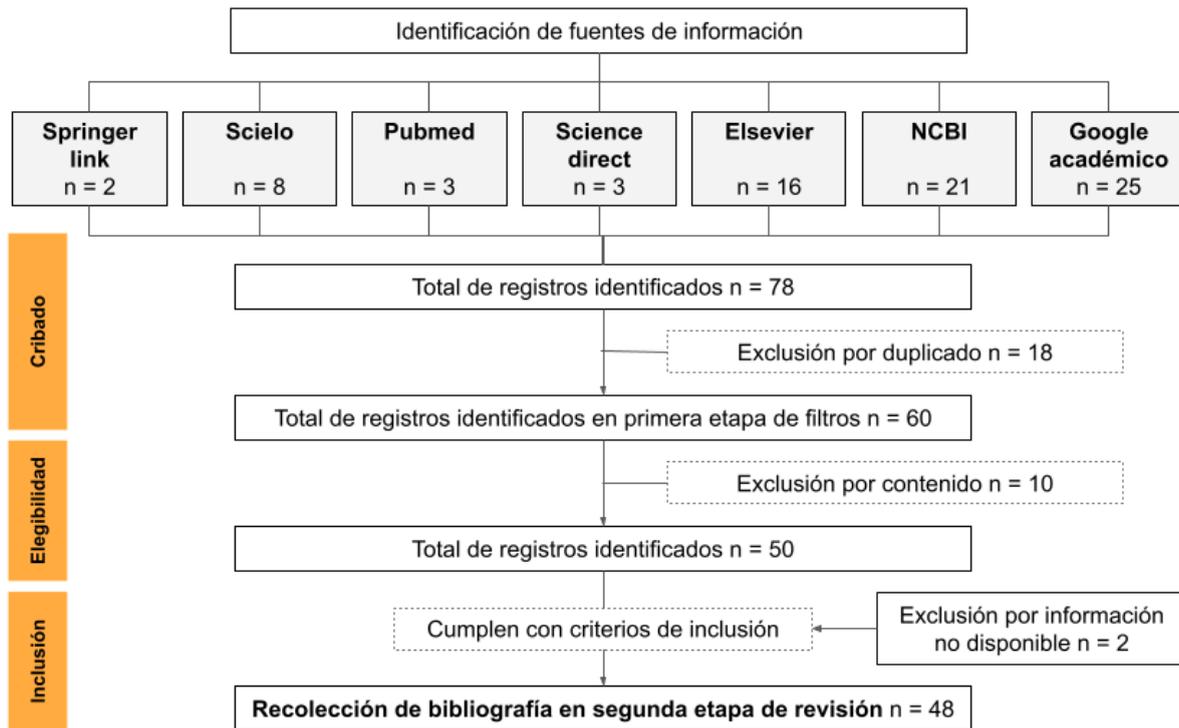


Figura 6. Diagrama de flujo descriptivo de las etapas de revisión bibliográfica para la obtención de información. Fuente: elaboración propia.

4. Resultados y discusión

4.1 Regresión de tumores ocasionados por el VPB

La regresión de tumores es un proceso que puede ocurrir de manera espontánea, tanto para el tumor primario, como para su metástasis, y recibe este nombre debido a que se produce una disminución en el tamaño del tumor, provocando “la desaparición parcial o completa de un tumor maligno en ausencia de tratamiento o en presencia de terapia considerada inadecuada para ejercer una influencia significativa sobre la enfermedad”³⁰. Para los cánceres que se establecen en el epitelio, el sistema inmunológico es quien desempeña el papel principal para que se desencadene la regresión de tumores, al detectarse la presencia aumentada de linfocitos T, y algunas citoquinas³¹.

Los tumores ocasionados por el VPB contienen una gran cantidad de células inmunitarias, citoquinas inflamatorias como IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-17A, IFN- α e IL-12p70, y antígenos diana, quienes en asociación constituyen un tipo de tumor inmunológicamente “caliente”.

Cuando se desencadena la respuesta inmune, aumenta la transcripción de genes regulada por IFN- γ , demostrando que la participación de IFN es importante para la inmunovigilancia de estas lesiones ²⁷.

En investigaciones recientes en las que ha sido utilizado el modelo murino para definir el papel que cumple el IFN- γ en el rechazo de tumores, se ha destacado la respuesta del IFN- γ en procesos de regresión espontánea de tumores, y, debido a este comportamiento, se ha definido el papel que cumple el interferón en el control de tumores ocasionados por algunos papilomavirus utilizando un modelo “regresor” de tumores epiteliales. Es así como se demuestra que para que se produzca el interferón, los linfocitos T CD8⁺ cumplen un papel fundamental, quienes, al ser activados por los linfocitos T CD4⁺ brindando una fuente temprana de IL-2, promueven la fase efectora en la que se destruye el estroma tumoral de manera más efectiva, y se aumenta la producción de IFN- γ dentro del microambiente tumoral. Por otro lado, cuando no se produce de manera efectiva el IFN- γ , se disminuye la producción de quimiocinas CXCL9, CXCL10 y CCL5 dentro de la masa tumoral, y, en consecuencia, una reducción en el número de linfocitos T capaces de infiltrar en el tumor. Los ligandos CXCR3, CXCL9, CXCL10 y CXCL11 aumentan en cantidad a medida que avanza la formación del tumor ²⁷.

Así como se observa en la fig. 7, la secreción de CXCL10 proveniente de las células tumorales es inducida por el IFN- γ , la cual es fundamental para que se establezca la unión de estas quimiocinas CXCL10 y CXCL11 junto con su ligando CXCR3, producido por los linfocitos T CD8⁺, para controlar el crecimiento de los tumores. Es así como se podría concretar que el IFN- γ producido por las células T CD8⁺ dentro del tumor actúa en un ciclo de retroalimentación para inducir la expresión de CXCL10 en las células tumorales, conduciendo a una mayor expresión de CD8⁺. Pero no solo los LT CD8⁺ liberan IFN- γ . Otras células pertenecientes al sistema inmune innato como las células natural killer (NK), las células dendríticas (CD), los macrófagos y las células T $\gamma\delta$ estimulan la liberación del interferón apoyando la producción temprana de esta citoquina para desencadenar la respuesta inmune ²⁷.

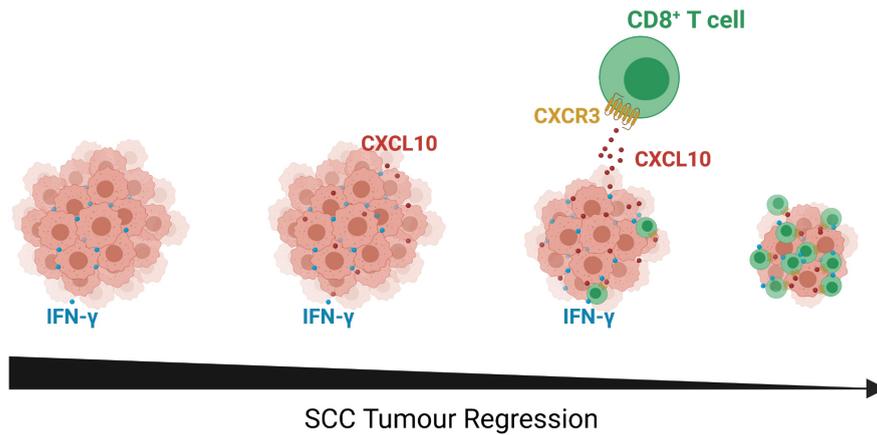


Figura 7. Proceso de regresión tumoral en el cual está involucrado el IFN- γ producido por las células T CD8⁺, y las quimiocina CXCL10, con su co-receptor CXCR3. Fuente: Zeng et al. IFN- γ Critically Enables the Intratumoural Infiltration of CXCR3⁺ CD8⁺ T Cells to Drive Squamous Cell Carcinoma Regression. *Cancers*. 2021.

4.2 Vectores virales como opción terapéutica en la regresión de tumores ocasionados por el VPB

El uso de virus como posibles vectores para tratamientos enfocados hacia diferentes enfermedades tiene una amplia trascendencia. Los vectores virales están disponibles, según el efecto deseado, pues son altamente inmunogénicos facilitando la propagación del antígeno, o material genético del mismo, debido a que se replican dentro de las células huésped, además de demostrar tasas de infección significativamente importantes ³².

Algunos de los virus que se usan como vectores virales son el Adenovirus, Virus Adenoasociados, el Virus de la Viruela Aviar y el virus Vaccinia. De manera más detallada, el virus Vaccinia es un vector prometedor, al contar con un gran genoma y por su naturaleza altamente infecciosa, reduciendo la patogenicidad producida principalmente por las oncoproteínas E6 y E7. Por otro lado, los Adenovirus y Virus Adenoasociados, son usados ampliamente debido a la facilidad que demuestran para estimular una respuesta inmune del huésped de manera más eficaz, al mejorar el procesamiento del antígeno presentado al Complejo Mayor de Histocompatibilidad de clase I CMH-I de diferentes maneras, promoviendo una mejor atención a la infección ^{32,33}.

Según Lin et al³³, para las terapias antitumorales también son usados los vectores de virus de tipo ARN, como el Virus del Bosque de Semliki (SMV), el cual induce respuesta de

linfocitos T citotóxicos inhibiendo la angiogénesis tumoral. En esta familia también se encuentra el virus de la Encefalitis Equina Venezolana (EEV) y el Virus Sindbis (SIN), quienes, al tener la capacidad de autoreplicarse, dan como resultado una expresión más sólida del antígeno, y, en consecuencia, una mayor inmunogenicidad³³. Sin embargo, el uso de vectores vivos lleva consigo un riesgo de seguridad, principalmente para pacientes inmunosuprimidos, y también debido a la generación de anticuerpos neutralizantes, los cuales limitan las inmunizaciones repetidas, y la posibilidad de que exista una inmunidad previamente establecida al vector en uso^{32,33}.

Para los últimos años el uso de virus de plantas se ha implementado para el desarrollo de vacunas y otras sustancias terapéuticas. Es así como se han diseñado vectores de expresión de primera, segunda y tercera generación que difieren entre sí en cuanto a su mecanismo de acción. Los vectores de primera generación utilizan el virus completo, el cual contiene el genoma completo con el gen de interés expresado desde el mismo ORF que la proteína de la cubierta, ya sea como parte de una proteína de fusión o también en otro promotor adicional que es incorporado al genoma viral. Por otro lado, los vectores de segunda generación, no tienen limitación en el tamaño de los genes que se quieren insertar. Estos son una versión mejorada de la primera generación al tener niveles de producción mejorados al estar compuestos únicamente por los componentes mínimos que el virus requiere para la replicación, más el gen extraño de interés²⁸.

En especial, la tercera generación ha demostrado gran utilidad en cuanto a su utilidad para tratar el cáncer. Esta última generación utiliza los virus de plantas como nanopartículas quienes provocan una respuesta inmunológica localizada contra las células cancerosas, constituyendo una gran ventaja pues esta respuesta no es tóxica y además es biodegradable. Allí aparece el Virus X de la Papa (PVX) y el Potexvirus del Mosaico de la Papaya (PapMV), los cuales pueden ser administrados intratumoralmente, al actuar como nanopartículas, provocando una regresión del tumor. En particular, PapMV tiene propiedades inmunoestimuladoras provocando una respuesta mediada principalmente por INF α , y, al ser endocitado de manera rápida por las células presentadoras de antígeno, esta respuesta inmune es acompañada de una significativa proliferación celular de linfocitos T CD8⁺²⁸.

Por todos los beneficios y ventajas que confieren estos vectores virales obtenidos de plantas, principalmente para las terapias antitumorales, es importante que se continúe con la

investigación y desarrollo enfocados en los muchos usos que pueden tener estos vectores, además de su producción a nivel farmacéutico para aplicarlos posiblemente en el tratamiento de papilomas y sarcoides ocasionados por el VPB, buscando beneficiar tanto a bovinos como a equinos, en los que se estimule de mejor manera la regresión tumoral.

En cuanto a medidas terapéuticas enfocadas principalmente en el manejo y regresión de tumores, se ha producido el Virus de la Influenza A recombinante, que carece de la proteína NS1, la cual actúa como un factor de virulencia que dificulta la respuesta antiviral mediada por interferón de tipo I (IFN) del huésped. Este virus es usado como vector terapéutico, pero solo es capaz de replicarse en células que poseen defectos en la vía del IFN, lo cual demuestra que puede ser usado en la “oncólisis mediada por virus de células tumorales resistentes a IFN”³⁴. Estos avances basados en modificaciones genéticas para atenuar el virus de la influenza son prometedores para ser usados in vivo en tratamientos para la regresión de tumores provocados por el Virus del Papiloma Bovino y además para obtener vacunas estables dirigidas contra el mismo virus^{34,35}.

4.3 Terapias utilizadas para la regresión de tumores en bovinos ocasionados por el VPB

4.3.1 Inmunización directa

De manera experimental, se ha demostrado la regresión de lesiones papilomatosas en bovinos gracias a una inmunización directa con antígenos virales que provoca una respuesta inmunitaria en los animales. De manera más específica, se realizó un estudio en terneros de 8 a 12 semanas de edad, a quienes se inoculó partículas del VPB-4 demostrando la regresión espontánea de tumores acompañados por infiltraciones de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺. Estos resultados han sido comparados de manera similar con papilomas que retroceden posteriormente al tratamiento con la vacunación o con inmunoterapia intralesional con *Corynebacterium parvum*³⁶.

4.3.2 Inmunización recombinante

Por otro lado, la producción de péptidos de E7 específicos del VPB-4 utilizando *E. coli* también ha sido efectiva para inmunizar a bovinos, en los cuales se induce el rechazo de tumores previamente establecidos, acompañado, como normalmente ocurre, de una respuesta inmune celular. Esto demuestra que en los bovinos, una adecuada inmunización con la oncoproteína E7 puede provocar una respuesta inmune suficiente para inducir la regresión de tumores, y ser usado como vacuna profiláctica y terapéutica en los casos de papilomatosis bovina ²⁹.

Lo anterior fue demostrado en un estudio realizado en el Departamento de Patología Veterinaria en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Glasgow en Reino Unido, cuyo propósito consistía en estudiar la posibilidad de que la proteína L2 del VPB-4 potencie la acción antitumoral de E7, y provoque el rechazo de tumores en bovinos infectados. Para esto, se produjo de manera recombinante las proteínas L2 y E7 del VPB-4 como proteínas de fusión GST, utilizando bacterias *E. coli*, así como se observa en la fig. 8 (a). Estos recombinantes fueron aplicados en 3 grupos de animales de la siguiente manera: al primer grupo, conformado por 15 bovinos, se les aplicó la combinación de las recombinantes L2 + E7; al segundo grupo, también conformado por 15 bovinos, se les suministró únicamente la recombinante L2; y al tercer grupo, denominado control, conformado por 17 animales, no se les aplicó ningún componente. Los animales fueron examinados durante 4, 7 y 11 semanas después de la vacunación ²⁹.

A las 11 semanas después de la vacunación, en el grupo 1, fig. 8 (b), solo un ternero mostró la aparición de 7 tumores, que no desaparecieron al final del experimento, y los 14 animales restantes no evidenciaron aparición de ninguna lesión. En el grupo 2, fig. 8 (c), un ternero mostró la aparición de cinco lesiones, y los 14 animales restantes estaban completamente libres de tumores. En el grupo 3, fig. 8 (d), se observó que 14 de los 17 terneros desarrollaron entre 2 y 13 tumores. Los 28 terneros vacunados sin tumores todavía estaban libres de papilomas 44 semanas después de la exposición, mientras que los animales de control todavía tenían papilomas. Por lo tanto, se puede concluir que las vacunas L2 y L2 en combinación con E7 confirieron un alto grado de protección, un efecto casi seguro debido a la presencia de la proteína L2, ya que estaba previamente demostrado que la vacuna E7 no tiene efecto protector por sí misma ²⁹.

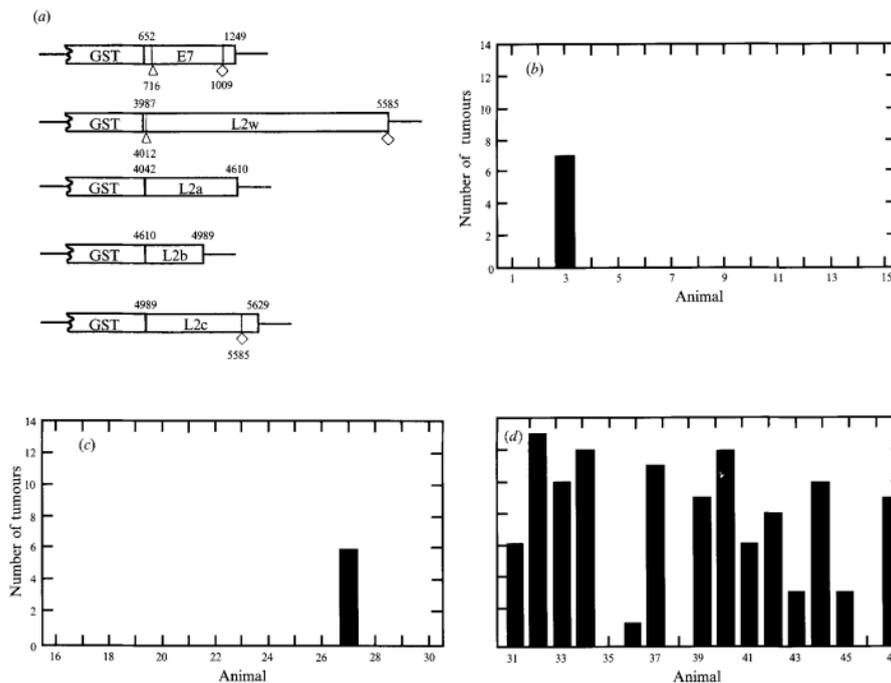


Figura 8. Resultados obtenidos de la vacunación en bovinos con L2 y L2+E7. (a) Péptidos recombinantes de L2 y E7 como proteínas de fusión GST. (b, c, d) Número de tumores en terneros 11 días post vacunación. (b) Grupo 1 (E7+L2) (c) Grupo 2 (L2) (d) Grupo 3 (control). Fuente: Saveria et al. Prophylactic and therapeutic vaccination against a mucosal papillomavirus. Journal of General Virology. 1993.

De la misma forma, la inmunización previa a la infección por VPB-4 con la proteína E7 recombinante del mismo virus retrasa el desarrollo de los tumores y promueve más rápidamente su regresión. Particularmente para este caso, la respuesta viene acompañada de células T CD2⁺, CD4⁺ y CD8⁺ específicas del epitelio ³⁷.

Adicionalmente, se han obtenido otras proteínas recombinantes de *E. coli* para vacunas, como la L1 y L2 del VPB-2. En primer lugar, la proteína L1 induce inmunidad, propiedad conservada aún en la producción recombinante de la proteína, lo cual demuestra que la respuesta inmune es consecuente al reconocimiento de antígenos en el virión. En condiciones experimentales, la regresión del tumor ocurre aproximadamente 12 meses después de la infección, pero prevalece el estadio de ulceración de la lesión. En segundo lugar, la proteína L2 permanece interna en el virión, es decir, no se expone fácilmente al sistema inmune del huésped, pero aunque ocurra esta condición, la ulceración del tumor facilita la respuesta inmune frente a la lesión ^{38, 39}. Asimismo, la inmunización con otras proteínas de tipo no estructurales que puedan inducir respuesta inmune de tal manera que provoque la regresión del papiloma, pueden ser la E1, E2, E6 y E7 ³⁹.

Hasta la actualidad, y como se ha venido mencionando, la papilomatosis bovina en la mayoría de los casos demuestra una regresión espontánea, salvo ciertos casos especiales, y los animales infectados sobreviven sin que esto traiga repercusiones negativas para su desarrollo. Es por esto que no se desarrollan tratamientos más específicos que promuevan la regresión de tumores, sino que, por el contrario, se utilizan técnicas y procedimientos más naturales y rudimentarios en estos ambientes.

4.4 Terapias utilizadas para la regresión de tumores en equinos ocasionados por el VPB

4.4.1 Terapias generales

La sarcoidosis equina no cuenta con un tratamiento gold standard que demuestre ser efectivo como terapia para el 100% de los casos de équidos afectados con el VPB. Como esto ocurre, es normal que se caiga en el error al momento de tomar decisiones clínicas, lo cual puede repercutir negativamente en el desarrollo de la enfermedad, llegando a provocar resultados catastróficos ^{40, 41}. Algunas de las técnicas y procedimientos más usados con diferentes grados de éxito incluyen la intervención quirúrgica, ya sea por métodos convencionales o con el uso de láser de dióxido de carbono CO₂, la crioterapia, la hipertermia, la radioterapia, la quimioterapia, la inmunomodulación tópica y los agentes antivirales ⁴².

Es importante mencionar que el tipo de terapia que se escoge depende del tipo y ubicación de la lesión y de la disponibilidad de herramientas que pueden ser usadas en el momento de tratar al paciente. Por ejemplo, la radiación es la mejor opción para tratar el sarcoide periocular pero demuestra dificultades en cuanto al acceso y disponibilidad. Por otro lado, dentro de la radioterapia existen varias opciones dentro de las cuales se puede escoger el método de administración, ya sea plesioterapia, braquiterapia y teleterapia, y el tipo de radiación, entre los que se encuentran electrones, radiación gamma o rayos X ⁴⁰.

La opción de tratamiento que tiene una mayor predilección a ser escogida es la cirugía, que puede ser realizada de diferentes maneras, pero presenta grandes limitaciones en cuanto al tipo, la ubicación y extensión de la lesión. Generalmente los sarcoides más pequeños y accesibles para intervención quirúrgica pueden ser extirpados más fácilmente y no presentan gran riesgo para la salud del animal. Mientras que los sarcoides gravemente invasivos son

más difíciles de erradicar, y frecuentemente han demostrado recurrencias debido a que posterior a la cirugía, se produce una siembra con células provenientes del tumor, y la enfermedad puede llegar a ser clínicamente más severa y agresiva. Para contrarrestar estos problemas, la intervención quirúrgica puede ser combinada con algunos métodos complementarios como la quimioterapia y radioterapia ^{40, 41}.

Otro tratamiento que puede ser usado, denominado hipertermia, consiste en el sometimiento de las lesiones a una temperatura de 50 °C por aproximadamente 30 segundos usando un dispositivo de hipertermia que funciona con radiofrecuencia. Este procedimiento puede inducir la regresión de tumores durante al menos 7 meses en solo 3 casos de sarcoidosis equina, y lo hace a través de la inducción de apoptosis en las células tumorales en respuesta directa al calor. Sin embargo, se presentan muchas limitaciones pues solo se pueden tratar tumores de menos de 1 cm de diámetro a la vez, y por esta razón no es muy recomendado en la mayoría de los casos ⁴².

4.4.2 Inmunización por medio de vacunas

Adicionalmente, la terapia de inmunización por medio de vacunas también han sido muy usadas, especialmente aquellas compuestas con partículas similares al virus, demostrando resultados particulares de regresión de tumores solo en la mitad de los équidos sometidos a tratamientos. Estos hechos demuestran que es muy necesario que se desarrollen investigaciones enfocadas en el campo del desarrollo de inmunoterapias basadas en vacunas, teniendo en cuenta que son grandes las posibilidades de usos de vectores, especialmente virales, aptos para que se produzca una buena respuesta del animal afectado ⁴².

Es así como se ha demostrado el uso del virus de la influenza atenuado, manipulado genéticamente con el propósito de usarlo en terapias basadas en vacunas. El Virus de la Influenza A (H3N2) contiene un genoma de ARN de cadena negativa segmentado; el segmento más corto codifica para dos proteínas virales no estructurales, en primer lugar, la proteína no estructural 1 antagonista del IFN (NS1), y en segundo lugar, la proteína de exportación nuclear (NEP). Cuando la inducción de IFN tipo I es bloqueada, la proteína NS1 evita que las células alcancen un estado antiviral, y por esto, cuando, gracias a modificaciones genéticas en el ORF, se elimina la parte C-terminal de NS1, se provoca una supresión de la función inhibidora del IFN de NS1 y, en consecuencia, la atenuación de los

virus H3N2. De manera adicional, se ha demostrado que el ORF de NS1 tolera la inserción de secuencias extrañas de gran tamaño, muy útil para manipulaciones genéticas con fines terapéuticos. Además, NS1 se expresa en gran medida, fomentando una buena respuesta inmune frente a antígenos coexpresados. Dentro de éstas, otra ventaja es que los vectores recombinantes del Virus de la Influenza A con eliminación de NS1 no producen intermediarios del ADN durante su ciclo de vida, lo que impide la integración en el genoma huésped, confiriendo un nivel seguridad importante para su uso ^{43, 44}.

Con base en los anteriores descubrimientos, se han generado Virus de la Influenza tanto A como B que albergan un gen NS1 con una eliminación parcial, denominado iNS1, y que coexpresa antígenos de las oncoproteínas E6 y E7 mezclados provenientes del VPB-1 (iNSA/E6E7 e iNSB/E6E7), el cual se observa en la fig. 9, con el fin de usarse como potenciales inmunoterapias contra el sarcoide equino. A diferencia de la eliminación total de NS1, la eliminación parcial específica de NS1 induce altos niveles de IFN, lo cual demuestra que los vectores virales tienen mejores propiedades antitumorales y son menos sensibles a los efectos inhibidores del crecimiento del IFN ^{26, 45}.

Esta estrategia terapéutica ha sido utilizada en equinos que padecen sarcoidosis, al aplicarse como inyecciones intratumorales que contienen iNSA/E6E7 e iNSB/E6E7. En el mismo estudio, se evaluó inicialmente la seguridad de la posible vacuna con 12 pacientes sanos, a los que se les administró de forma intradérmica iNSA/E6E7 e iNSB/E6E7, donde demostró ser bien tolerado, ocasionando únicamente fiebre leve en cuatro de caballos estudiados. También se realizó el control de secreciones y heces utilizando RT-PCR para identificar posiblemente la presencia del material genético del virus, y no se encontró la presencia del virus, confirmando así también la seguridad biológica de la terapia ²⁶.

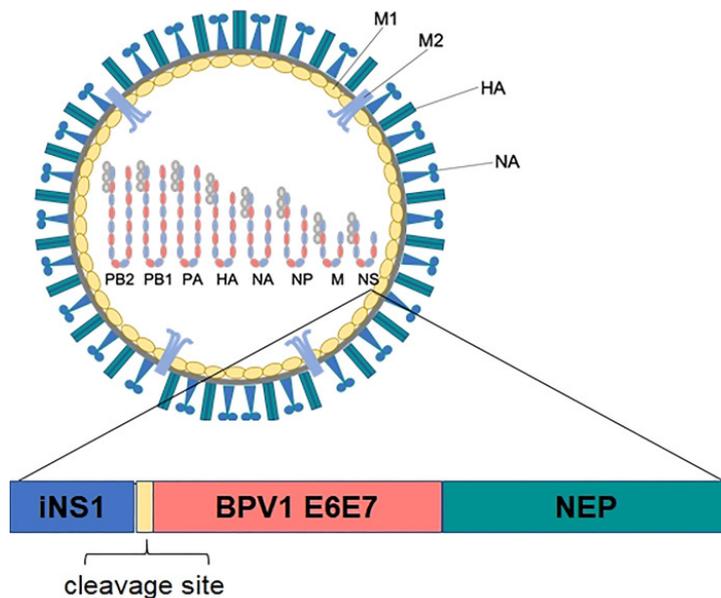


Figura 9. Representación gráfica del gen iNSA o B/E6E7 equino. El gen de la influenza A o B está truncado en los primeros 106 codones C-terminales, y las secuencias E6 y E7 del VPB-1 mezcladas se insertaron en el ORF de NS1. Fuente: Jindra et al. Influenza virus vector iNS1 expressing bovine papillomavirus 1 (BPV1) antigens efficiently induces tumour regression in equine sarcoid patients. PLoS One. 2021.

El ensayo de efectividad se aplicó en 29 pacientes del Hospital Universitario Vetmeduni en Viena, Austria, los cuales son portadores de sarcoide producido por el VPB-1, en los cuales se inyectó intratumoralmente al menos una lesión por caballo con iNSA/E6E7 e iNSB/E6E7. Este tratamiento indujo una respuesta antitumoral sistémica que fue demostrada por la regresión de las lesiones inyectadas y algunas no inyectadas en donde se presentó una respuesta aumentada de INF, tal como se observa en la fig. 10. En 10 de 29 caballos se logró la regresión completa del tumor, mientras que en otros 10, hasta la fecha control, la regresión no se desarrolló por completo. 9 de los 29 pacientes que tenían un historial de intentos terapéuticos fallidos, 9 no respondieron y 3 respondieron solo de manera transitoria al tratamiento. Así, iNSA/E6E7 e iNSB/E6E7 demostraron ser seguros y efectivos para reducir significativamente la carga tumoral incluso en casos graves²⁶.

De esta manera, los resultados ya mencionados prometen un futuro alentador para los tratamientos enfocados en reducir o eliminar la carga viral del sarcoide equino, incluso en los casos graves, y debido a esto, es muy importante perfeccionar los vectores iNSA/E6E7 e iNSB/E6E7, basándose en datos inmunológicos esperados, ya que se han documentado respuestas mediadas principalmente por células inmunes como el INF. También, se resalta la importancia de los oncogenes E5, E6 y E7 del VPB 1 y 2 quienes transforman las células previamente infectadas en células neoplásicas utilizando mecanismos que crean un

microambiente inmunitario protumoral al estimular la presencia de linfocitos T CD4+ y CD8+ ^{26, 46, 47, 48}. Finalmente, se demostró, al igual que otros grupos investigadores, que la inducción de IFN mediada por los virus que presentan una delección parcial (delNS) conducen a activar otros componentes del sistema inmune, potencializando esta respuesta, de tal manera que supere la inmunosupresión que ocasionan los tumores creados por el VPB ²⁶.



Figura 10. Regresión de tumores en una yegua, inyectados intratumoralmente con iNSA/E6E7 y/o iNSB7E6E7. d0: día 0; m4: mes 4; m10: mes 10; m13: mes 13. Fuente: Jindra et al. Influenza virus vector iNS1 expressing bovine papillomavirus 1 (BPV1) antigens efficiently induces tumour regression in equine sarcoid patients. PLoS One. 2021.

5. Conclusiones

- La regresión tumoral espontánea es un proceso natural que desarrolla la mayoría de los tumores, y que ocurre principalmente gracias a la participación del sistema inmune en

animales inmunocompetentes. De la misma manera, está demostrado que los tumores ocasionados por el VPB contienen una gran cantidad de células como citoquinas inflamatorias, en las que el interferón γ (IFN- γ) se destaca al desencadenar la mayoría de procesos que permiten la regresión tumoral. El IFN- γ es producido por los LT CD8⁺ y por otras células inmunitarias como las células dendríticas, las células natural killer, los macrófagos y las células T $\gamma\delta$ dentro de las células tumorales, pero los linfocitos T CD8⁺ son fundamentales para promover la fase efectora en la que se destruye el estroma tumoral de manera más efectiva. Y así, se desencadena una cascada de señalización intervenida por quimiocinas y sus respectivos ligandos, quienes necesitan interactuar para que se controle eficazmente el crecimiento de los tumores.

- El uso de vectores virales como potenciales terapéuticos para combatir enfermedades se ha investigado a lo largo de los años y han tenido una gran acogida debido a la efectividad de los resultados obtenidos. Estos vectores, obtenidos de virus de plantas, han evolucionado de generación en generación y han sido aplicados incluso en tratamientos contra el cáncer, ya que actúan como nanopartículas que se aplican directamente en la lesión tumoral, y estimulan una respuesta inmune localizada, mediada por INF α , evidenciando un resultado positivo para el tratamiento de estas patologías. Si bien, estos vectores provenientes de virus de plantas no han sido estudiados como posibles tratamientos para la papilomatosis bovina y la sarcoidosis equina ocasionadas por el VPB, hacen falta estudios ya que pueden ser potenciales para mitigar las lesiones y los daños provocados por el mismo virus.
- Para el manejo y regresión de tumores se ha utilizado vectores virales basados en el Virus de la Influenza A recombinante, modificado genéticamente para eliminar su proteína NS1, la cual actúa como un factor de virulencia que dificulta la respuesta antiviral mediada por interferón de tipo I (IFN) del huésped. Estos avances son prometedores para ser usados in vivo en tratamientos para la regresión de tumores provocados por el Virus del Papiloma Bovino y además para obtener vacunas estables dirigidas contra el mismo virus.
- El avance tecnológico y farmacéutico sobre posibles tratamientos aplicados en bovinos que estimulen la regresión de tumores es pobre, principalmente porque la papilomatosis bovina en la mayoría de los casos demuestra una regresión espontánea, salvo ciertos casos

especiales, y los animales infectados sobreviven sin que esto traiga repercusiones negativas para su desarrollo. Además, algunas terapias basadas en la producción recombinante de proteínas virales como la L2 y la E7, han demostrado cierto grado de utilidad, al inducir la regresión de lesiones causadas por el VPB. Así, como estos casos no se tornan clínicamente más severos, se utilizan técnicas y procedimientos más naturales y rudimentarios en estos ambientes.

- Por otro lado, para el tratamiento de la sarcoidosis equina son aplicados varios procedimientos y técnicas, pero ninguno ha demostrado un 100% de efectividad, lo cual constituye una alarma ya que esta enfermedad es clínicamente más grave, e incluso el uso de algunos tratamientos, puede volver a aparecer y ser letal para los animales infectados. Debido a esto, en los últimos años se han desarrollado opciones terapéuticas basadas en vectores virales, usando el Virus de la Influenza A y B, sometido a modificaciones genéticas para eliminar parcialmente el gen NS1, que induce una elevada producción de INF, estimulando así la regresión tumoral acompañado por una fuerte respuesta inmune, mejorando la enfermedad provocada por el VPB. Estos aportes proponen un mejor futuro terapéutico para tratar a diferentes animales, con otros enfoques científicos que permitan llegar a obtener una regresión total y completa en todos los casos de sarcoidosis.

Referencias bibliográficas

1. Lunardi M, Alcindo A, Arellano RA, Fernandes A. Bovine Papillomaviruses - Taxonomy and Genetic Features. Romanowski V, editor. Current issues in Molecular Virology. Viral Genetics and Biotechnological Applications. IntechOpen [Online] 2013 [cited 5 jun 2022] p. 113-136. Available in: <http://dx.doi.org/10.5772/56195>
2. Borzacchiello G, Roperto F. Bovine papillomaviruses, papillomas and cancer in cattle. Veterinary Research, BioMed Central [Online] 2008 [cited 5 jun 2022]; 39 (5): Available in: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00902936/document>
3. Carter GR, Wise DJ. Papillomaviridae. Carter GR, Wise DJ, De Miguel NA, editor. Concise Review of Veterinary Virology. International Veterinary Information Service [Online] 2008 [cited 5 jun 2022]. Available in: <https://www.ivis.org/library/concise-review-of-veterinary-virology>
4. Santos G, Márquez L, Reyes J, Vallejo V. Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social [Internet] 2015 [citado 5 junio 2022]; 53 (2):166-71. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2015/ims152h.pdf>
5. Méndez I. Tipificación viral y características inmunopatológicas de la fibropapilomatosis bovina en diferentes regiones de San Luis Potosí [Tesis Doctoral] [Internet]. San Luis Potosí, México: Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2019. Disponible en: <http://www.agronomia.uaslp.mx/Documents/DCA/Tesis/Isaura%20Mendez%20Rodriguez.pdf>
6. De la Fuente D, Guzmán S, Barboza O, González R. Biología del Virus del Papiloma Humano y técnicas de diagnóstico. Revista Medicina Universitaria [Internet] 2010 [citado 5 junio 2022]; 12(49):231-238. Disponible en: <https://www.elsevier.es/en-revista-medicina-universitaria-304-pdf-X1665579610901659>
7. Corteggio A, Altamura G, Roperto F, Borzacchiello G. Bovine papillomavirus EY and E7 oncoproteins in naturally occurring tumors: are two better than one? Infect Agent

Cancer [Online] 2013 [cited 5 jun 2022]; 8 (1): 1. Available in:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3562249/>

8. Munday JS. Bovine and human papillomaviruses: a comparative review. *Veterinary Pathology* [Online] 2014 [cited 5 jun 2022]; 51 (6): 1063-75. Available in:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24981715/>

9. Vasquez R, Escudero C, Domenech A, Gomez L, Benitez L. Papilomatosis bovina: Epidemiología y diversidad de Papillomavirus bovinos (BPV). *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* [Internet] 2012 [citado 5 junio 2022]; 6(2):38-57. Disponible en:

<http://www.ucm.es/BUCM/revistasBUC/portal/modulos.php?name=Revistas2&id=RCCV&col=1>

10. Villafañe F, Orrego A, Gonzales G, Puerta R, de Báez E. La Papilomatosis faríngea bovina en Colombia. *ACOVEZ* [Internet] 1979 [citado 5 junio 2022]; 3 (10):10-14.

Disponible en:

https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/23551/22700_3646.pdf?sequence=1&isAllowed=y

11. Peña N, Villafañe F, Torres J, Marquez D. Papilomatosis faríngea bovina. Estudio de epidemiología en el sur-oriente de Santander. *ACOVEZ* [Internet] 1984 [citado 5 junio 2022]; 8(26):4-12. Disponible en:

https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/29098/26500_13075.pdf?sequence=1&isAllowed=y

12. Valencia C, Payan J, Appel V, Salazar H. Valoración de la eficacia del cobre contra la papilomatosis bovina en el departamento del Cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* [Internet] 2013 [citado 5 junio 2022]; 11(1):218-224. Disponible en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a25.pdf>

13. Bolaños A, Florez G, Montealegre N, Perdomo D, Trujillo J, Sanchez L, et al. Eficacia terapéutica del clorobutanol (Verruex®) en el tratamiento de papilomatosis bovina. Estudio en cuatro predios en Caquetá, Colombia. *REDVET. Revista Electrónica de*

Veterinaria [Internet] 2017 [citado 5 junio 2022]; 18(10):1-8. Disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/636/63653470018.pdf>

14. Cardona J, Montes D, Alvarez J. Caracterización clínica, histopatológica e histoquímica del papiloma cutáneo en bovinos (*Bos taurus*) del departamento de Córdoba, Colombia. UDCA Actualidad & Divulgación Científica [Internet] 2018 [citado 5 junio 2022]; 21 (1): 137-146. Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-42262018000100137&lng=en&nrm=iso&tlng=es

15. Saveria M. Animal models of papillomavirus pathogenesis. Virus Research [Online] 2002 [cited 5 jun 2022]; 89 (2): 249-261. Available in:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168170202001934?via%3Dihub>

16. Frías A, Jara M, Escobar L. Papillomavirus in Wildlife. Frontiers in Ecology and Evolution [Online] 2019 [cited 5 jun 2022]. Available in: <https://acortar.link/SW7oNv>

17. Diniz N, Melo TC, Santos JF, Mori E, Brandão PE, Richtzenhain LJ, et al. Simultaneous presence of bovine papillomavirus in blood and in short-term lymphocyte cultures from dairy cattle in Pernambuco, Brazil. Genet Mol Res [Online] 2009 [cited 8 jun 2022]; 8 (4): 1474-80. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20082260/>

18. Nasir L, Saveria M. Bovine papillomaviruses: their role in the etiology of cutaneous tumors of bovids and equids. Veterinary Dermatology [Online] 2008 [cited 8 jun 2022]; 19 (5): 243-254. Available in:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3164.2008.00683.x>

19. Shafti-Keramat S, Schellenbacher C, Handisurya A, Christensen N, Reininger B, Brandt S, et al. Bovine papillomavirus type 1 (BPV1) and BPV2 are closely related serotypes. Virology [Online] 2009 [cited 8 jun 2022]; 393 (1): 1-6. Available in:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3792341/>

20. Chambers G, Ellsmore VA, O'Brien P, Reid S, Love S, Campo M, et al. Association of bovine papillomavirus with the equine sarcoid. Journal of General Virology [Online] 2003

[cited 8 jun 2022]; 84 (5). Available in:

<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.18947-0>

21. Bogaert L, Van Poucke M, De Baere C, Dewulf J, Peelman L, Ducatelle R, et al. Bovine papillomavirus load and mRNA expression, cell proliferation and p53 expression in four clinical types of equine sarcoid. *Journal of General Virology* [Online] 2007 [cited 8 jun 2022]; 88 (8). Available in:

<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.82876-0#tab2>

22. Nasir L, Brandt S. Papillomavirus associated diseases of the horse. *Veterinary Microbiology* [Online] 2013 [cited 8 jun 2022]; 167(1-2): 159–167. Available in:

<https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.08.003>

23. Namgyel U, Wangdi K, Pem R, Rinchen S, Wangchuk P, Peldom S, et al. Effectiveness of different treatment protocols against cutaneous bovine papillomatosis (wart): a clinical trial study. *Bhutan Journal of Animal Science* [Online] 2021 [cited 8 jun 2022]; 5 (1): 95–102. Available in: <http://202.144.157.184/index.php/bjas/article/view/14/9>

24. Archana S, Prasad A, Davis J, Seena T. Bovine Papillomatosis and its Treatment under Farm Condition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* [Online] 2019 [cited 8 jun 2022]; 8 (4): 2319-7706. Available in:

<https://acortar.link/NX9NYF>

25. Ugochukwu I, Aneke C, Idoko I, Sani N, Amoche A, Mshiela W, et al. Bovine papilloma: aetiology, pathology, immunology, disease status, diagnosis, control, prevention and treatment: a review. *Comparative Clinical Pathology* [Online] 2018 [cited 8 jun 2022] Available in: <https://sci-hub.se/https://link.springer.com/article/10.1007/s00580-018-2785-3>

26. Jindra C, Hainisch EK, Rümmele A, Wolschek M, Muster T, Brandt S. Influenza virus vector iNS1 expressing bovine papillomavirus 1 (BPV1) antigens efficiently induces tumour regression in equine sarcoid patients. *PLoS One* [Online] 2021 [cited 28 jun 2022]; 16 (11): e0260155. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8604313/>

27. Zeng Z, Veitch M, Kelly GA, Tuong ZK, Cruz JG, Frazer IH, et al. IFN- γ Critically Enables the Intratumoural Infiltration of CXCR3⁺ CD8⁺ T Cells to Drive Squamous Cell Carcinoma Regression. *Cancers* [Online] 2021 [cited 28 jun 2022]; 13 (9): 2131. Available in: <https://www.mdpi.com/2072-6694/13/9/2131/htm>
28. Hefferon K. Plant Virus Expression Vectors: A Powerhouse for Global Health. *Biomedicines* [Online] 2017 [cited 28 jun 2022]; 5 (3): 44. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5618302/>
29. Saveria M, Grindlay G, O'Neil B, Chandrachud L, McGarvie G, Jarrett W. Prophylactic and therapeutic vaccination against a mucosal papillomavirus. *Journal of General Virology* [Online] 1993 [cited 28 jun 2022]; 74: 945-953. Available in: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.599.6314&rep=rep1&type=pdf>
30. Jessy T. Immunity over inability: The spontaneous regression of cancer. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* [Online] 2011 [cited 28 jun 2022]; 2 (1): 43-9. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312698/>
31. Salman T. Spontaneous tumor regression. *Journal of Oncological Science* [Online] 2016 [cited 28 jun 2022]; 2 (1): 1-4. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452336416300255?via%3Dihub>
32. Lin K, Doolan K, Hung CF, Wu TC. Perspectives for preventive and therapeutic HPV vaccines. *J Formos Med Assoc* [Online] 2010 [cited 28 jun 2022]; 109 (1): 4-24. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2908016/>
33. Chabeda A, Yanez RJ, Lamprecht R, Meyers AE, Rybicki EP, Hitzeroth II. Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Res* [Online] 2018 [cited 28 jun 2022]; 5: 46-58. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5887015/>
34. Egorov A, Brandt S, Sereinig S, Romanova J, Ferko B, Katinger D, et al. Transfectant influenza A viruses with long deletions in the NS1 protein grow efficiently in Vero cells. *J*

Viol [Online] 1998 [cited 28 jun 2022]; 72 (8): 6437-41. Available in:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC109801/>

35. Muster T, Rajtarova J, Sachet M, Unger H, Fleischhacker R, Romirer I, et al. Interferon resistance promotes oncolysis by influenza virus NS1-deletion mutants. *Int. J. Cancer* [Online] 2004 [cited 28 jun 2022]; 110: 15-21. Available in:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.20078>

36. Knowles G, O'Neil B, Saveria M. Phenotypical Characterization of Lymphocytes Infiltrating Regressing Papillomas. *Journal of Virology* [Online] 1996 [cited 28 jun 2022]; 70 (12): 8451-8458. Available in:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC190935/pdf/708451.pdf>

37. McGarvie GM, Grindlay GJ, Chandrachud LM, O'Neil BW, Jarrett WF, Campo MS. T cell responses to BPV-4 E7 during infection and mapping of T cell epitopes. *Journal of Virology* [Online] 1995 [cited 28 jun 2022]; 206 (1): 504-10. Available in:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7530395/>

38. Jarrett W, Smith K, O'Neil B, Gaukroger J, Chandrachud L, Grindlay G, et al. Studies on vaccination against papillomaviruses: Prophylactic and therapeutic vaccination with recombinant structural proteins. *Journal of Virology* [Online] 1991 [cited 28 jun 2022]; 184 (1): 33-42. Available in: [https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/0042-6822\(91\)90819-W](https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/0042-6822(91)90819-W)

39. Selvakumar R, Borenstein L, Lin Y, Ahmed R, Wettstein F. Immunization with Nonstructural Proteins E1 and E2 of Cottontail Rabbit Papillomavirus Stimulates Regression of Virus-Induced Papillomas. *Journal of Virology* [Online] 1995 [cited 28 jun 2022]; 69 (1): 602-605. Available in:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC188618/pdf/690602.pdf>

40. Knottenbelt D. The Equine Sarcoid. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* [Online] 2019 [cited 28 jun 2022]; 35: 243-262. Available in:

<https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.03.006>

41. Sprayberry K, Robinson N. Section VII: Oncology. ELSEVIER, editor. Robinson's Current Therapy in Equine Medicine. ELSEVIER [Online] 2015 [cited 5 jun 2022] p. 424-428. Available in: <http://dx.doi.org/10.5772/56195>
42. Taylor S, Haldorson G. A review of equine sarcoid. Equine Veterinary Education [Online] 2013 [cited 28 jun 2022]; 25 (4): 210-216. Available in: <https://beva.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.2042-3292.2012.00411.x>
43. Jindra C, Huber B, Shafti-Keramat S, Wolschek M, Ferko B, Muster T, et al. Attenuated Recombinant Influenza A Virus Expressing HPV16 E6 and E7 as a Novel Therapeutic Vaccine Approach. PLoS One [Online] 2015 [cited 28 jun 2022]; 10 (9): 1-23. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4575162/>
44. Jindra C, Huber B, Shafti-Keramat S, Wolschek M, Ferko B, Muster T, et al. Correction: Attenuated Recombinant Influenza A Virus Expressing HPV16 E6 and E7 as a Novel Therapeutic Vaccine Approach. PLoS One [Online] 2015 [cited 28 jun 2022]; 10 (11): 1-23. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4642983/>
45. Chambers TM, Quinlivan M, Sturgill T, Cullinane A, Horohov DW, Zamarin D, et al. Influenza A viruses with truncated NS1 as modified live virus vaccines: pilot studies of safety and efficacy in horses. Equine Vet Journal [Online] 2009 [cited 28 jun 2022]; 41 (1): 87-92. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2878972/?report=classic>
46. Stanley M. Immunobiology of papillomavirus infections. Journal of Reproductive Immunology [Online] 2001 [cited 28 jun 2022]; 52 (1-2): 45-59. Available in: [https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0165-0378\(01\)00113-9](https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0165-0378(01)00113-9)
47. Brandt S. Immune response to bovine papillomavirus type 1 in equine sarcoid. The Veterinary Journal [Online] 2016 [cited 28 jun 2022]; 216: 107-108. Available in: <https://sci-hub.se/https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1090023316301095?via%3Dihub>
48. Nasir L, Brandt S. Papillomavirus associated diseases of the horse. Veterinary Microbiology [Online] 2013 [cited 28 jun 2022]; 167 (1-2): 159-167. Available in:

<https://sci-hub.se/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113513004021?via%3Dihub>