

Biologija humanih papiloma virusa

Cindrić, Anita

Undergraduate thesis / Završni rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:762685>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

BIOLOGIJA HUMANIH PAPILOMA VIRUSA

BIOLOGY OF HUMAN PAPILLOMAVIRUSES

SEMINARSKI RAD

Anita Cindri
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular biology)
Mentor: doc. dr. sc. Maja Matuli

Zagreb, 2009.

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD..... | 2 |
| 2. KLASIFIKACIJA I EVOLUCIJA..... | 3 |
| 3. IZGLED I GRAĐA VIRIONA..... | 6 |
| 4. ŽIVOTNI CIKLUS HPV-a I ULOGE POJEDINIH OKVIRA ITANJA..... | 9 |
| 4.1. INFEKCIJA HPV-om..... | 9 |
| 4.2. REPLIKACIJA GENOMA I ULOGE E1 I E2..... | 10 |
| 4.3. STIMULACIJA PROLIFERACIJE STANICA I ULOGE E6 I E7 KOD VISOKORIZI NIH TIPOVA HPV-a..... | 11 |
| 4.4. UMNOŽAVANJE GENOMA, SASTAVLJANJE I IZLAZAK VIRIONA IZ STANICE..... | 15 |
| 5. DOMAĆINSKA KONTROLA HPV INFEKCIJE..... | 17 |
| 6. LITERATURA..... | 18 |
| 7. SAŽETAK..... | 20 |
| 8. SUMMARY..... | 20 |

1.UVOD

Humani papiloma virus (HPV) je mali DNA virus iz porodice *Papillomaviridae* koja se povezuje sa nastankom epitelnih i fibroepitelnih tumora kože ili sluznice u viših kralježnjaka.

Zanimanje za papiloma viruse pošlo je još u 19. stoljeće, kada su zapaženi prvi slučajevi konverzije genitalnih bradavica u karcinome. Identificirani su početkom 20-tog stoljeća, kada je Shope 1933. dokazao pokusom na kuni da se kožne bradavice ili papilomi mogu prenijeti s jedne jedinke na drugu putem filterabilne infektivne tečnice. Nakon toga, uslijedio je Rousov pokus kojim je prvi puta dokazano da papiloma virus može uzrokovati tumor u inficiranim zečevima (Rous i Beard, 1935).

Budući da se HPV ne može uzgajati u kulturi, niti prenositi na potencijalnog animalnog domaćina, daljnji napredak istraživanja bio je spor sve dok se nisu razvile metode molekularne biologije, kloniranje i hibridizacijske tehnike, koje su onda omogućile brži razvoj istraživanja na ovom polju. Tako su znanstvenici tek 1970-ih počeli analizirati ulogu HPV-a u nastanku tumora, posebice cervikalnog karcinoma (zur Hausen, 2002).

Do danas je različitim metodama i tehnikama na temelju DNA identificirano više od stotinu tipova HPV-a, od kojih se svaki povezuje s infekcijom određenog domaćina. Znanstvenici još uvijek intenzivno rade na karakterizaciji i ulozi pojedinih tipova virusa u nastanku tumora te na otkrivanju mehanizama kojima uzrokuju zloćudne promjene stanica. Važno je napomenuti da je, između ostalog i zbog ranije spomenutih problema u istraživanju HPV-a, velik dio saznanja dobiven na temelju proučavanja govećeg papiloma virusa (BPV), usnog papiloma virusa zečeva (ROPV) i usnog papiloma virusa psa (COPV) (zur Hausen, 1980).

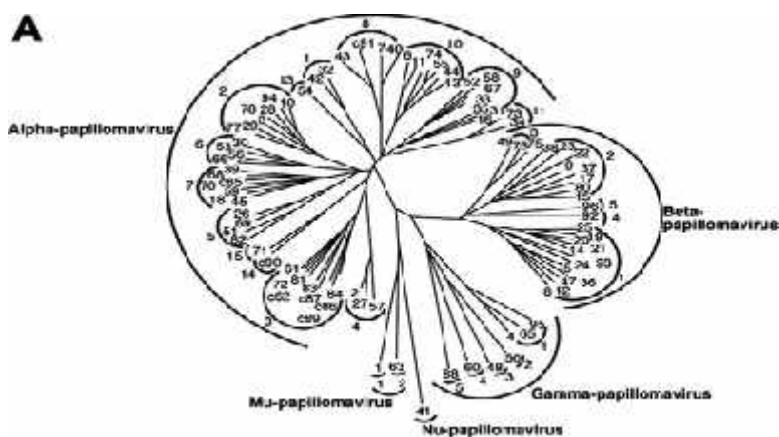
U svom radu, osvrnut će se na životni ciklus, organizaciju genoma i vjerojatne mehanizme karcinogeneze HPV-a koji dovode do malignih transformacija domaćinskih stanica.

2. KLASIFIKACIJA I EVOLUCIJA

Papiloma virusi su tkivno i vrsno specifi ni. Za jednu vrstu sisavaca može biti specifi no nekoliko razli itih tipova virusa, koji se me usobno razlikuju po sekvenci DNA. Klasifikacija se temelji na homologiji, a dogovorno, novootkriveni papiloma virus predstavlja novi tip virusa, tj. dobiva novi broj, ako mu je DNA manje od 50% homologna s DNA drugih, poznatih tipova virusa koji zaražavaju istu vrstu sisavaca (zur Hausen, 1980).

Za sada je klasificirano 16 razli itih rodova porodice *Papillomaviridae*, a to su: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Deltapapillomavirus*, *Epsilonpapillomavirus*, *Etapapillomavirus*, *Iotapapillomavirus*, *Kappapapillomavirus*, *Lambdapapillomavirus*, *Mupapillomavirus*, *Nupapillomavirus*, *Omikronpapillomavirus*, *Pipapapillomavirus*, *Thetapapillomavirus*, *Xipapillomavirus*, *Zetapapillomavirus* (Villers de, 2001).

Od trenutno okarakteriziranih HPV-a, 90% pripada alfa i beta rodovima, dok su preostali uglavnom gamma, mu i nu rodovi (sl. 1.).



B Association of Alpha Papillomavirus types with cervical cancer

| Genus + Species | Type Species | SCC Cervix | Adeno Cervix | Category |
|-----------------|--------------|------------|--------------|----------------------|
| Alpha 1 | HPV32 | | | low risk |
| Alpha 2 | HPV42 | | | low risk |
| | HPV3 | | | cutaneous |
| | HPV10 | | | cutaneous |
| | HPV28 | | | cutaneous |
| | HPV59 | | | cutaneous |
| | HPV77 | | | cutaneous |
| | HPV78 | | | cutaneous |
| | HPV84 | | | cutaneous |
| Alpha 3 | HPV31 | | | low risk |
| | HPV72 | | | low risk |
| | HPV81 | 0.01% | | low risk |
| | HPV83 | 0.01% | | low risk |
| | HPV85 | | | low risk |
| | C85 | | | |
| | C87 | | | |
| | C88 | | | |
| Alpha 4 | HPV2 | | | cutaneous |
| | HPV37 | | | cutaneous |
| | HPV57 | | | cutaneous |
| Alpha 5 | HPV26 | 0.02% | | high risk |
| | HPV51 | 0.75% | 0.61% | high risk |
| | HPV69 | | | |
| | HPV82 | 0.26% | | high risk |
| Alpha 6 | HPV30 | | | |
| | HPV53 | 0.04% | | high risk |
| | HPV60 | 1.09% | | high risk |
| | HPV66 | 0.19% | | high risk |
| Alpha 7 | HPV18 | 11.27% | 27.30% | high risk |
| | HPV45 | 5.21% | 5.93% | high risk |
| | HPV69 | 1.08% | 2.15% | high risk |
| | HPV69 | 0.02% | 0.61% | high risk |
| | HPV70 | 0.37% | | high risk |
| Alpha 8 | C85 | | | |
| | HPV77 | | | cutaneous (mucoasal) |
| | HPV40 | | | cutaneous (mucoasal) |
| | HPV43 | | | cutaneous (mucoasal) |
| | C81 | | | |
| Alpha 9 | HPV16 | 54.38% | 41.82% | high risk |
| | HPV31 | 3.82% | 1.03% | high risk |
| | HPV33 | 2.06% | 0.64% | high risk |
| | HPV35 | 1.27% | 1.03% | high risk |
| | HPV52 | 2.35% | | high risk |
| | HPV58 | 1.72% | 0.51% | high risk |
| | HPV67 | | | |
| Alpha 10 | HPV | 0.07% | | low risk |
| | HPV11 | 0.07% | | low risk |
| | HPV13 | | | low risk |
| | HPV14 | | | low risk |
| | HPV25 | 0.04% | | low risk |
| | HPV74 | | | |
| Alpha 11 | HPV54 | | | high risk |
| | HPV73 | 0.19% | | high risk |
| Alpha 12 | | | | |
| Alpha 13 | HPV54 | | | low risk |
| Alpha 14 | | | | |
| Alpha 15 | HPV71 | | | low risk |

Slika 1. A) Rodovi HPV-a , B) Podjela papiloma virusa alfa

(Doorbar i sur, 2006)

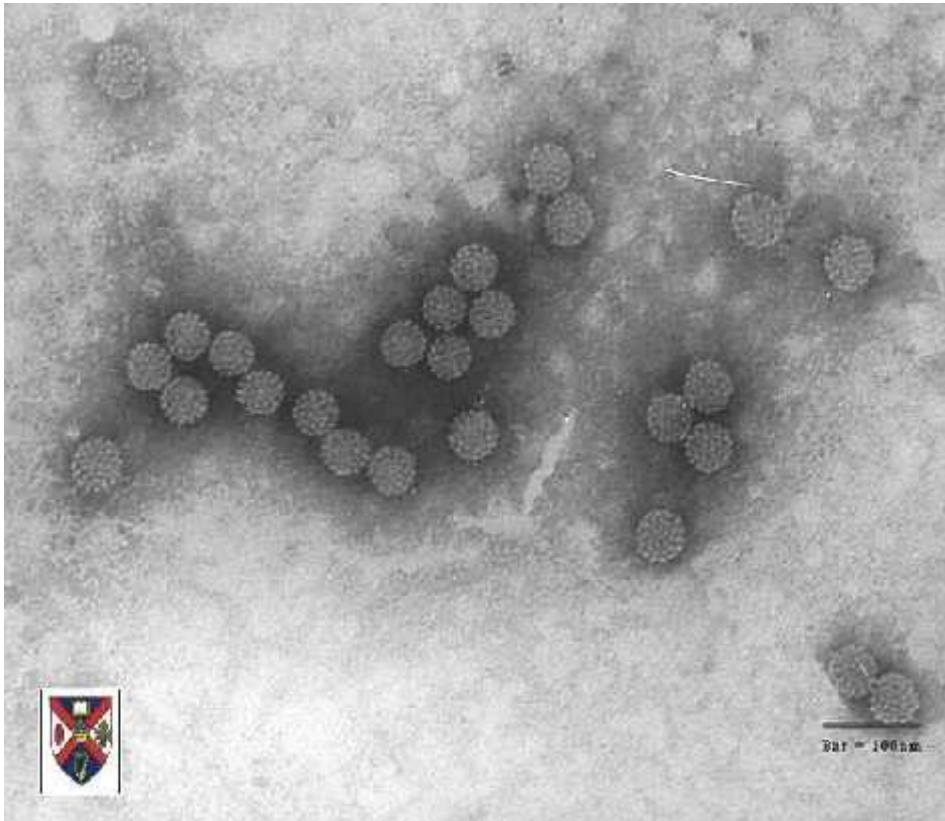
Najve i udio HPV-a pripada rodu alfa. Ta skupina obuhva a uglavnom tipove virusa koji uzrokuju tumore. S obzirom na u estalost izazivanja malignih promjena, dijele se u tri kategorije: visokorizi ni, niskorizi ni i kožni (izazivaju razli ite oblike bradavica na koži) (sl. 1.). Infekcija tzv. visokorizi nim tipovima virusa povezana je s visokim rizikom od pojave tumora, uglavnom cervikalnog karcinoma, a glavni predstavnici su HPV16 i HPV18.

Papiloma virusi beta uglavnom se povezuju s relativno bezopasnim kožnim infekcijama u ljudi, iako u imunosuprimiranih osoba mogu uzrokovati rak kože. Virus HPV iz rodova gamma, mu i nu uzrokuju papilome i bradavice, ali ne tumore (Doorbar i sur, 2006).

Vjeruje se da su papiloma virusi koevoluirali sa svojim domaćinima tokom milijuna godina, i to, najvjerojatnije zbog stabilnosti dvostrane DNA i vrlo vjerne replikacije, vrlo sporo, u usporedbi s evolucijom nekih drugih virusa. HPV16 je npr. evoluirao prilikom migracija ljudi, pa tako danas postoje njegove varijacije u različitim geografskim regijama. S druge strane, HPV13 je gotovo identičan u svim ljudskim populacijama, dakle, sekvenca mu je slična onoj papiloma virusa šimpanzi, što znači da se sasvim malo promijenio u razdoblju od otprilike 6 milijuna godina (Van Ranst i sur, 1992).

3. IZGLED I GRAFA VIRIONA

Papiloma virusi su male, geometrijski pravilne, ikozaedarske estice, promjera približno 50- 60 nm, bez ovojnice (sl. 2.).

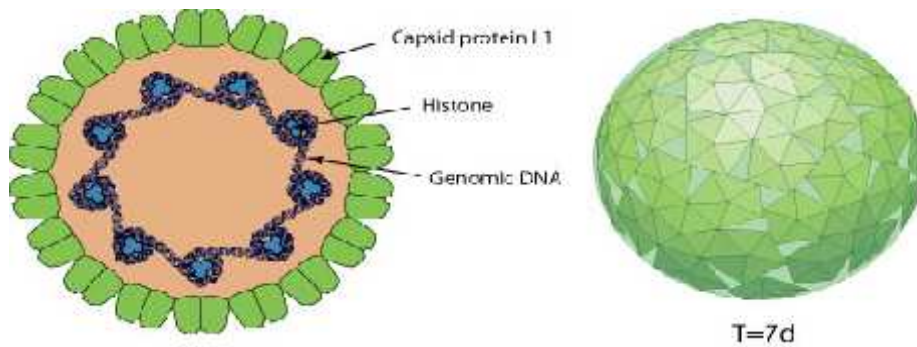


Slika 2. Elektronskomikroskopska snimka papiloma virusa

(preuzeto sa: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>)

Kapsida se sastoji od 72 pentamerne podjedinice (kapsomere), (sl. 3.). Kapsomere su građene od viralnih proteina L1 i L2. L1 je sam po sebi dovoljan za formiranje proteinskog omotača, L2 pomaže u pakiranju genoma u kapsidu i posreduje prilikom ulaska virusa u novu domaćinsku stanicu (Doorbar i Gallimore, 1987).

L1 i L2 su temelj za izradu cjepiva protiv HPV-a na kojoj se proizvodnji intenzivno radi posljednjih nekoliko godina (zur Hausen, 2002).



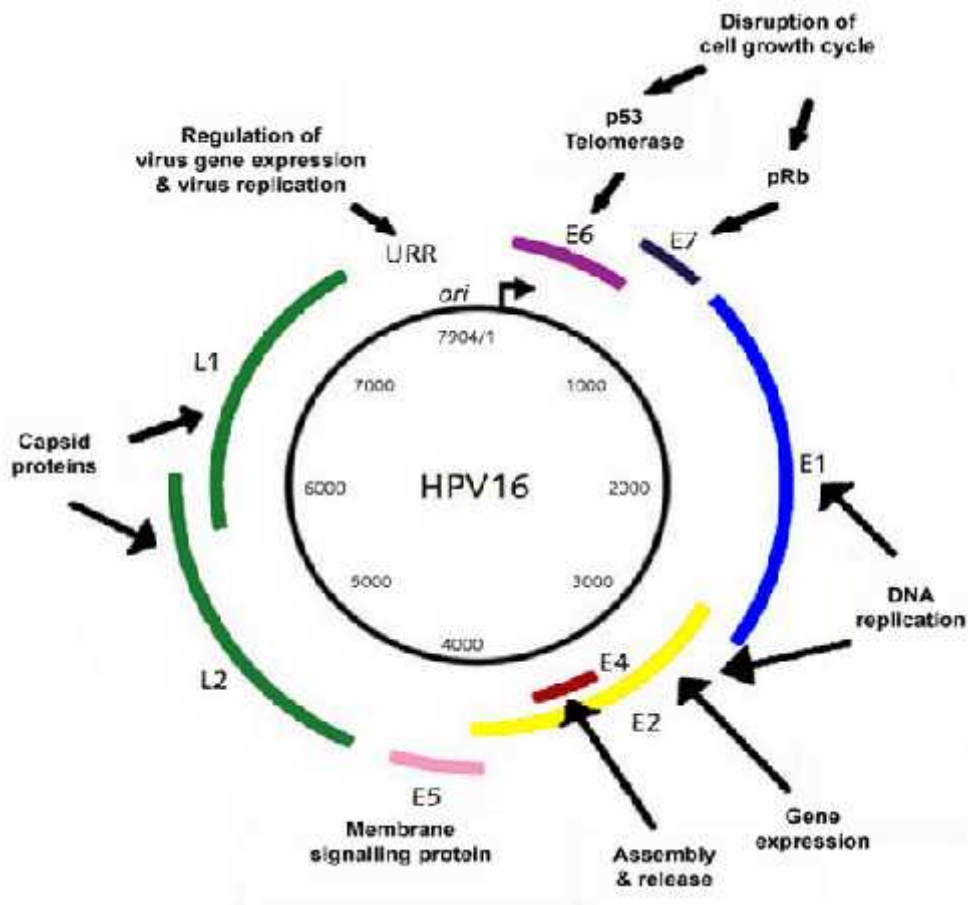
Slika 3. Izgled viriona papiloma virusa

(preuzeto sa: http://www.expasy.org/viralzone/all_by_species/5.html)

Genom svih papiloma virusa je sličan: cirkularna superzavijena dvostrana DNA molekula, veličine ~8000 pb, asociirana s histonskim proteinima (sl. 3.) u kompleksu nalik kromatinu („minikromosom“). Tijekom produktivnog životnog ciklusa u stanici postoji u obliku episoma, a može se iznimno ugraditi u genom domaćinske stanice.

Genom HPV-a je DNA veličine 6800- 8000 pb, koja kodira 8 otvorenih okvira čitanja (ORF – open reading frame), (sl. 4.). Dijeli se na dvije regije, ranu (E) koja kodira proteine potrebne za replikaciju, regulaciju i modifikaciju domaćinske stanice (sadrži ORF E1- E7) te kasnu regiju (L) s koje se prepisuju geni za strukturne proteine kapside (L1 i L2).

Između rane i kasne regije nalazi se duga kontrolna regija, LCR (long control region) ili uzvodna regulacijska regija, URR regija (upstream regulatory region) koja služi regulaciji ekspresije viralnih gena. Smještena je između terminalnog dijela L1 ORF-a i početka E6 ORF-a. Sadrži mjesta inicijacije replikacije (ori), promotore transkripcije virusnih okvira čitanja i mjesta vezanja aktivacijskih i represorskih stanica i virusnih transkripcijskih faktora (npr. E2) (Doorbar, 2006).



Slika 4. Organizacija genoma HPV16 virusa

(preuzeto sa: www.microbiologybytes.com/virology/Papillomav.)

Svi geni se prepisuju s jednog, istog DNA lanca. Ekspresija je strogo regulirana na više razina pa su tako u razli itim stadijima životnog ciklusa aktivni razli iti promotori. Postoji i alternativno izrezivanje transkripata.

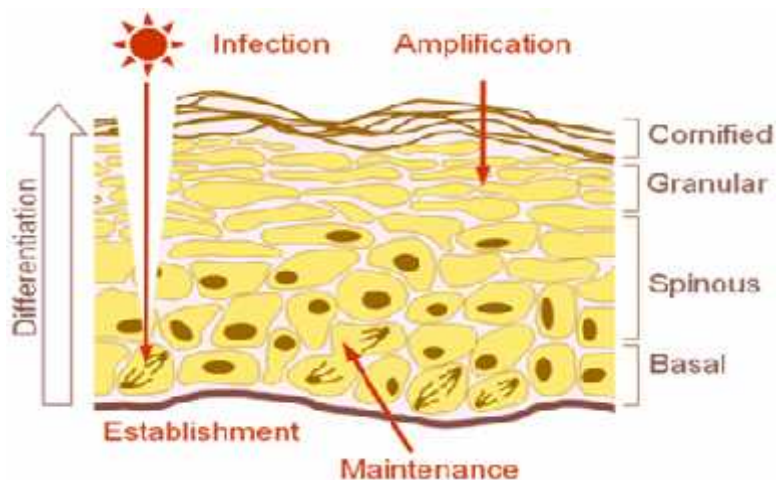
(<http://www.ipvsoc.org/MOLECULAR%20%20BIOLOGY%20%20OF%20%20HUMAN%20%20PAPILLOMAVIRUSES.htm>).

4. ŽIVOTNI CIKLUS HPV-a I ULOGE POJEDINIH OKVIRA ITANJA

4.1. INFEKCIJA HPV-om

HPV kroz mikrotraume kože ili sluznice inficira keratinocite u bazalnom sloju epitela i njegov životni ciklus je usko vezan uz diferencijacijski program tih stanica (sl. 5.). Na površini bazalnih stanica koje se dijele postoje receptori za HPV ija priroda nije sa sigurnoš u poznata (pretpostavlja se da su to heparan sulfat proteoglikani). Uz njih, potreban je i sekundarni receptor, iju zada u obavljaju integrini i laminini (Evander i sur., 1997). Nakon vezanja na receptore, virion se unosi u stanicu endocitozom posredovanom kaveolinom ili klatrinom, ovisno o tipu HPV-a (Day i sur., 2003.). U citoplazmi se virusna estica rastavlja, a DNA se, zasad još nepoznatim mehanizmom, prenosi u jezgru gdje postoji kao stabilni episom u 10 – 200 kopija po stanici.

U ovom sloju stanica eksprimiraju se rani proteini, E1 i E2, neophodni za replikaciju i održavanje viralnog genoma u stanicama (Doorbar i sur, 2006).

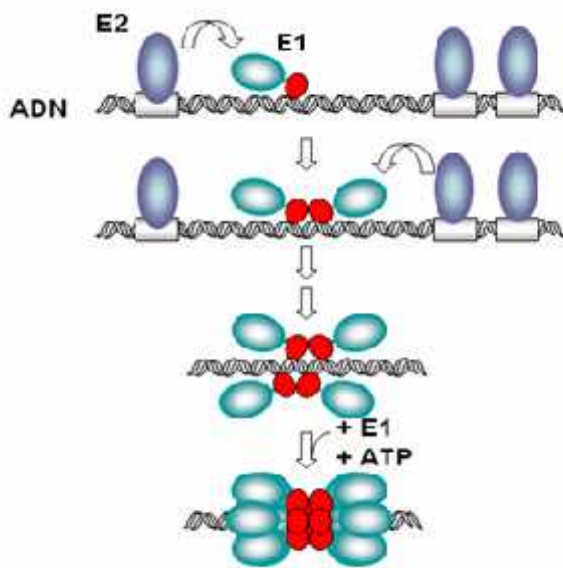


Slika 5. Povezanost životnog ciklusa HPV-a i diferencijacije keratinocita

(preuzeto sa: www.ircm.qc.ca/microsites/hpv/en/390.html)

4.2 REPLIKACIJA GENOMA I ULOGE E1 I E2

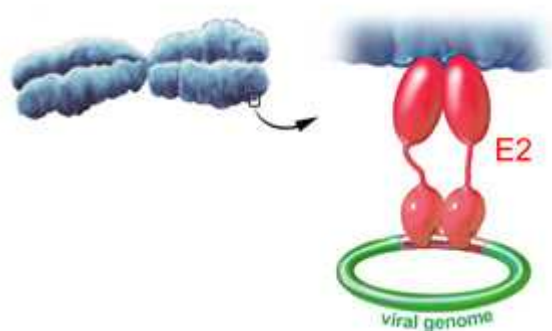
Replikacija je virusa povezana sa stupnjem diferencijacije doma inske epitelne stanice. U bazalnim stanicama, virusna DNA se replicira replikacijom tipa theta koja rezultira malim brojem kopija virusnog genoma (samo za održavanje virusa). Inicijator replikacije u S fazi stani nog ciklusa. je protein E2. Taj protein u nekodiraju oj dugoj kontrolnoj regiji, LCR, u neposrednoj blizini ishodišta replikacije, prepoznaje palindromske sekvence (AACCg(N4)cGGTT) i veže se za njih svojom C-terminalnom domenom. Pomo u tako vezanog E2, kooperativno se na ishodište replikacije veže helikaza E1, ovisna o ATP-u (jedini enzim kodiran genomom HPV-a). Nakon vezanja E1, E2 disocira, a E1 uz pomo stani nih šaperona Hsp40 i Hsp70, poprima funkcionalnu konformaciju dvostrukog heksamernog prstena (sl. 6.), kako bi odmotao lance DNA (dvosmjerno odmatanje) i omogu io pristup replikacijskim proteinima doma inske stanice, replikacijskom proteinu A (RPA) i DNA polimerazi (Titolo i sur, 2003).



Slika 6. Sastavljanje replikacijskog kompleksa pomo u E1 i E2. E1 se sastoji od ATP-azne/helikazne aktivnosti, sadržane u C- terminalnoj domeni (zeleno) i DNA vezne domene smještene u središtu proteina (crveno).

(Titolo i sur, 2003)

Kad je replikacija gotova, kopije genoma se pravilno raspore uju u stanice k eri tijekom mitoze. U toj segregaciji sudjeluje E2 (sl. 7.).



Slika7. E2 posredovana segregacija virusnih gena kod BPV1

(McBride i sur, 2006)

Naime, otkriveno je da se E2, vezan na palindrome u virusnom genomu, veže i na mitotske stanice kromosome. Tako stvara most između kromosoma i virusnog gena. Taj mehanizam je vrlo čest kod papiloma virusa, ali različiti rodovi i tipovi virusa su razvili različite „varijacije na temu“. Npr. BPV1 «zakva i» genom na kromosome pomoću stanice nog proteina Brd4. Nekim drugim virusima kao sidro koje osigurava razdvajanje gena u mitozu može poslužiti neki drugi stanični protein ili čak diobeno vreteno, kao što je to slučaj kod visokoriziranih tipova HPV (McBride i sur. 2006).

Osim što ima ulogu u replikaciji i segregaciji gena, E2 služi i kao transkripcijski faktor te kao takav može regulirati ekspresiju E6 i E7. U maloj količini može aktivirati transkripciju ranih gena, E6 i E7, dok u velikoj količini može služiti kao represor njihove transkripcije (Doorbar i sur, 2006).

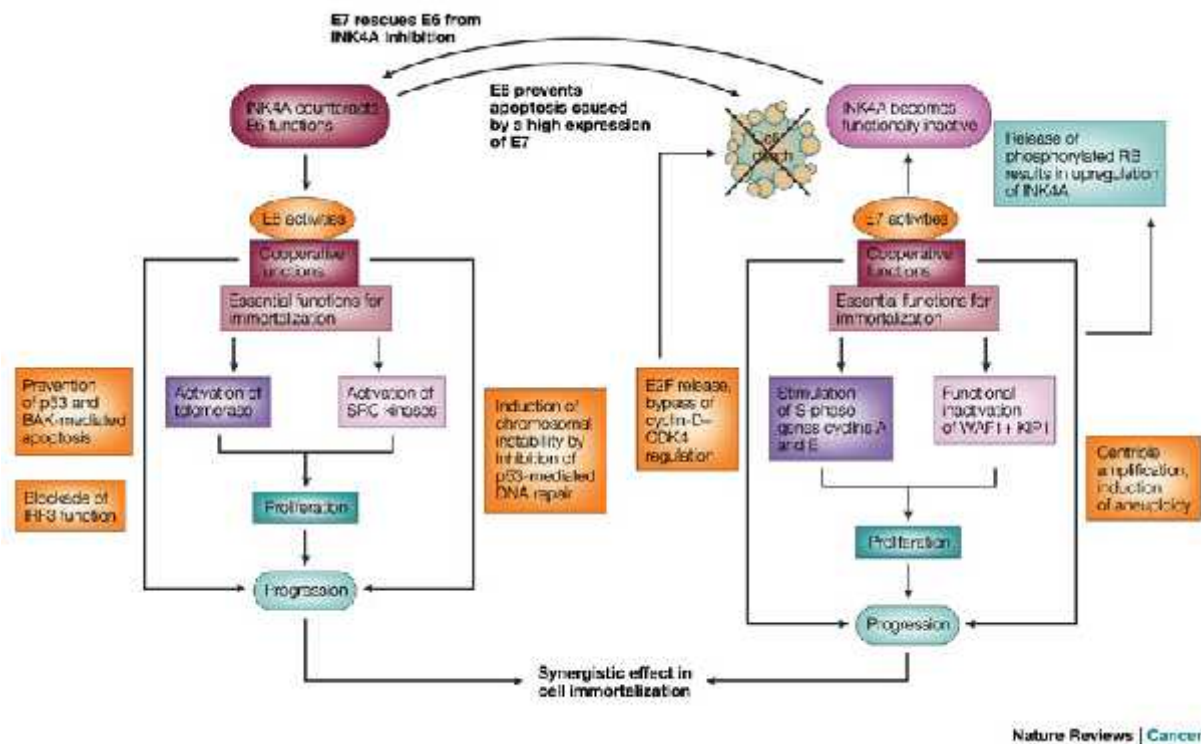
4.3. STIMULACIJA PROLIFERACIJE STANICA I ULOGE E6 I E7 KOD VISOKORIZIRANIH TIPOVA HPV

Kao posljedica diobe stanica, virusni episomi dospijevaju u suprabazalni sloj stanica. Dok se neinficirani keratinociti dijele samo u bazalnom sloju i u višim slojevima mnogoslojnog pločastog epitela prolaze put diferencijacije, inficirane stanice se nastavljaju dijeliti i u suprabazalnim slojevima i diferencijacija im je odgođena.

Osnovni mehanizam kojim HPV stimulira stanični ciklus je dobro poznat i sličan je na načinu na koji neki drugi tumorigeni DNA virusi uzrokuju tumore: nastoje stanicu dovesti u S fazu ciklusa da bi to omogućilo i sintezu njihove DNA.

Glavni geni ovog procesa su viralni onkogeni, E6 i E7, odgovorni za malignu transformaciju stanica. Kod visokoriznih tipova HPV-a prepisuju se zajedno u policistronska mRNA. Ekspresija obaju ukazuje na njihovu međusobnu komplementaciju i sinergističko djelovanje. U produktivnom ciklusu virusa imaju ulogu u procesima odgađanja diferencijacije. Međutim, tumori povezani s visokoriznim tipovima HPV najčešće se pojavljuju na mjestima koja ne podržavaju produktivnu infekciju i abortivna infekcija može progredirati u tumor. Tom prilikom dolazi do integracije virusnog genoma u genom domaćina. Obično je najčešće mjesto lom i linearizacije kružne virusne DNA ORF E2, tako da prestaje sinteza proteina E2. Gubi se kontrolna uloga ovog virusnog regulatora i dolazi do povećane ekspresije E6 i E7 (jer više nemaju represora) te se njihovim djelovanjem potiče imortalizacija, pojačana proliferacija i genetska nestabilnost inficiranih stanica (Doorbar, 2006).

E6 je multifunkcionalni protein, prisutan u jezgri i citoplazmi. U strukturi ima motive cinkovih prstiju („Zn fingers“) koji upućuju na aktivnost transkripcijskog transaktivatora. E6 stvara kompleks sa staničnim p53 (tumor supresorski protein) i, kod visokoriznih tipova HPV potiče njegovu proteosomsku razgradnju uz pomoć ubikvitina i ATP-a. Tako se onemogućavaju uloge p53 koje ima kao tumorski supresor: zaustavljanje staničnog ciklusa, popravak oštećene DNA i programirana obrambena apoptoza (stani na smrt). Inaktivacijom p53 nakupljaju se mutacije. Druga anti-apoptotska uloga E6 je interakcija s pro-apoptotskim proteinima, Bak i Bax, i njihova inaktivacija, što opet rezultira nemogućnošću apoptoze. Posljedica je povećanje kromosomske nestabilnosti (sl. 8.) (zur Hausen 2002, Mantovani i Banks 2001).

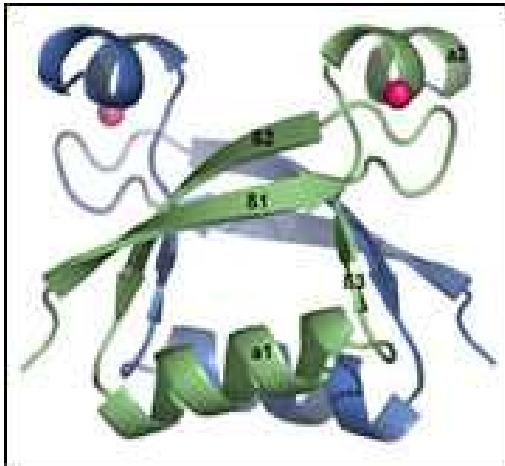


Slika 8. Funkcije E6 i E7 onkoproteina i njihove međusobne interakcije u procesu koji vodi ka imortalizaciji domaćinske stanice (INK4A = p16; WAF1 = p21; KIP1 = p27) (zur Hausen, 2002)

E6 utječe na imortalizaciju stanica i tako što povećava aktivnost telomeraze (Mantovani i Banks, 2001).

Postoji još jedan mehanizam djelovanja E6, kojim se potiče proliferacija neovisno o E7. To je inaktivacija regulatora stanične polarnosti. Ti proteini se obično nalaze na mjestima kontakata između stanica, npr. vrstnim i adhezijskim vezama i imaju tzv. domenu PDZ (nazvanu tako po početnim slovima u nazivu prva tri proteina u kojima su otkrivene). E6 se za njih veže svojom visokokonzerviranom PDZ-veznom domenom na samom C-terminalnom kraju i može ih usmjeriti prema proteolitičkoj razgradnji u proteasomu (Thomas i sur, 2008).

E7 je kiseli fosfoprotein s ulogom transaktivatora, koji, poput E6, ima u svojoj strukturi motiv cinkovih prstiju (sl. 9.).

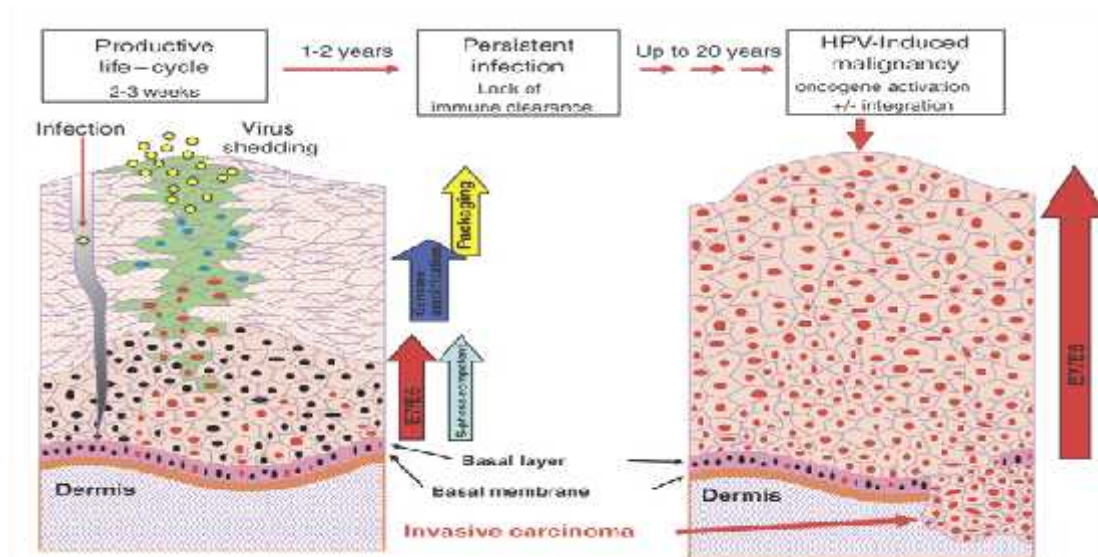


Slika 9. Kristalna struktura CR3 regije HPV E7 koja sudjeluje u vezanju pRB.

(preuzeto sa: www.wistar.org/marmorstein/structure.htm)

Osnovna uloga E7 je vezanje i inaktivacija tumor-supresorskih proteina obitelji pRB. pRb je osnovni regulator stani nog ciklusa: njegova fosforilacija i osloba anje transkripcijskog faktora E2F omogućuje sintezu proteina S faze stani nog ciklusa. Stimulira se transkripcija ciklina D, E i A te PCNA (proliferating cell nuclear antigen = faktor koji povećava procesivnost doma inske DNA polimeraze). Dok su u neinficiranoj stanici ovi procesi kontrolirani faktorima rasta, u stanicama s virusom HPV, zbog inaktivacije pRb, potiče se neprestana stani na proliferacija. E7 na slici an na in veže i inaktivira proteine srodne proteinu pRb, p107 i p130 (sl. 8.). Neovisno o ovim procesima, E7 može inaktivirati inhibitore kinaza ovisnih o ciklinima, p21 i p27. p21 je povezan s procesima zaustavljanja stani nog ciklusa i procesom diferencijacije u keratinocitima, koja je kod infekcije papilomavirusom poremećena.

Dakle, ako se virusna DNA ugradi u genom doma inske stanice (perzistentna infekcija zapažena kod malog postotka visokorizivnih tipova virusa), uz deleciju regulatornog E2 ORF-a, doći će do pojačane ekspresije E6 i E7 i inficirana stanica će vrlo vjerojatno postati imortalna, pojačano proliferirati i nakupljati sekundarne mutacije, što konačno može dovesti do pojave karcinoma. Kod produktivne infekcije, virusni je genom nakon ulaska u stanicu u obliku episoma i ovakav životni ciklus na kraju rezultira otpuštanjem virusnih čestica (sl. 10.) (Doorbar i sur, 2006, zur Hausen, 2002).



Slika 10. Progresija iz produktivne HPV infekcije u zlo udni tumor.

(Thomas, 2008)

U procesima poticanja stani nog rasta sudjeluje još jedan rani virusni protein, E5. HPV E5 je mali, vrlo hidrofobni protein, obi no smješten u plazma membrani i Golgi-ju. Može se vezati za vakuolnu H^+ ATP-azu te tako sprije iti proces endosomskog zakiseljavanja. Tako se poti e recikliranje receptora epidermalnog faktora rasta EGF (epidermal growth factor) na stani noj membrani i pove ava mitogeno signaliziranje. Za HPV16 E5 je dokazano i da sudjeluje u negativnoj regulaciji površinskog kompleksa histokompatibilnosti MHC (major histocompatibility complex) proteina, ime se sprje ava prepoznavanje i ubijanje inficiranih stanica od strane T-stanica ljudskog imunološkog sustava. Kod gove eg papiloma-virusa BPV1 protein E5 je jedan od glavnih onkogeno (Doorbar i sur, 2006, DiMaio i Mattoon, 2001).

4.4.UMNOŽAVANJE GENOMA, SASTAVLJANJE I IZLAZAK VIRIONA IZ STANICE

Mnogi tipovi HPV nisu povezani s pojavom tumora i imaju samo produktivni ciklus u kojima proizvode nove infektivne virione. U lezijama koje izazivaju ekspresija je virusnih gena pažljivo regulirana, tako da se odre eni proteini proizvode u odre eno vrijeme i u odre enoj koli ini, kako inficirana stanica migrira prema epitelnoj površini. Tim procesom se

mijenja stani na okolina i aktiviraju se određeni signalni putevi koji aktiviraju promotore ovisne o diferencijaciji (P670 unutar E7 ORF-a kod HPV-a 16), s kojeg se prepisuju geni potrebni za replikaciju (E1, E2, E4, E5). U diferenciranim se keratinocitima odvija replikacija kontrolirajućeg kruga (sigma) koja osigurava velik broj kopija virusnog genoma.

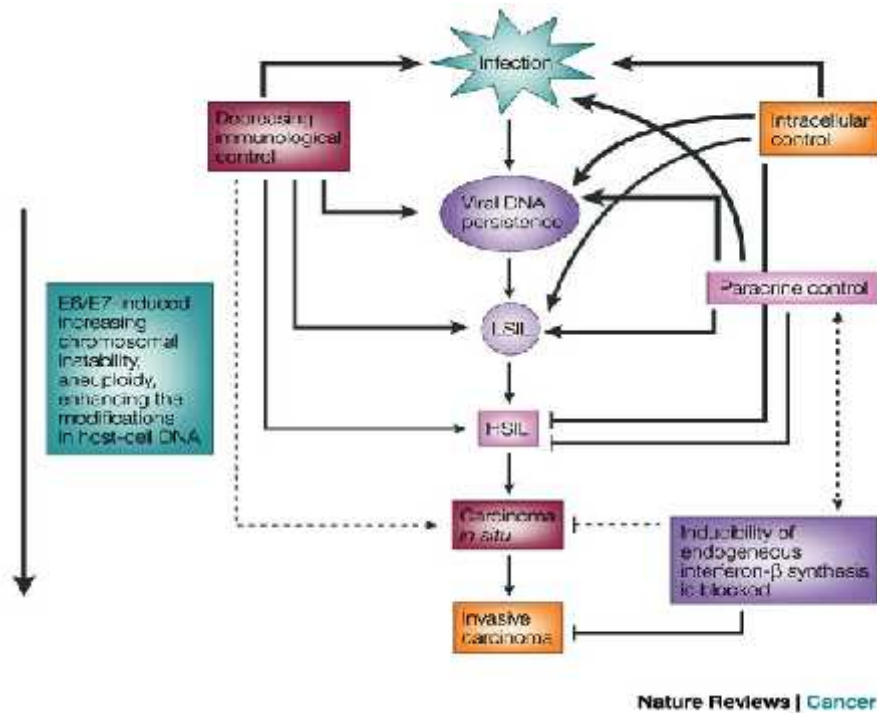
U gornjim se slojevima epitela virus umnažava i pakira svoj genom u kapsidu, da bi na kraju došlo do otpuštanja infektivnih čestica. U tim procesima sudjeluju E2, koji vjerojatno povećava efikasnost pakiranja genoma, te kasni proteini L1 i L2.

L2 ulazi u jezgru pomoću signala sadržanih u N i C terminalnoj domeni i tamo se posredstvom tjelešaca PML (tjelešca promijelocitne leukemije), ili izravno, veže na DNA. L1 se slaže u kapsomere u citoplazmi i tek onda seli u jezgru (Day i sur, 2004.). Za slaganje virusne čestice potrebni su i stanični šaperoni (Hsp 70). Svaki virion može se formirati i bez L2, iako on bitno podiže efikasnost pakiranja genoma i povećava infektivnost. L2 se veže za L1 pomoću hidrofobne regije, a međusobna interakcija kapsomera se ostvaruje preko C-krajeva proteina L1 koji se unakrsno povezuju disulfidnim vezama, kako se inficirane stanice približavaju površini epitela (Doorbar, 2006).

Oslobađanje viriona iz stanica olakšava E4. Njegova uloga nije još sasvim jasna, ali se zna da je važan budući da se nalazi u vrlo visokoj koncentraciji u citoplazmi površinskih keratinocita. Mutanti koji ne ekspimiraju E4 nemaju sposobnost efikasne kasne replikacije. Smatra se da E4 sudjeluje u zaustavljanju stanica u G2-fazi staničnog ciklusa i omogućava oslobađanje viriona cijepanjem intermedijarnih filamenata citoskeleta keratinocita. Nedavno je otkriveno i da stupa u interakciju s E2, što bi mogao biti vrijedan podatak u istraživanju njegovog mehanizma djelovanja (Doorbar i sur, 2006.).

5. DOMA INSKA KONTROLA HPV INFEKCIJE

Imunološki sustav je veoma važan u kontroli infekcije i izbjegavanje imunološkog nadzora je jedan od najvažnijih koraka u nastanku tumora uzrokovanih HPV-om. S druge strane, stanica može onemogućiti dio funkcija virusnih onkogenih mehanizama povratne sprege, u slučaju da je ekspresiran samo rani protein E6.



Slika 11. Proces nastanka karcinoma vrata maternice (LSIL: intraepitelna lezija nižeg stupnja, low-grade intraepithelial lesion; HSIL: intraepitelna lezija nižeg stupnja, high-grade squamous intraepithelial lesion), (zur Hausen, 2002).

Stanice mogu blokirati transkripcije DNA HPV-a i mehanizmom posredovanim tzv. interferiraju im stani nim faktorom, CIF-om (cellular interference factor). Proces zapo inje tako što makrofagi i faktor rasta TNF (tumor necrosis factor) stimuliraju epitelne stanice i dovode do modifikacije transkripcijskog faktora neophodnog za ekspresiju virusnih gena. Ovi putevi vode do endogene sinteze antivirusnog interferona (zur Hausen, 2002).

6. LITERATURA

Day PM, Baker CC, Lowy DR, Schiller JT., Establishment of papillomavirus infection is enhanced by promyelocytic leukemia protein (PML) expression.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2004.), **101**, 14252-7.

Day PM, Lowy DR, Schiller JT. , Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway.
Virology (2003.), **307**, 1–11.

DiMaio D, Mattoon D., Mechanisms of cell transformation by papillomavirus E5 proteins.
Oncogene (2001), 20, 7866-73. Review.

Doorbar J., Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer.
Clinical Science (2006), **110**, 525-541.

Evander M., Frazer IH, Payne E, Qi YM, Hengst K, McMillan NA, Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for Papillomaviruses.
J. Virol. (1997.), **71**, 2449–2456.

Mantovani F, Banks L., The human papillomavirus E6 protein and contribution to malignant progression.
Oncogene (2001), **20**, 7874-87. Review.

McBride AA, Oliveira JG, McPhillips MG, Partitioning Viral Genomes in Mitosis.

Rous P, Beard J.W., The progression to carcinoma of virus- induced rabbit papillomas (Shope).
Cell Cycle (2006.), **14**, 1499-1502.

Thomas M., Human papillomaviruses, cervical cancer and cell polarity.
Oncogene (2008), **27**, 7018-7030.

Titolo S, Brault K, Majewski J, White PW, Archambault J, Characterization of the minimal DNA binding domain of the humanpapillomavirus e1 helicase: fluorescence anisotropy studies and characterization of a dimerization-defective mutant protein. *Virology* (2003.), **77**, 5178-5191.

Van Ranst M, Fuse A, Fiten P, Beuken E, Pfister H, Burk RD, Opdenakker G., Human papillomavirus type 13 and pygmy chimpanzee papillomavirus type 1: comparison of the genome organizations. *Virology* (1992.), **190**, 587–96.

Villers de, Taxonomic classification of papillomaviruses. *Papillomavirus Rep.* (2001.), **12**, 56-63.

Zur Hausen H., Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nature publishing group (2006.) , 2, 342-350

Zur Hausen H, The role of viruses in human tumors. *Adv Cancer Res.* (1980.), **33**, 77-107.

<http://en.wikipedia.org/wiki/Papillomavirus>

www.expasy.org/viralzone/all_by_species/5.html

www.ipvsoc.org/MOLECULAR%20%20BIOLOGY%20%20OF%20%20HUMAN%20%20PAPILLOMAVIRUSES.htm

www.ircm.qc.ca/microsites/hpv/en/390.html

www.microbiologybytes.com/virology/Papillomav.

www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm

www.wistar.org/marmorstein/structure.htm

7. SAŽETAK

Humani papiloma virusi (HPV) su mali DNA virusi koji inficiraju keratinocite u koži i sluznicama ljudi gdje obično izazivaju nastanak bradavica. Određeni se tipovi ovih virusa povezuju s etiologijom nastanka karcinoma vrata maternice. Molekularna istraživanja ovog virusa započela su sedamdesetih godina, razvojem metoda molekularne biologije. Danas je već relativno dobro poznata njihova biologija, kao i mehanizam kojim mogu dovesti do stanice ne transformacije. Životni ciklus im je usko vezan uz diferencijacijski program keratinocita. Inficiraju bazalne stanice epitela. Specifični virusni proteini interferiraju sa stanicima da bi odgodili proces diferencijacije i potakli suprabazalnu diobu. Tijekom produktivnog ciklusa u gornjim slojevima epitela dolazi do proizvodnje proteina kapside i replikacije virusne DNA, pakiranja virusne DNA u virione i oslobađanja virusa zajedno s odumrlim orožnjelim površinskim slojem. U malom broju infekcija tzv. visokorizičnim tipovima humanih papiloma virusa može doći i do ugradnje virusnog genoma u genom domaćina. Kako se pri tome poremeti ekspresija osnovnog virusnog regulacijskog proteina E2, povećana ekspresija virusnih onkogenih E6 i E7 može dovesti do poremećaja stanice ne proliferacije, imortalizacije i genomske nestabilnosti, te neoplastičke progresije.

HPV se danas smatraju glavnim etiološkim čimbenikom nastanka cervikalnog karcinoma. Istraživanja biologije ovog virusa i njegovih interakcija sa stanicima procesima omogućilo je i proizvodnju cjepiva kojim bi se mogla prevenirati pojava velike karcinoma cerviksa.

8. SUMMARY

Human papillomaviruses (HPV) are small DNA viruses that infect human skin and mucosal keratinocytes and can cause warts. Specific HPV types have a role in the development of the cervical carcinoma. In seventies, with the development of the molecular biology techniques, active research of their molecular biology has begun. Today, the life cycle of these viruses, as well as their role in malignant transformation is well known. The HPV life cycle is intimately linked to the differentiation programme of their target, epithelial tissue. Viruses infect the basal cells of the epithelium. Specific viral proteins interact with cellular targets in order to postpone the differentiation and induce suprabasal proliferation. During the productive cycle, in the upper layers of the epithelium, viral DNA and capsid proteins are produced and packed in infective virions, as well as shed together with dead cornified skin

layer. In certain number of so called high-risk HPV infections, viral DNA is integrated into the host genome. As a consequence, the production of the main viral regulator, E2 protein is abrogated, and viral oncogenes, E6 and E7 are produced. These processes lead to uncontrolled cell proliferation, immortalization and genomic instability and contribute to neoplastic progression.

HPV are considered today to be the main aetiological factor for cervical cancer. Basic research of its biology and interactions with cellular processes contributed to the development of HPV vaccine which could prevent a majority of cervical cancers.