

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: **2024-04-24**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

BIOLOGIJA HUMANIH PAPILOMA VIRUSA

BIOLOGY OF HUMAN PAPILLOMAVIRUSES

SEMINARSKI RAD

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

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 ČITANJA.....	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 VISOKORIZIČNIH 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 počelo je još u 19. stoljeću, kada su zapaženi prvi slučajevi konverzije genitalnih bradavica u karcinome. Identificirani su početkom 20-tog stoljeća, kada je Shope 1933. dokazao pokusom na kunićima da se kožne bradavice ili papilomi mogu prenijeti s jedne jedinke na drugu putem filterabilne infektivne čestice. Nakon toga, uslijedio je Rousov pokus kojim je prvi puta dokazano da papiloma virus može uzrokovati tumor u inficiranih zečeva (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- tih 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 goveđeg papiloma virusa (BPV), usnog papiloma virusa zečeva (ROPV) i usnog papiloma virusa psa (COPV) (zur Hausen, 1980).

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

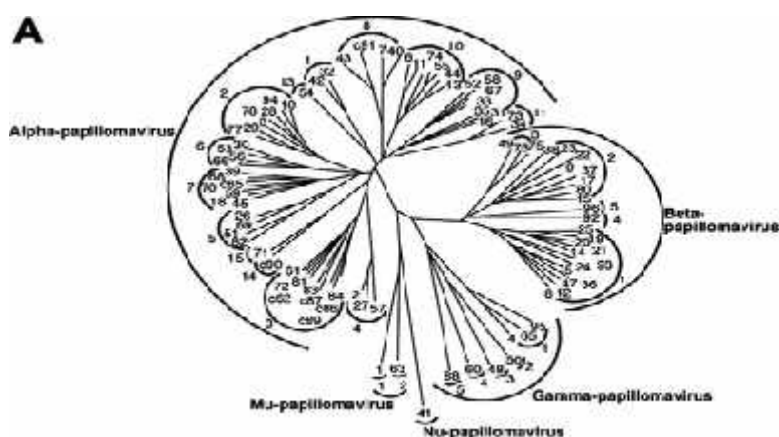
2. KLASIFIKACIJA I EVOLUCIJA

Papiloma virusi su tkivno i vrsno specifični. Za jednu vrstu sisavaca može biti specifično nekoliko različitih tipova virusa, koji se međusobno 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 različitih 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 1	HPV42			low risk
Alpha 2	HPV3			cutaneous
Alpha 2	HPV10			cutaneous
Alpha 2	HPV28			cutaneous
Alpha 2	HPV39			cutaneous
Alpha 2	HPV77			cutaneous
Alpha 2	HPV78			cutaneous
Alpha 2	HPV84			cutaneous
Alpha 3	HPV61			low risk
Alpha 3	HPV72			low risk
Alpha 3	HPV81	8.04%		low risk
Alpha 3	HPV83	8.04%		low risk
Alpha 3	HPV85			low risk
Alpha 3	HPV87			low risk
Alpha 3	HPV88			low risk
Alpha 4	HPV2			cutaneous
Alpha 4	HPV37			cutaneous
Alpha 4	HPV57			cutaneous
Alpha 5	HPV26	0.02%		high risk
Alpha 5	HPV51	0.75%	0.61%	high risk
Alpha 5	HPV59			high risk
Alpha 6	HPV32	0.26%		high risk
Alpha 6	HPV30			high risk
Alpha 6	HPV53	0.04%		high risk
Alpha 6	HPV60	1.09%		high risk
Alpha 6	HPV66	0.19%		high risk
Alpha 7	HPV18	11.27%	27.30%	high risk
Alpha 7	HPV45	5.91%		high risk
Alpha 7	HPV59	1.08%	2.15%	high risk
Alpha 7	HPV39	0.02%	0.61%	high risk
Alpha 7	HPV60	0.37%		high risk
Alpha 7	HPV70			high risk
Alpha 8	HPV7			cutaneous (mucosal)
Alpha 8	HPV40			cutaneous (mucosal)
Alpha 8	HPV43			cutaneous (mucosal)
Alpha 8	HPV16	54.38%	41.82%	high risk
Alpha 8	HPV31	3.82%	1.03%	high risk
Alpha 8	HPV33	2.06%	0.64%	high risk
Alpha 8	HPV35	1.27%	1.03%	high risk
Alpha 8	HPV52	2.35%		high risk
Alpha 8	HPV58	1.72%	0.51%	high risk
Alpha 8	HPV67			high risk
Alpha 10	HPV1	0.07%		low risk
Alpha 10	HPV11	0.07%		low risk
Alpha 10	HPV13			low risk
Alpha 10	HPV14			low risk
Alpha 10	HPV25	0.04%		low risk
Alpha 11	HPV74			high risk
Alpha 11	HPV54			high risk
Alpha 12	HPV54	0.19%		high risk
Alpha 13	HPV54			low risk
Alpha 14	HPV54			low risk
Alpha 15	HPV71			low risk

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

(Doorbar i sur, 2006)

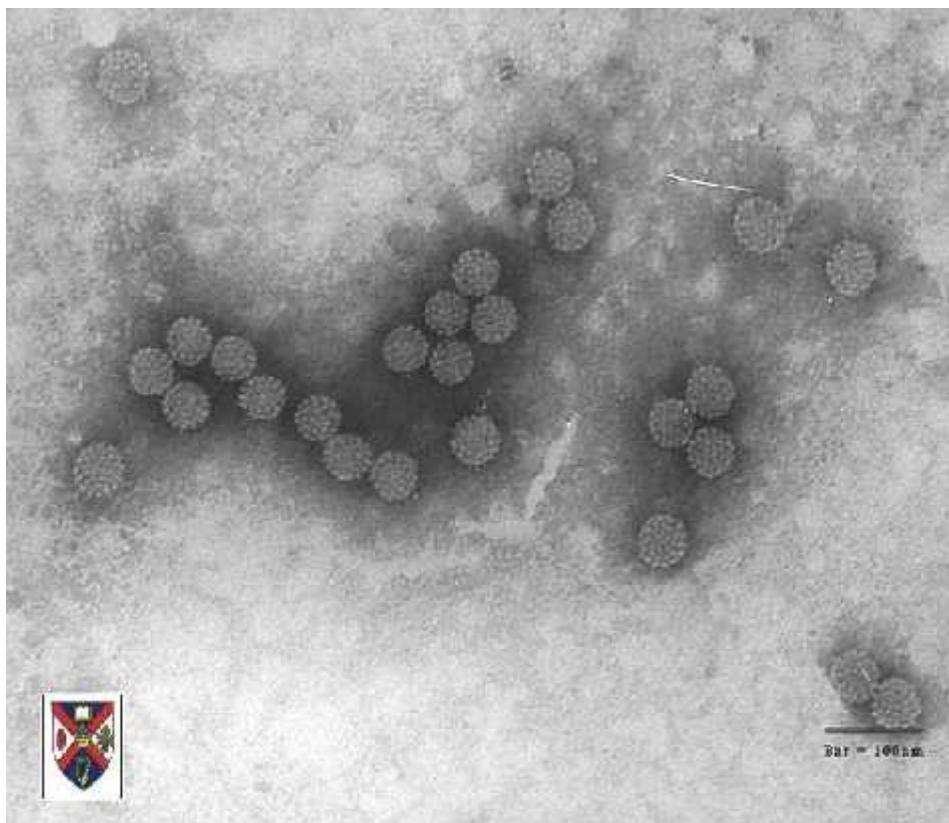
Najveći udio HPV-a pripada rodu alfa. Ta skupina obuhvaća uglavnom tipove virusa koji uzrokuju tumore. S obzirom na učestalost izazivanja malignih promjena, dijele se u tri kategorije: visokorizični, niskorizični i kožni (izazivaju različite oblike bradavica na koži) (sl. 1.). Infekcija tzv. visokorizičnim 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. Virusi 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 dvolančane 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, dapače, sekvenca mu je čak slična onoj papiloma virusa čimpanzi, što znači da se sasvim malo promijenio u razdoblju od otprilike 6 milijuna godina (Van Ranst i sur, 1992).

3. IZGLED I GRAĐA VIRIONA

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

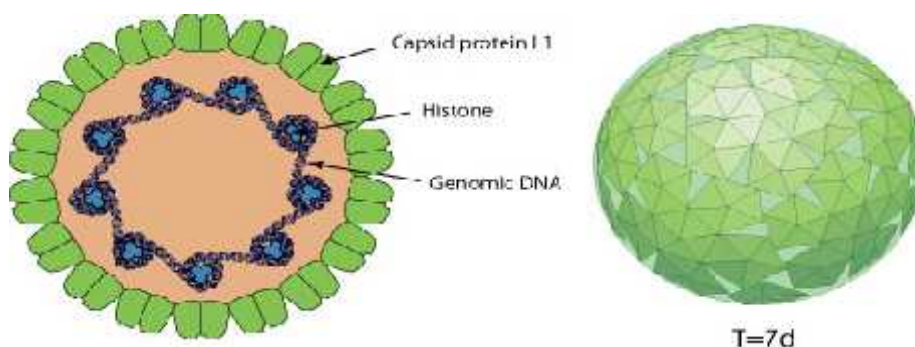


Slika 2. Elektronskomikroskopska snimka papiloma virusa

(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 čijoj se proizvodnji intenzivno radi posljednjih nekoliko godina (zur Hausen, 2002).



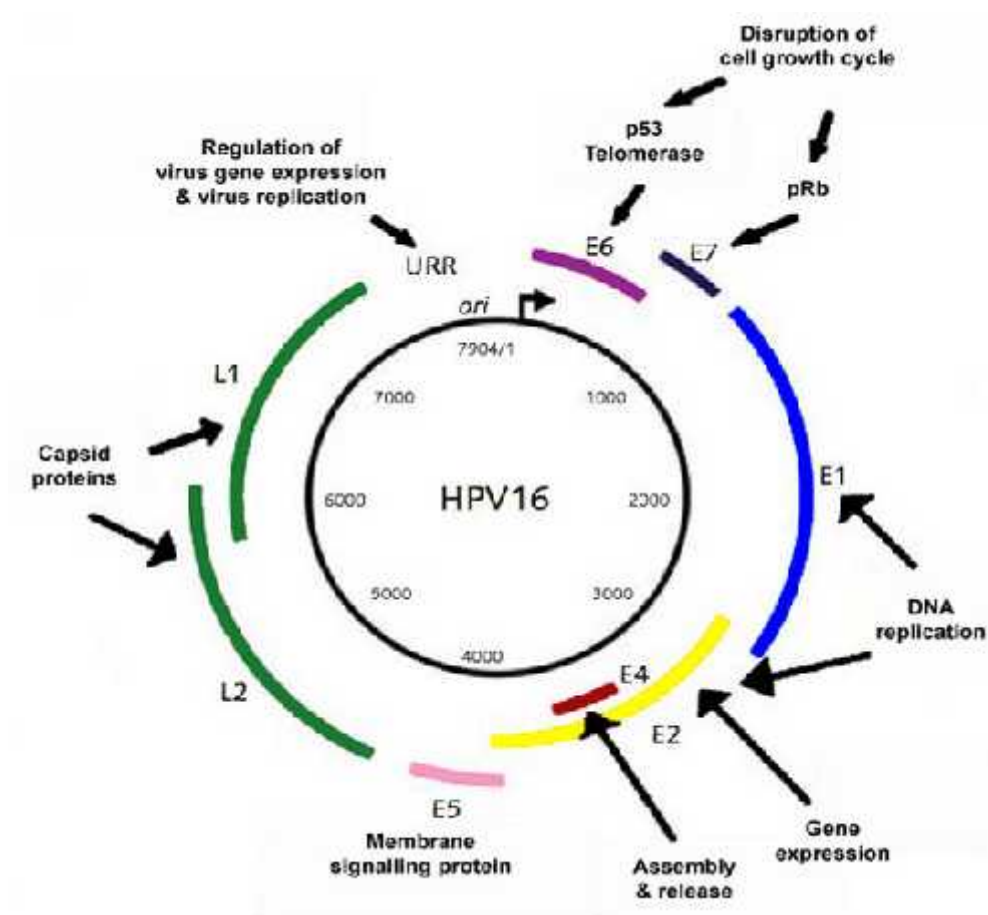
Slika 3. Izgled viriona papiloma virusa

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

Genom svih papiloma virusa je sličan: cirkularna superzavijena dvolančana DNA molekula, veličine ~8000 pb, asocirana s histonskim proteinima (sl. 3.) u kompleks 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 staničnih 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 različitim stadijima životnog ciklusa aktivni različiti promotori. Postoji i alternativno izrezivanje transkripata.

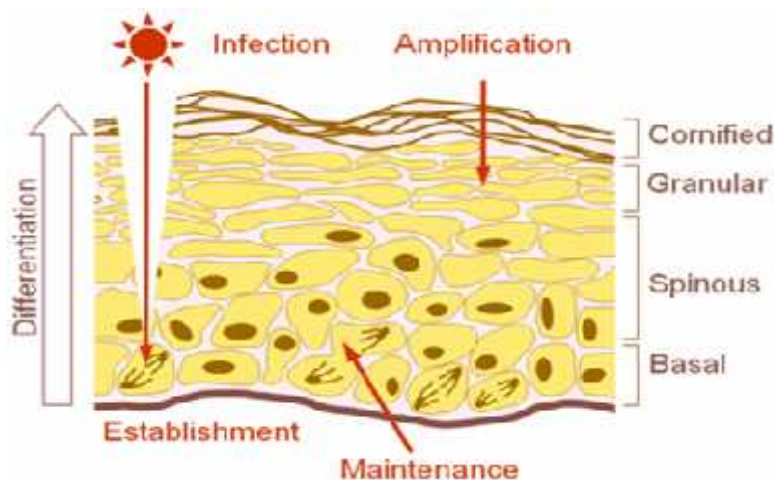
(<http://www.ipvsoc.org/MOLECULAR%20%20BIOLOGY%20%20OF%20%20HUMAN%20%20PAPILLOMAVIRUSES.htm>).

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

4.1. INFEKCIJA HPV-om

HPV kroz mikrotraume kože ili sluznice inficira keratinocyte 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 čija priroda nije sa sigurnošću poznata (pretpostavlja se da su to heparan sulfat proteoglikani). Uz njih, potreban je i sekundarni receptor, čiju zadaću obavljaju α 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 čestica 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).

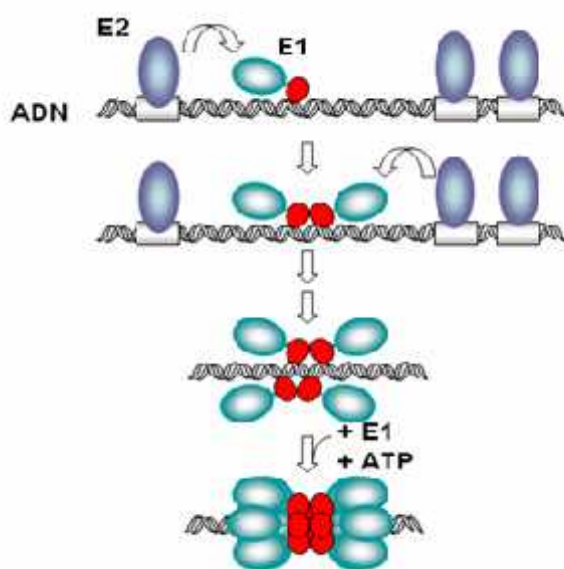


Slika 5. Povezanost životnog ciklusa HPV-a i diferencijacije keratinocita

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

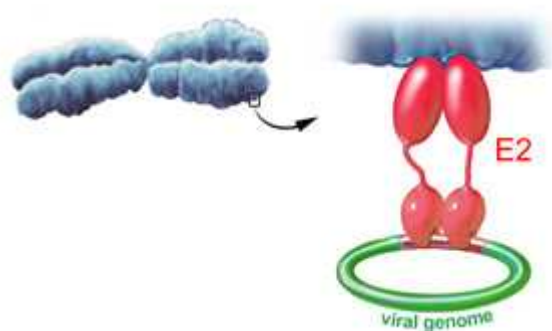
4.2 REPLIKACIJA GENOMA I ULOGE E1 I E2

Replikacija je virusa povezana sa stupnjem diferencijacije domaćinske 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 staničnog ciklusa je protein E2. Taj protein u nekodirajućoj dugoj kontrolnoj regiji, LCR, u neposrednoj blizini ishodišta replikacije, prepoznaje palindromske sekvence (AACCg(N4)cGGTT) i veže se za njih svojom C-terminalnom domenom. Pomoću 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 pomoć staničnih šaperona Hsp40 i Hsp70, poprima funkcionalnu konformaciju dvostrukog heksamernog prstena (sl. 6.), kako bi odmotao lance DNA (dvosmjerno odmatanje) i omogućio pristup replikacijskim proteinima domaćinske stanice, replikacijskom proteinu A (RPA) i DNA polimerazi α (Titolo i sur, 2003).



Slika 6. Sastavljanje replikacijskog kompleksa pomoću 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 raspoređuju u stanice kćeri tijekom mitoze. U toj segregaciji sudjeluje E2 (sl. 7.).



Slika7. E2 posredovana segregacija virusnih genoma kod BPV1

(McBride i sur, 2006)

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

Osim što ima ulogu u replikaciji i segregaciji genoma, 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).

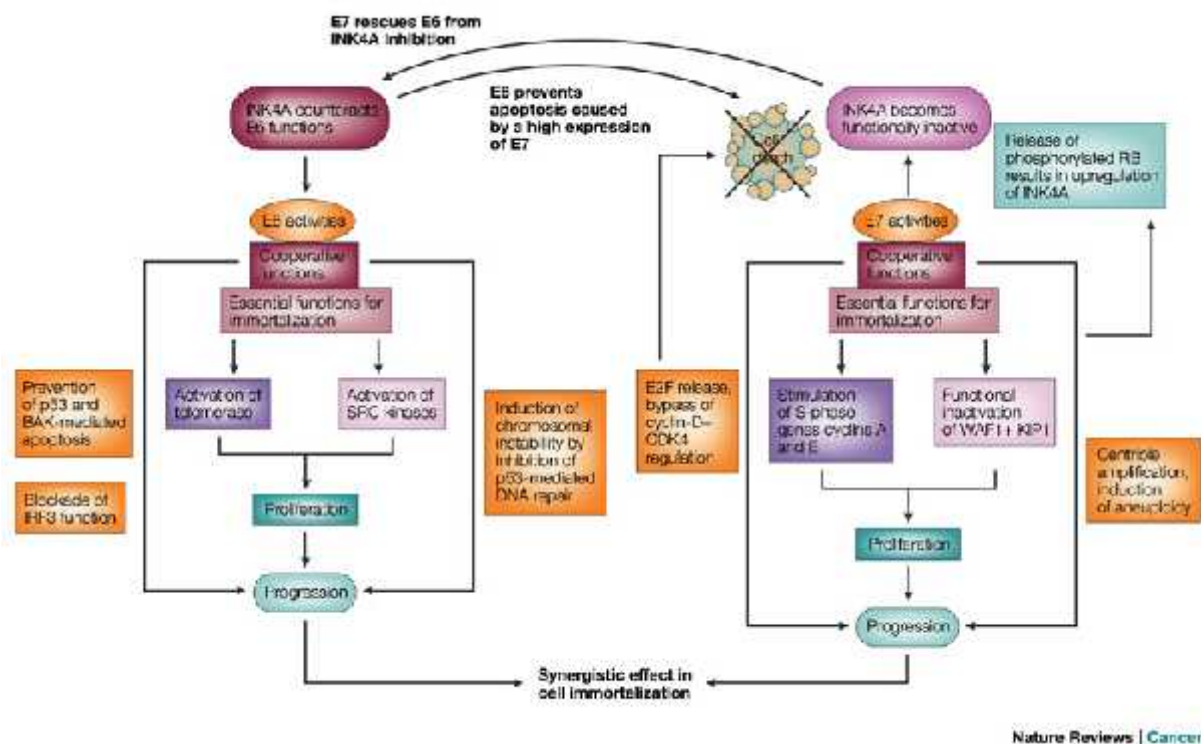
4.3. STIMULACIJA PROLIFERACIJE STANICA I ULOGE E6 I E7 KOD VISOKORIZIČNIH TIPOVA HPV

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 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 visokorizičnih 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 visokorizičnim 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 loma 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 visokorizičnih 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 (stanična 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).

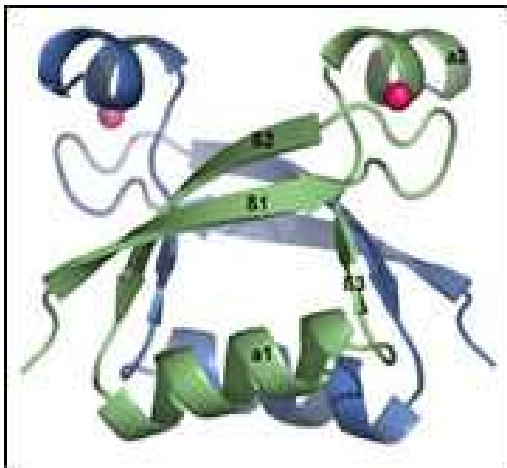


Slika 8. Funkcije E6 i E7 onkoproteina i njihove međusobne interakcije u procesu koji vodi ka imortalizaciji domaćinske stanice (INK4A = p16; WAF1 = p21; KIP1 = p27)
(zur Hausen, 2002)

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 kontakta između stanica, npr. čvrstim 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.).

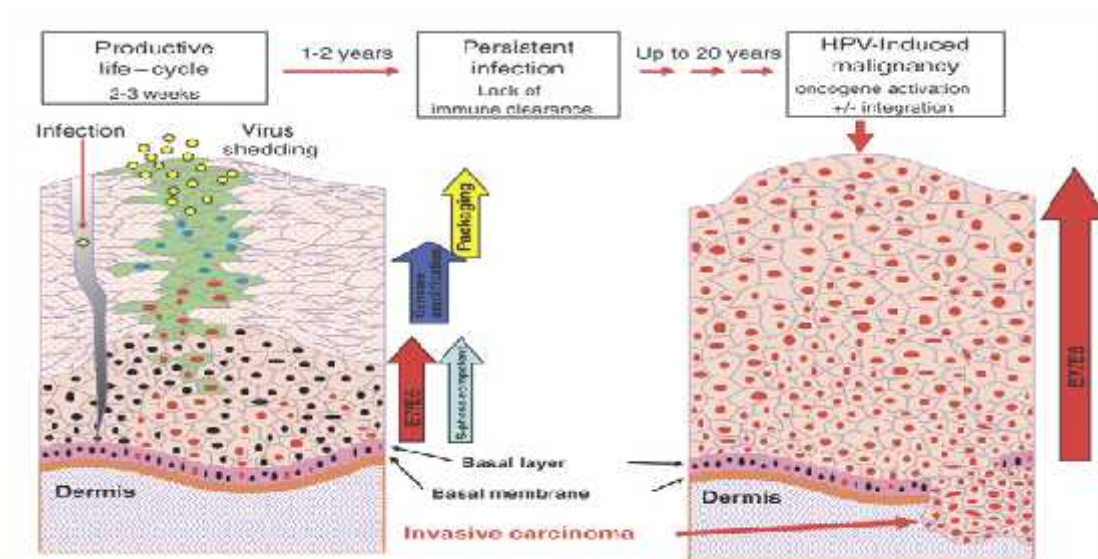


Slika 9. Kristalna struktura CR3 regije HPV E7 koja sudjeluje u vezanju pRB

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

Osnovna uloga E7 je vezanje i inaktivacija tumor-supresorskih proteina obitelji pRB. pRb je osnovni regulator staničnog ciklusa: njegova fosforilacija i oslobađanje transkripcijskog faktora E2F omogućuje sintezu proteina S faze staničnog ciklusa. Stimulira se transkripcija ciklina D, E i A te PCNA (proliferating cell nuclear antigen = faktor koji povećava procesivnost domaćinske DNA polimeraze). Dok su u neinficiranoj stanici ovi procesi kontrolirani faktorima rasta, u stanicama s virusom HPV, zbog inaktivacije pRb, potiče se neprestana stanična proliferacija. E7 na sličan način 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 staničnog ciklusa i procesom diferencijacije u keratinocitima, koja je kod infekcije papilomavirusom poremećena.

Dakle, ako se virusna DNA ugradi u genom domaćinske stanice (perzistentna infekcija zapažena kod malog postotka visokorizičnih 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 će 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 zloćudni tumor.

(Thomas, 2008)

U procesima poticanja staničnog rasta sudjeluje još jedan rani virusni protein, E5. HPV E5 je mali, vrlo hidrofobni protein, obično smješten u plazma membrani i Golgi-ju. Može se vezati za vakuolnu H^+ ATP-azu te tako spriječiti proces endosomskog zakiseljavanja. Tako se potiče recikliranje receptora epidermalnog faktora rasta EGF (epidermal growth factor) na staničnoj membrani i povećava mitogeno signaliziranje. Za HPV16 E5 je dokazano i da sudjeluje u negativnoj regulaciji površinskog kompleksa histokompatibilnosti MHC (major histocompatibility complex) proteina, čime se sprječava prepoznavanje i ubijanje inficiranih stanica od strane T-stanica ljudskog imunološkog sustava. Kod goveđeg papiloma-virusa BPV1 protein E5 je jedan od glavnih onkogeni (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 određeni proteini proizvode u određeno vrijeme i u određenoj količini, kako inficirana stanica migrira prema epitelnoj površini. Tim procesom se

mijenja stanična 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 kotrljajućeg kruga (sigma) koja osigurava velik broj kopija virusnog genoma.

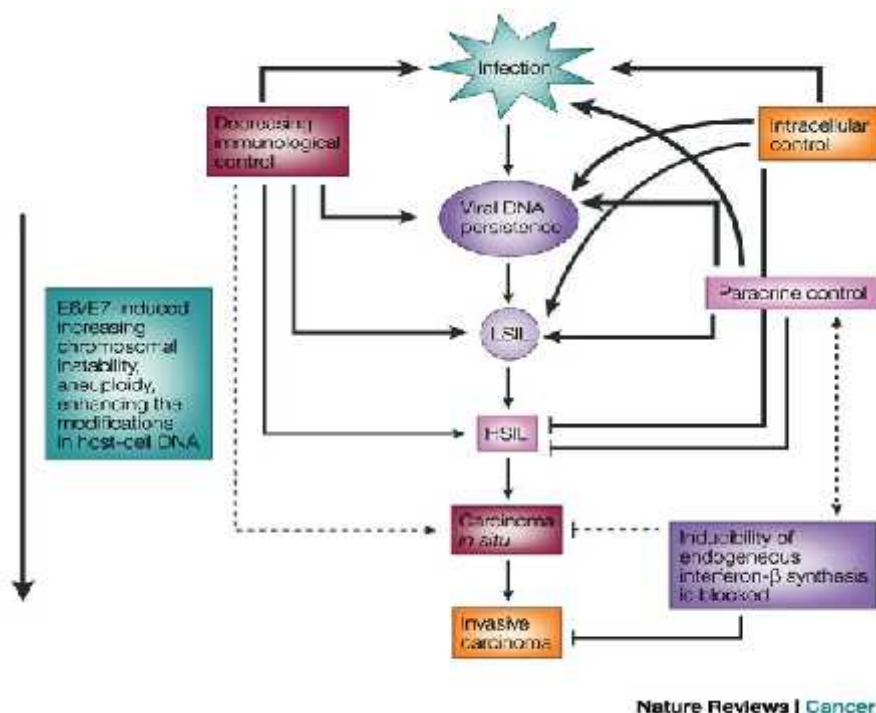
U gornjim se slojevima epitela virus umnaža i pakira svoj genom u kapsidu, da bi na kraju došlo do otpuštanja infektivnih čestica. U tim procesima sudjeluju E2, koji vjerojatno povećava efikasnost pakiranja genoma, te kasni proteini L1 i L2.

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). Čitavi 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. DOMAĆINSKA 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 mehanizma povratne sprege, u slučaju da je eksprimiran 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. interferirajućim staničnim faktorom, CIF-om (cellular interference factor). Proces započinje 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 keratinocyte 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 započinju sedamdesetih godina, razvojem metoda molekularne biologije. Danas je već relativno dobro poznata njihova biologija, kao i mehanizam kojim mogu dovesti do stanične transformacije. Životni ciklus im je usko vezan uz diferencijacijski program keratinocita. Inficiraju bazalne stanice epitela. Specifični virusni proteini interferiraju sa staničnim da bi odgodili proces diferencijacije i potakli suprabazalne diobe. 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 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 stanične proliferacije, immortalizacije i genomske nestabilnosti, te neoplastičke progresije.

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