

Onkogeni aspekti HPV-genitalnih infekcija kod žena

Oncogenic Aspects HPV Infections of the Female Genital Tract

Joško Zekan¹, Maja Sirotković-Skerlev², Ante Ćorušić¹, Joško Lešin¹

¹Zavod za ginekološku onkologiju Klinike za ženske bolesti i porode
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

KBC Zagreb

10000 Zagreb, Petrova 13

²Katedra za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

KBC Zagreb

10000 Zagreb, Kišpatićeva 12

Sažetak Humani papilomavirus (HPV) glavni je etiološki čimbenik zloćudne preobrazbe vrata maternice. Najvećim dijelom zloćudna preobrazba stidnice i rodnice također je inducirana ovim virusom. Humani papilomavirusi odlično su prilagođeni svom prirodnom domaćinu, epitelnim stanicama kože i sluznica, koristeći se njihovim staničnim mehanizmima za svoje potrebe. U prvom koraku nastaje mikrotrauma i infekcija bazalnog sloja višeslojnoga pločastog epitela genitalnog trakta. Virus se veže za staničnu membranu, ulazi u stanicu i razmnožava se u jezgri. Ključnu ulogu u replikaciji virusa imaju virusni proteini E6 i E7. Vežanje onkoproteina E7 za protein Rb aktivira transkripcijski faktor E2F, koji je odgovoran za ekspresiju proteina potrebnih za replikaciju DNK. Nepravilnosti u tijeku S-faze staničnog ciklusa u fiziološkim uvjetima dovode do apoptoze posredovane proteinom p53. Međutim, u stanicama inficiranim HPV-om taj je proces onemogućen djelovanjem proteina E6, koji dovodi do proteolitičke razgradnje p53. Stalna aktivnost virusnih proteina E6 i E7 dovodi do nestabilnosti genoma, nakupljanja mutacija, gubitka kontrole staničnog rasta i na kraju do razvoja karcinoma. Putem prirođenog i stečenog imunskog odgovora organizam prepoznaje i suzbija strane agense, ali u slučaju HPV-infekcije taj je odgovor ponekad nedovoljan. Nadalje, HPV-infekcija dovodi do gubitka ekspresije citokina djelovanjem E6 i E7 onkoproteina, posebice suprimiranjem ekspresije gena interferona. U oko 10% zaraženih nastaje perzistentna infekcija HPV-om što donosi značajan rizik od nastanka prekursorskih ("premalighnih") lezija, kao i od nastanka invazivnog karcinoma.

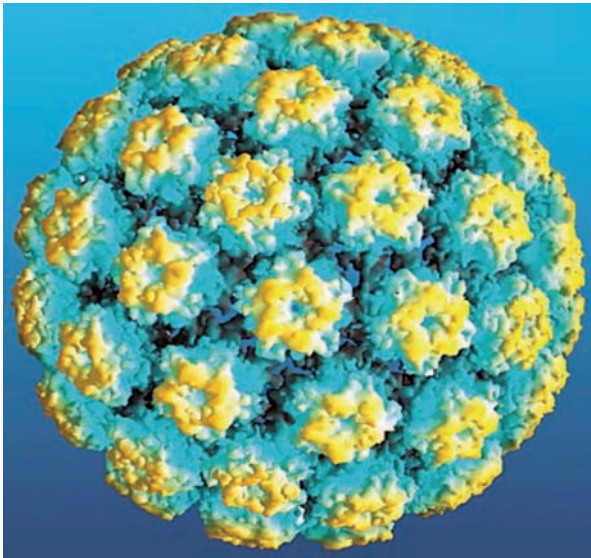
Ključne riječi: humani papilomavirus, rani virusni onkogeni, tumor-supresorski geni, maligna transformacija

Summary The causal role of human papilloma virus (HPV) in all cancers of the uterine cervix has been firmly established biologically and epidemiologically. Most cancers of the vulva and vagina are also induced by HPV. Papillomaviruses are perfectly adapted to their natural host tissue, the differentiating epithelial cell of skin or mucosae, and exploit the cellular machinery for their own purposes. The infectious cycle is initiated when infectious particles reach the basal layer of the epithelium, where they bind to and enter into cells. The critical molecules in the process of virus replication are the viral proteins E6 and E7, which interact with a number of cellular proteins. In experimental system these interactions have been shown to induce proliferation and eventually immortalization and malignant transformation of cells. Binding of E7 to pRb activates the E2F transcription factor, which triggers the expression of proteins necessary for DNA replication. Unscheduled S-phase would normally lead to apoptosis by the action of p53. However, in HPV-infected cells, this process is counteracted by the viral E6 protein, which targets p53 for proteolytic degradation. As an aberration of virus infection, constant activity of the viral proteins E6 and E7 leads to increasing genomic instability, accumulation of oncogene mutations, further loss of cell-growth control and ultimately cancer. The immune system uses innate and adaptive immunity to recognize and combat foreign agents that invade the body, but these methods are sometimes ineffective against human papillomavirus. HPV has several mechanisms for avoiding the immune system. Furthermore, HPV infections disrupt cytokine expression with the E6 and E7 oncoproteins, particularly targeting the expression of interferon genes. Approximately 10% of individuals develop a persistent infection, and it is this cohort who are at risk of cancer progression, with the development of high-grade precursor lesions and eventually invasive carcinoma.

Key words: human papillomavirus, early viral oncogenes, tumor suppressor genes, malignant transformation

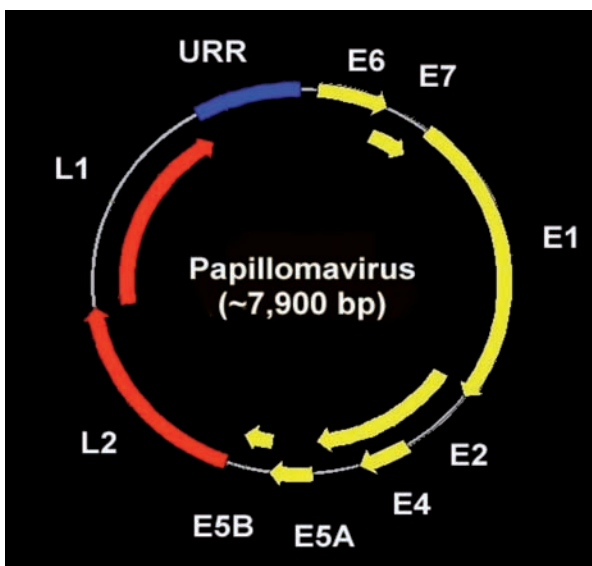
Humani papilomavirus

Humani papilomavirus (HPV) ikozaedarski je virus promjera 52 do 55 nm, građen od DNK-genoma uklopljenog u ovojnicu sastavljenu od dvije proteinske molekule. Virusnu kapsidu čini 12 pentavalentnih i 60 heksavalentnih kapsomera (slika 1). Genom virusa čini kružno postavljena dvolančana molekula DNK veličine oko 7,9 kilobaza i molekularne mase $5,2 \times 10^6$ daltona.



Slika 1. Humani papilomavirus

Virusni genom (slika 2) sastoji se od tri regije: rane i kasne kodirajuće regije (ORFs - Open Reading Frames) i jedne nekodirajuće, regulatorne regije (URR - Upstream Regulatory Region).



Slika 2. Genom HPV-a

Rana regija (Early region) virusnoga genoma kodira 6 ranih virusnih proteina (E1, E2, E4, E5, E6 i E7). Kasna regija (Late region) kodira dva proteina virusne ovojnice (L1 i L2). Proteini kodirani ranim virusnim genima (E-geni) nužni su za replikaciju virusne DNK u inficiranoj stanici domaćina. Gen E1 odgovoran je za DNK-replikaciju, E2 za RNK-transkripcijsku kontrolu, E4 za otpuštanje virusnih čestica, E5 kodira najmanji transformacijski protein, dok su E6 i E7 virusni onkogeni s brojnim biološkim učincima (tablice 1. i 2). Kasni virusni geni kodiraju veliki (L1) i mali (L2) protein kapside.

Regulatorna regija virusnoga genoma ne kodira proteine, ali sadržava elemente potrebne u regulaciji ekspresije pojedinih gena.

Tablica 1. Učinci onkoproteina E6

• Imortalizacija stanica	Band i sur. (1990)
• Vezivanje E6AP (engl. E6-associated protein) i razgradnja proteina (p53)	Werness i sur. (1990) Scheffner i sur. (1993) Tommasino i sur. (2003)
• Inhibicija apoptoze	Werness i sur. (1990) Thomas i Banks (1998)
• Destabilizacija kromosoma	White i sur. (1994)
• Poticanje ugradnje strane DNK i mutageni učinci	Kessis i sur. (1996) Havre i sur. (1995)
• Aktivacija telomeraze	Klingelhut i sur. (1996)
• Kočenje stvaranja interferona	Ronco i sur. (1998)

Tablica 2. Učinci onkoproteina E7

• Imortalizacija stanica	Munger i Phelps (1993)
• Aktivacija ciklina E i A	Arroyo i sur. (1993) Zerfass i sur. (1995)
• Inaktivacija proteina Rb i pRb-sličnih proteina	Dyson i sur. (1989, 1992)
• Inaktivacija inhibitora ciklin-ovisnih kinaza	Jones i sur. (1997) Funk i sur. (1997)
• Poticanje ugradnje strane DNK i mutageni učinci	Kessis i sur. (1996) Reznikoff i sur. (1996)
• Poremećaji broja i građe kromosoma	Pett i sur. (2004)

Model onkogeneze potaknute humanim papilomavirusom

Eksperimentalne studije pokazuju da produkti ranih virusnih gena E6 i E7 značajno remete kontrolu staničnog ciklusa. Brojni radovi otkrivaju posljedice međudjelovanja određenih proteina stanice i onkoproteina E6 i E7 na staničnu proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu.

Tumor-supresorski gen *p53* izuzetno je važan u regulaciji dinamike staničnog ciklusa i očuvanju genoma od zloćudne preobrazbe – stoga se i naziva čuvarom staničnoga genoma. Njegov produkt *p53* je transkripcijski faktor koji ima ključnu ulogu u prijenosu signala koji moduliraju zaustavljanje stanice u G1-fazi staničnog ciklusa, ponajprije poticanjem ekspresije gena *p21*. Produkt tog gena je protein *p21* koji koči aktivnost brojnih ciklin-ovisnih kinaza bitnih za odvijanje staničnog ciklusa.

Uvjeti staničnog stresa, kao što su UV zračenje, hipoksija ili virusna infekcija induciraju povećano stvaranje *p53*, što dovodi do zastoja staničnog ciklusa (stanični arrest) u G1-fazi, čime se stanice osigurava prijeko potrebno vrijeme za popravak oštećene DNK. Ako je oštećenje stanice nepopravljivo, *p53* vodi stanicu u programiranu smrt (apoptozu). Produkt gena *Rb* (drugoga važnog tumor-supresorskoga gena) čvrsto veže i tako kontrolira aktivnost transkripcijskog faktora E2F ne dopuštajući stanici da uđe u S-fazu. Nakon provjere genoma i uklanjanja oštećenja dolazi do fosforilacije *pRB* i otpuštanja faktora E2F, ekspresije brojnih gena koje on kontrolira te stanica može stvoriti vjernu kopiju DNK u S-fazi.

Onkoprotein E6 stvara kompleks s produktom tumora gena *p53* i potiče njegovu razgradnju ubikvitin-ovisnim sustavom proteaza. Nadalje, onkoprotein E6 remeti procese međustanične kontaktne inhibicije, inducira aktivnost telomeraze i potiče aktivnost vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF, od engl. Vascular endothelial growth factor), s posljedičnom indukcijom neoangiogeneze, temeljnog procesa progresivne ekspanzije tumora.

Onkoprotein E7 veže se s hipofosforiliranim oblikom *pRb* i dovodi do prijevremenog odvajanja E2F od *pRb*. Vežanje onkoproteina E7 s *pRb* ima u osnovi isti učinak kao fosforilacija *pRb* – dolazi do povećane aktivnosti transkripcijskog faktora E2F i prijevremenog ulaska u S-fazu staničnog ciklusa.

Gubitak funkcije *p53* i *pRb* (rušenje glavne protutumorske barijere) dovodi do kontinuirane replikacije i proliferacije stanica. Stimulirana je sinteza DNK bez mogućnosti popravka oštećenja te dolazi do nakupljanja genskih grešaka uz izostanak programirane smrti stanice. Navedeno pridonosi genomskoj nestabilnosti – temeljnom poremećaju u onkogenezi. Krajnja posljedica ovih zbivanja je otvaranje puta malignoj alteraciji stanice (1-3).

Imunosni odgovor na infekciju humanim papilomavirusom

Infekcija HPV-om karakterizirana je izostankom viremije, upalne reakcije i uništavanja zaraženih stanica (stanične smrti). Uobičajeni odgovor organizma na infekciju je aktivacija lokalnih makrofaga (APC – antigen presenting cells) odnosno Langerhansovih dendritičkih stanica. Tako aktivirane Langerhansove stanice kreću prema prvom drenažnom limfnom čvoru i prezentiraju HPV-antigen matičnim T-limfocitima. Potom se T-limfociti diferenciraju u različite izvršne stanice koje kreću prema mjestu infekcije i uništava-

ju zaražene keratinocite. Međutim, to se ne događa kod infekcije HPV-om (4, 5).

Ova infekcija je karakterizirana slabim ili nikakvim otpuštanjem proinflammatoryh citokina i stoga nedostaje esencijalni signal aktivacije lokalnog imunskog sustava. Zaraženi keratinociti mogu aktivirati snažan obrambeni sustav posredovan sekrecijom interferona. Pojedini tipovi interferona imaju snažan protuvirusni, protuproliferacijski, protuangiogenički i imunostimulacijski učinak. Međutim, produkti HPV E6 i E7 gena suprimiraju gene odgovorne za sintezu interferona i na taj način ruše vrlo važan obrambeni sustav. Nadalje, HPV ima mehanizme izbjegavanja prirodnog imunskog odgovora i tako onemogućuje stjecanje imuniteta i sprječavanje ponovne zaraze. U određivanju tijeka HPV-infekcije ključan je stanični imunski odgovor posredovan CD4 Th1-populacijom limfocita. Imunosni sustav najčešće uspije eliminirati virus. Proteinski produkti HLA-antigena imaju važnu ulogu u prezentaciji antigena T-limfocitima domaćina. U dva odvojena istraživanja izolirani su različiti haplotipovi HLA-sustava. Neki od ovih haplotipova smanjuju rizik od nastanka trajne HPV-infekcije tri do četiri puta, dok nositelji nekih haplotipova imaju do sedam puta veći rizik od nastanka trajne HPV-infekcije (6-8).

Klinički tijek infekcije humanim papilomavirusom

Humani papilomavirus inficira epitel kože i sluznica, gdje može izazvati benigne, premaligne i maligne promjene. Najčešće se radi o prolaznoj infekciji bez kliničkih manifestacija. Do danas je potpuno genotipizirano više od 100 tipova HPV-a. Svi humani papilomavirusi pokazuju izraženi epitelni tropizam i pokazuju varijabilnost s obzirom na mjesto epitela gdje se nalaze i na vrstu oštećenja koja uzrokuju. U genitalnoj regiji identificirano je oko 40 genotipova HPV-a, od kojih najviše 15 može uzrokovati maligne lezije.

Brojne epidemiološke studije upućuju na činjenicu da je genitalna infekcija humanim papilomavirusom najčešća virusna spolno prenosiva bolest (9). Rizik od infekcije tijekom života je najmanje 50%. Vrh pojavnosti HPV-infekcije je između 19. i 22. godine života. U većini slučajeva radi se o latentnoj infekciji s prosječnim trajanjem oko 12 mjeseci. U više od 90% inficiranih žena opaža se spontana eliminacija HPV-a (izlječenje) tijekom sljedeće 2 godine. Perzistencija infekcije nakon prve godine je 25-30%, a nakon druge godine oko 9%. Nuždan preduvjet maligne konverzije stanice je trajna infekcija onkogenim genotipom HPV-a (10, 11). Kronična infekcija onkogenim HPV-om ne dovodi nužno do neoplastične pretvorbe, što upućuje na ulogu imunskog odgovora domaćina u nastanku maligne bolesti.

U prvom koraku dolazi do mikrotraume i infekcije bazalnog sloja višeslojnog pločastog epitela genitalnog trakta. Virus se veže za staničnu membranu, ulazi u stanicu i razmnožava se u jezgri. Najčešće nastaje latentna virusna infekcija (stvaranje stabilnog neintegriranog episoma, tzv. episomsko razmnožavanje). Latentno, minimalno umnažanje pra-

ti i ne remeti diobu bazalnih stanica. U malog broja zaraženih dolazi do proliferacije pločastog epitela sa stvaranjem bradavica i šiljastih kondiloma (tzv. vegetativna replikacija)



Slika 3. Šiljasti kondilomi rodnice

(slika 3). Onkogeni tipovi HPV-a imaju sposobnost ugradnje vlastitoga genoma u genom stanice domaćina. Ugradnjom virusnoga genoma dolazi do delecije gena E2 i gubitka supresijske kontrole gena E6 i E7, te otvaranja mogućnosti za malignu preobrazbu stanice, za što je nužna potpuna i trajna ekspresija ranih virusnih onkogenih E6 i E7.

Humani papilomavirus glavni je etiološki čimbenik zloćudne preobrazbe vrata maternice (slika 4). U tkivu karcinoma vrata maternice u 100% slučajeva može se izolirati DNK visokorizičnoga genotipa HPV-a (12). HPV 16 je dominantno onkogeni genotip (51%) u skvamoznim lezijama, dok je HPV 18 najčešći (56%) uzročnik glandularnog karcinoma vrata maternice. Ova dva genotipa uzrokuju 74% cervikalnih karcinoma (13).

U više od 40% karcinoma stidnice (slika 5) i rodnice može se izolirati HPV. Genotipovi HPV 16 i 18 uzrokuju oko 80% ovih karcinoma (14), što također može predstavljati značajan problem u ginekološkoj praksi. Povezanost HPV-a i premalignih i malignih lezija vrata maternice danas je nedvostrano dokazana, no, ne treba zanemariti ni značenje HPV-a kod premalignih i malignih lezija stidnice i rodnice.



Slika 4. Invazivni karcinom vrata maternice



Slika 5. Planocelularni karcinom stidnice

Literatura

1. MÜNGER K, BALDWIN A, EDWARDS KM, HAYAKAWA H, NGUYEN CL, OWENS M, GRACE M, HUH K. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *J Virol* 2004;78:11451-60.
2. WISE-DRAPER TM, WELLS SI. Papillomavirus E6 and E7 proteins and their cellular targets. *Front Biosci* 2008;13:1003-1017.
3. TUNGTEAKKHUN SS, DUERKSEN-HUGHES PJ. Cellular binding partners of the human papillomavirus E6 protein. *Arch Virol* 2008;153:397-408.
4. ROUSE BT, SUVAS S. Regulatory cells and infectious agents: detentes cordiale and contraire. *J Immunol* 2004;173:2211-5.
5. ROUSE BT, SARANGI PP, SUVAS S. Regulatory T cells in virus infections. *Immunol Rev* 2006;212:272-86.
6. MACIAG PC, SCHLECHT NF, SOUZA PS, ROHAN TE, FRANCO EL, VILLA LL. Polymorphisms of the human leukocyte antigen DRB1 and DQB1 genes and the natural history of human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2002;186:164-72.
7. WANG SS, HILDESHEIM A. Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:35-40.
8. DE ARAUJO SOUZA PS, MACIAG PC, RIBEIRO KB, PETZLERLER ML, FRANCO EL, VILLA LL. Interaction between polymorphisms of the human leukocyte antigen and HPV-16 variants on the risk of invasive cervical cancer. *BMC Cancer* 2008;8:246.
9. BOSCH FX, MANOS MM, MUÑOZ N, SHERMAN M, JANSEN AM, PETO J, SCHIFFMAN MH, MORENO V, KURMAN R, SHAH KV. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:796-802.
10. WALBOOMERS JM, JACOBS MV, MANOS MM, BOSCH FX, KUMMER JA, SHAH KV, SNIJDERS PJ, PETO J, MEIJER CJ, MUÑOZ N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-9.
11. MUÑOZ N, BOSCH FX, DE SANJOSE S, HERRERO R, CASTELLSAGUÉ X, SHAH KV, SNIJDERS PJ, MEIJER CJ. Epidemiological classification of human papillomavirus-types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27.
12. BÖHMER G, VAN DEN BRULE AJ, BRUMMER O, MEIJER CL, PETRY KU. No confirmed case of human papillomavirus DNA-negative cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or invasive primary cancer of the uterine cervix among 511 patients. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:118-20.
13. SMITH JS, LINDSAY L, HOOTS B, KEYS J, FRANCESCHI S, WINER R, CLIFFORD GM. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007;121:621-32.
14. PARKIN DM, BRAY F. The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006;24 Suppl 3:S3/11-25.

Adresa za dopisivanje:

Joško Zekan
Zavod za ginekološku onkologiju Klinike za ženske bolesti i porode Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
KBC Zagreb
10000 Zagreb, Petrova 13
e-mail adresa: josko.zekan@zg.t-com.hr

Primljeno / Received

17. 2. 2009.
February 17, 2009

Prihvaćeno / Accepted

8. 7. 2009.
July 8, 2009

Samo za zdravstvene radnike.



Alendor[®] 70

alendronat

Od sada
**1x
TJEDNO!**



PLIVA  **Žensko zdravlje**



Napomena: Sastavni dio ovog promidžbenog materijala predstavlja i sažetak opisa svojstava lijeka za Alendor[®] 70 sukladno članku 15. Pravilnika o načinu oglašavanja o lijekovima i homeopatskim proizvodima, Narodne novine broj 118/09. **Način i mjesto izdavanja:** Na recept, u ljekarni. 02-08-ALD-03-NO/011-08/02-09