

PRACA POGLĄDOWA

# ZAKAŻENIA WYWOŁYWANE PRZEZ LUDZKIE PAPILOMAWIRUSY

## INFECTIONS CAUSED BY HUMAN PAPILOMAVIRUSES

✉ JOLANTA BRATOSIEWICZ-WĄSIK<sup>1</sup>, MARIA MIKLASIŃSKA-MAJDANIK<sup>2</sup>, TOMASZ J. WĄSIK<sup>2</sup>

1 Katedra i Zakład Biofarmacji Wydziału Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

2 Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii Wydziału Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach



Tomasz J. Wąsik  
Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii  
Wydział Nauk Farmaceutycznych  
Śląski Uniwersytet Medyczny  
ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec

Wpłynęło: 08.10.2019  
Zaakceptowano: 07.11.2019  
Opublikowano on-line: 13.01.2020

Cytowanie: Bratosiewicz-Wąsik J, Mikłasińska-Majdanik M, Wąsik TJ. Zakażenia wywołane przez ludzkie papillomawirusy. Zakażenia XXI wieku 2019;2(6):263-271  
[10.31350/zakazenia/2019/6/Z2019046](https://doi.org/10.31350/zakazenia/2019/6/Z2019046)

Copyright by MAVIPURO Polska Sp. z o.o., Warszawa, 2019.  
Wszystkie prawa zastrzeżone. Żadna część niniejszej publikacji nie może być powielana i rozpowszechniana w jakiegokolwiek formie i w jakikolwiek sposób bez zgody wydawcy.

### STRESZCZENIE:

Ludzkie papillomawirusy stanowią zróżnicowaną grupę wirusów o odmiennym tropizmie i strategiach replikacyjnych. Na podstawie pierwszorzędowej struktury DNA dzieli się je na pięć rodzajów charakteryzujących się różnymi strategiami replikacyjnymi i różną manifestacją kliniczną. Większość wirusów należących do beta- i gammapapillomawirusów odpowiada za zakażenia o asymptomaticznym przebiegu, natomiast niektóre typy alfapapillomawirusów zakażające śluzówki są odpowiedzialne za rozwój nowotworów. Tak różne manifestacje kliniczne zakażeń HPV mogą mieć związek ze zróżnicowaniem mechanizmów cyklu replikacyjnego wirusów i ich interakcji z układem immunologicznym.

**SŁOWA KLUCZOWE:** wirus brodawczaka ludzkiego (HPV), onkowirusy, rak szyjki macicy

### ABSTRACT:

Human papillomaviruses (HPVs) constitute a diverse group with different epithelial tropism and infection strategies. HPV types are divided into five genera, with different viral-cycle mechanisms and disease associations. The majority of viruses counted in the Beta and Gamma genera cause only asymptomatic infections in immunocompetent subjects while some mucosal Alpha types are strongly associated with cancer development. Various types of epithelial infections caused by HPVs, from chronic asymptomatic infections, transient visible lesions to cancer development, are apparently linked to different viral strategies of transmission, epithelial propagation and different interactions with the immune system.

**KEY WORDS:** Human Papilloma Virus (HPV), oncoviruses, cervical cancer

## CHARAKTERYSTYKA RODZINY PAPILLOMAVIRIDAE

*Papillomaviridae* to rodzina małych (52–55 nm), ikosaedralnych, nieosłoniętych wirusów z materiałem genetycznym w postaci kolistego, dwuniciowego DNA [1, 2]. Do niedawna papillomawirusy wraz z poliomawirusami klasyfikowano do jednej, wspólnej rodziny *Papovaviridae*. W 2000 roku Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów wyodrębnił *Papillomaviridae* jako osobną rodzinę [3, 4].

Na podstawie sekwencji nukleotydowych genu kodującego główne białko kapsydu L1 wyróżnia się 53 rodzaje papillomawirusów, z tego jedynie pięć (*Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Mupapillomavirus* i *Nupapillomavirus*) działa chorobotwórczo u człowieka [1, 5]. Obecnie na liście International Human Papillomavirus Reference Center znajduje się ponad 200 różnych typów papillomawirusów, a ich liczba ciągle wzrasta [6, 7]. Ostatnia dekada zaowocowała identyfikacją nowych beta- i gammapapillomawirusów. Warunkiem zakwalifikowania do rodziny *Papillomaviridae* jest ponad 90% zgodność sekwencji nukleotydowej wirusa z sekwencją L1 papillomawirusów [3]. Rodzaj gamma obejmuje ok. 90 typów HPV, do rodzaju alfa zalicza się ok. 65 typów, a do rodzaju beta ok. 54 typów. Rodzaje mu oraz nu zawierają o wiele mniej typów (odpowiednio: 3 i 1) [5].

Największe zagrożenie dla człowieka stanowią typy HPV (human papillomavirus – HPV), określane jako wirusy wysokiego ryzyka (tab. 1). Zalicza się je do onkowirusów, które są czynnikiem etiologicznym raka szyjki macicy, prącia, odbytu, sromu, jamy ustnej czy krtani. Ponadto mogą powodować raka tylnej części gardła, w tym podstawy języka i migdałków [8–10]. Obecność DNA HPV stwierdza się w 99,7% przypadków raka szyjki macicy, to stało się podstawą do wprowadzenia testów DNA HPV w badaniach szyjki macicy oraz opracowania szczepionek przeciwko HPV-16 i HPV-18 [10, 11].

Obecnie zidentyfikowano ponad 100 genotypów HPV o różnym potencjale onkogenym; na podstawie danych epidemiologicznych i biologicznych sklasyfikowano je do typów wysokiego, pośredniego i niskiego ryzyka

**Tab. 1.** Rozwój raka szyjki macicy jest związany z zakażeniem wirusami wysokiego ryzyka, głównie HPV-16 i 18, które łącznie powodują aż 70% wszystkich nowotworów szyjki macicy.

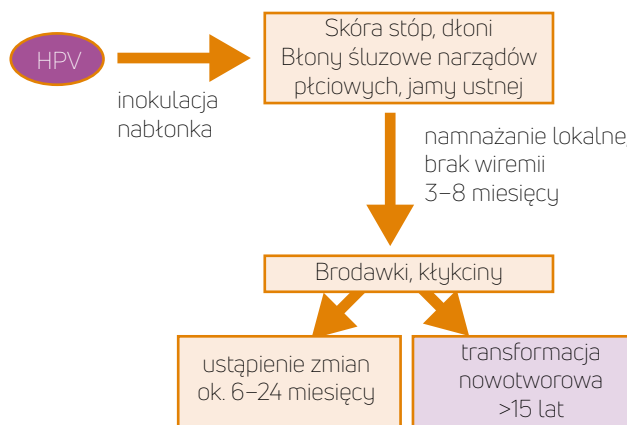
Związek	Typy HPV
z rozwojem raka	Typy HPV
Silny	HPV-16 (55%), 18 (17%), 31 (3%), 33 (2%), 45 (7%), 56 (2%)
Umiarkowany	HPV-35, 39, 51, 52, 58, 59, 66, 68
Słaby lub brak	HPV-6, 11, 26, 42, 43, 44, 53, 54, 55, 62

rozwoju nowotworu [10]. Ponad 90% zakażeń wirusem brodawczaka ludzkiego ustępuje samoistnie, jednakże infekcje wywołane przez HPV wysokiego ryzyka utrzymują się, co zwiększa ryzyko progresji do raka szyjki macicy [12]. Transformacja nowotworowa zależy również od umiejscowienia zmian oraz występowania dodatkowych czynników osobniczych/środowiskowych (ryc. 1) [10].

## BUDOWA WIRIONU

HPV jest stosunkowo małym wirusem bezotoczkowym, jego genom stanowi dwuniciowy kolisty DNA obudowany ikosaedralnym kapsydem, który jest zbudowany z dwóch rodzajów białek. Każdy kapsyd jest utworzony z 72 kapsomerów złożonych z pięciu cząsteczek białka L1, powiązanych siecią wewnątrz- i międzycząsteczkowych wiązań dwusiarczkowych [13]. Z każdym kapsomerem jest związane dodatkowo białko L2 [14].

Genom HPV, liczący około 8 tysięcy par zasad, zawiera osiem otwartych ram odczytu (ang. open reading frame – ORF) i wyróżnić w nim można trzy funkcjonalne regiony. W regionie wczesnym (E) są kodowane białka niestrukturalne uczestniczące w replikacji wirusa i onkogenezie (E1, E2, E4, E5, E6 i E7), region późny (L) zawiera geny dla białek strukturalnych formujących kapsyd (L1 i L2) (tab. 2), natomiast region LCR (ang. long control region – długi region



**Ryc. 1.** HPV namnażają się wyłącznie w różnicującym się, wielowarstwowym nabłonku płaskim, z tego powodu są trudności z prowadzeniem ich hodowli w laboratorium. Zmiany łagodne zwykle ustępują samoistnie (brodawki zanikają w ciągu 2 lat, kłykciny – po upływie ok. 6 miesięcy) lub po miejscowym leczeniu, choć czasem mogą być obecne latami. Po samoistnym ustąpieniu zmian może trwać zakażenie bezobjawowe (sprzyjające transmisji wirusa), możliwe jest też bezobjawowe nosicielstwo. Zakażenie śluzówkowymi typami HPV wysokiego ryzyka może prowadzić do transformacji nowotworowej. Należy pamiętać że większość dysplazji nie rozwija się w kierunku raka, według danych ECDC na milion kobiet zakażonych HPV wysokiego ryzyka inwazyjny rak szyjki macicy rozwinie się u 1600 (0,16%).

**Tab. 2.** Funkcja białek kodowanych przez HPV w cyklu replikacyjnym wirusa i cyklu komórkowym gospodarza.

Białko	Funkcja
E1	Białko wiążące DNA w miejscu rozpoczęcia replikacji w regionie LCR; warunkuje replikację DNA
E2	Kontroluje transkrypcję i replikację oraz segregację genomów wirusa do komórek potomnych; hamuje ekspresję genów wczesnych
E4	Reguluje ekspresję genów oraz zapewnia amplifikację genomu HPV
E5	Wzmacnia aktywność transformującą E6 i E7; zapewnia fuzję międzykomórkową; uczestniczy w unikaniu odpowiedzi immunologicznej
E6	Wiąże i degraduje białko supresorowe nowotworów p53, hamując apoptozę; oddziałuje z białkami naturalnej odpowiedzi immunologicznej; aktywuje ekspresję telomerazy
E7	Wiąże i degraduje białko supresorowe nowotworów RB; wzmacnia aktywność CDK; wpływa na ekspresję genów fazy S przez bezpośrednie oddziaływanie na czynniki E2F i deacetylasy histonowe; warunkuje unikanie działania układu odpornościowego
L1	Główne białko kapsydu; zawiera determinanty konieczne do przyłączenia do receptorów powierzchniowych komórek gospodarza; białko wysoce immunogenne indukujące produkcję przeciwciał neutralizujących
L2	Białko kapsydu; uczestniczy w wiązaniu wirionu do receptora komórkowego, umożliwia jego wniknięcie, transport do jądra komórkowego oraz dostarczenie DNA wirusa do centrów replikacji; współuczestniczy z białkiem E2 w pakowaniu DNA wirusa do kapsydów

regulatorowy) zawiera miejsca wiązania dla komórkowych i wirusowych czynników regulujących transkrypcję oraz miejsce startu replikacji [15].

## EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ

HPV jest jedną z najczęstszych infekcji przenoszonych drogą płciową. Analiza 194 badań, którymi objęto ponad milion kobiet z różnych rejonów świata, wykazała, że około 12% kobiet na całym świecie jest bezobjawowymi nosicielkami wirusa HPV. Największą liczbę zakażeń odnotowuje się w regionach Afryki subsaharyjskiej (24%). Szacuje się, że 90% zakażeń bezobjawowych ustępuje samoistnie po upływie około dwóch lat [11].

HPV niskiego ryzyka (HPV-6 i HPV-11) prowadzą do rozwoju w obrębie błon śluzowych łagodnych zmian, takich jak brodawki płciowe (kłykciny) czy brodawczak krtań [8, 11]. Typy wysokiego ryzyka przyczyniają się przede wszystkim do rozwoju raka szyjki macicy. Ponadto zakażenia wirusem HPV są związane ze znacznym odsetkiem nowotworów zarówno u kobiet, jak i mężczyzn: raka pochwy (78%), odbytu (88%), prącia (50%) i sromu (25%), a także transformacji nowotworowych w obrębie jamy ustnej, gardła czy migdałków [11].

Rak szyjki macicy jest czwartym co do częstości nowotworem u kobiet na całym świecie. Szacuje się, że rocznie na raka szyjki macicy zapada 570 000 kobiet, to zaś stanowi około 30% wszystkich nowotworów wywoływanych przez czynniki zakaźne, a około 300 000 przypadków kończy się śmiercią. Związany z HPV rak szyjki macicy dotyczy kobiet z krajów rozwijających się, co bezpośrednio wiąże się z brakiem profilaktyki w postaci badań przesiewowych i szczepionek oraz błędami w leczeniu wykrytych zmian [11, 16]. HPV 16 i 18 są najbardziej zjadliwymi genotypami wysokiego ryzyka i powodują ok. 70% wszystkich inwazyjnych nowotworów szyjki macicy (HPV-31, 33, 45, 52, 58 – 20%).

HPV-16 i 18 występują na całym świecie, natomiast typy 52 i 58 są charakterystyczne dla regionów Azji Wschodniej i Ameryki Północnej, a typy 31, 33, 45 częściej występują w Europie [10, 11].

## DROGI ZAKAŻENIA

Infekcje HPV są bardzo powszechne. Przyjmuje się, że większość ludzi zarazi się wirusem na jakimś etapie swojego życia. Ponieważ wirusy są gromadzone w obrębie brodawek i kłykcin, podstawową drogą transmisji jest bezpośredni kontakt z osobą zakażoną. Do większości zakażeń dochodzi podczas kontaktów seksualnych. Ryzyko zakażenia wzrasta w przypadku seksu analnego i oralnego [17]. Największa zakaźność wirusa występuje zaraz po rozpoczęciu stosunku. HPV wnika do komórek zakażanego organizmu przez uszkodzoną skórę, naskórek lub nabłonek, odsłaniające dzielące się komórki konieczne do rozwoju infekcji HPV [2]. Ponadto do zakażenia może dojść drogą pośrednią przez powierzchnie skażonych mebli, sprzętów lub podłóg, na przykład na basenach czy w szatniach. Możliwa jest również transmisja wirusa podczas porodu, karmienia piersią oraz przez krew [2, 4].

Do grup zwiększonego ryzyka zakażenia HPV zalicza się osoby z niedoborami odporności, współistniejącym zakażeniem HIV, CMV, a także *Chlamydia trachomatis*. Na wzrost ryzyka infekcji ma wpływ również rozpoczęcie współżycia w młodym wieku oraz częsta zmiana partnerów seksualnych [2].

## POSTACIE KLINICZNE ZAKAŻEŃ

Infekcje HPV wiążą się z powstawaniem łagodnych i złośliwych zmian umiejscowionych na skórze lub błonach śluzowych. Rodzaj zmiany zależy od typu HPV.

**Tab. 3.** Zmiany łagodne wywołane przez HPV.

Typ zmiany	Dominujące typy HPV	Opis
Brodawki stóp ( <i>verrucae plantares</i> )	HPV-1, 2	Brodawki skórne, zwykle pojedyncze głębokie, blaszkowate, bolesne wykwity, usunięcie warstwy powierzchniowej uwidacznia punktowate krwawienia (typ myrmecia); Rzadziej: liczne, powierzchniowe, niebolesne, zlewające się rozległe (brodawki mozaikowe); Bardzo zakaźne – częste zakażenia basenowe; Występują głównie u dzieci i młodzieży
Brodawki płaskie ( <i>verrucae planae</i> )	HPV-3, 10, 26, 27, 28	Liczne, drobne, czerwone, brunatne lub w kolorze skóry, o powierzchni lekko bąszczącej i gładziej niż brodawki zwykłe, lekko wyniesione ponad powierzchnię skóry, wyglądają jak nałożone na skórę, dobrze odgraniczone; Występują najczęściej na twarzy, rzadziej na grzbietowej stronie dłoni, na ramionach, kolanach; Występują głównie u osób młodych; Zanikają w ciągu 2 lat
Brodawki płciowe – kłykciny kończyste ( <i>condylomata acuminata</i> )	HPV-6, 11	Unaczynione guzki występujące na powierzchni błon śluzowych sromu, pochwy, szyjki macicy, penisa i wokół odbytu; Zakażenie następuje przez kontakty seksualne
Młodzieńczy brodawczak krtani	HPV-6, 11	Zmiany pojedyncze lub mnogie występujące u dzieci, często powracające po leczeniu chirurgicznym; Zakażenie następuje w trakcie porodu

**Tab. 4.** Zmiany złośliwe/potencjalnie złośliwe wywołane przez HPV.

Typ zmiany	Dominujące typy HPV	Opis
Nowotwory narządów płciowych	HPV-16, 18, 31, 45	Rak szyjki macicy, sromu, prącia, odbytu
<i>Bowenoid papulosis</i> (grudkowatość bowenoidalna)	HPV-16	Liczne grudki występujące na prąciu lub wargach sromowych, mogą ulec zeźłośliwieniu
Nowotwory głowy i szyi (głównie jamy ustnej)	HPV-16	Zlokalizowane głównie w gardle, podstawie języka, migdałkach; Zdolność do immortalizacji keratynocytów jamy ustnej; Kofaktor rozwoju nowotworu: współzakażenie herpeswirusami i hiv
Brodawczak krtani u dorosłych	HPV-6, 11	Możliwy rozwój raka krtani, płuca, promieniowanie jonizujące zwiększa ryzyko rozwoju zmian złośliwych
Nowotwory skóry u osób z <i>epidermodysplasia verruciformis</i>	HPV-5, 8	Nowotwór złośliwy (kolczystokomórkowy rak skóry) rozwija się ze zmian wywołanych przez HPV, po ekspozycji na promienie UV

HPV przyczynia się do powstawania zmian skórnych w postaci brodawek. Zazwyczaj są to łagodne, hiperkeratyczne, samoograniczające się zmiany, które zanikają samoistnie lub po miejscowym leczeniu. Wyróżnia się brodawki pospolite, płaskie oraz podeszwowe. Rodzaj powstałej brodawki zależy zarówno od typu wirusa, jak i miejsca zakażenia (tab. 3, tab. 4) Zwykle brodawki skórne nie dają dolegliwości bólowych, aczkolwiek umiejscowione na stopach lub w okolicach paznokci mogą powodować ból [18].

Najbardziej łagodnymi zmianami błon śluzowych wywoływanych przez wirusa brodawczaka ludzkiego są brodawki jamy ustnej – zmiany o szorstkiej powierzchni oraz włókniasto-naczyniowej strukturze. Występują w każdej grupie wiekowej. Po usunięciu chirurgicznym nie mają tendencji do nawrotów [2, 18].

Do najczęstszych łagodnych zmian błon śluzowych wywoływanych przez wirusa brodawczaka ludzkiego zalicza się kłykciny kończyste. W zdecydowanej większości przypadków zmiany te są spowodowane infekcją HPV-6 i HPV-11 [2, 5]. Do grupy zwiększonego ryzyka klinicznej manifestacji zakażenia zalicza się osoby o obniżonej

odporności, np. chorych po przeszczepach lub nosicieli HIV. HPV wnika do warstwy podstawnej poprzez uszkodzenia, dzięki którym zostają odsłonięte dolne warstwy komórek nabłonkowych, tj. komórki dzielące się, konieczne do rozwoju infekcji HPV. Zwiększona proliferacja keratynocytów prowadzi do akumulacji komórek, co skutkuje powstaniem kłykciny. U części pacjentów zmiany ustępują samoistnie po upływie około sześciu miesięcy. Szacuje się, że 1% populacji świata ma kłykciny kończyste. Leczenie kłykciny jest procesem trudnym, kosztownym i długotrwałym [18, 19].

Częstą zmianą błon śluzowych wywołaną przez HPV jest brodawczak krtani o etiologii HPV-6 i HPV-11. Schorzenie może dotyczyć zarówno dzieci (najwyższa zachorowalność podczas pierwszych pięciu lat życia), jak i osoby dorosłe. Zakażenie u dzieci następuje zazwyczaj podczas porodu. Zmiany umiejscawiają się głównie na krtani, ale mogą występować także w innych miejscach drzewa oskrzelowego. Leczenie jest trudne, zmiany mają tendencję do nawrotów (tab. 3) [2, 18].

Zakażenie typami wysokiego ryzyka HPV bezpośrednio wiąże się z występowaniem raka szyjki macicy (tab. 1).

Transformacja nowotworowa jest poprzedzona dysplazją szyjki macicy (ang. cervical intraepithelial neoplasia – CIN). Stan szyjki macicy można monitorować przez wykonywanie cytologii ginekologicznej lub kolposkopii. W rozmarze cytologicznym zmiany są widoczne w postaci koilocytów, tj. nieprawidłowych komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego.

Kolejnym schorzeniem mającym związek z zakażeniem HPV (głównie 5, 8 i 14) jest *epidermodysplazja verruciformis* – rzadka choroba genetyczna spowodowana zmniejszoną zdolnością układu odpornościowego do odparcia i zwalczania infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego. U chorego dochodzi do rozwoju licznych chropowatych zmian, które po ekspozycji na promieniowanie UV mogą ulec zezłśliwieniu (tab. 4) [16].

## PATOGENEZA ZAKAŻENIA

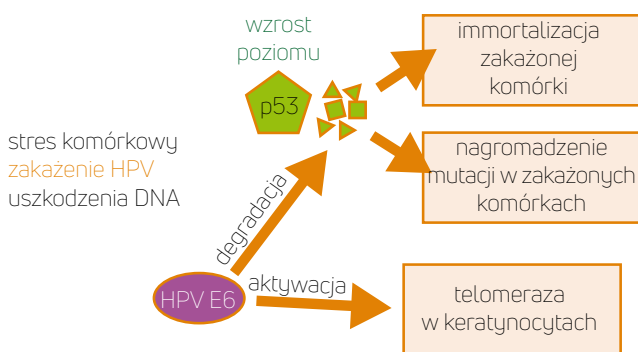
HPV jest wysoce zakaźny, a czas inkubacji zakażenia waha się od trzech do czterech tygodni, czasem trwa miesiące, a nawet lata. Długość okresu latencji zależy prawdopodobnie od otrzymanej dawki wirusa. W zakażonej komórce dochodzi do zmian umożliwiających replikację wirusa i w tym stadium jest możliwość wykrycia DNA wirusa. Okres aktywnej replikacji również jest zmienny, lecz u znacznej większości zakażonych dochodzi do rozwoju skutecznej odpowiedzi immunologicznej i przejścia do fazy DNA(-) oraz remisji objawów klinicznych choroby. Średni czas eliminacji DNA HPV wysokiego ryzyka (np. HPV-16) wynosi 8–14 miesięcy i jest o 5–6 miesięcy dłuższy niż dla HPV niskiego ryzyka [13]. Odpowiedź typu komórkowego skierowana przeciwko wczesnym białkom wirusa prowadzi do cofnięcia się zmian klinicznych. Równolegle następuje serokonwersja, w której wyniku są produkowane przeciwciała neutralizujące przeciwko epitopom białka kapsydu L1 [20].

W grupie osób zakażonych mniejszość, to jest od 10 do 20%, stanowią chorzy, u których wirus nie zostaje wyeliminowany i zakażenie przyjmuje postać przetrwałą. U pacjentów z przetrwałym zakażeniem HPV występuje duże ryzyko rozwoju stanów przednowotworowych wysokiego stopnia oraz inwazyjnej formy nowotworu. Zakażenie przetrwałe wiąże się z integracją DNA wirusa z genomem komórki gospodarza, a wskutek zaburzenia stabilności genomu wzrasta ryzyko rozwoju zmian o wysokim stopniu złośliwości. Białka E5, E6 i E7 indukują powstanie takich nieprawidłowości komórkowych, jak fuzje między komórkami i niestabilność chromosomalna. Ponadto wskutek oddziaływania białek p53 i pRB następuje utrata punktów kontroli cyklu komórkowego, co zostanie omówione w części poświęconej mechanizmom onkogennego działania papillomawirusów.

Zakażenie wirusem brodawczaka ma charakter wyłącznie wewnątrz nabłonkowy. Wirus przez mikrourazy dociera do komórek podstawnych nabłonka, gdzie w początkowej fazie następuje replikacja DNA do uzyskania około 100 episomów na komórkę. Wirus w proliferujących warstwach nabłonka pozostaje w stadium episomów i na tym etapie ekspresja genów wirusowych przebiega na minimalnym poziomie. W komórkach, które przestają się dzielić i wchodzą w fazę różnicowania, wzrasta poziom ekspresji genów wirusa i następuje replikacja genomu oraz synteza białek kapsydu. Ponieważ w różnicujących się komórkach dostępność maszynarii niezbędnej do replikacji spada, HPV uruchamia wiele mechanizmów aktywujących szlaki czynne w trakcie cyklu komórkowego. Składanie i uwalnianie wirionów potomnych odbywa się w powierzchniowych zróżnicowanych komórkach płaskonabłonkowych [21].

## CYKL REPLIKACYJNY HPV

Cykl życiowy wirusa brodawczaka rozpoczyna się od zakażenia komórek macierzystych w warstwie podstawnej nabłonka i jest zależny od stopnia zróżnicowania zakażonej komórki. Receptorami uczestniczącymi w związaniu się wirusa z powierzchnią komórki są proteoglikany siarczanu heparanu (HSPGs), receptory czynnika wzrostu naskórka (EGFRs), integryny, lamininy, syndecan-1, błonowe mikrodomeny bogate w tetraspaniny, heterotetramer aneksyny-A2 i wimentyna. Wirus dostaje się do komórki w wyniku endocytozy i następnie jest transportowany przez układ błon sieci Golgiego oraz retikulum endoplazmatycznego [22]. Episomalny genom HPV poprzez system tubulin trafia do jądra komórkowego [23], gdzie rozpoczyna się wczesna transkrypcja genów kodujących białka E1 i E2 niezbędne w procesie replikacji DNA wirusa. Białka te wiążą się do miejsca rozpoczęcia replikacji genomu wirusa i przylączają komórkowe polimerazy i inne białka potrzebne do replikacji DNA. Jest to tak zwana faza utrwalenia zakażenia, podczas której w zainfekowanej komórce powstaje około 100 kopii episomalnego genomu wirusa. Ekspresja białek HPV w komórkach niezróżnicowanych przebiega na bardzo niskim poziomie, dzięki temu wirus może uniknąć działania układu odpornościowego i przetrwać wewnątrz komórek [24]. W warstwie ponadpodstawnej uruchamia się ekspresja genów E1, E2, E5, E6 i E7 kodujących białka niezbędne do zachowania genomu oraz indukcji proliferacji komórek, co umożliwia zwiększenie się liczby zakażonych komórek produkujących wiriony potomne [25]. Na tym etapie jest istotna rola białka E7, wiąże ono bowiem białka nieaktywnego kompleksu transkrypcyjnego (pRB) i uwalnia z niego czynnik E2F, który aktywuje transkrypcję cytokin A i E stymulujących przejście komórki z fazy G1 do S. Jednocześnie, aby zapobiec wejściu komórki na drogę



**Ryc. 2.** Wirusowe białko E6 przyczynia się do degradacji komórkowego białka p53 w wyniku ubiquitynacji. Stres komórkowy czy uszkodzenie genomowego DNA jest sygnałem do wzrostu poziomu białka supresorowego p53. Ekspresja wirusowego białka regulatorowego E6 wygasza ścieżkę sygnałową p53, a to prowadzi do unieśmiertelnienia zakażonej komórki. Ponadto E6 aktywuje telomerazę w keratynocytach, co przyczynia się do transformacji i immortalizacji komórek.

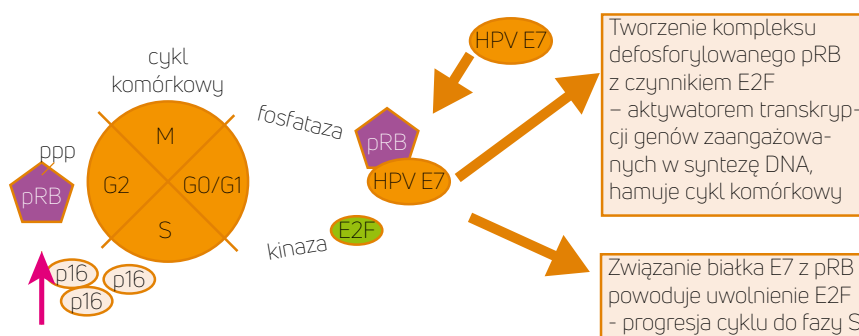
apoptozy, białko E6 wiąże białko p53 i kieruje je do degradacji lub zmienia jego konformację tak, że traci aktywność transaktywatora transkrypcji. W tym czasie replikacja genomu wirusa jest zsynchronizowana z replikacją genomu komórkowego i wirusowe episomy są przyłączane przy udziale białek E2 do chromosomów komórkowych, następnie wraz z nimi rozdzielane do komórek potomnych [26]. W przestających się dzielić komórkach nabłonka jest uruchamiany produktywny etap cyklu replikacyjnego HPV, będący niezwykle ciekawym zjawiskiem, gdyż wymaga od wirusa zmuszenia komórki, w której zostały zatrzymane procesy replikacji, do ponownego uruchomienia syntezy DNA. W komórkach różnicujących się jest podtrzymywana ekspresja genów E1, E2, E6 i E7 oraz dodatkowo jest aktywowana ekspresja genu E4, którego produkt zapewnia replikację genomu wirusa, dzięki czemu w zakażonej komórce są produkowane tysiące kopii genomu wirusa. Inną funkcją białka E4 jest zatrzymanie komórek w fazie G2 oraz aktywacja kinaz

komórkowych [27]. Wraz ze wzrostem liczby kopii genomu wirusa w komórce rozpoczyna się ekspresja genów L1 i L2, które kodują białka kapsydu. W warstwie ziarnistej na terenie jądra komórkowego odbywa się złożenie produktów genów późnych w kapsyd i są formowane wiriony potomne, uwalniane z komórek osiagających warstwę zrogowaciałą nabłonka. Ograniczenie syntezy białek wirusa do etapu wysoce zróżnicowanych komórek powoduje, że ekspresja antygenów wirusa jest ograniczona do lokalizacji mniej dostępnej dla odpowiedzi immunologicznej [28].

## MECHANIZMY ONKOGENEZY

Trwające przez wiele lat przetrwałe zakażenie komórek warstwy podstawnej i macierzystych komórek nabłonkowych przynajmniej jednym typem HPV wysokiego ryzyka jest koniecznym warunkiem rozwoju raka szyjki macicy. Nie jest jednak warunkiem wystarczającym, o czym świadczy fakt, że tylko u części zakażonych dochodzi do nowotworzenia. Istotnym czynnikiem ryzyka rozwoju raka szyjki macicy jest lokalizacja zakażenia. Miejscem o największej podatności na rozwój przetrwałego zakażenia i onkogenezę jest tzw. strefa T (transformacji), czyli granica pomiędzy kanałem szyjki macicy, wyścielonym przez nabłonek gruczołowy, a tarczą szyjki macicy, pokrytą nabłonkiem wielowarstwowym płaskim. Innymi czynnikami ryzyka są: stan układu odpornościowego, palenie, stosowanie złożonej antykoncepcji doustnej, inne infekcje przenoszone drogą płciową (np. *Chlamydia*), zakażenie HIV, skład mikrobiomu pochwy [22].

Kluczowym punktem w progresji nowotworzenia jest wzrost ekspresji onkoprotein E6 i E7 w dzielących się zakażonych komórkach (ryc. 2, ryc. 3). Białka te stymulują podziały i hamują różnicowanie komórek oraz indukują niestabilność chromosomów. W większości przypadków



**Ryc. 3.** Wirusowe białko E7 przyczynia się do inaktywacji komórkowego białka supresorowego pRB. Ufosforylowana forma pRB występuje w fazach S, G2 i M – nie wiąże wtedy czynnika transkrypcyjnego E2F, a gdy czynnik ten jest niezwiązany, może działać jako aktywator transkrypcji komórkowych genów zaangażowanych w syntezę DNA (faza S). Po fazie M następuje defosforylacja pRB i wówczas wiąże on czynnik E2F, który wtedy nie może pełnić funkcji aktywatora transkrypcji. Z kolei białko p16INK4a odgrywa główną rolę w procesie kontroli prawidłowego cyklu komórkowego. Jest częścią kaskady sygnałów, które zatrzymują replikację podczas różnicowania komórkowego. W całkowicie dojrzałych komórkach epitelialnych poziom p16INK4a jest obniżony do ledwie wykrywalnego. Natomiast w komórkach raka szyjki macicy, gdzie onkogenne wirusy HPV rozpoczęły transformację, poziom p16INK4a jest znacznie podwyższony.

(70–85%) zmiana poziomu ekspresji onkoprotein jest wynikiem integracji HPV wysokiego ryzyka z genomem gospodarza [29]. W komórkach, w których genom wirusa jest obecny w formie episomalnej, białko E2 oprócz zapewniania replikacji DNA ogranicza również ekspresję genów wczesnych. Integracja z genomem gospodarza zwykle powoduje zaburzenie syntezy białka E2, co uniemożliwia hamowanie ekspresji E6 i E7 [26].

Podstawową zdolność transformacji komórek typ HPV wysokiego ryzyka zawdzięcza współdziałaniu onkoprotein E6 i E7. Samo białko E7 ma słabe zdolności unieśmiertniające, białko E6 takich zdolności nie ma w ogóle, natomiast kombinacja E6/E7 wydajnie immortalizuje większość typów komórek. Białka te prowadzą do przełamania barier ograniczających podziały komórkowe, akumulacji niestabilności chromosomów oraz uniemożliwienia indukcji uśmiercenia komórki [26].

## GŁÓWNE MECHANIZMY UTRWALANIA ZDOLNOŚCI PROLIFERACJI

**Degradacja białka pRB i aktywacja promotorów zależnych od czynnika transkrypcyjnego E2F.** W prawidłowych komórkach białko pRB blokuje transkrypcję promotorów zależnych od czynnika E2F przez jego bezpośrednie wiązanie. W ten sposób jest uniemożliwana ekspresja wielu genów regulujących cykl komórkowy, różnicowanie, podziały mitotyczne i apoptozę. W późnej fazie G1 kompleksy kinaz zależnych od cyklin (ang. cyclin-dependent kinase – CDK) fosforylują pRB, powodując jego dysocjację od E2F, co umożliwia transkrypcję genów fazy S. Przyłączenie białka E7 do kompleksów pRB-E2F wywołuje konstytutywną ekspresję genów zależnych od E2F, promujących wejście komórki w fazę S i syntezę DNA (ryc. 3). Ponadto czynnik E7 kieruje białko pRB do degradacji proteasomalnej zależnej od ubikwityny. Tak więc nawet stosunkowo niski poziom E7 uniemożliwia wiązanie czynnika E2F przez pRB.

**Modyfikacja cyklin i inhibitorów CDK.** Białko E7 uczestniczy w unieśmiertnieniu komórek w wyniku interakcji z kluczowymi białkami kontrolującymi cykl komórkowy. Celem jego działania między innymi są białka p21 oraz p27, które hamują aktywność kinaz związanych z cyklinami E i A istotnymi dla przejścia z fazy G1 do S.

**Zniesienie hamowania wzrostu przez degradację białka p53.** Jednym z efektów oddziaływania E7 poprzez układ pRB-E2F jest wzrost ekspresji supresora p53, który osłabia zdolność wzrostu i zwiększa podatność na apoptozę. Przeciwdziała temu białko E6 zaburzające funkcjonowanie p53 przez jego bezpośrednie wiązanie i zniesienie zdolności wiązania się DNA lub przez ubikwitynację prowadzącą do degradacji (ryc. 3). Białko E6 uniemożliwia również przeprowadzenie acetylacji białka p53 zwiększającej jego stabilność.

**Prowadząca do unieśmiertnienia aktywacja telomerazy.** Unieśmiertnienie komórek jest związane z aktywacją ekspresji telomerazy – enzymu uczestniczącego w replikacji DNA na końcach chromosomów (telomerach). W początkowej fazie rozwoju nowotworu kluczowe znaczenie ma działanie białka E7, zapewniające wydłużanie telomerów przez rekombinacje pomiędzy telomerami siostrzanych chromatyd, natomiast w późniejszych etapach białko E6 aktywuje transkrypcję odwrotnej transkryptazy telomerazy (ang. telomerase reverse transcriptase – TERT) [26].

## GŁÓWNE MECHANIZMY PROWADZĄCE DO NIESTABILNOŚCI GENETYCZNEJ ZAKAŻONYCH KOMÓREK

Indukcja niestabilności genetycznej zachodzi we wczesnym okresie rozwoju raka, przed integracją wirusa z chromosomami gospodarza.

**Zaburzenia struktury i funkcji centrosomów.** Ekspresja E6 i E7 indukuje powstanie licznych błędów mitotycznych, takich jak: mitoza wielobiegunowa, mostki anafazowe i aneuploidalność. Charakterystyczną zmianą wywołaną przez białka HPV są mitozy wielobiegunowe związane z nieprawidłową liczbą centrosomów, prowadzącą do błędów w segregacji chromosomów. Białko E7 uruchamia liczne cykle syntezy centrosomów w pojedynczej fazie S. Współdziałanie białek E6 i E7 umożliwia akumulację komórek z nieprawidłowościami centrosomów, blokuje bowiem sygnały apoptozy i uwalnia komórkę od kontroli przejścia G2-M, regulowanej przez p53.

**Uszkodzenie DNA.** Białka E6 i E7 indukują uszkodzenia DNA i aktywację kinaz ATM i ATR (ang. ataxia telangiectasia mutated – ATM; ataxia telangiectasia Rad 3-related – ATR) oraz zwiększają częstość integracji obcego DNA z genomem gospodarza [26].

## GŁÓWNE MECHANIZMY ZABURZANIA PROCESÓW APOPTOTYCZNYCH

Indukcja nieprawidłowej proliferacji lub syntezy DNA przy braku wystarczających sygnałów wzrostowych prowadzi do pobudzenia apoptozy zależnej od p53. Białka E6 i E7 przeciwdziałają indukcji programowanej śmierci komórki, wyznaczając p53 do degradacji, hamując jego acetylację oraz/lub hamując ekspresję genów docelowych dla p53.

**Hamowanie anoikis.** Białka HPV uniemożliwiają również anoikis – programowaną śmierć komórki, wywołowaną przez brak oddziaływań z macierzą zewnątrzkomórkową (ang. extracellular matrix – ECM). Białka HPV zaburzają szlak sygnałów wywołanych przez współdziałanie integryn z ECM i prowadzących do reorganizacji cytoszkieletu oraz utworzenia ognisk adhezji. Zapewnia to komórce oporność na anoikis i umożliwia unieśmiertnionym przez HPV komórkom dzielenie się przy braku adhezji do ECM.

**Tab. 5.** Charakterystyka szczepionek profilaktycznych chroniących przed rozwojem nowotworów o etiologii HPV.

Nazwa (producent)	CERVARIX (GSK Biologicals)	GARDASIL (Sanofi Pasteur MSD)	GARDASIL-9 (Merck Sharp & Dohme)
Typ	inaktywowana, podjednostkowa, rekombinowana 2-walentna	4-walentna	9-walentna
Antygen	białko L1 typów: HPV-16, 18	białko L1 typów: HPV-6, 11, 16, 18	białko L1 typów : HPV -6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58
Dla kogo	>9 roku życia, dziewczęta i kobiety	>9 roku życia, młodzież, kobiety, mężczyźni	osoby w wieku 9–26 lat, dziewczynki i kobiety (9–26 lat), chłopcy (9–15 lat)
Dawkowanie	9 do 14 lat włącznie: 2 dawki: 0, 5–13 miesiąc >14 lat: 3 dawki: 0, 1, 6 miesiąc	9 do 13 lat włącznie: 2 dawki: 0, 6 miesiąc lub 3 dawki: 0, 2, 6 miesiąc >13 lat: 3 dawki: 0, 2, 6 miesiąc	3 dawki: 0, 2, 6 miesiąc

Nabywanie oporności na cytokiny hamujące wzrost. Zakażone komórki uruchamiają syntezę cytokin prozapalnych, jak TNF- $\alpha$ , hamujących proliferację keratynocytów. Ponadto cytokiny prozapalne mogą aktywować apoptozę poprzez receptory, takie jak: TNFR1, FAS i TRAIL (ang. TNF-related apoptosis-inducing ligand). Białko E6 wiąże się z TNFR1 (ang. tumor necrosis factor receptor), co zapobiega formowaniu się kompleksu prowadzącego do transdukcji sygnału uruchamiającego apoptozę. Kolejne mechanizmy antyapoptotycznego oddziaływania E6 polegają na wiązaniu czynników proapoptotycznych BAK (ang. Bcl-2 antagonist killer 1) i BAX (ang. Bcl-2-associated protein X) oraz indukcji syntezy inhibitorów apoptozy, np. IAP2 (ang. inhibitor of apoptosis protein 2). Te aktywności E6 są niezbędne do utrzymania proliferacji w obecności sygnałów proapoptotycznych [26].

## PROFILAKTYKA RAKA SZYJKI MACICY

Wyizolowanie przez Haraldą zur Hauseną dwóch typów HPV najczęściej uczestniczących w rozwoju raka szyjki macicy oznaczało poparcie wcześniej stawianej hipotezy o udziale tych patogenów w procesie nowotworzenia. Był to znaczący postęp w zrozumieniu patogenezы zakażeń HPV i opracowaniu skutecznych szczepionek chroniących przed rozwojem zakażenia. Odkrycia te stały się podstawą przyznania profesorowi Haraldowi zur Hausenowi w 2008 roku Nagrody Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii.

Szczepionki profilaktyczne zawierają wirusowe, rekombinowane białko L1, uzyskane metodami inżynierii genetycznej (technologia rekombinacji DNA), są więc całkowicie bezpieczne. W przypadku szczepionki 2-walentnej gen L1 wprowadzono do bakulowirusa, a wektor transfekuje się do linii komórek owadów, gdzie dochodzi do ekspresji L1; w przypadku szczepionki 4- i 9-walentnej gen L1 ulega ekspresji w komórkach drożdży. Białka L1 HPV mają zdolność formowania pustych kapsydów (cząstek wirusopodobnych), przypominających pod względem morfologicznym i immunologicznym wiriony. Cząstki te są niezakaźne i silnie immunogenne, indukują powstawanie wysokiego miana przeciwciał neutralizacyjnych, swoistych względem typu

HPV. W Polsce są dostępne trzy szczepionki przeciw HPV: 2-walentna (Cervarix), 4-walentna (Gardasil) i 9-walentna (Gardasil 9) (tab. 5).

Według zaleceń Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego szczepienia profilaktyczne powinny być oferowane dziewczętom w wieku 11–12 lat, dziewczętom w wieku 13–18 lat, jeśli wcześniej nie zostały zaszczepione, chłopcom w wieku powyżej 11–12 lat, młodym mężczyznom utrzymującym kontakty homoseksualne, wcześniej niezaszczepionym, nosicielom HIV obydwu płci w wieku 9–26 lat, wcześniej niezaszczepionym.

Pamiętać należy, iż szczepionki są skuteczne, jeśli zostaną podane przed naturalnym zakażeniem HPV, są więc przeznaczone wyłącznie do stosowania profilaktycznego, nie wykazano ich działania leczniczego. Związane jest to z faktem, że stymulują odpowiedź skierowaną przeciw epitopom białka L1, a białko L1 nie jest produkowane w komórkach nowotworowych, więc komórki te pozostaną niewrażliwe na działanie odpowiedzi indukowanej szczepieniem. Nie można również zapominać, iż szczepionki nie chronią przed wszystkimi typami HPV, uczestniczącymi w rozwoju raka szyjki macicy, kobiety zaszczepione powinny więc wykonywać przesiewowe badania cytologiczne. Zalecane jest również stosowanie innych metod zapobiegania zakażeniom HPV, takich jak: opóźnienie inicjacji seksualnej, wierność jednemu partnerowi, stosowanie prezerwatyw.

Program profilaktyczny obejmuje wykonanie masowych badań cytologicznych u kobiet między 25 a 59 rokiem życia (grupa najbardziej zagrożona rakiem szyjki macicy), jeśli w ciągu ostatnich trzech lat nie miały wykonanego wymazu cytologicznego w ramach ubezpieczenia w NFZ.

KONFLIKT INTERESÓW: nie zgłoszono.

## PIŚMIENNICTWO

- Bernard HU, Burk RD, Chen Z i wsp. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 2010;401(1):70–79. doi:10.1016/j.virol.2010.02.002.



2. Doorbar J, Quint W, Kanks L i wsp. The biology and live-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine* 2012;30(Suppl 5):F55–F70. doi:10.1016/j.vaccine.2012.06.083
3. Lagatie O, Tritsmans L, Stuyver LJ. The miRNA world of polyomaviruses. *Virology* 2013;10:268. doi:10.1186/1743-422X-10-268.
4. Bodaghi S, Wood LV, Roby G i wsp. Could human papillomaviruses be spread through blood? *J Clin Microbiol* 2005;43(11):5428–5434. doi:10.1128/JCM.43.11.
5. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR i wsp. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004;324(1):17–27. doi:10.1016/j.virol.2004.03.033.
6. Muhr LSA, Eklund C, Dillner J. Towards quality and order in human papillomavirus research. *Virology* 2018;519:74–76. doi:10.1016/j.virol.2018.04.003.
7. www.hpvcenter.se
8. Jing Y, Wang T, Chen Z i wsp. Phylogeny and polymorphism in the long control regions E6, E7, and L1 of HPV Type 56 in women from southwest China. *Mol Med Rep* 2018;17(5):7131–7141. doi:10.3892/mmr.2018.8743.
9. McLaughlin-Drubin ME, Munger K. Viruses associated with human cancer. *Biochim Biophys Acta* 2008;1782(3):127–150. doi:10.1016/j.bbdis.2007.12.005.
10. Dadar M, Chakraborty S, Dhama K i wsp. Advances in designing and developing vaccines, drugs and therapeutic approaches to counter Human Papilloma Virus. *Front Immunol* 2018;12(9):2478. doi:10.3389/fimmu.2018.02478.
11. Chan CK, Aimagambetova G, Ukybassova T i wsp. Human papillomavirus infection and cervical cancer: epidemiology, screening, and vaccination-review of current perspectives. *J Oncol* 2019;10:3257939. doi:10.1155/2019/3257939.
12. Asiaf A, Ahmad ST, Mohammad SO i wsp. Review of the current knowledge on the epidemiology, pathogenesis, and prevention of human papillomavirus infection. *Eur J Cancer Prev* 2014;23(3):206–224. doi:10.1097/CEJ.0b013e328364f273.
13. Fernandes J, de Araújo J, Fernandes T. Biology and natural history of human papillomavirus infection. *Open Access Journal of Clinical Trials* 2013;5:1–12. doi:10.2147/OAJCT.S37741
14. Buck CB, Cheng N, Thompson CD i wsp. Arrangement of L2 within the papillomavirus capsid. *J Virol* 2008; 82(11):5190–5197. doi:10.1128/JVI.02726-07
15. Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci* 2006;11:2286–2302. doi:10.2741/1971.
16. Brianti P, De Flammineis E, Mercuri SR. Review of HPV-related diseases and cancers. *New Microbiol* 2017;40(2):80–85.
17. Schiffman M, Castle PE. Human papillomavirus: epidemiology and public health. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127 (8):930–934.
18. Nowakowski A, Kotarski J. Kliniczne postaci zakażeń HPV. *Ginekolog Pol* 2007;78(9):709–714.
19. Stern PL, van der Burg SH, Hampson IN. Therapy for genital human papillomavirus-related disease. *Vaccine* 2012;20(Suppl 5):F71–F82. doi:10.1016/j.vaccine.2012.05.091.
20. Woo YL, van den Hende M, Sterling JC i wsp. A prospective study on the natural course of low-grade squamous intraepithelial lesions and the presence of HPV16 E2-, E6- and E7-specific T-cell responses. *Int J Cancer* 2010;126(1):133–141. doi:10.1002/ijc.24804.
21. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005;32(Suppl 1):S7–S15. doi:10.1016/j.jcv.2004.12.006
22. Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci (Lond)* 2017;131(17):2201–2221. doi:10.1042/CS20160786.
23. DiGiuseppe S, Luszczek W, Keiffer TR, Bienkowska-Haba M, Guion LG, Sapp MJ. Incoming human papillomavirus type 16 genome resides in a vesicular compartment throughout mitosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113(22):6289–6294. doi:10.1073/pnas.1600638113.
24. Bodily J, Laimins LA. Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. *Trends Microbiol* 2011;19(1):33–39. doi:10.1016/j.tim.2010.10.002.
25. Hamid NA, Brown C, Gaston K. The regulation of cell proliferation by the papillomavirus early proteins. *Cell Mol Life Sci* 2009;66(10):1700–1717. doi:10.1007/s00018-009-8631-7.
26. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 2010;10(8):550–560. doi:10.1038/nrc2886.
27. Egawa N, Wang Q, Griffin HM i wsp. HPV16 and 18 genome amplification show different E4-dependence, with 16E4 enhancing E1 nuclear accumulation and replicative efficiency via its cell cycle arrest and kinase activation functions. *PLoS Pathog* 2017;13(3):e1006282. doi:10.1371/journal.ppat.1006282.
28. Zhou C, Tuong ZK, Frazer IH. Papillomavirus immune evasion strategies target the infected cell and the local immune system. *Front Oncol* 2019;9:682. DOI:10.3389/fonc.2019.00682.
29. Pett M, Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol* 2007;212(4):356–367. DOI:10.1002/path.2192