

Molekularne mechanizmy nowotworzenia Papillomaviridae u zwierząt i ludzi

ANNA SZCZERBA-TUREK, WOJCIECH SZWEDA, JAN SIEMIONEK,
ALEKSANDRA PLATT-SAMORAJ, AGATA BANCERZ-KISIEL, PIOTR TEODOROWSKI*

Zespół Epizootologii Katedry Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn

*Klinika Weterynaryjna, ul. Żwirki i Wigury 5, 43-190 Mikołów

Szczerba-Turek A., Szweda W., Siemionek J., Platt-Samoraj A., Bancierz-Kisiel A., Teodorowski P.
Molecular mechanisms of carcinogenesis caused by Papillomaviridae in animals and humans

Summary

Papillomaviruses (PV) are small, nonenveloped, DNA viruses, which had originally been grouped together with the Polyomaviruses in one family, Papovaviridae. In the year 2004 the International Committee on the Taxonomy of Viruses officially recognized two separate families: Papillomaviridae and Polyomaviridae. PV are pathogens of skin and mucosa in animals and humans, and they are very species-specific. The only known case of cross-species infection is the infection of horses by bovine papillomaviruses (BPV) type 1 and 2. Infection by high-risk types of human papillomaviruses (HPV) such as HPV type 16 and 18 is directly related to the subsequent development of cervical carcinoma in women. In the year 1995 The International Agency for Research on Cancer officially declared, that HPV-16 and HPV-18 are carcinogenic for humans. Animal PV cause various diseases in both farm and companion animals, e.g. skin and teat papillomatosis in cattle, canine oral papillomatosis, oesophageal papillomas and carcinoma in cattle and equine sarcoids. The mechanisms of carcinogenesis caused by PV were initially established using animal models and specifically chosen PV, particularly cottontail rabbit papillomavirus (CRPV), BPV and canine oral papillomavirus (COPV). In the paper the organization and structure of the PV genome, the characteristics of early and late regions, enzymatic and regulatory proteins, encoded by specific open reading frames and engaged in virus replication process, as well as structural proteins that take part in virus-cell interaction have been discussed. The replication process of PV and mechanisms of carcinogenic transformation of cells infected with PV were also described. The possibility of the implementation of specific immunoprophylaxis and the necessity of improvement of diagnostic methods, as well as conducting molecular comparative studies of human and animal PV, important for the protection of animal health and public health, have been indicated.

Keywords: papillomaviruses, carcinogenesis

Papillomawirusy (PV), nazywane również wirusami brodawczaka, są powszechnie uważane za przyczynę wielu chorób skóry i błon śluzowych u zwierząt i ludzi. Powodują przede wszystkim tworzenie zmian brodawczakowatych, np. brodawczycy skóry i strzyków u bydła oraz jamy ustnej u psów, ale biorą także udział w powstawaniu raka szyjki macicy u kobiet, brodawczaków i raka przełyku u bydła oraz sarkoidów u koni (3, 5, 6, 15, 19).

PV wykazują dermato- i epiteliotropizm i cechują się dużą specyficnością gatunkową. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC), będąca agendą Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), uznała w 1995 r. dwa ludzkie wirusy brodawczaka: human papillomavirus typ 16 (HPV-16) i typ 18 (HPV-18) za wirusy onkogenne, zaś HPV-31 i HPV-33 za wirusy prawdopodobnie onkogenne dla ludzi (1), co poprze-

dziły szerokie badania wykorzystujące modele zwierzęce i odpowiednio dobrane PV (4). W celu poznania działania patogennego PV w nowotworach przełyku posłużono się modelami zwierzęcymi z udziałem wirusa brodawczaka bydła typ 4 (bovine papillomavirus – BPV-4) i wirusa brodawczaka jamy ustnej psów (canine oral papillomavirus – COPV) (5). BPV-1 i BPV-2 są używane w testach *in vivo* do badań mechanizmów powstawania nowotworów pęcherza moczowego (5). Wirus brodawczaka królików (cottontail rabbit papillomavirus – CRPV) i BPV-1 są natomiast uznawane za prototyp molekularnej charakterystyki mechanizmu działania PV powodujących nowotwory (5). Zwierzęce wirusy brodawczaka wykorzystuje się również jako systemy modelowe w badaniach nad nowotworzeniem i opracowywaniem szczepionek przeciwko zakażeniom PV (4). Obecnie badaniami nad

rolą zakażeń PV i ich udziałem w procesach nowotworzenia zajmuje się wiele ośrodków naukowych na całym świecie.

Do niedawna wirusy *Papilloma* wraz z wirusami *Polyoma* należały do rodziny *Papovaviridae*. Decyzją Międzynarodowego Komitetu Taksonomii Wirusów (ICTV) w 2004 r. zmieniono klasyfikację taksonomiczną i utworzono nowe rodziny. Wirusy *Papilloma* zaklasyfikowano do rodziny *Papillomaviridae*, natomiast wirusy *Polyoma* do rodziny *Polyomaviridae* (26). Aktualnie wyróżnia się 17 rodzajów PV: Alpha-, Beta-, Delta-, Epsilon-, Eta-, Gamma-, Iota-, Kappa-, Lambda-, Mu-, Nu-, Omikron-, Theta-, Pi-, Xi- i Zeta-papillomavirus. Ostatni rodzaj obejmuje jeszcze niesklasyfikowane PV. Za nowy typ wirusa uznaje się taki, którego kompletna otwarta ramka odczytu (ORF – open reading frame) L1 wykazuje poniżej 90% homologii ze znanymi typami PV, co oznacza, że sekwencja w ORF L1 różni się w więcej niż 10% od sekwencji znanych PV. Różnica pomiędzy 2% a 10% w homologii definiuje podtyp, a różnica mniejsza niż 2% odmianę (26). Typy PV występujące u ludzi, należące do grupy tzw. wysokiego ryzyka onkogenego, czyli HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-35 i HPV-56 zalicza się do rodzaju *Alphapapillomavirus*. Odpowiadają one za powstawanie raka szyjki macicy u kobiet. Natomiast typy HPV-6 i HPV-11 z grupy tzw. niskiego ryzyka onkogenego należą do rodzaju *Betapapillomavirus* i powodują powstawanie łagodnych zmian w obrębie narządów płciowych, tzw. kłykcin kończystych, które rzadko ulegają transformacji nowotworowej (15).

Za powstawanie sarkoidów, najczęstszych spośród nowotworów skóry u koni, odpowiedzialne są najprawdopodobniej wirusy należące do rodzaju *Deltapapillomavirus* – BPV-1 i BPV-2 (6, 29). Obecność tych typów PV stwierdzono również w nowotworach pęcherza moczowego u bydła (5). Dotychczas wykazano, że jedynie typy BPV-1 i BPV-2 mogą zakażać różne gatunki zwierząt, w tym bydło, konie, mały i muły (5). Brodawczaki i nowotwory przelyku u bydła wywołuje BPV-4, należący do rodzaju *Xipapillomavirus* (3). Podejrzewa się również, że PV uczestniczą w powstawaniu nowotworów płaskonabłonkowych u psów, kotów i koni (20, 29).

PV to małe, bezotoczkowe wirusy, o średnicy wirionu 52-55 nm, w zależności od typu wirusa, zawierające dwułańcuchowy DNA. Genom wszystkich PV ma postać kolistą, wielkość 7-8 kbp i cechuje się podobną organizacją i strukturą. Kapsyd o symetrii kubicznej jest zbudowany z 72 kapsomerów, z których każdy ma budowę pentameryczną. W genomie można wyróżnić dwa regiony kodujące: wczesny (E) i późny (L). Regiony te podzielone są odcinkami niekodującymi, pełniącymi funkcje regulatorowe, określane skrótem URR (upstream regulatory region), tzn. zawierającymi miejsca inicjacji transkrypcji i replikacji wirusowego DNA (15). Zamiennie dla URR używa

się terminów LCR (long control region) lub UR (uncoding region). Odcinki DNA, które kodują białka, stanowią niezależne jednostki transkrypcyjne – otwarte ramki odczytu (ORFs). Wszystkie ORFs zlokalizowane są na jednej nici DNA i zajmują podobne pozycje względem siebie u różnych PV.

Region wczesny E (early) koduje białka enzymatyczne i regulatorowe, które biorą udział w replikacji wirusa. U HPV-16 składa się z sześciu ORFs: E1, E2, E4, E5, E6 i E7. ORF E1 koduje dwa białka: jedno kodowane przez gen R jest niezbędne do replikacji wirusowego DNA, natomiast drugie pełni funkcję represora replikacji i jest konieczne do utrzymania wirusowego DNA w formie episomalnej (25). Produkt ORF E2 w połączeniu z produktem ORF E1 jest niezbędny do replikacji DNA PV. Białko E2 bierze udział w regulacji wirusowej transkrypcji i replikacji (12). Integracja wirusowego DNA z genomem gospodarza wiąże się z przerwaniem tego regionu, zaś jego uszkodzenie prowadzi do niekontrolowanej transkrypcji genomu wirusa (2) i pojawienia się w komórce białek onkogennych E6 i E7 (12). ORF E4 koduje białko, które pojawia się w późnym etapie cyklu rozwojowego wirusa i bierze udział w tworzeniu wirionów (15).

ORF E5 koduje białko transformujące. Białko E5 odgrywa istotną rolę w unikaniu rozpoznania zainfekowanej wirusem HPV-16 komórki przez układ immunologiczny. Badania Cromme i wsp. (7) wykazały, że ekspresja białka E5 w komórkach gospodarza powodowała potranskrypcyjną utratę ekspresji MHC-I (Major Histocompatibility Complex) i TAP-I (Transporter in Antigen Processing). W rezultacie w komórce gospodarza upośledzona zostaje prezentacja antygenów wirusowych.

Regiony E6 i E7 u wszystkich typów PV zawierają geny kodujące białka transformujące. E6 jest białkiem, które pośrednio odpowiada za niestabilność chromosomalną, zwiększa ryzyko mutacji oraz progresji nowotworowej w przypadku infekcji typami HPV wysokiego ryzyka onkogenego. Główną cechą białka onkogenego E6 jest zdolność do wiązania z produktem genu, należącego do rodziny genów supresorowych transformacji nowotworowej, białkiem p53 (27). Geny supresorowe transformacji nowotworowej działają w prawidłowo funkcjonujących komórkach jako negatywne regulatory proliferacji, podczas gdy nieaktywne są obserwowane w przypadkach wielu chorób nowotworowych. Białko p53 odgrywa bardzo istotną rolę w regulacji cyklu komórkowego, np. w przypadku uszkodzenia DNA powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1, umożliwiając w ten sposób efektywną naprawę DNA przed rozpoczęciem kolejnego etapu syntezy (23). Białko p53 może również indukować transkrypcję genów enzymów proteolitycznych zaangażowanych w proces apoptozy (programowanej śmierci komórki). Białko E6 w komórce zainfekowanej HPV-16 tworzy stabilny kompleks z produktem genu p53 i hamuje asocjację p53 z DNA, po-

wodując zniesienie regulacji genów p53-zależnych (17). Degradacja p53 za pośrednictwem E6 wymaga obecności białka dodatkowego E6-AP (E6-accessory protein), pełniącego funkcję ligazy ubikwitynowej (21). Połączenie kompleksu E6 + E6-AP z obszarem degradacji p53 (degradation domain) powoduje ubikwityno-zależną proteolizę cząsteczki p53. W następstwie E6-zależnej degradacji p53 wszystkie funkcje tego białka ulegają zniesieniu i komórki gospodarza zostają pozbawione systemu kontrolnego replikacji. Powoduje to rozregulowanie cyklu komórkowego i akumulację zmian mutacyjnych. Białko E6 występujące u wirusów HPV niskiego ryzyka onkogennego wykazuje słabą zdolność wiązania p53, stąd ich słabe zdolności do stymulacji nowotworowej (27). Wykazano jednocześnie, że białko E6 u BPV-1 nie wchodzi w interakcje z białkiem p53, a także wykazuje właściwości transformujące. Zagadnienie to wymaga dalszych badań. Wykazano, że ORF E6 i ORF E7 nie występują u wszystkich typów PV, np. PV izolowane od ptaków nie posiadają ich w klasycznej formie, natomiast występują u nich ORF E8 i ORF E9 (24). BPV-3, BPV-4 i BPV-6 to kolejna grupa PV, u których nie wykazano ORF E6, natomiast stwierdzono obecność ORF E8 (13).

Białko E7 występujące u HPV-16, CRPV i BPV-1 ma właściwości transformujące (11). Produkt ORF E7 tych wirusów wiąże się z produktem genu Rb-pRb (Rb-retinoblastoma) (9) i pokrewnymi mu białkami p107 i p130, które są ważnymi inhibitorami proliferacji komórek (16). Białka z rodziny pRb tworzą kompleksy z czynnikami transkrypcyjnymi E2F i hamują ich aktywność. Wirusowe białko E7 poprzez oddziaływanie z białkiem pRb w kompleksie pRb/E2F doprowadza do rozbitcia tego kompleksu i zwiększenia w komórce stężenia wolnego białka E2F. Oddziaływanie czynnika E2F z promotorami genów zależnych od E2F prowadzi do pojawienia się w komórce wielu białek zaangażowanych w syntezę komórkowego DNA, wejście komórki w fazę S cyklu komórkowego i niekontrolowaną proliferację (14, 22). Białko E7 kodowane przez HPV niskiego ryzyka onkogennego wykazuje słabsze powinowactwo do pRb, a w przypadku HPV-10 i HPV-20 nawet jego brak. Interakcja E7/pRb jest głównym mechanizmem uniesmiertelniania komórek zakażonych HPV wysokiego ryzyka onkogennego. Stwierdzono, iż ekspresji białek E6 i E7, pochodzących z HPV wysokiego ryzyka onkogennego, towarzyszy wyższa częstość powstawania nieprawidłowości w strukturze chromosomów (28).

Region późny L (late), który koduje białka strukturalne, składa się z dwóch ORFs – L1 i L2, kodujących białka kapsydu PV. Ekspresja tych ORFs zachodzi tylko w całkowicie zróżnicowanych keratynocytach. ORF L1 koduje białko powierzchniowe wirionu, którego struktura jest zachowana u wszystkich typów PV wirusa. Produkt genu L2 odgrywa istotną rolę w interakcji wirus–komórka docelowa (15). W obrębie całej

rodziny *Papillomaviridae* ORFs E1, E2, L1 i L2 uznawane są za konserwatywne (26).

Replikacja PV odbywa się w jądrze komórki gospodarza, wyłącznie w wielowarstwowym nabłonku płaskim. Nie we wszystkich typach komórek może dojść do zakażenia i replikacji wirusa. Cykl życiowy PV jest ściśle powiązany z programem różnicowania, jakiemu podlegają zakażone komórki. Komórkami docelowymi dla HPV są keratynocyty lub komórki posiadające potencjał do różnicowania się w kierunku keratynocytów (tzw. wewnątrzkanałowe komórki rezerwowe). Naskórek u człowieka ma pochodzenie ektodermalne i składa się z keratynocytów ułożonych w kilka warstw. Najgłębiej położona jest warstwa podstawna leżąca na błonie podstawnej. Kolejno w kierunku powierzchni skóry leżą warstwy: kolczysta, ziarnista, średnia i rogowa. Zdolność do podziałów posiadają warstwy podstawna i kolczysta. Keratynocyty ulegają złuszczeniu z powierzchni skóry. Czas przejścia komórek z warstwy podstawnej do rogowej, czyli czas całkowitej odnowy nabłonka, wynosi 14 dni. W procesie wnikania wirusowego DNA do komórek docelowych biorą udział receptory występujące na powierzchni keratynocytów, np. u człowieka jest to m.in. integryna $\alpha 6\beta 4$ (10). PV wnika w postaci nici DNA do komórek warstwy podstawnej i przechodzi w fazę latentną, pozostając w formie episomu – kolistego pozachromosomalnego DNA. W niektórych typach nowotworów, oprócz formy episomalnej wirusa, można znaleźć formy DNA wirusa wbudowanego w chromosom gospodarza (18). Proces integracji zachodzi głównie poprzez przerwanie ORF E1 i ORF E2 (12). Podczas podziału komórek warstwy podstawnej nabłonka odbywa się jednorazowa replikacja DNA wirusa w ciągu jednego cyklu komórkowego. Oprócz białek wirusa biorą w niej udział również białka gospodarza, m.in. polimeraza α . Białka kapsydu wirusowego (białka późne) produkowane są jedynie w komórkach zróżnicowanych terminalnie, w powierzchniowej warstwie nabłonka. Dlatego też pełny cykl rozwojowy wirusa i wytwarzanie cząstek potomnych zachodzi wyłącznie w dojrzałych keratynocytach. Efektem zakażenia przez HPV niedojrzałych komórek warstwy podstawnej nabłonka płaskiego jest często transformacja nowotworowa komórki. W komórkach takich dochodzi do integracji wirusowego DNA z DNA komórki gospodarza. Przerwanie ORF kodującej białko E2, w wyniku integracji DNA wirusowego z genomem gospodarza, jest ważnym etapem prowadzącym do nadmiernej ekspresji genów kodujących białka onkogenne E6 i E7. Białka te tworzą kompleksy z komórkowymi anty-onkogenami p53 i pRb, wpływając na regulację transkrypcji genów biorących udział w cyklu komórkowym. Powstają zaburzenia w regulacji fazy spoczynkowej, ponowne wejście w cykl komórkowy oraz dalsza proliferacja (12, 14, 22).

Trudności w prowadzeniu konwencjonalnej hodowli komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego ogra-

niczają zastosowanie w badaniach tradycyjnych metod wirusologicznych. Zachęciło to wirusologów do wykorzystania technik genetyki molekularnej w celu opracowania nowoczesnych metod wykrywania i klasyfikowania tych wirusów (19). Ogromną różnorodność rodziny *Papillomaviridae* potwierdza zsekwencjonowanie dotychczas ponad 100 różnych typów ludzkich PV, których wybrane genomy można znaleźć na stronach NCBI (National Center for Biotechnology Information).

O powadze problemu zakażeń PV świadczy fakt, iż rak szyjki macicy jest drugim, po raku piersi, co do częstości rakiem, który dotyka kobiety. W Polsce rocznie zapada na ten typ raka ok. 4000 kobiet, natomiast w świecie rozpoznaje się pół miliona nowych przypadków, z których prawie połowa kończy się zgonem (8, 15, 30). Dlatego ważne znaczenie miało zarejestrowanie w dniu 9.06.2006 r. przez amerykański Urząd do Spraw Żywności i Leków (FDA) pierwszej w świecie czterowalentnej szczepionki, zapobiegającej rakowi szyjki macicy, stanom przedrakowym szyjki macicy, pochwy i sromu oraz powstawaniu brodawek płciowych i neoplazji szyjki macicy niskiego stopnia (CIN1) wywoływanym przez HPV typy 6, 11, 16 i 18 (30).

Powszechne występowanie zakażeń wywołanych przez PV u zwierząt i ludzi może przyczyniać się do przełamania bariery gatunkowej. Dlatego badania nad opracowaniem szybkiej metody wykrywania zakażeń PV oraz badania porównawcze sekwencji nukleotydowych zwierzęcych i ludzkich PV są szczególnie ważne w aspekcie ochrony zdrowia zwierząt i zdrowia publicznego.

Piśmiennictwo

1. Anon.: IARC/WHO Papillomaviruses. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. World Health Organization International Agency for Research on Cancer 1995, 64, 261-274.
2. Bernard B. A., Bailly C., Lenoir M. C., Darmon M., Thierry F., Yaniv M.: The human papillomavirus type 18 E2 gene product is a repressor of the HPV 18 regulatory region in human keratinocytes. *J. Virol.* 1989, 63, 4317-4324.
3. Borzacchiello G., Ambrosio V., Roperto S., Poggiali F., Tsirimonakis E., Venuti A., Campo M. S., Roperto F.: Bovine papillomavirus type 4 in oesophageal papillomas of cattle from the South of Italy. *J. comp. Path.* 2003, 128, 203-206.
4. Brandsma J. L.: Animal models of human papillomavirus-associated oncogenesis. *Intervirology* 1994, 37, 189-200.
5. Campo M. S.: Animal models of papillomavirus pathogenesis. *Virus Res.* 2002, 89, 249-261.
6. Chambers G., Ellsmore V. A., O'Brien P. M., Reid S. W. J., Love S., Campo M. S., Nasir L.: Association of bovine papillomavirus with equine sarcoid. *J. Gen. Virol.* 2003, 84, 1055-1062.
7. Cromme F. V., Walboomers J. M. M., Van Oostveen J. W., Stukart M. J., De Gruijl T. D., Kummer J. A., Leonhart A. M., Helmerhorst T. J. M., Meijer C. J. L. M.: Lack of granzyme expression in T lymphocytes indicates poor cytotoxic T lymphocyte activation in human papillomavirus-associated cervical carcinomas. *Int. J. Gynecol. Cancer* 1995, 5, 366-373.
8. Damasus-Awantai G., Freeman-Wang T.: Human papilloma virus and cervical screening. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2003, 15, 473-477.
9. Dyson N., Howley P. M., Munger K., Harlow E.: The human papillomavirus 16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989, 243, 934-937.
10. Evender M., Frazer I. H., Payne E.: Identification of the alpha 6 integrin as a candidate receptor for papillomavirus. *J. Virol.* 1997, 71, 2449-2456.
11. Fehrmann F., Laimins L. A.: Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. *Oncogene* 2003, 22, 5201-5207.
12. Ham J. N., Dostatni J. M. G., Yaniv M.: The papillomavirus E2 protein: a factor with many talents. *Trends Biochem. Sci.* 1991, 16, 440-444.
13. Jackson M. E., Pennie W. D., Mc Caffery R. E., Smith K. T., Grindlay G. J., Campo M. S.: The B subgroup of bovine Papillomaviruses lack an identifiable E6 open reading frame. *Mol. Carcinogenesis* 1991, 4, 382-387.
14. Johnson D. G., Schwarz J. K., Cress W. D., Nevins J. R.: Expression of transcription factor E2F induces quiescent cells to enter S phase. *Nature* 1993, 365, 349-352.
15. Kwaśniewska A.: Infekcje wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV-Human Papillomavirus), surowiczy poziom antyoksydantów oraz rola żywienia w dysplazji szyjki macicy. Praca hab., Akademia Medyczna, Lublin 1998.
16. Lam E. W. F., Morris J. D. H., Davies R., Crook T., Watson R. J., Vousden K. H.: HPV 16 E7 oncoprotein deregulates b-myc expression: correlation with targeting of p107/E2F complexes. *EMBO J.* 1994, 13, 87-88.
17. Lechner M. S., Mack D. H., Finicle A. B., Crook T., Vousden K. H., Laimins L. A.: Human papillomavirus E6 proteins bind p53 in vivo and abrogate p53-mediated repression of transcription. *EMBO J.* 1992, 11, 3045-3052.
18. Matsukura T., Koi S., Sugase M.: Both episomal and integrated forms of human papillomavirus type 16 are involved in invasive cervical cancers. *Virology* 1989, 172, 63-72.
19. Ogawa T., Tomita Y., Okada M., Shinozaki K., Kubonoya H., Kaiho I., Shirasawa H.: Broad-spectrum detection of papillomaviruses in bovine teat papillomas and healthy teat skin. *J. Gen. Virol.* 2004, 85, 2191-2197.
20. Sapieryżński R., Sapieryżńska E.: Nowotwory nabłonkowe skóry u psów i kotów. Część I. Nowotwory wywodzące się z nabłonków pokrywających. *Życie Wet.* 2005, 80, 94-99.
21. Scheffner M., Huibregste J. M., Vierstra R. D., Howley P. M.: The HPV 16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993, 75, 495-505.
22. Slebos R. J. C., Lee M. H., Plunkett B. S., Kessis T. D., Williams B. O., Jacks T.: p53-dependent G(1) arrest involves pRB-related proteins and is disrupted by the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA* 1994, 91, 5320-5324.
23. Standbridge E. J.: Identifying tumor suppressor genes in human colorectal cancer. *Science* 1990, 247, 12-13.
24. Tachezy R., Rector A., Havelkova M., Wollants E., Fiten P., Opendakker G., Jenson A. B., Soudberg J. P., Van Rast M.: Avian papillomavirus: the parrot *Psittacus erithacus* papillomavirus (PePv) genome has a unique organization of the early protein region and is phylogenetically related to the chaffinch papillomavirus. *BMC Microbiology* 2002, 2, 19.
25. Ustav M., Ustav E., Szymański P., Stenlund A.: Identification of the origin of replication of bovine papillomavirus and characterization of the viral origin recognition factor E1. *EMBO J.* 1991, 10, 4321-4329.
26. Villiers E.-M. de, Fauquet C., Broker T. R., Bernard H. U., zur Hausen H.: Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004, 324, 17-27.
27. Werness B. A., Levine A. J., Howley P. M.: Associations of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990, 248, 76-79.
28. White A. E., Livanos E. M., Tlsty T. D.: Differential disruption of genomic integrity and cell cycle regulation in normal human fibroblasts by the HPV oncoproteins. *Genes Dev.* 1994, 8, 666-677.
29. Wiśniewski E., Janiszewski J.: Nowotwory skóry u koni. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 212-215.
30. Wright T. C., Bosch F. X., Franco E. L., Cuzick J., Schiller J. T., Garnett G. P., Meheus A.: Chapter 30: HPV vaccines and screening in the prevention of cervical cancer; conclusions from a 2006 workshop of international experts. *Vaccine* 2006, 24S3, 251-261.

Adres autora: mgr Anna Szczerba-Turek, ul. Oczipowskiego 13, 10-719 Olsztyn; e-mail: a.szczerba@uwm.edu.pl