

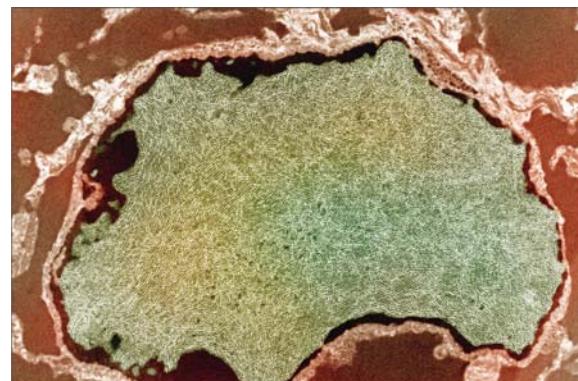


Trieste, 18/10/2011



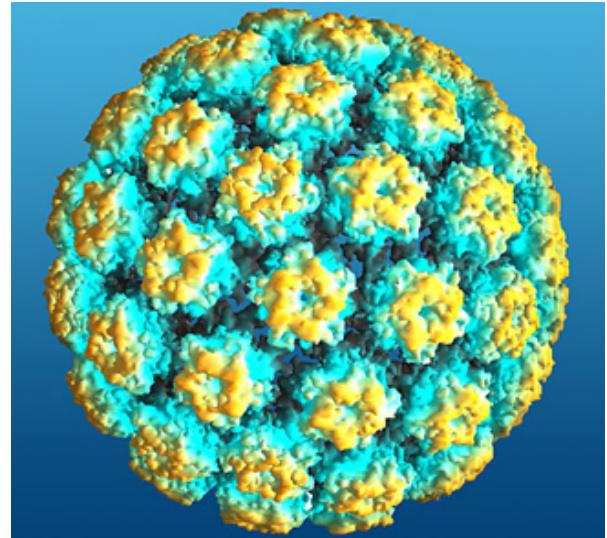
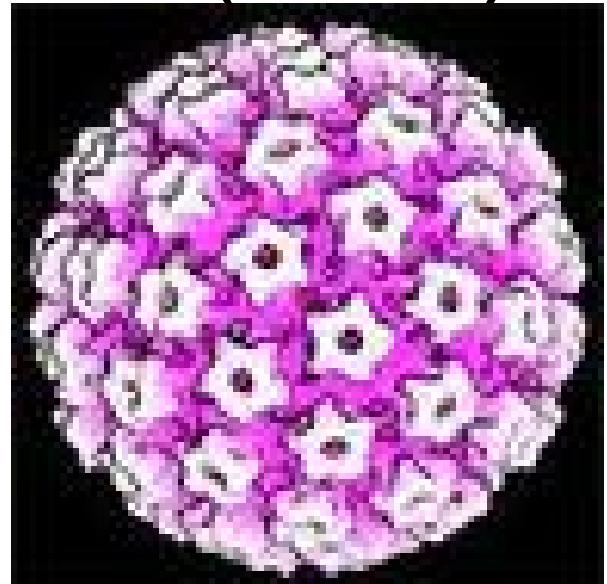
Il virus e l'epidemiologia delle infezioni da HPV

Prof. Pierlanfranco D'AGARO



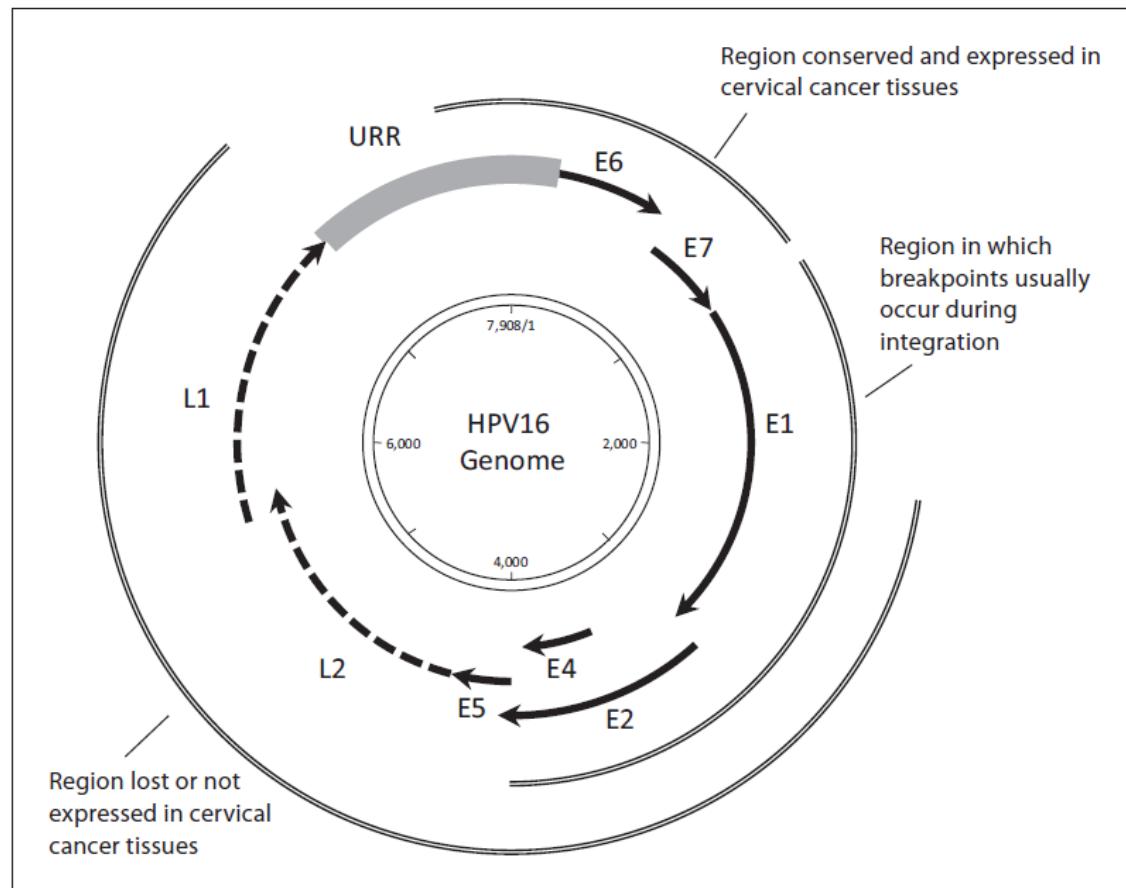
Human Papillomavirus (HPV)

- Famiglia delle *Papillomaviridae*
- Piccoli virus di 52-55 nm con capside costituito da 72 pentameri e privo di mantello
- L1 è la proteina capsidica principale è rappresenta l'80% del contenuto proteico del virus
- L2 è una proteina capsidica minore



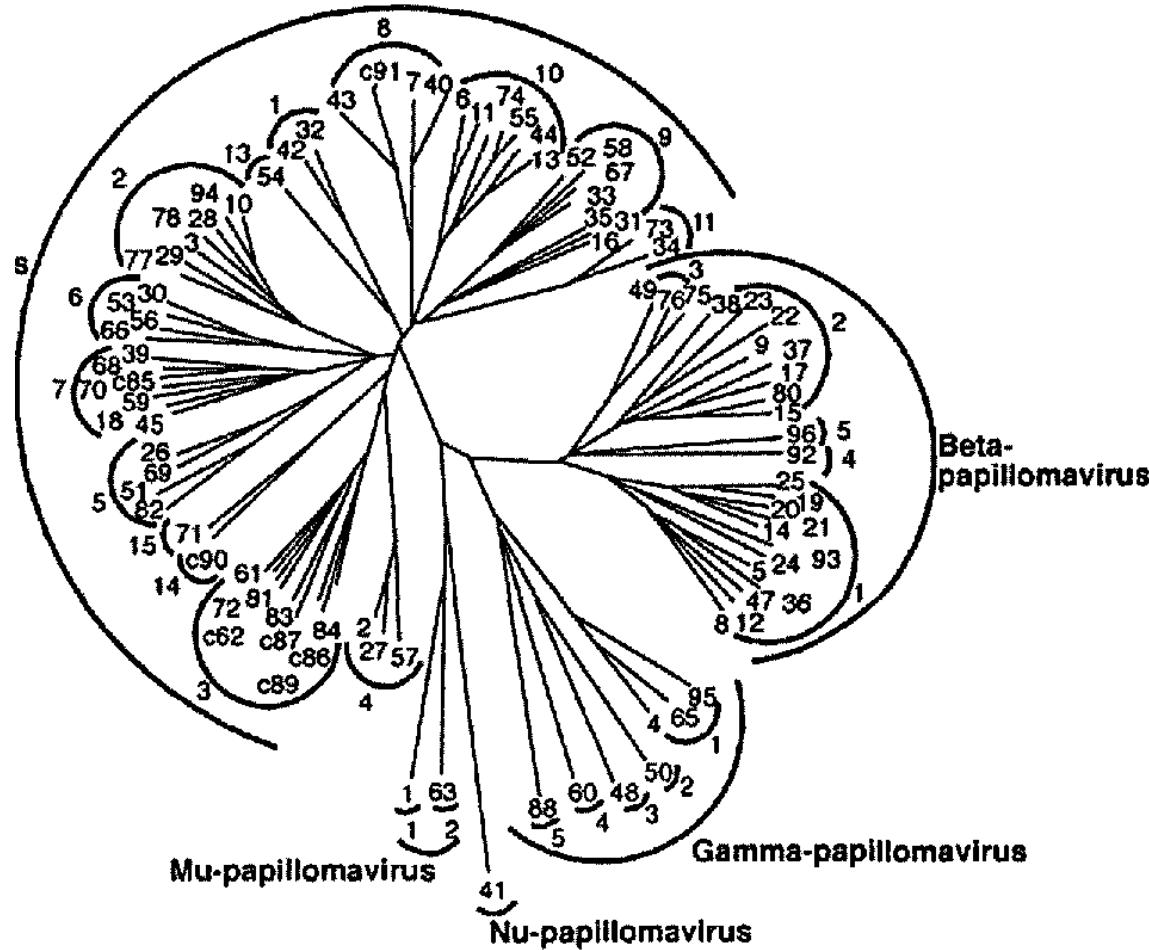
Il genoma

- Genoma a DNA circolare a doppia catena di circa 8.000 pb
- Trascrizione unidirezionale, tutti i geni sono contenuti su una catena
- Una regione non codificante di circa 1000 pb (LCR, URR) contiene l'origine di replicazione del DNA ed elementi di controllo trascrizionale.
- Le regioni codificanti vengono classificate in precoci (E) e tardive (L)
- La regione precoce viene espressa nelle cellule infettate non produttivamente e codifica per proteine funzionali / regolatorie (E1-E7)
- La regione L1 e L2 codifica per le proteine strutturali capsidiche e viene espressa solo nelle cellule infettate produttivamente
- Replicazione ed assemblaggio dei virioni nel nucleo



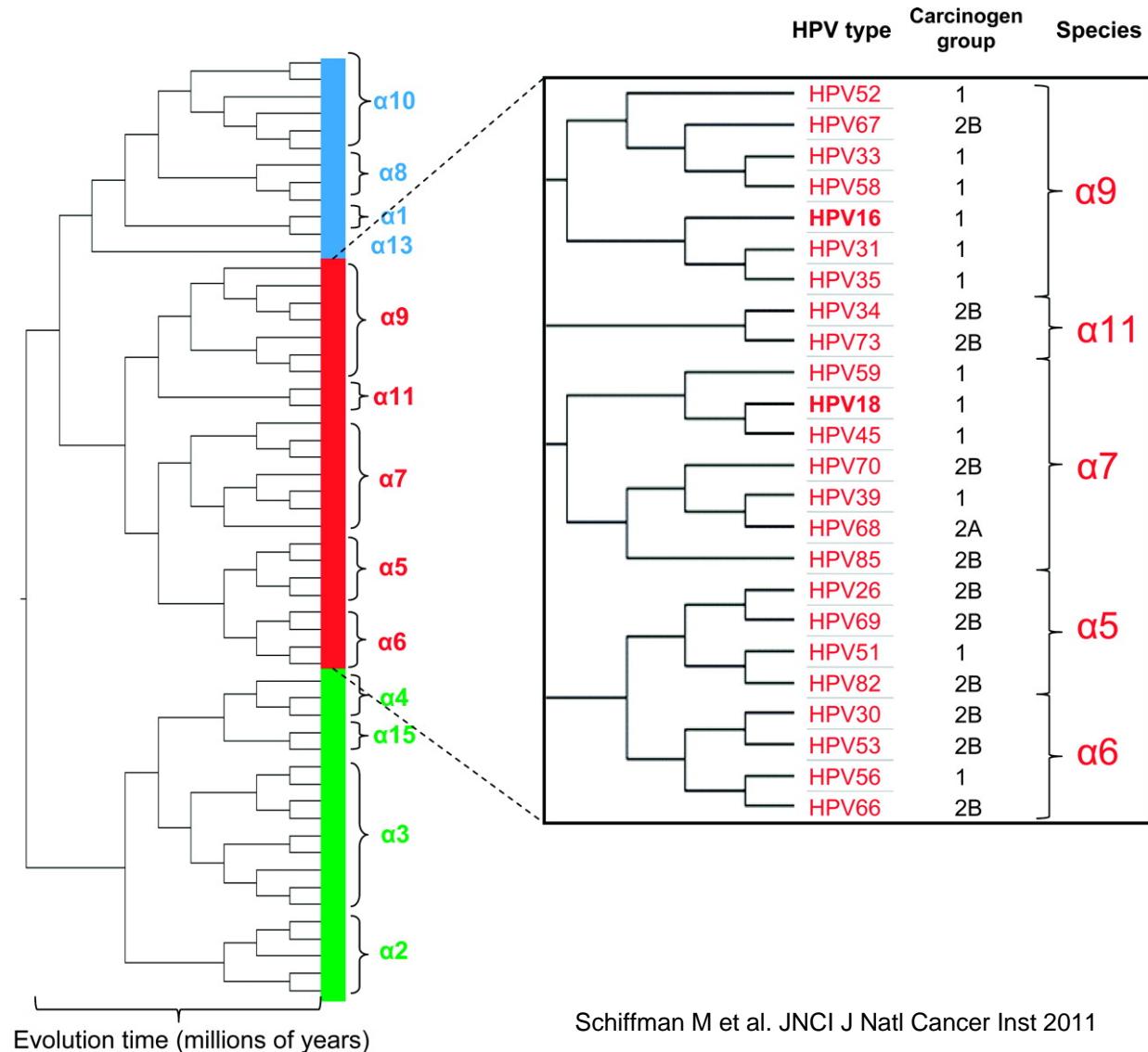
Classificazione

- I Papillomavirus sono divisi in 12 generi indicati con le lettere dell'alfabeto greco
- Gli HPV sono compresi in cinque generi (alfa, beta, gamma, mu e nu)
- Nell'ambito di un genere i membri condividono più del 60% di identità
- Una specie condivide il 60-70% di identità
- Un tipo condivide il 71-89% di identità (L1)
- Esistono più di 100 tipi di HPV e circa 60 infettano il tratto genitale



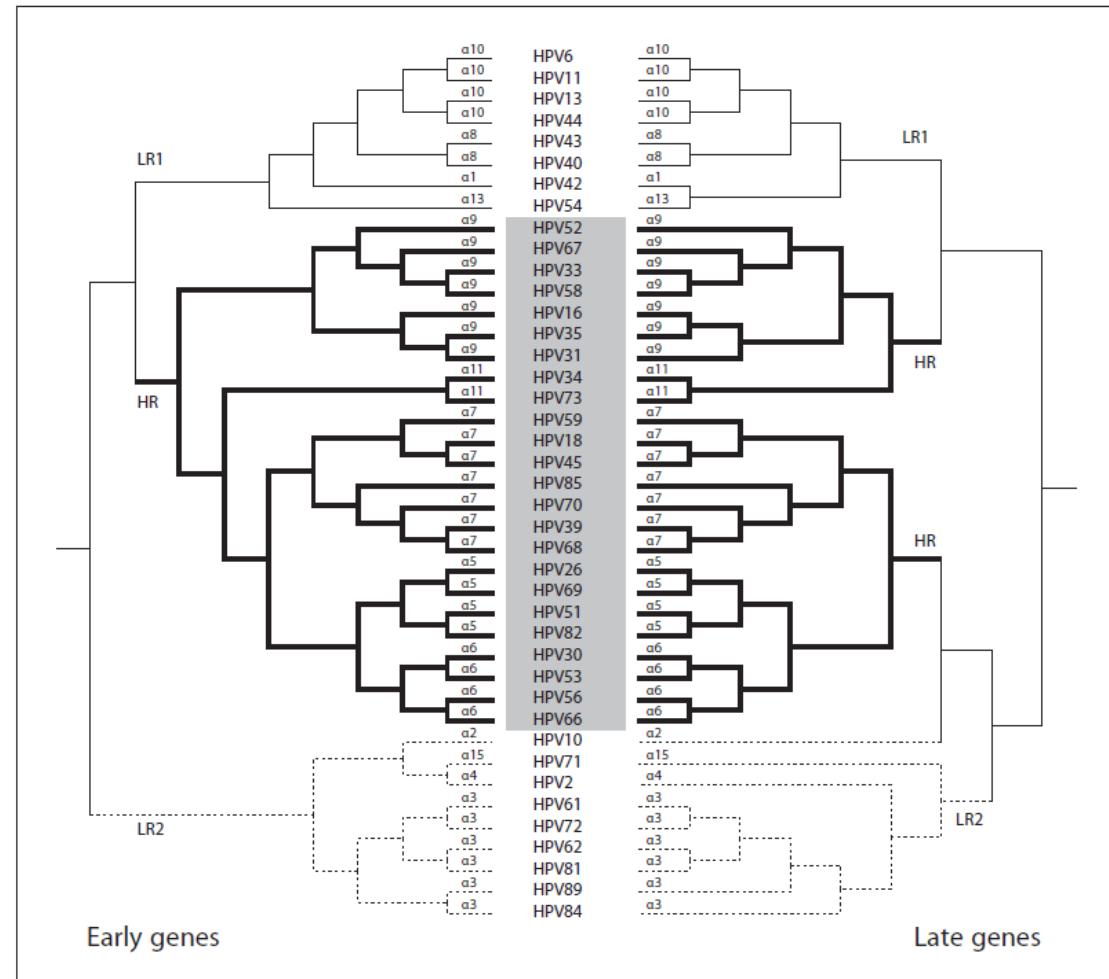
HPV

- L'analisi filogenetica del gene L1 ha incluso quasi tutti gli HPV isolati da tessuti cervicovaginali nel genere α -PV raggruppandoli in 15 specie (α 1- α 15)
- Gli HPV di una specie tendono ad avere caratteristiche simili per oncogenicità e tropismo
- Gli HPV HR sono (almeno) 15 e comprendono i tipi: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82 (26 e 66).

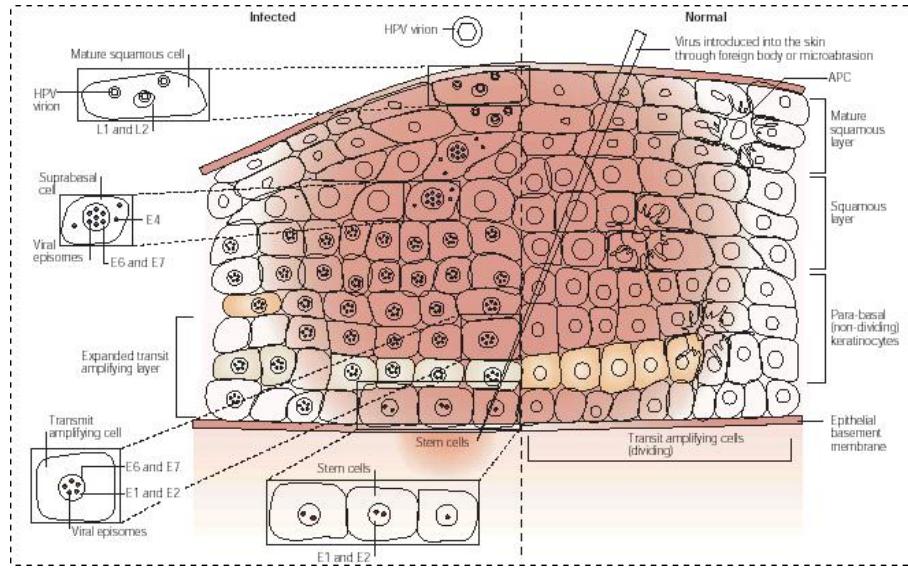


HPV LR/HR

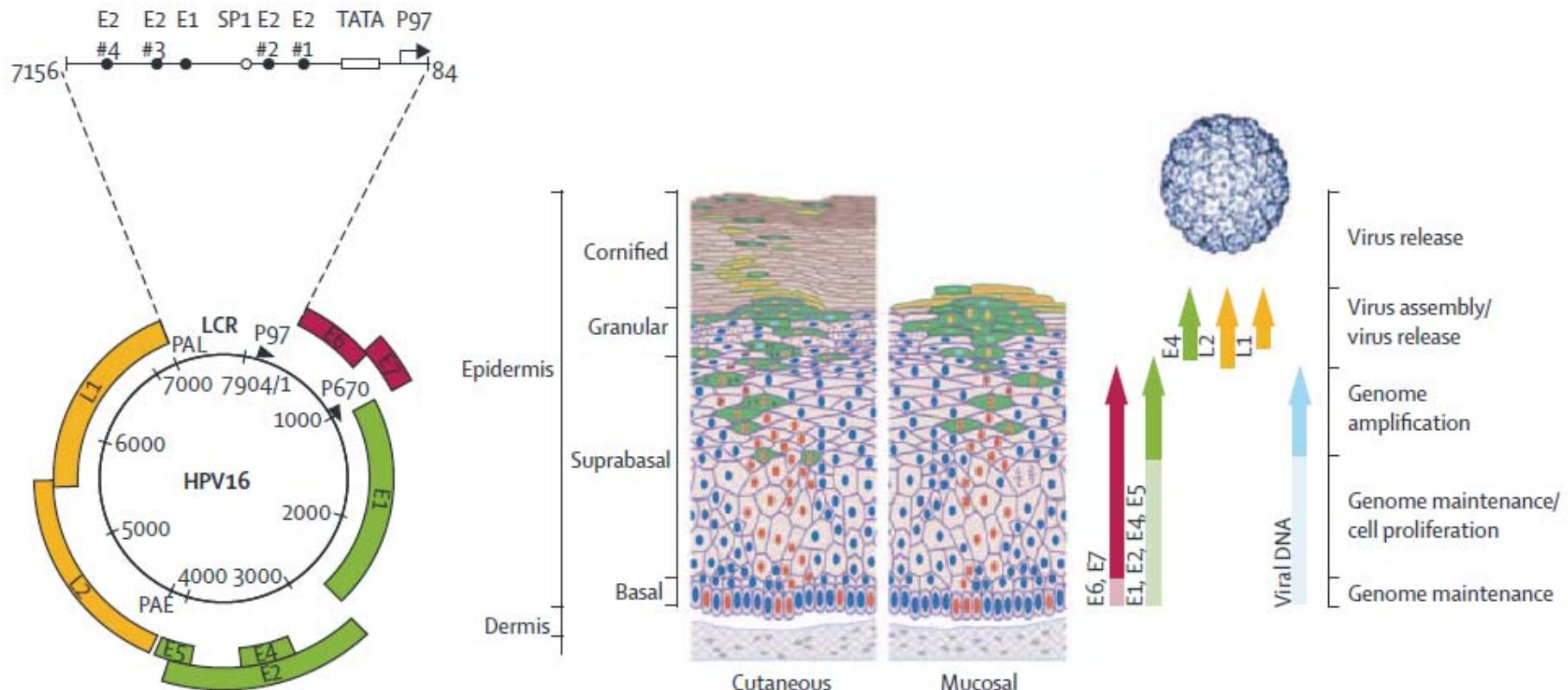
- Gli alberi costruiti sulle sequenze dei geni E e L sono diversi.
 - Quello costruito sui geni E (o sull'intero genoma) raccoglie in un unico “ramo” tutti gli HPV HR
 - Quello costruito sul gene L1 separa gli HPV HR α 9, α 11 dagli HPV HR α 5, α 6 e α 7.



- Gli HPV sono specie specifici e hanno spiccato tropismo per le cellule epitelio squamoso
- Recettori probabili: α 6 integrina, eparansolfato e glicoaminoglicani
- Il ciclo replicativo di HPV è strettamente legato alla differenziazione cellulare dell'epitelio squamoso
- La sintesi del DNA virale e delle proteine capsidiche e l'assemblaggio dei virioni ha luogo nei cheratinociti differenziati



Replicazione virale



- L'infezione delle cellule basali (probabilmente attraverso abrasioni o ferite) è necessaria per stabilire l'infezione e la persistenza del virus in queste cellule.
- Stadio I il genoma virale si stabilisce in un numero limitato di copie (10-50 copie per cellula) nelle cellule infette.
- Stadio II il genoma virale si replica parallelamente al DNA cellulare.
- Stadio III amplificazione del DNA virale nelle cellule soprabasali, fase replicazione del DNA.
- Espressione dei geni tardivi è ristretta agli strati differenziati dell'epitelio; la contemporanea replicazione del DNA e l'espressione dei geni tardivi porta al packaging del DNA virale e alla morfogenesi dei virioni.

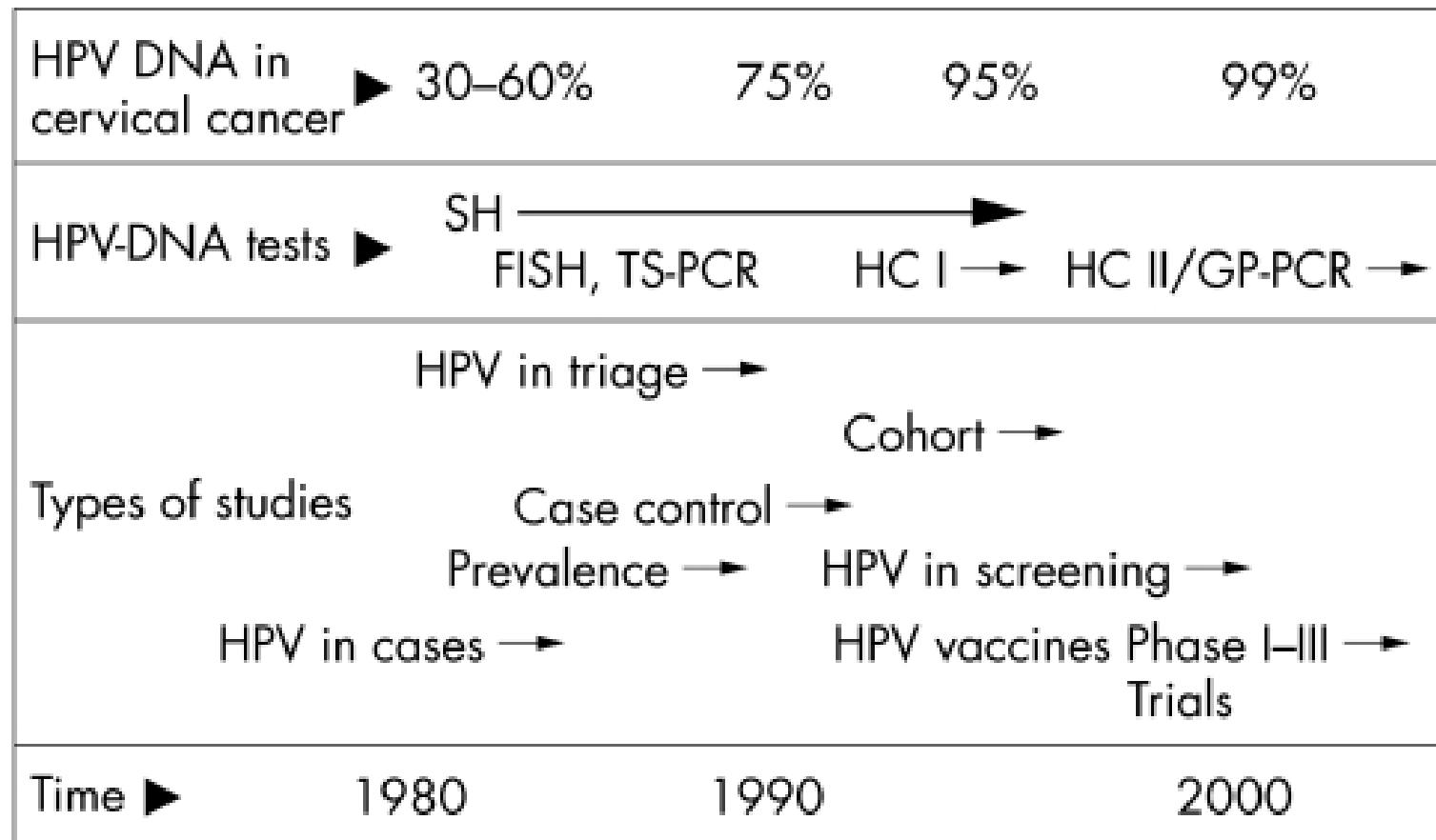
Fattori oncogeni virali

- E6
 - Si complessa alla proteina p53 e blocca l'attività trascrizionale di p53, ne abbassa i livelli cellulari con:
 - Perdita della induzione all'arresto della crescita
 - Non induzione dell'apoptosi in seguito a danno del DNA cellulare
- E7
 - Interagisce e degrada la proteina soppressore del RB (pRB)
 - La pRB si lega a E2F, fattore cellulare coinvolto nell'attivazione del ciclo cellulare in fase S. E7 si lega a pRB causandone degadazione e conseguente attivazione di E2F
- E5
 - Interagisce con proteine delle strutture di giunzione intercellulare alterando l'omeostasi cellulare
- Integrazione del genoma virale nei cromosomi
 - localizzazione casuale nel cromosoma
 - Spesso interrompe l'ORF E2

HPV e tumori

- HPV è associato a:
 - Cancro del collo dell'utero
 - Cancro dell'ano, vulva, vagina e pene
 - Cancro della testa e del collo
 - Papillomatosi respiratoria ricorrente
 - Verruche anogenitali

Evoluzione delle tecniche e della tipologia degli studi



Evoluzione della ricerca epidemiologica su HPV e cancro cervicale nel periodo 1980-2000. FISH, filter in situ hybridisation; GP-PCR, general primer PCR; HC I-II, hybrid capture first and second generation; SH, Southern blot hybridisation; TS-PCR, type specific PCR.

Cancro cervicale

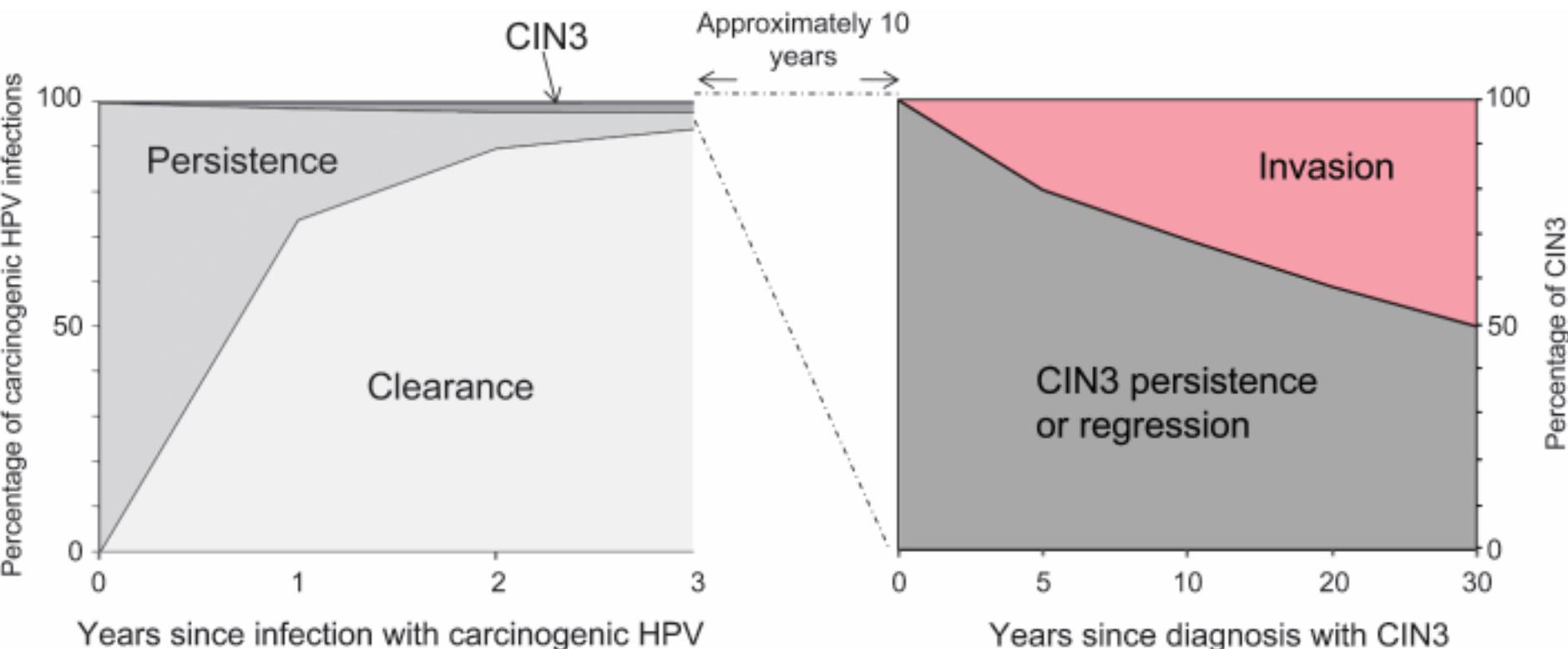
- Gli HPV 16 e 18 sono responsabili rispettivamente del 50% e del 20% dei ca. cervicali nel mondo.
- HPV 16 è il tipo più frequentemente individuato nel carcinoma squamoso della cervice (>50% di questi tumori sono HPV16+)
- HPV16 e HPV18 sono associati ad adenocarcinoma della cervice

	Proportion of cervical cancers caused	Cumulative total
HPV16	54.6%	54.6%
HPV18	15.8%	70.4%
HPV33	4.4%	74.8%
HPV45	3.7%	78.5%
HPV31	3.5%	82.0%
HPV58	3.4%	85.4%
HPV52	2.5%	87.9%
HPV35	1.8%	89.7%
HPV59	1.1%	90.8%
HPV56	0.8%	92.2%
HPV51	0.7%	92.9%
HPV39	0.7%	93.6%
HPV73	0.5%	94.1%
HPV68	0.5%	94.6%
HPV82	0.2%	94.8%
No type identified	5.2%	100%

Data adapted from reference 18. Smith JS, et al. *Int J Cancer* 2007; **121**: 621–32.

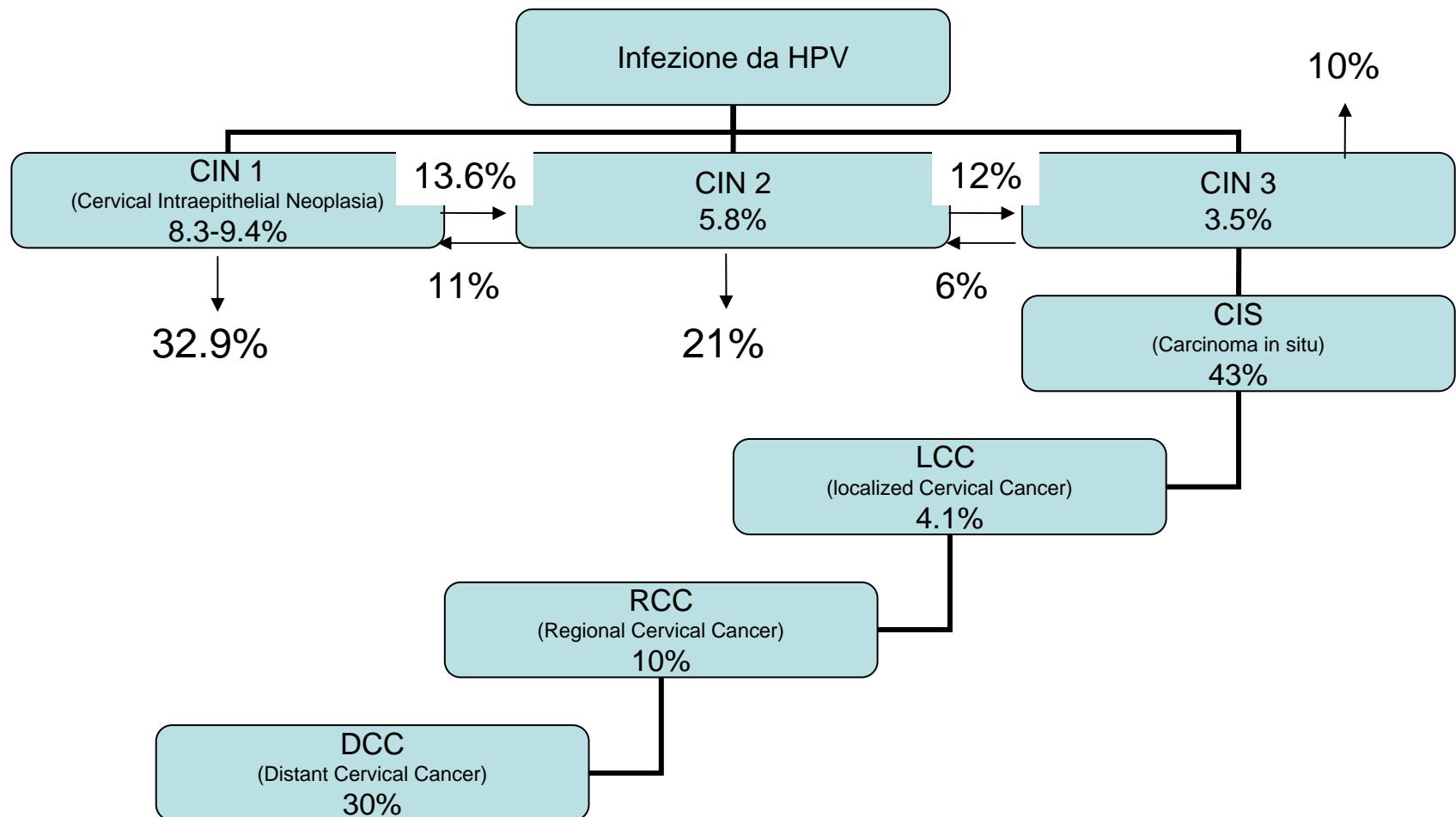
Table 2: Proportion of cervical cancer caused by the carcinogenic HPV types

Evoluzione delle infezioni da HPV

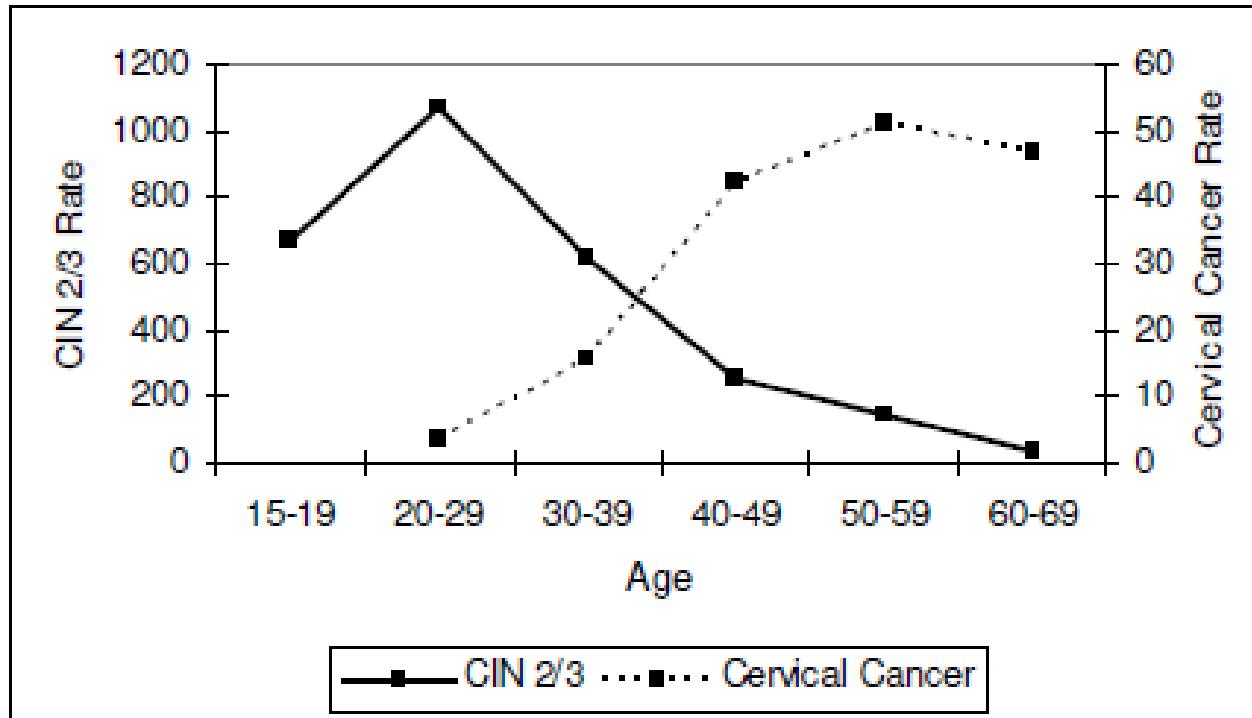


- Metà delle infezioni da HPV scompare dopo 6-12 mesi
- Il 90% scompare dopo 2-3 anni
- Nel 25-33% delle donne HPV HR+ è presente una citologia anomala
- Il rischio di cancro aumenta significativamente per le infezioni persistenti più di 5 anni

HPV 16/18

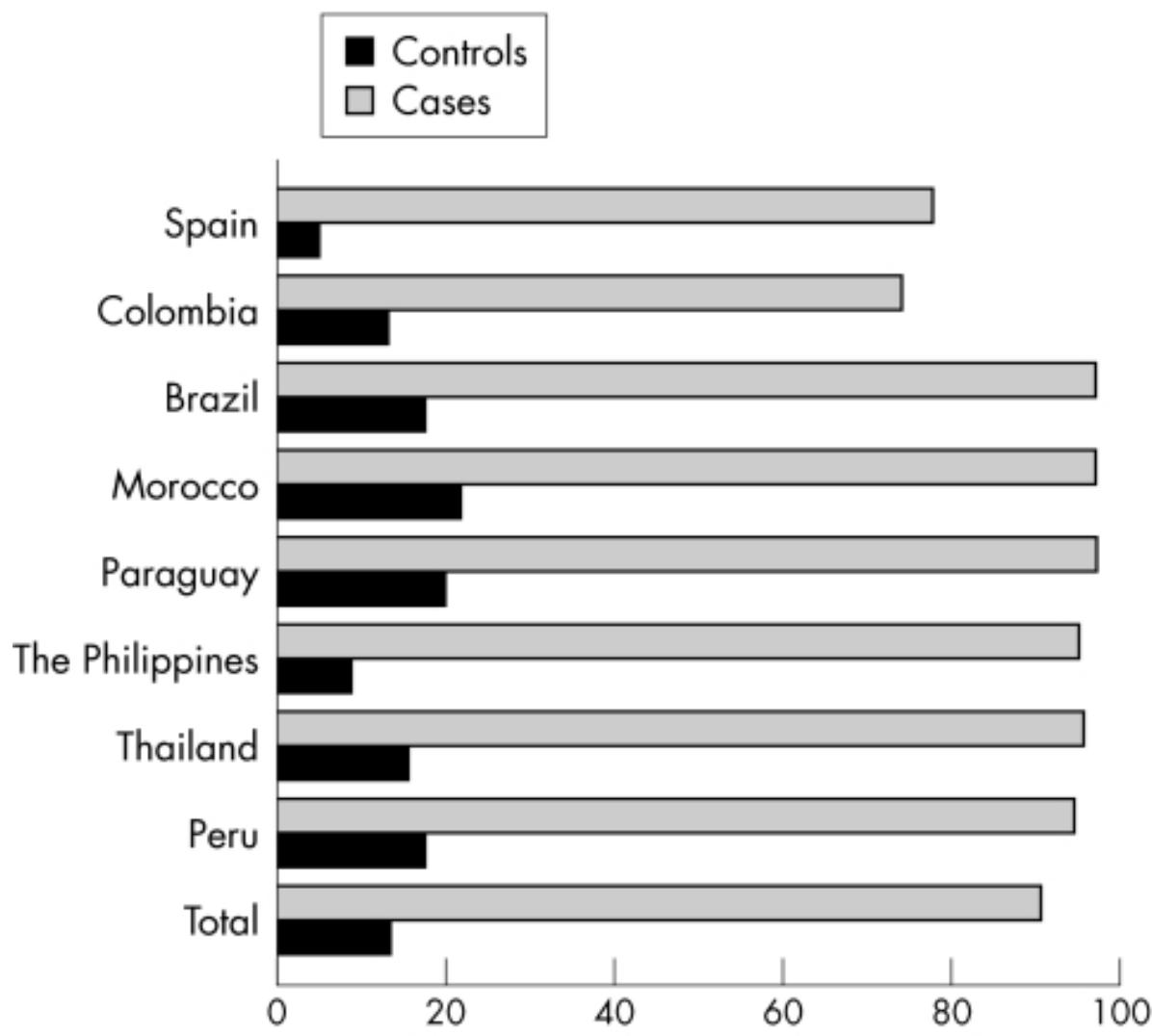


Incidenza di CIN2/3 e di cancro cervicale



Incidenza di CIN 2/3 individuati mediante screening e incidenza di cancro della cervice prima dello screening. I tassi sono espressi per 100.000 donne sottoposte a screening citologico routinario (CIN2/3) e per 100.000 donne (Ca cervicale). Il picco dell'incidenza di Ca Cervicale si osserva circa 25–30 anni dopo quello di CIN 2/3.

Prevalenza di HPV DNA in casi di ca. cervicale e in controlli (IARC multicentre study)



Associazione tra (HPV) DNA e cancro cervicale

	No. studies	HPV DNA prevalence (%)		OR (95% CI)
		Controls	Cases	
Squamous	9	13.4	90.7	83.3 (54.9 to 105.3)
Adeno and mixed	6	15.4	91.9	68.7 (36.2 to 130.5)

CI, confidence interval; IARC, Agency for Research on Cancer OR, odds ratio.

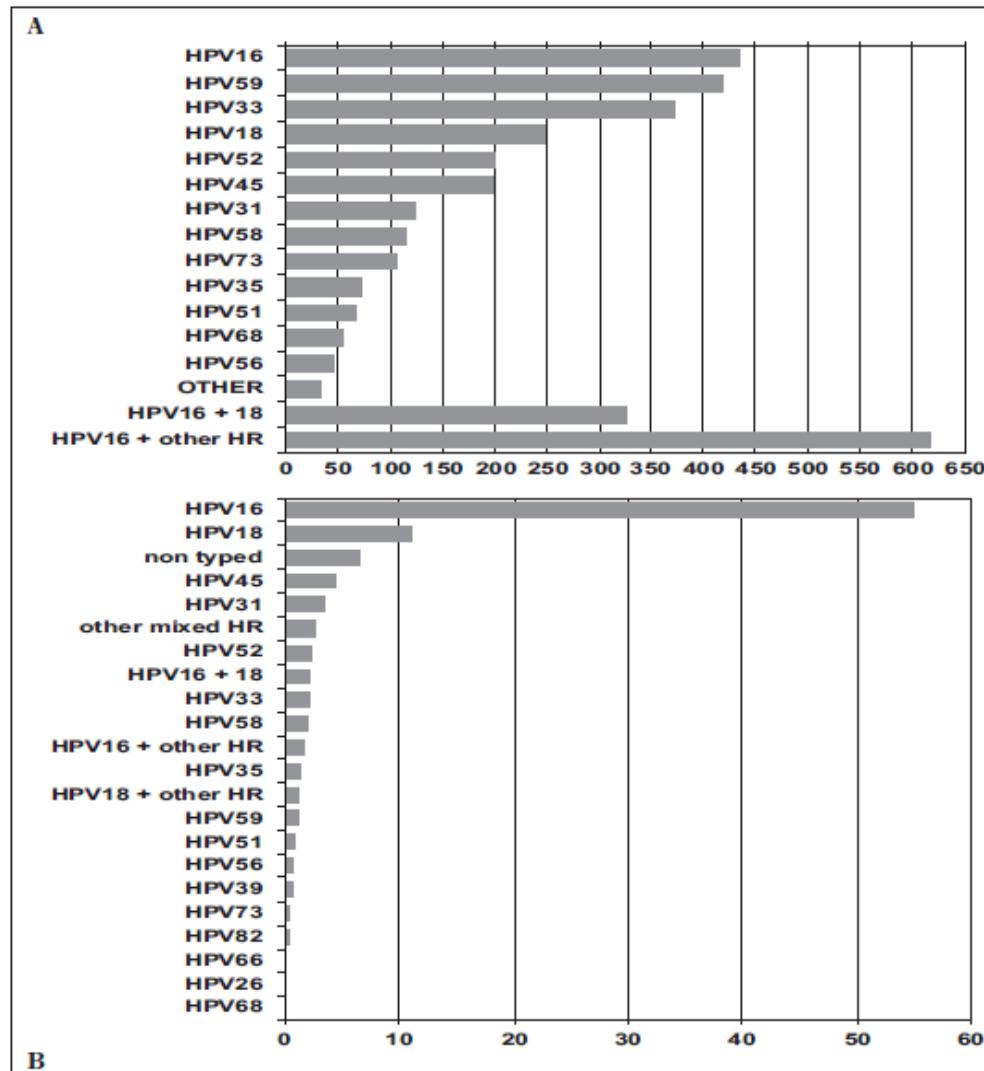
IARC multicentre case-control study

Cancri attribuibili ad HPV

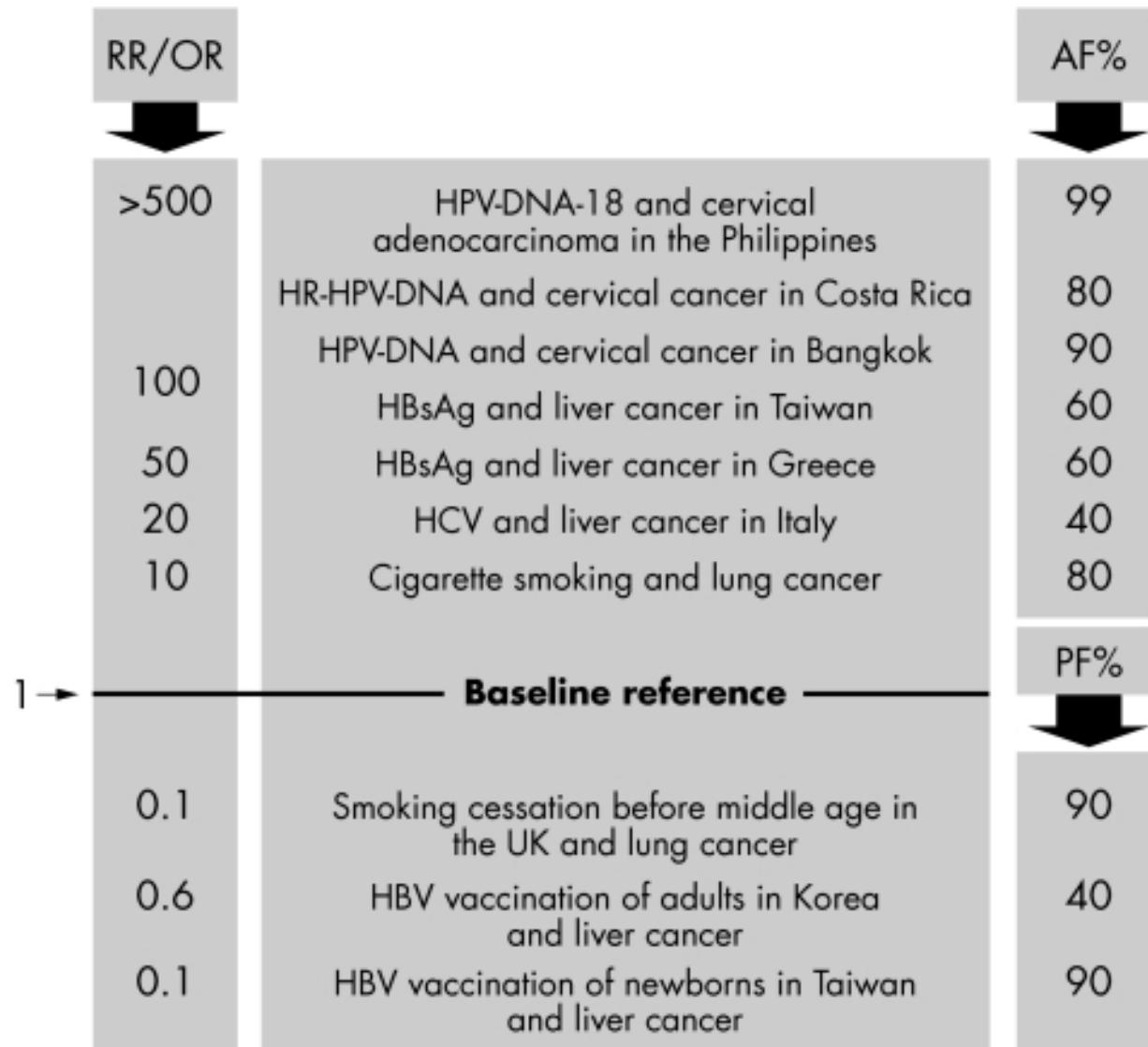
Site	Attributable to HPV (%)	Developed countries		Developing countries	
		Total cancers	Attributable to HPV	Total cancers	Attributable to HPV
Cervix	100	83 400	83 400	409 400	409 400
Penis	40	5 200	2 100	21 100	8 400
Vulva, vagina	40	18 300	7 300	21 700	8 700
Anus	90	14 500	13 100	15 900	14 300
Mouth	> = 3	91 200	2 700	183 100	5 500
Oro-pharynx	> = 12	24 400	2 900	27 700	3 300
All cancers	5	5016 100	111 500	5827 500	449 600

HPV CANCRO

- A. Rischio relativo di sviluppare cancro nei soggetti con HPV HR rispetto a quelli HPV–.
- B. Prevalenza di tipi HPV in ca. cervicali associati ad HPV



Rischio relativo e frazione attribuibile di alcuni fattori di rischio



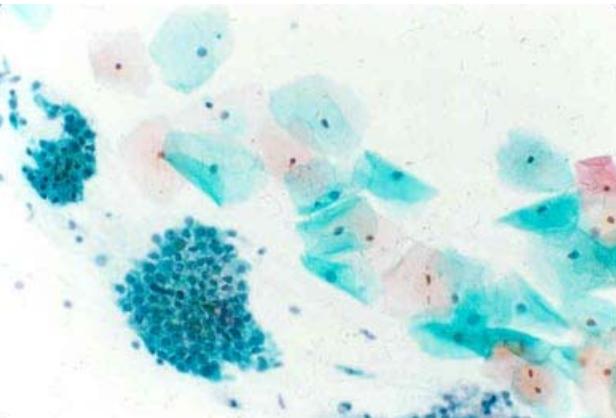
Criteri di causalità

- Forza dell'associazione: l'associazione tra HPV DNA in campioni cervicali e ca. cervicale è una delle più forti osservate per un cancro umano.
- Consistenza: l'associazione tra HPV DNA in campioni cervicali e ca. cervicale è stata confermata da numerosi studi in paesi e popolazioni diverse; non sono stati pubblicati studi che mettono in dubbio l'associazione.
- Specificità: l'associazione tra tipi specifici di HPV e ca. cervicale non è casuale; tipi istologici di tumore sono associati a tipi specifici di HPV.
- Sequenza temporale: l'infezione da HPV precede le lesioni precancerose e il ca cervicale di un numero congruo di anni.
- Plausibilità biologica: l'associazione tra HPV DNA in campioni cervicali e ca. cervicale è plausibile e coerente con lo stato delle conoscenze. L'azione oncogena di HPV è mediata da interferenze virali con i meccanismi regolatori della crescita cellulare, della riparazione del DNA e della risposta immunitaria.

In Italia

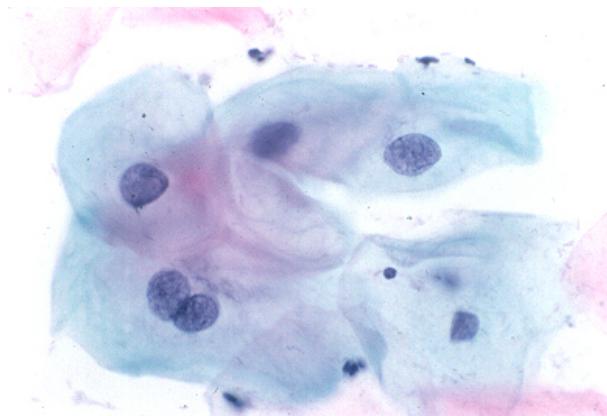
- In Italia, i dati dei registri nazionali tumori relativi agli anni 1998-2002 mostrano che:
 - ogni anno sono stati diagnosticati circa 3.500 nuovi casi di carcinoma della cervice (pari a una stima di incidenza annuale di 10 casi ogni 100.000 donne).
 - Circa 1000 donne sono morte per questa patologia.
 - Nel corso della vita, il rischio di avere una diagnosi di tumore della cervice è del 6,2 per mille (1 caso ogni 163 donne), mentre il rischio di morire è di 0,8 per mille.

Pap-test



NORMALE:

Cellule squamose con piccoli nuclei blu abbondante citoplasma rosa/verde. Un gruppo di cellule ghiandolari endocervicali sulla sinistra.



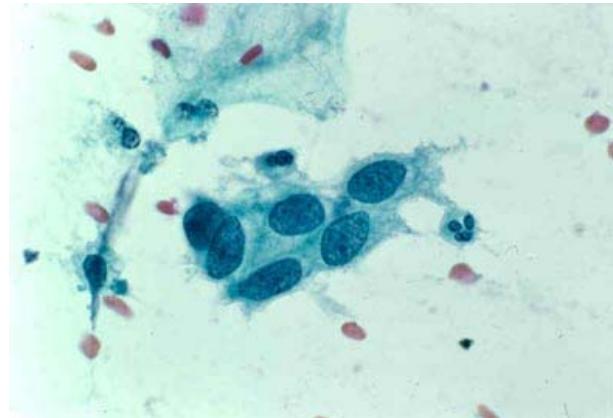
BASSO GRADO:

Cellule squamose nuclei blu allargati, occasionalmente con un anello schiarito di citoplasma.



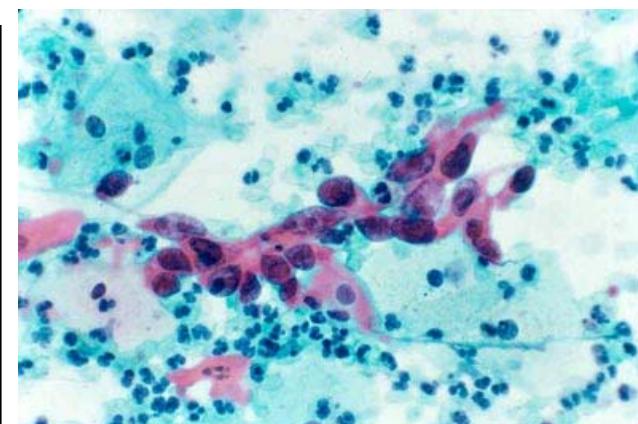
ASC-US:

Cellule squamose con nuclei ingranditi ma citoplasma ancora abbondante.



ALTO GRADO:

Nuclei blu molto allargati con meno citoplasma ed alto rapporto nucleo/citoplasma.



CANCRO SQUAMOSO:

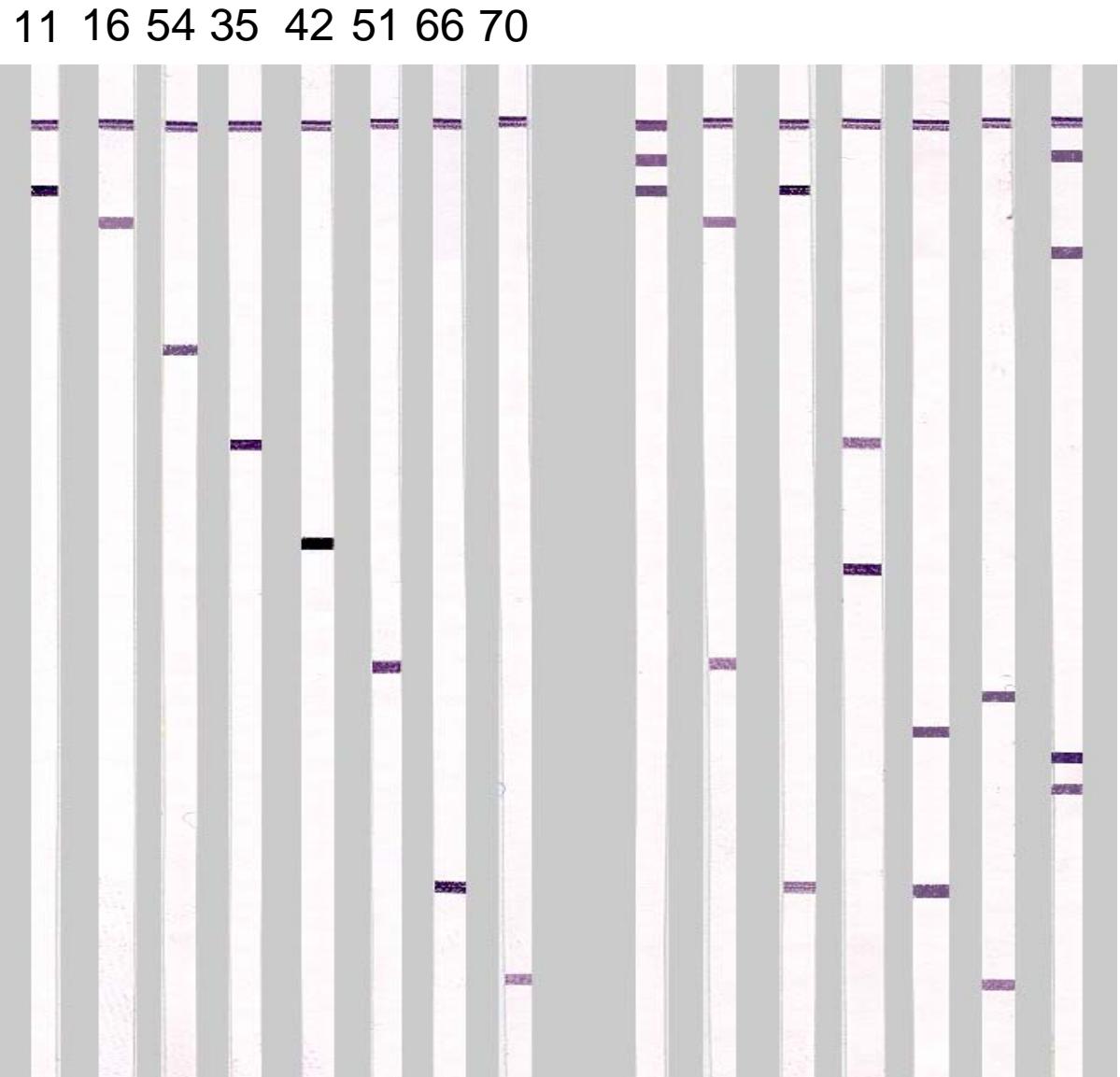
Nuclei molto allargati con irregolare distribuzione di materiale nucleare e nucleoli; citoplasma denso rosa/arancio.

- Pap-test: esame microscopico di strisci citologici del canale cervicale colorati con tecnica di Papanicolau.
 - ASCUS: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance
 - LSIL: Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion
 - HSIL: High-grade Squamous Intraepithelial Lesion

PCR e Genotipizzazione

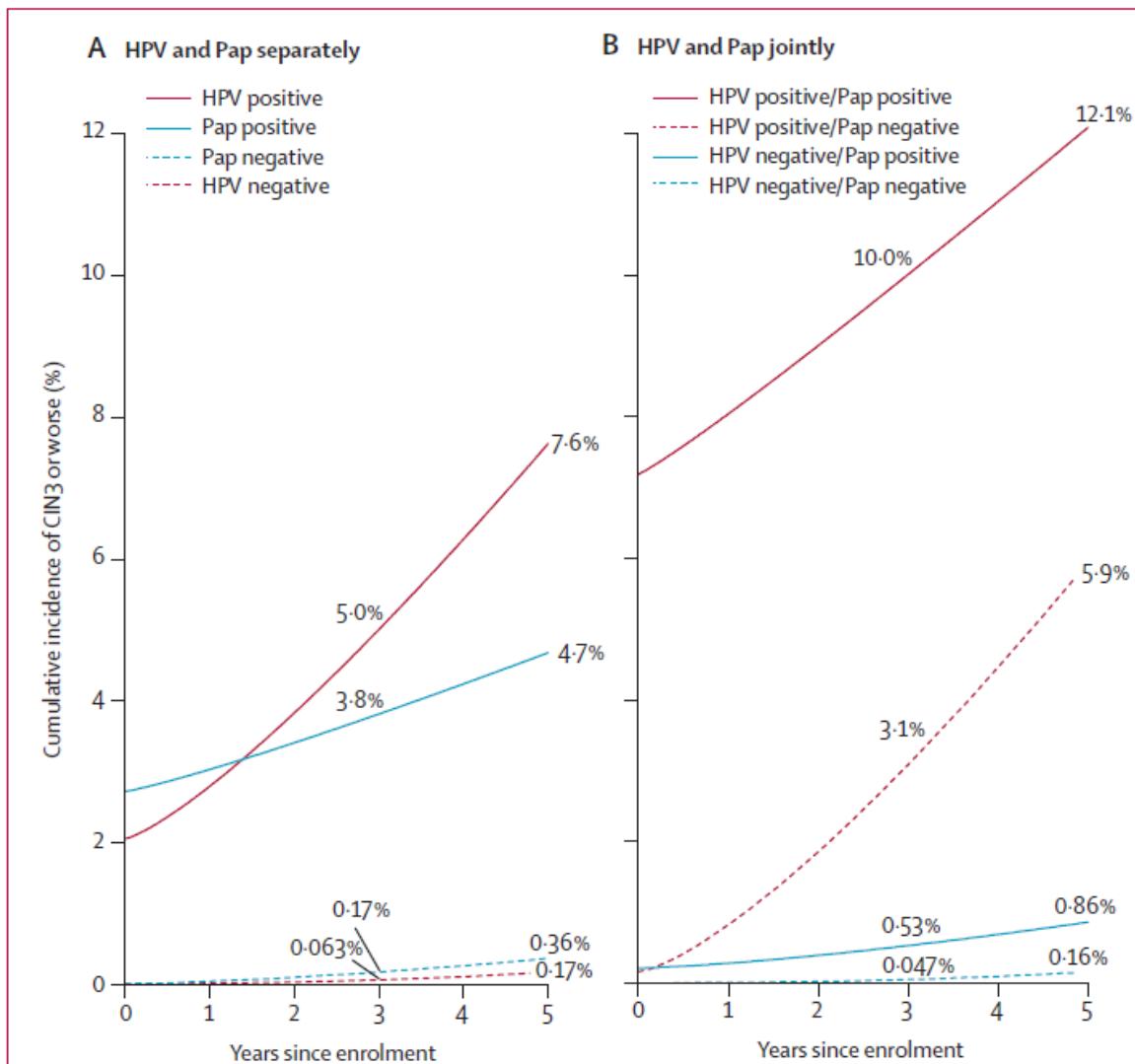
Probe

- 1 = Conjugate control
- 2 = HPV 6
- 3 = HPV 11
- 4 = HPV 16
- 5 = HPV 18
- 6 = HPV 18
- 7 = HPV 31 / 40 / 58
- 8 = HPV c31
- 9 = HPV 33
- 10 = HPV 34
- 11 = HPV 35
- 12 = HPV 39
- 13 = HPV 40
- 14 = HPV 42
- 15 = HPV 43
- 16 = HPV 44
- 17 = HPV 45
- 18 = HPV 51
- 19 = HPV 52
- 20 = HPV 53
- 21 = HPV 56 / 74
- 22 = HPV c56
- 23 = HPV 58
- 24 = HPV 59
- 25 = HPV 66
- 26 = HPV 68 / 45
- 27 = HPV c68
- 28 = HPV 70
- 29 = HPV 74

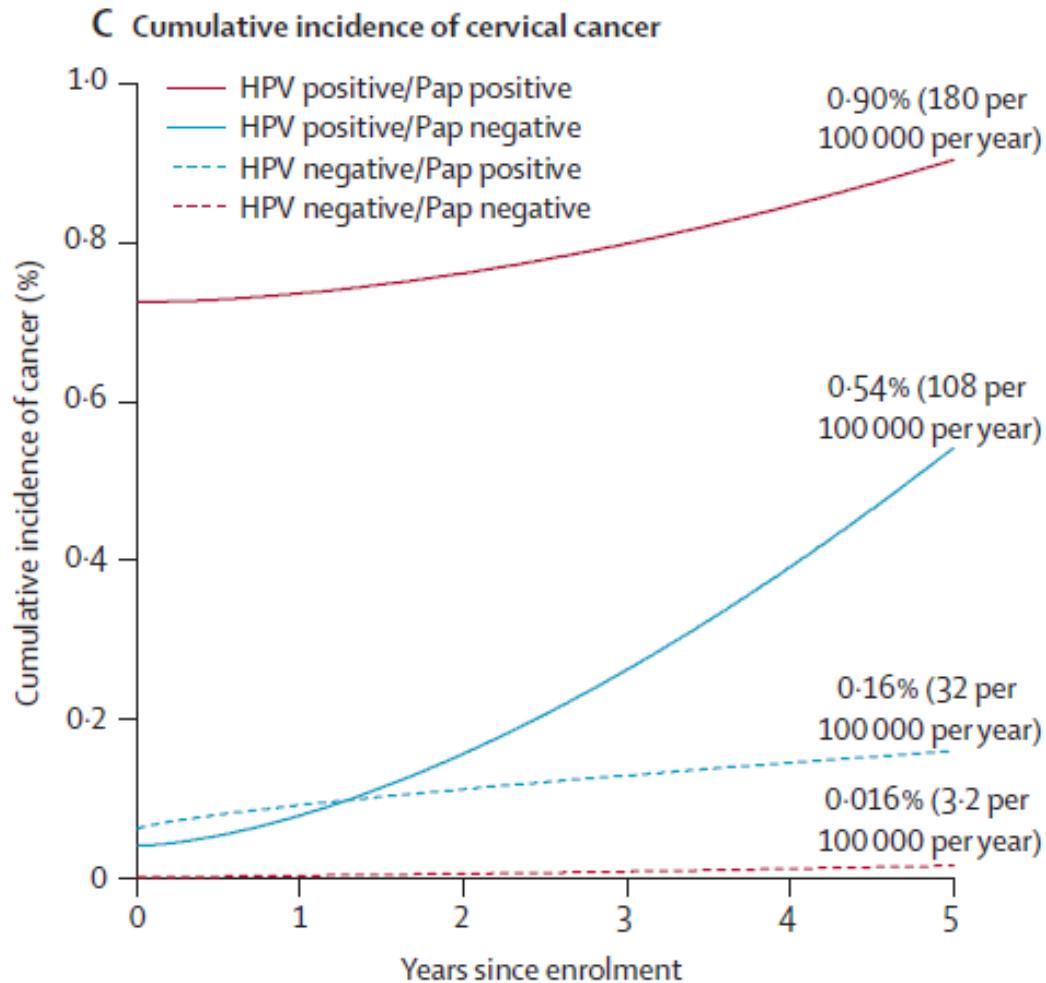


Predittività dei test

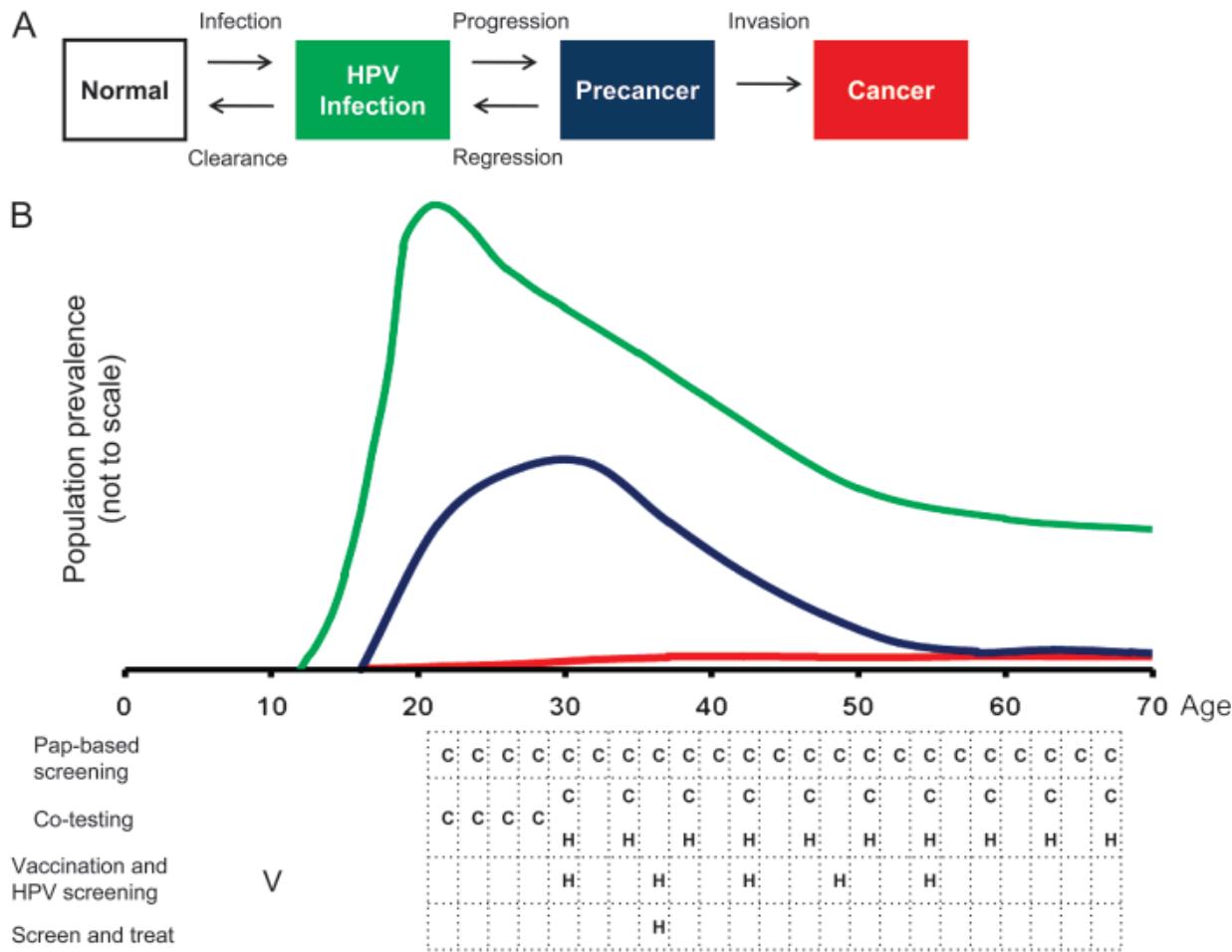
- A. Incidenza cumulativa di CIN3 o superiore in funzione del risultato del pap test o del HPV test
- B. Incidenza cumulativa di CIN3 o superiore in funzione del risultato dei test combinati



Incidenza di cancro e test



Strategie di prevenzione



Grazie per l'attenzione!