

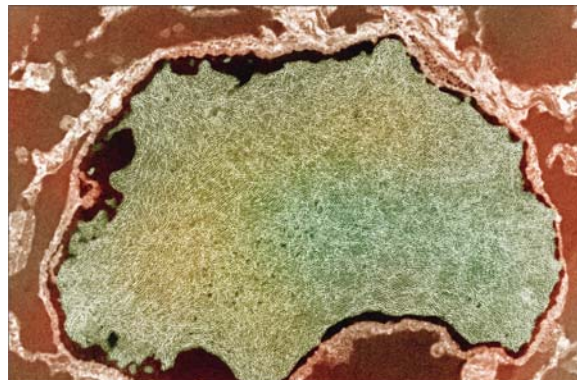


Trieste, 18/10/2011



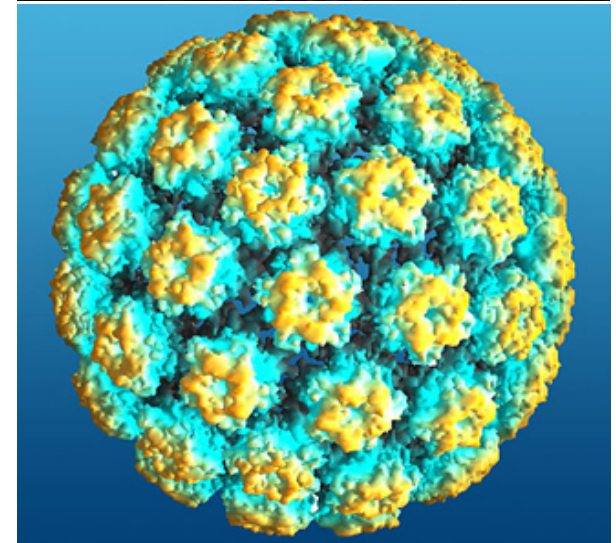
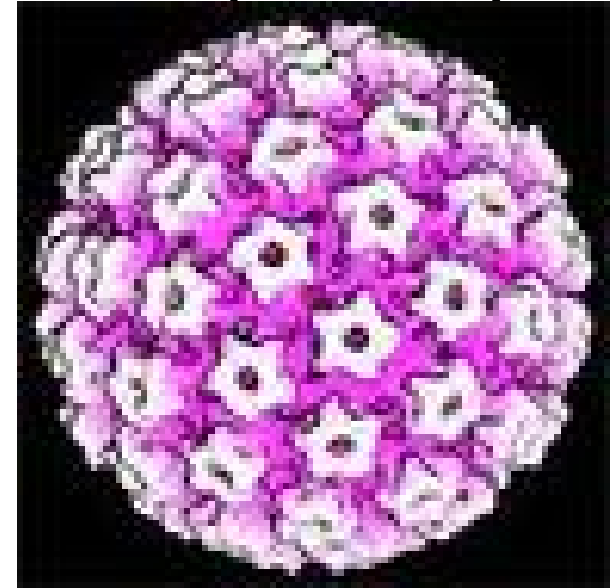
Il virus e l'epidemiologia delle infezioni da HPV

Prof. Pierlanfranco D'AGARO



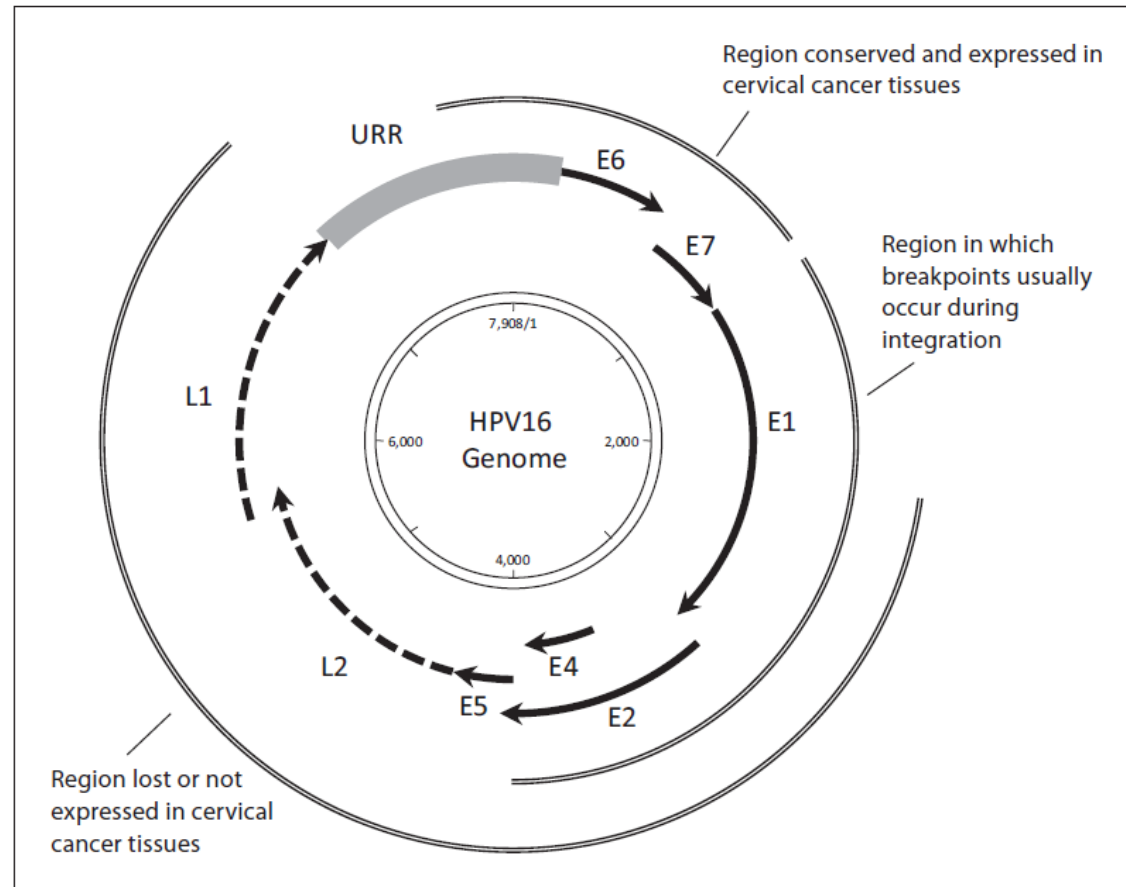
Human Papillomavirus (HPV)

- 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



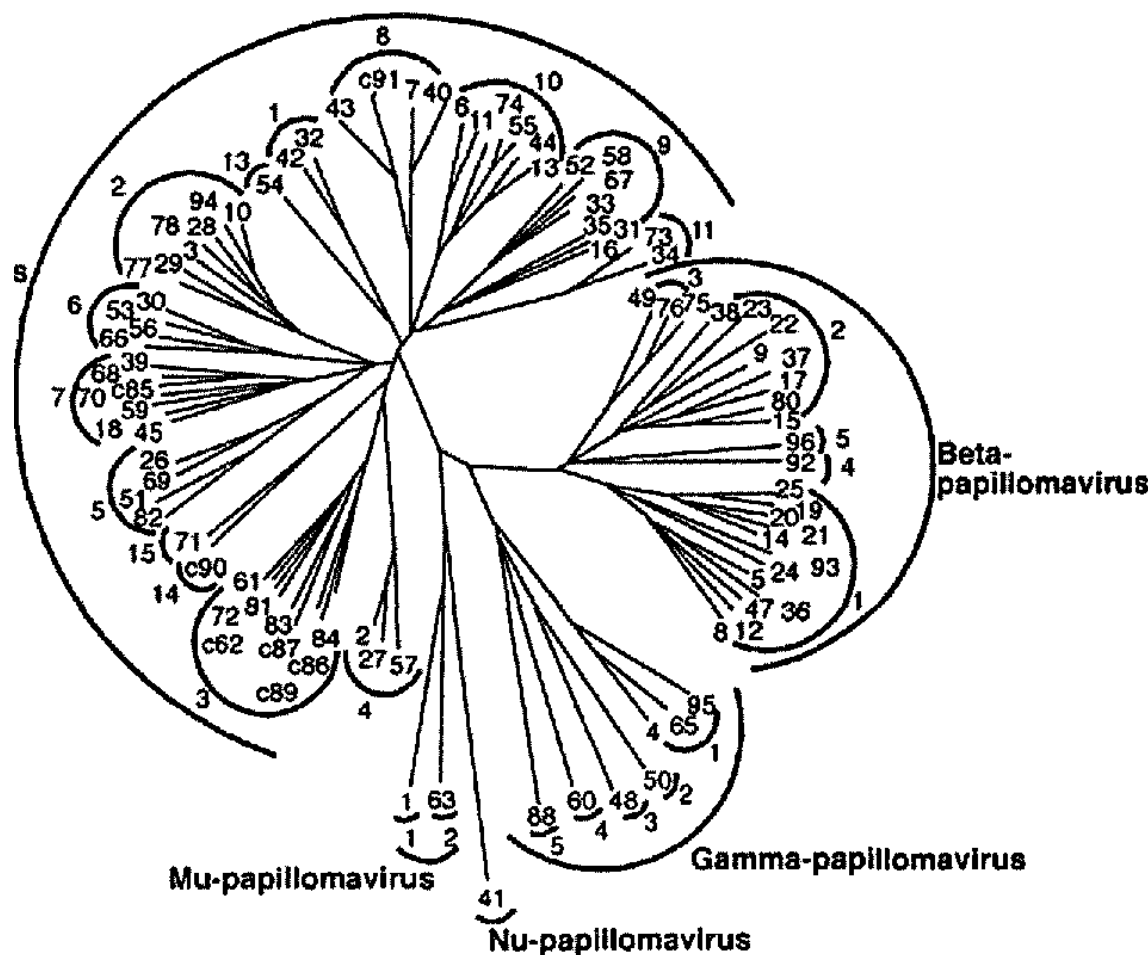
Il genoma

- 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



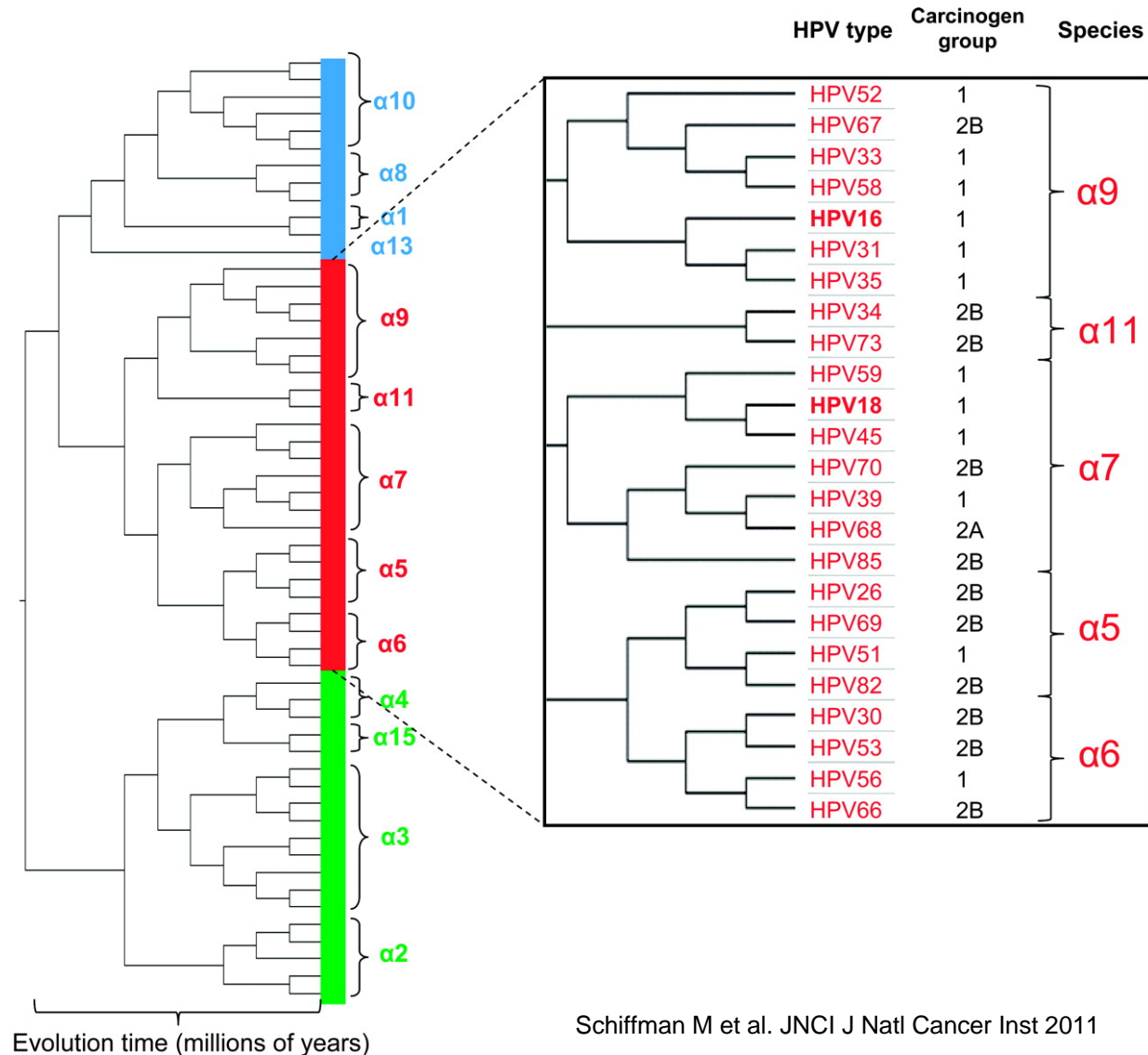
Classificazione

- 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



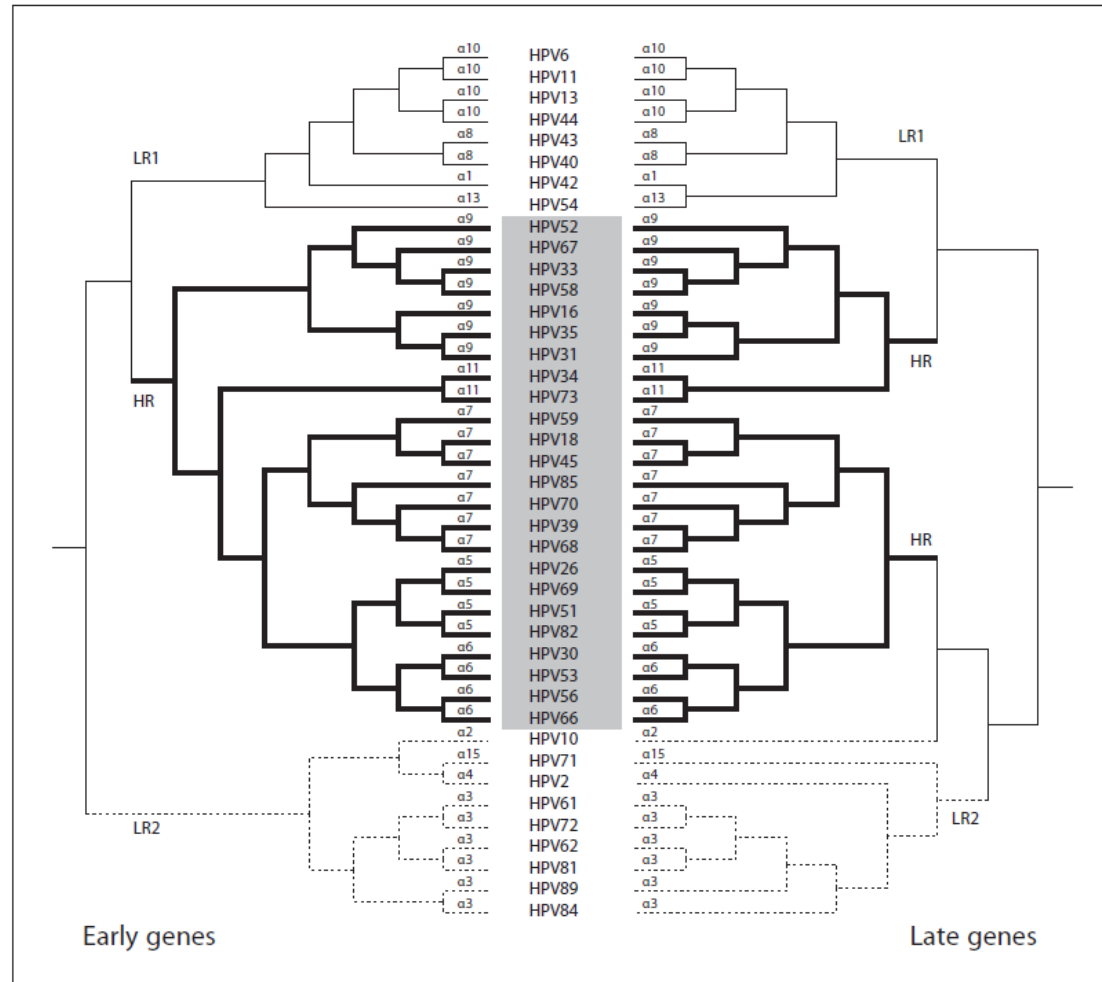
HPV

- L'analisi filogenetica del gene L1 ha incluso quasi tutti gli HPV isolati da tessuti cervicovaginali nel genere α -PV raggruppandoli in 15 specie ($\alpha 1$ - $\alpha 15$)
- 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).

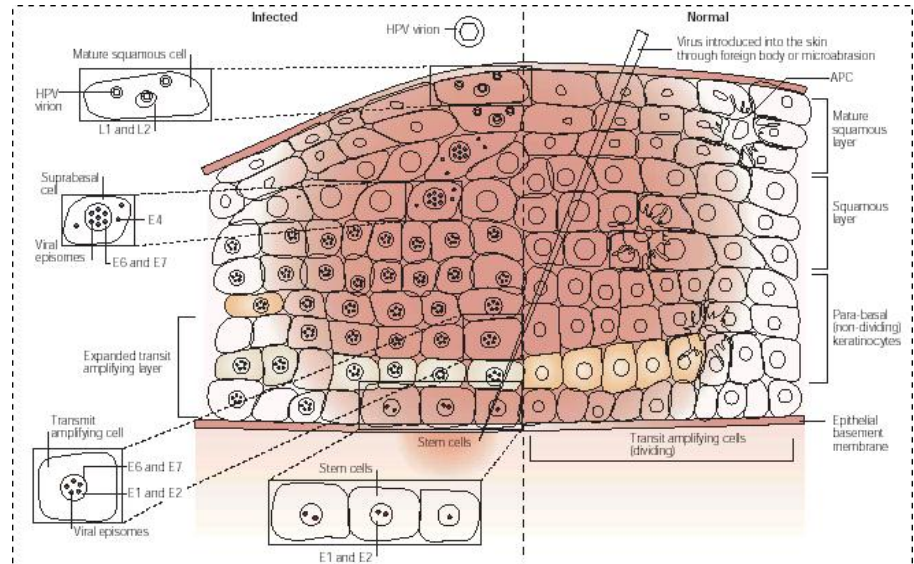


HPV LR/HR

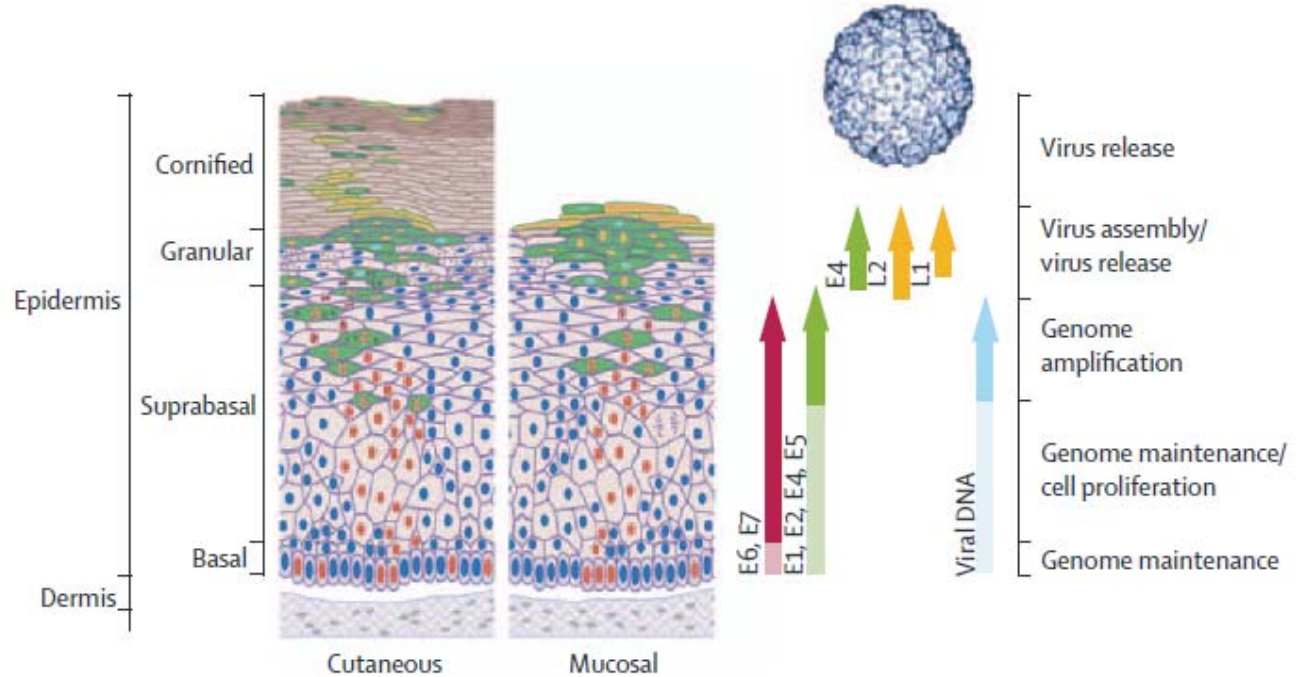
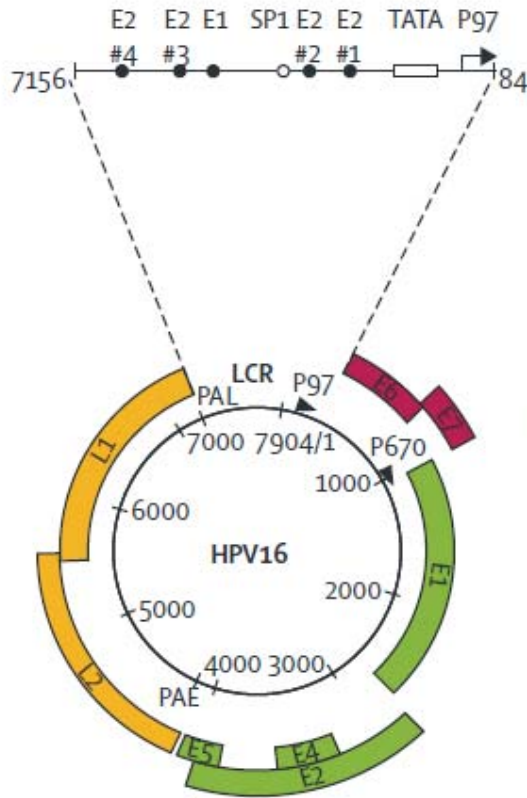
- Gli alberi costruiti sulle sequenze dei geni E e L sono diversi.
- Quello costruito sui geni E (o sull'intero genoma) raccoglie in un unico "ramo" tutti gli HPV HR
- Quello costruito sul gene L1 separa gli HPV HR $\alpha 9$, $\alpha 11$ dagli HPV HR $\alpha 5$, $\alpha 6$ e $\alpha 7$.



- 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.

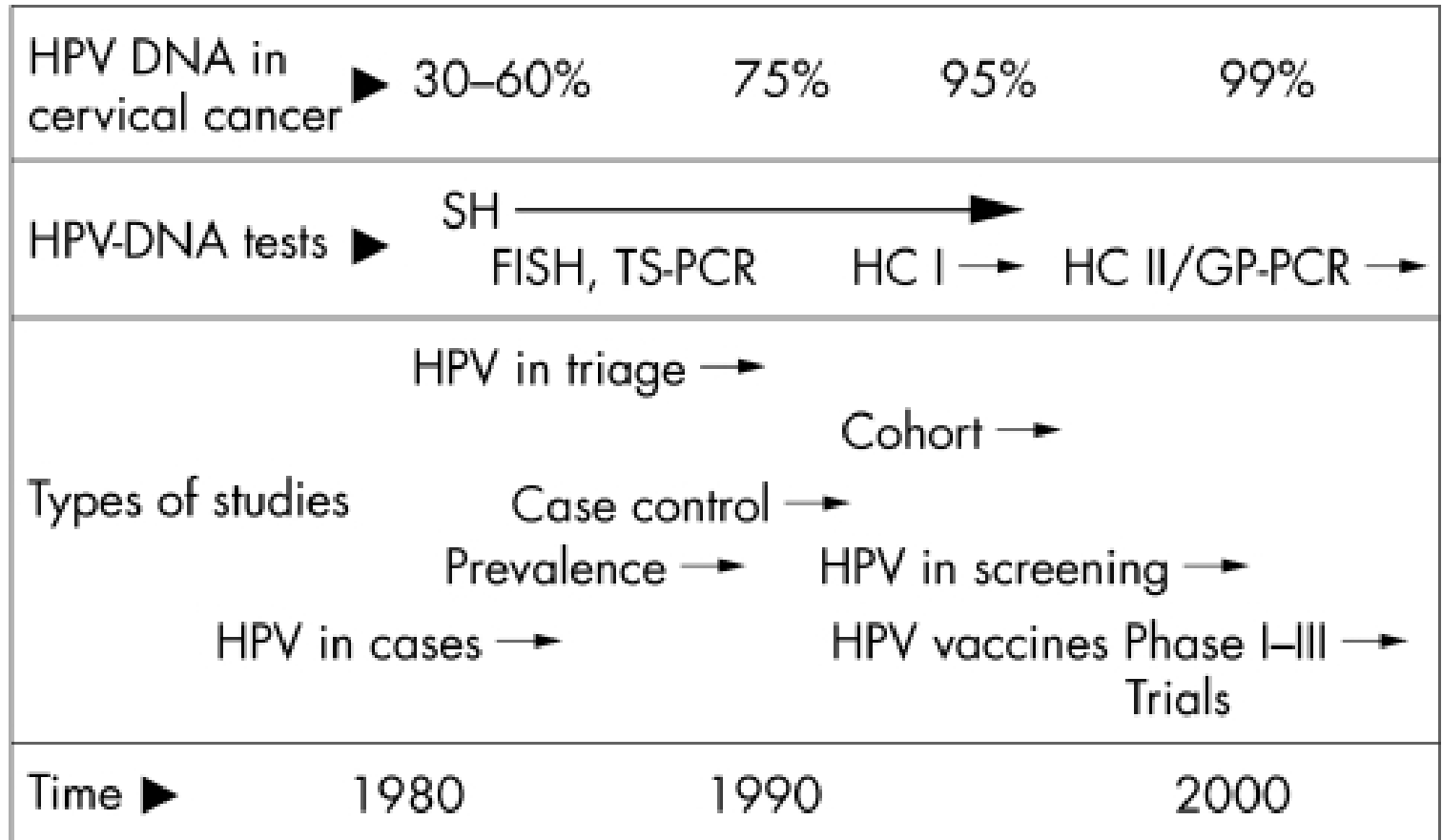
Fattori oncogeni virali

- 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 degradazione 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

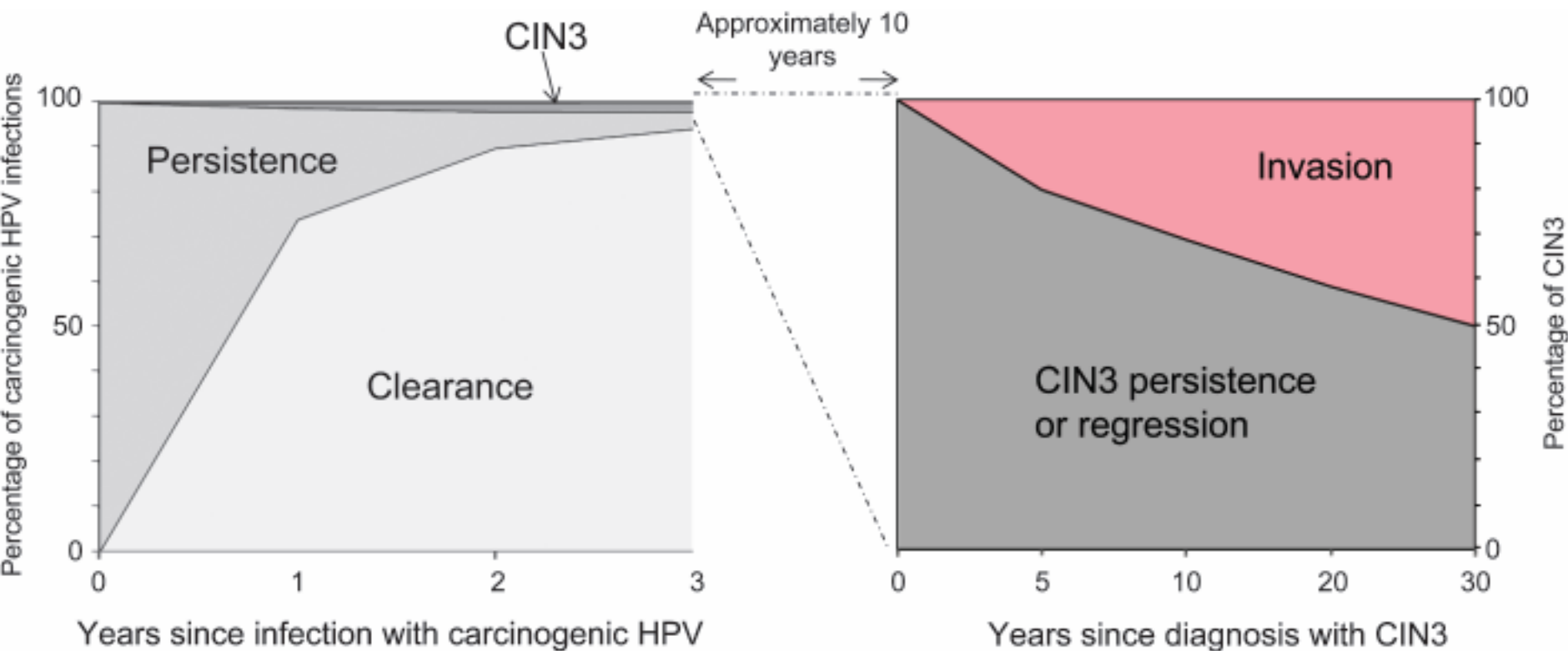
- Gli HPV 16 e 18 sono responsabili rispettivamente del 50% e del 20% dei ca. cervicali nel mondo.
- HPV 16 è il tipo più frequentemente individuato nel carcinoma squamoso della cervice (>50% di questi tumori sono HPV16+)
- HPV16 e HPV18 sono associati ad adenocarcinoma della cervice

	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.

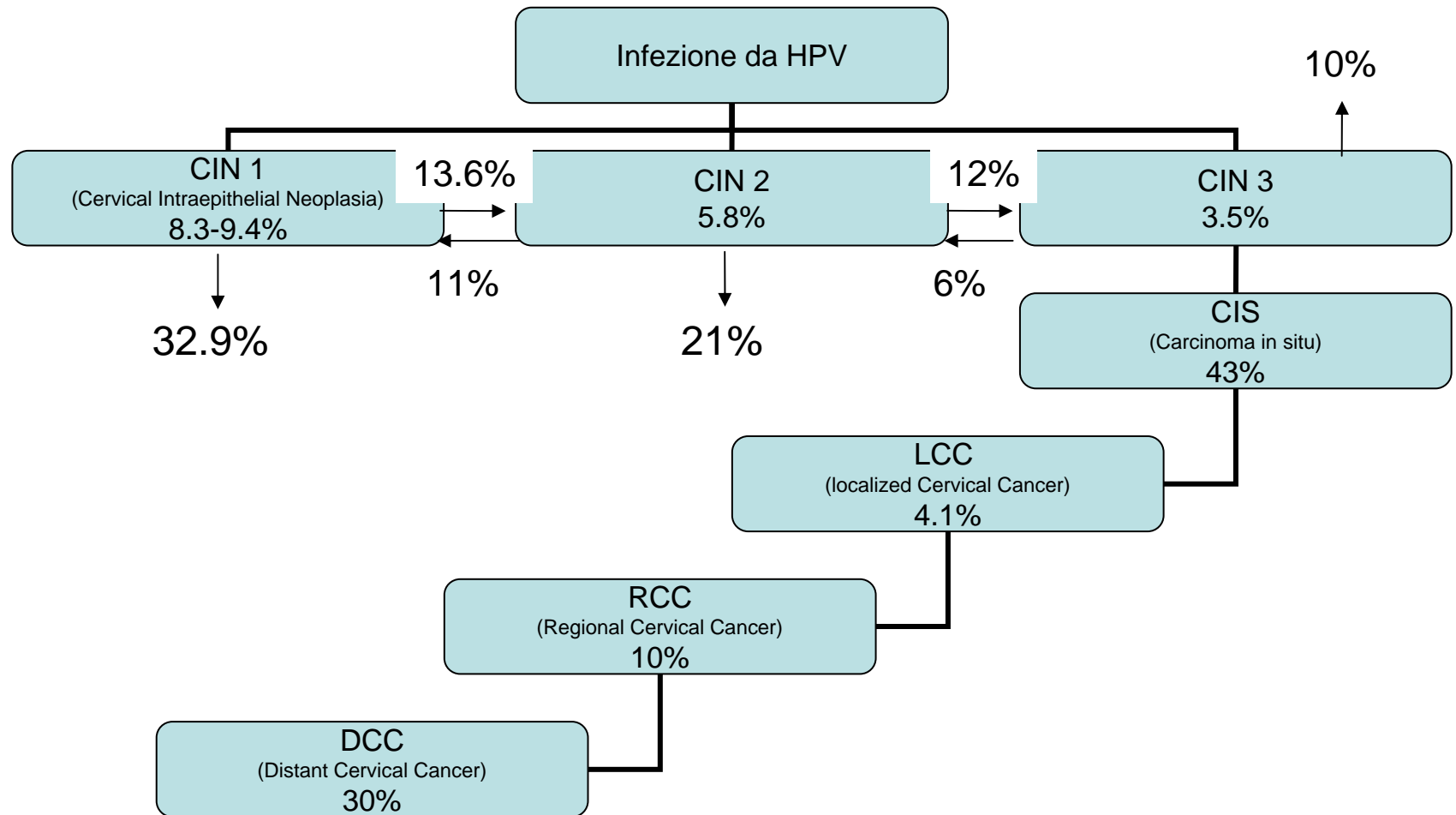
Table 2: Proportion of cervical cancer caused by the carcinogenic HPV types

Evoluzione delle infezioni da HPV

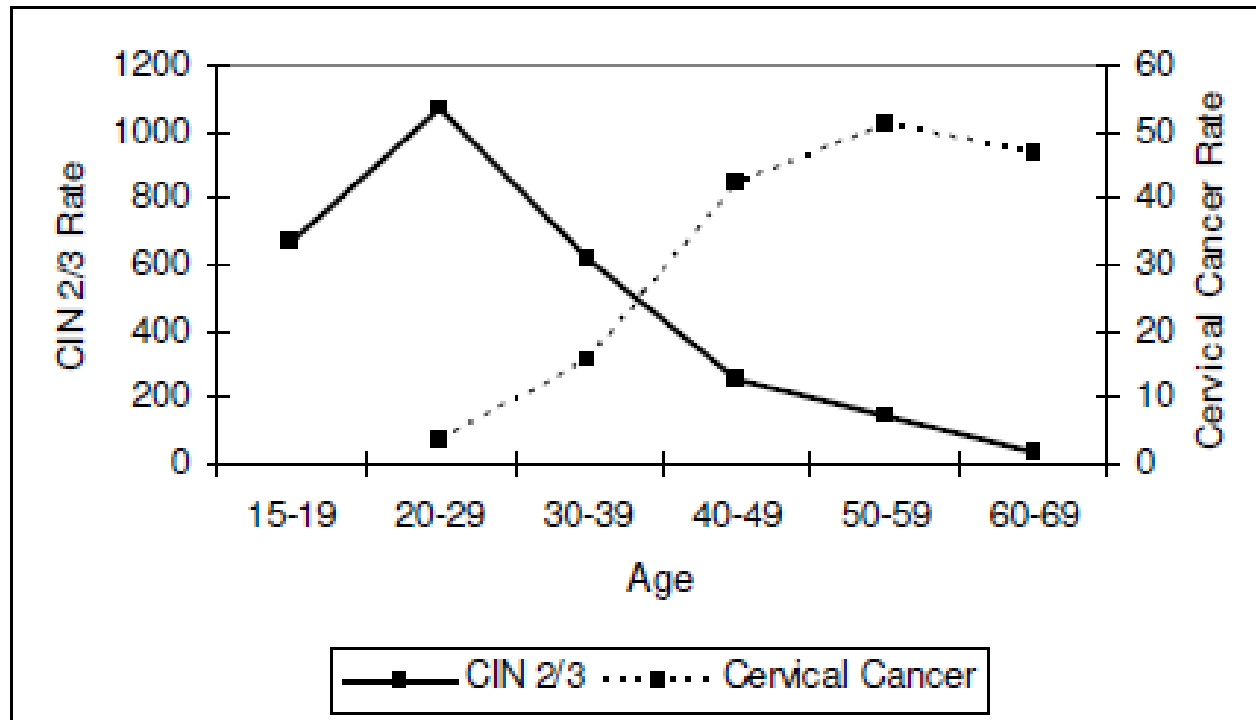


- **Metà delle infezioni da HPV scompaiono dopo 6-12 mesi**
- **Il 90% scompare dopo 2-3 anni**
- **Nel 25-33% delle donne HPV HR+ è presente una citologia anomala**
- **Il rischio di cancro aumenta significativamente per le infezioni persistenti più di 5 anni**

HPV 16/18

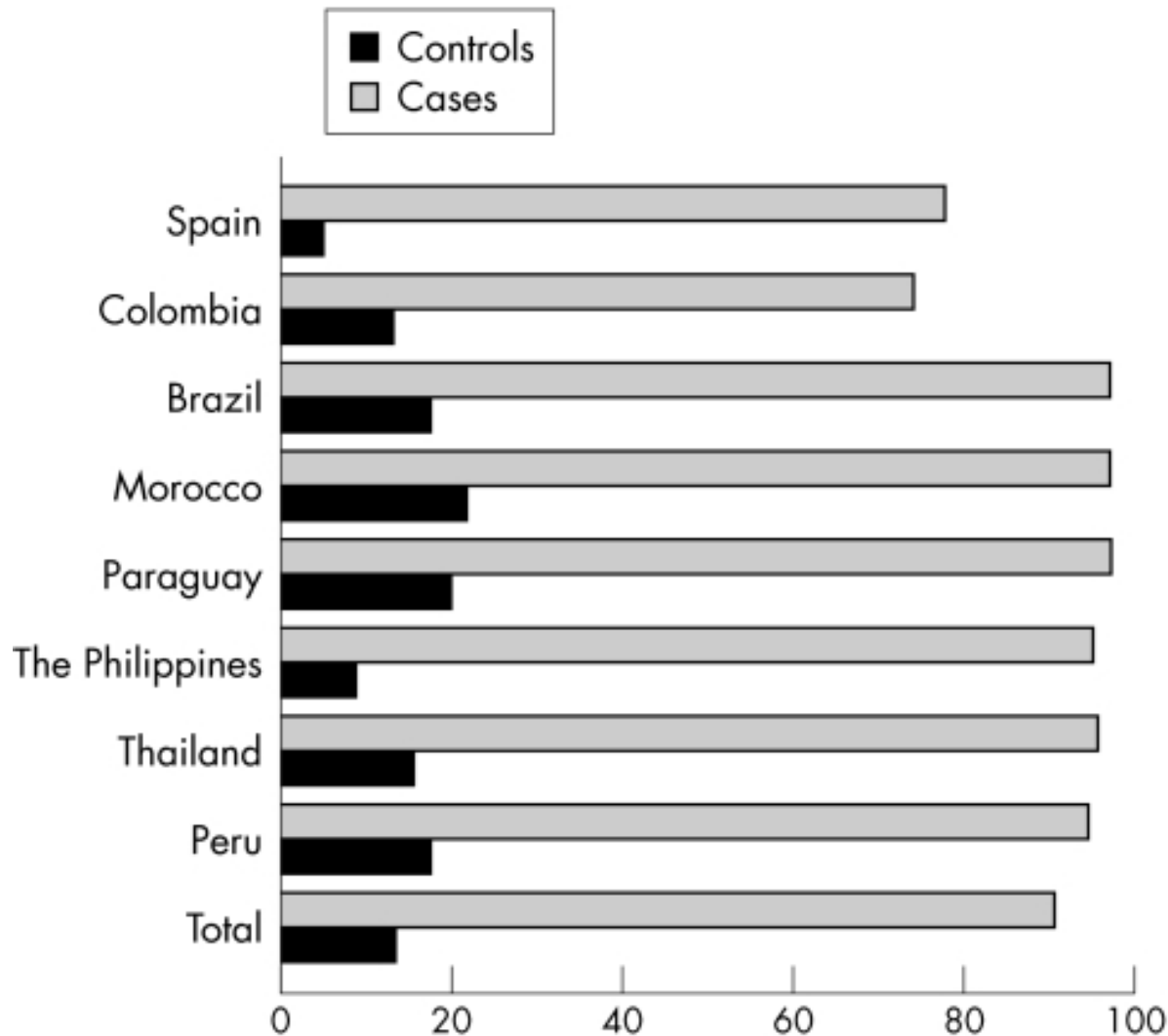


Incidenza di CIN2/3 e di cancro cervicale



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

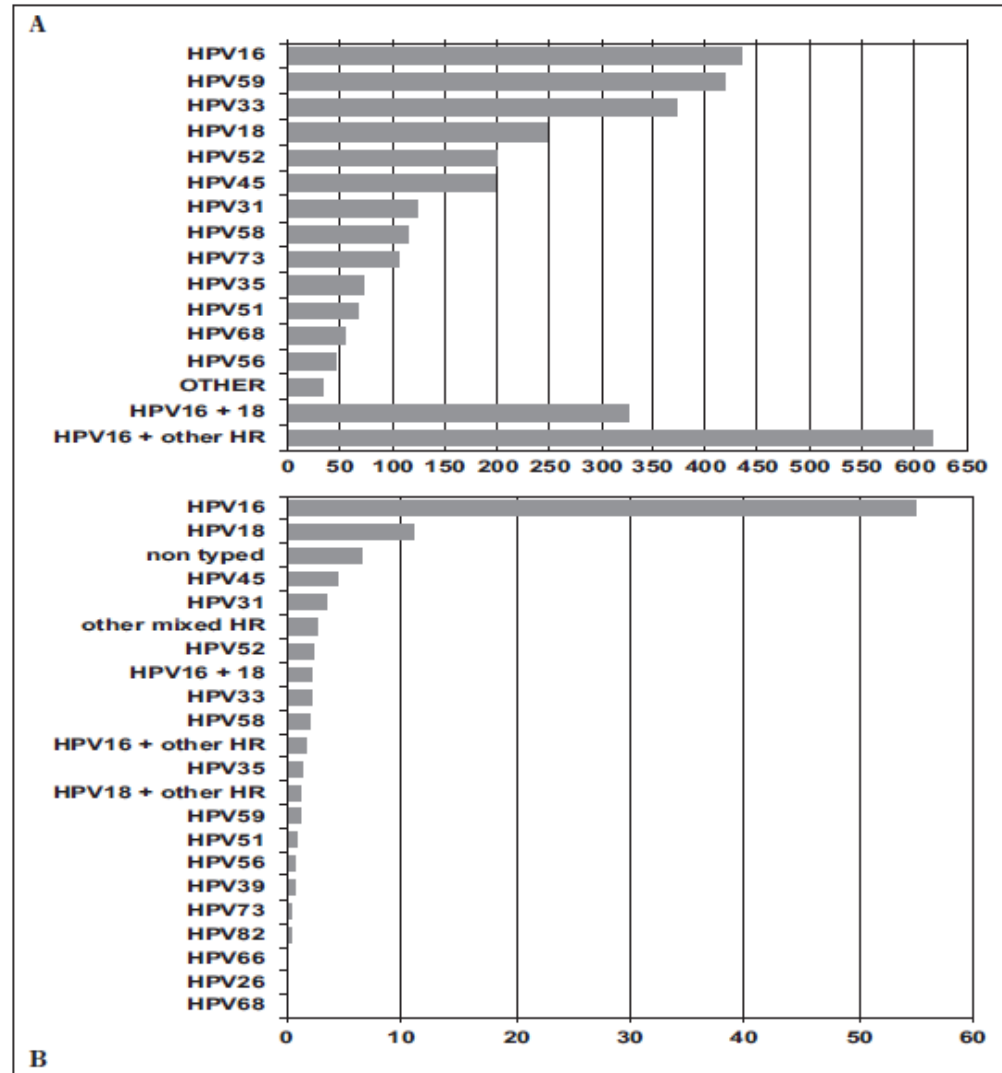
Cancri attribuibili ad HPV

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

RR/OR		AF%
>500	HPV-DNA-18 and cervical adenocarcinoma in the Philippines	99
	HR-HPV-DNA and cervical cancer in Costa Rica	80
100	HPV-DNA and cervical cancer in Bangkok	90
50	HBsAg and liver cancer in Taiwan	60
20	HBsAg and liver cancer in Greece	60
10	HCV and liver cancer in Italy	40
	Cigarette smoking and lung cancer	80
Baseline reference		
0.1	Smoking cessation before middle age in the UK and lung cancer	90
0.6	HBV vaccination of adults in Korea and liver cancer	40
0.1	HBV vaccination of newborns in Taiwan and liver cancer	90

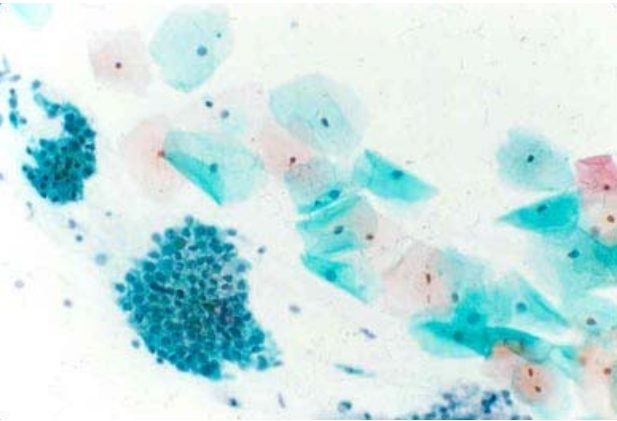
Criteri di causalità

- 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

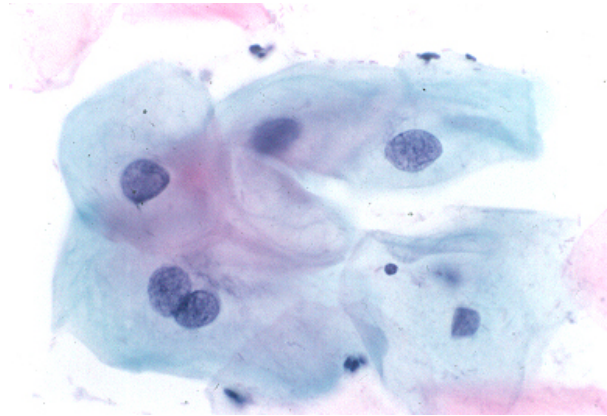
- In Italia, i dati dei registri nazionali tumori relativi agli anni 1998-2002 mostrano che:
 - ogni anno sono stati diagnosticati circa 3.500 nuovi casi di carcinoma della cervice (pari a una stima di incidenza annuale di 10 casi ogni 100.000 donne).
 - Circa 1000 donne sono morte per questa patologia.
 - 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



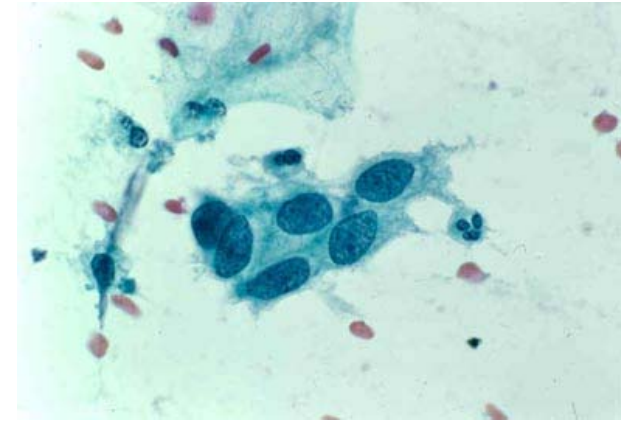
NORMALE:

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



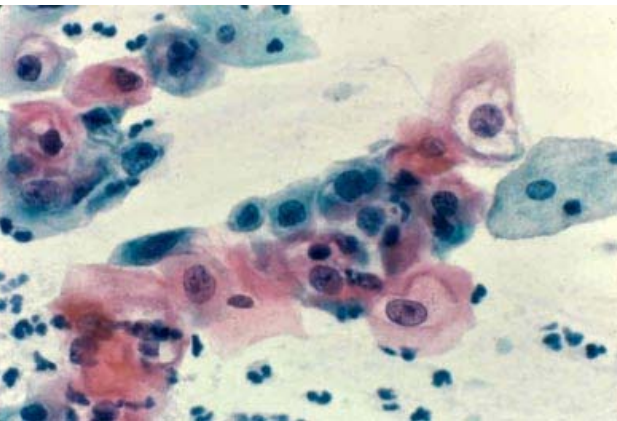
BASSO GRADO:

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



ALTO GRADO:

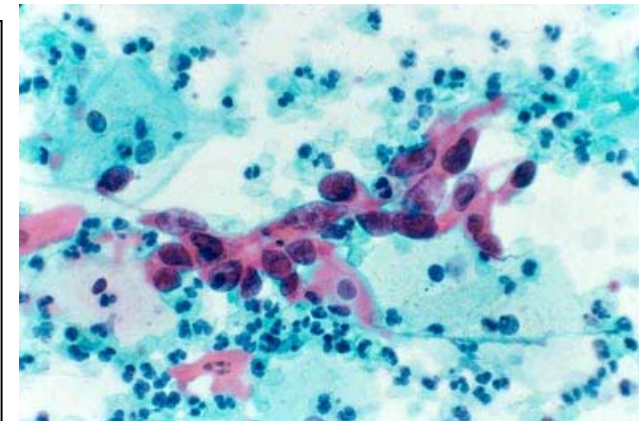
Nuclei blu molto allargati con meno citoplasma ed alto rapporto nucleo/citoplasma.



ASC-US:

Cellule squamose con nuclei ingranditi ma citoplasma ancora abbondante.

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



CANCRO QUAMOSO:

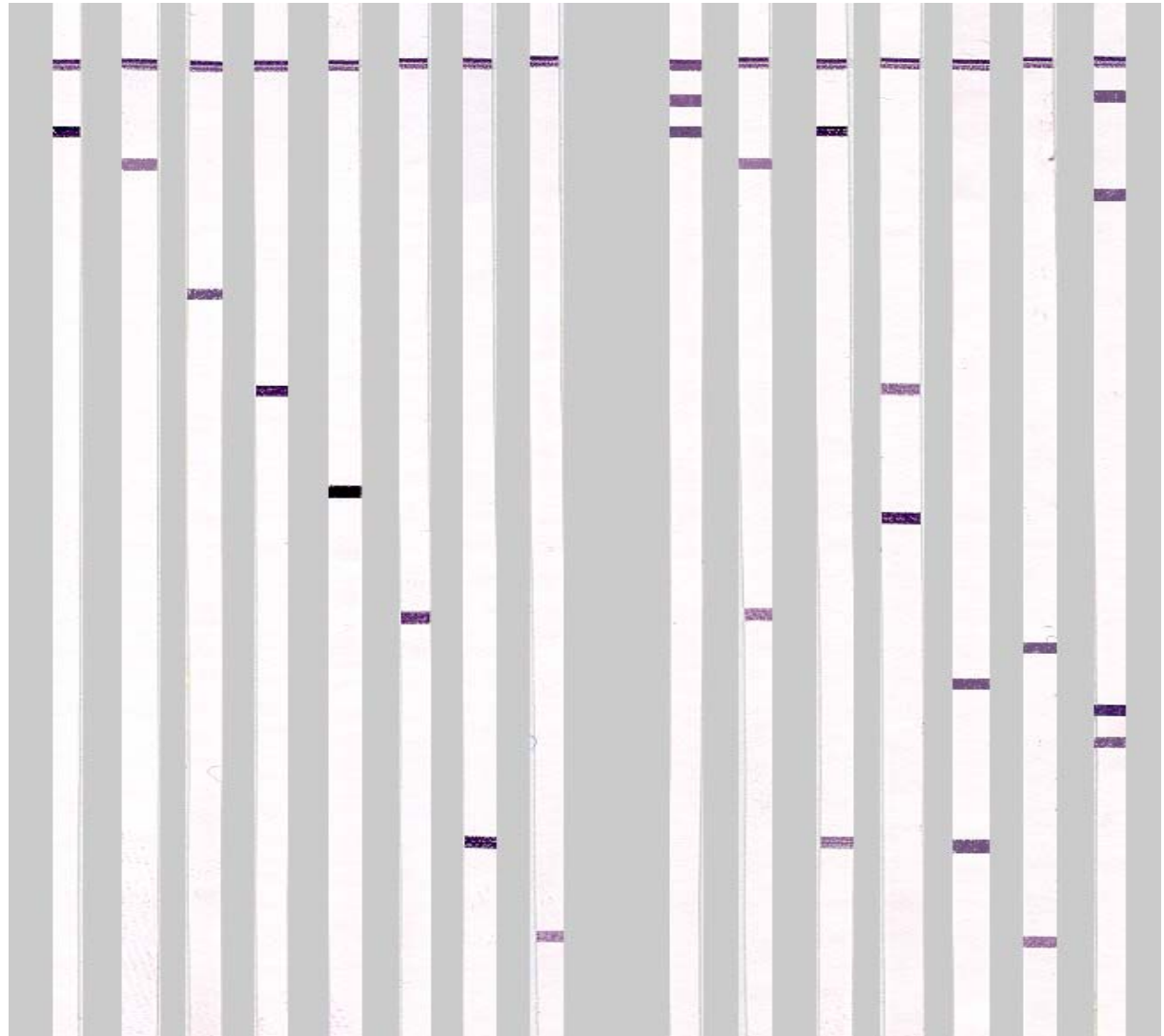
Nuclei molto allargati con irregolare distribuzione di materiale nucleare e nucleoli; citoplasma denso rosa/arancio.

PCR e Genotipizzazione

Probe

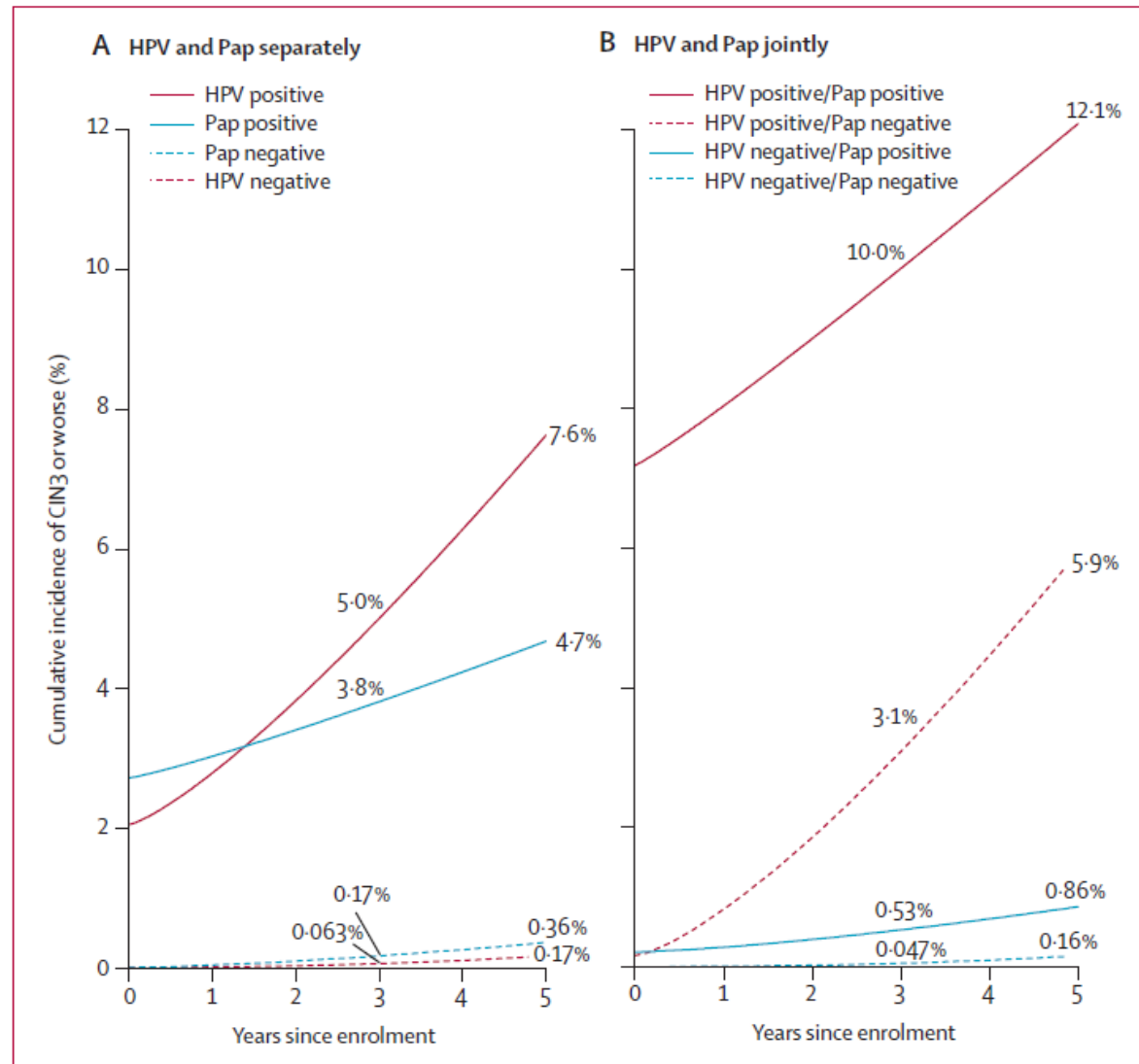
- 1 = Conjugate control
- 2 = HPV 6
- 3 = HPV 11
- 4 = HPV 16
- 5 = HPV 18
- 6 = HPV 18
- 7 = HPV 31 / 40 / 58
- 8 = HPV c31
- 9 = HPV 33
- 10 = HPV 34
- 11 = HPV 35
- 12 = HPV 39
- 13 = HPV 40
- 14 = HPV 42
- 15 = HPV 43
- 16 = HPV 44
- 17 = HPV 45
- 18 = HPV 51
- 19 = HPV 52
- 20 = HPV 53
- 21 = HPV 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

11 16 54 35 42 51 66 70

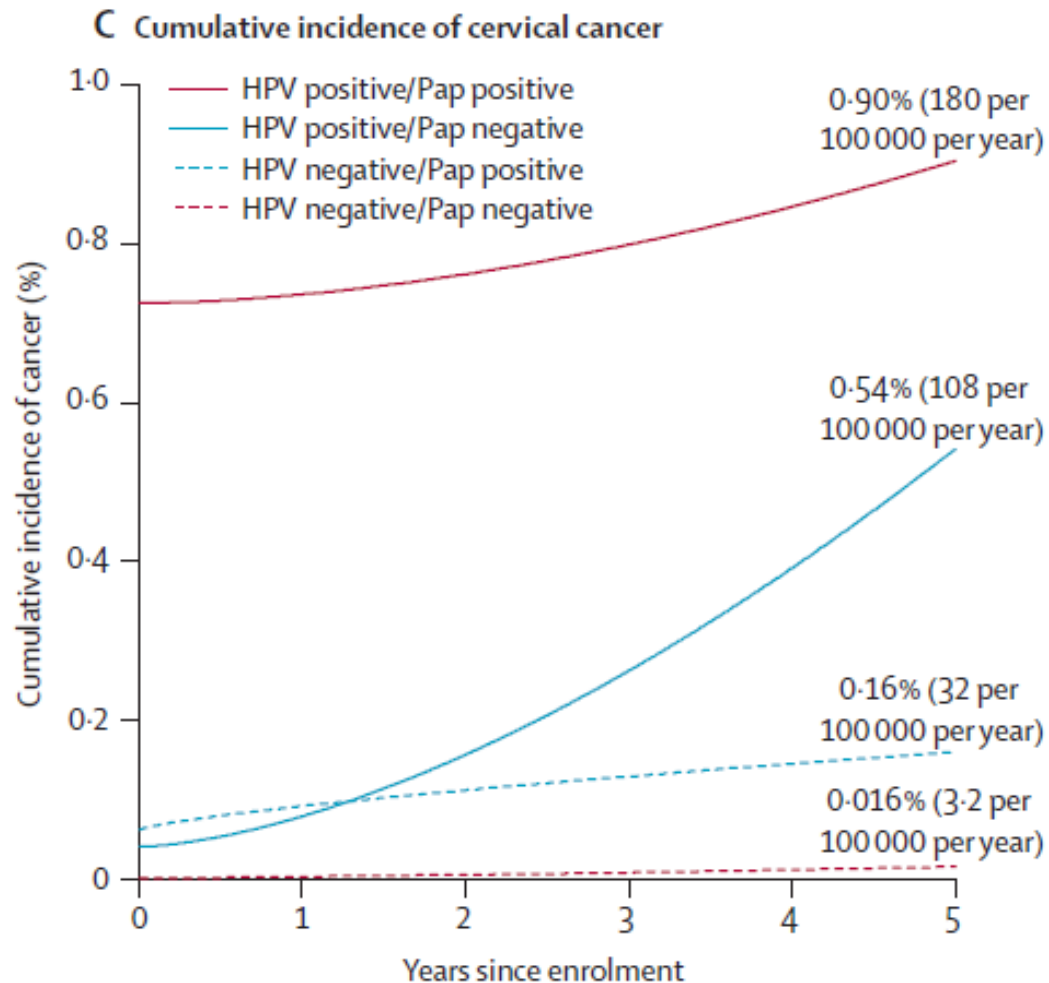


Predittività dei test

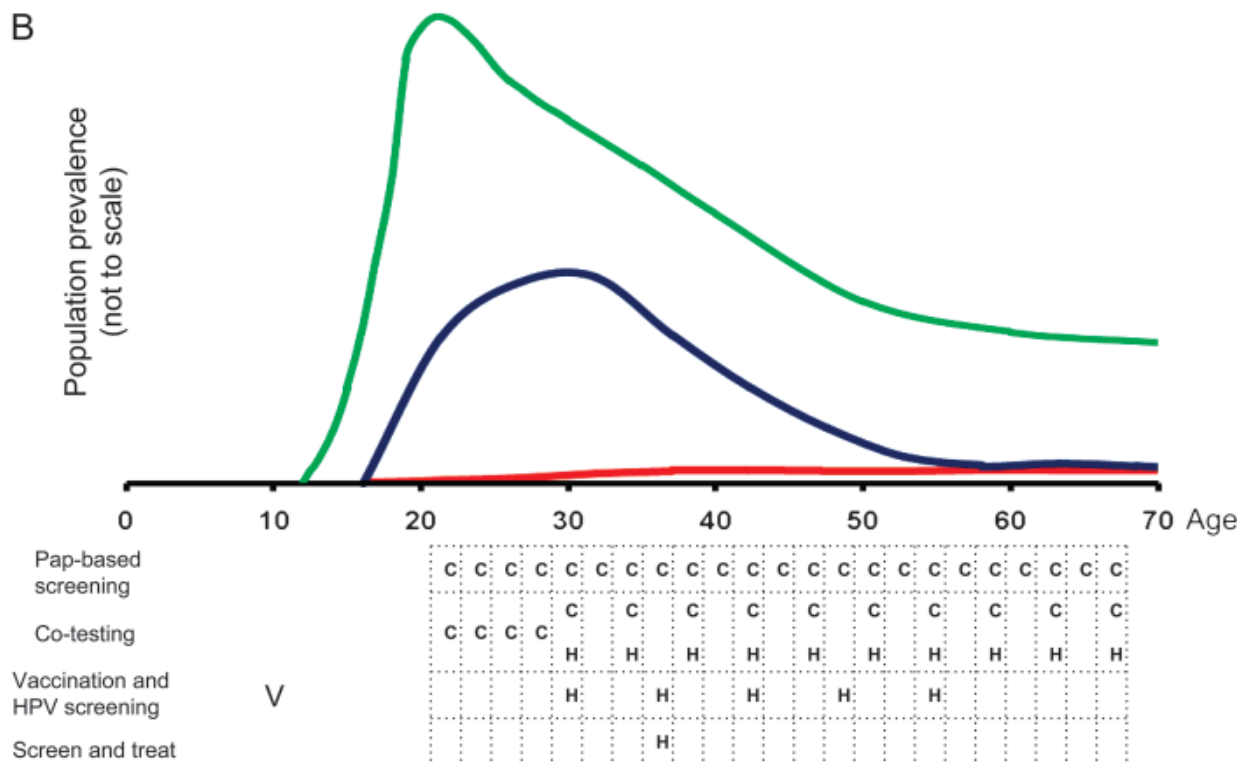
- A. Incidenza cumulativa di CIN3 o superiore in funzione del risultato del pap test o del HPV test
- B. Incidenza cumulativa di CIN3 o superiore in funzione del risultato dei test combinati



Incidenza di cancro e test



Strategie di prevenzione



Grazie per l'attenzione!