



Dott.ssa M. Comar

Dipartimento di Scienze di Medicina Pubblica
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TRIESTE
UCO Igiene-IRCCS Burlo Garofolo

La storia...

La prima conferma della relazione tra **coilocitosi ed infezione da HPV** in ordine di tempo è italiana (Della Torre, 1978) con la dimostrazione **ultrastrutturale** di particelle virali riferibili ad HPV nei nuclei con alone.

Segue la dimostrazione **immunocitochimica** usando un siero contro l'antigene comune interno capsidico presente in tutti gli HPV;

infine quella **molecolare** (De Villers, 1981) con il clonaggio di HPV DNA da un condiloma genitale

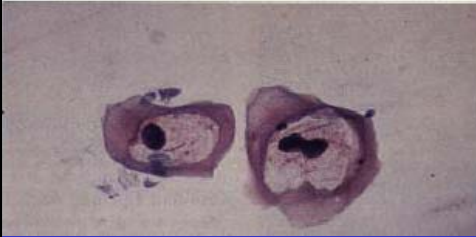


UNUSUAL PATTERNS OF SQUAMOUS EPITHELIUM OF THE
UTERINE CERVIX: CYTOLOGIC AND PATHOLOGIC
STUDY OF KOILOCYTOTIC ATYPIA

By Leopold G. Koss and Grace R. Durfee
*The Sirany Laboratory of Cytology and the Pathology Laboratories, Memorial Center for
Cancer and Allied Diseases, New York, N. Y.*

Ann. N.Y. Acad. Sci. **63**, 1245-1261, 1956

Figure 1. Facsimile of the title of the paper introducing the term koilocytosis. Reproduced with permission of the New York Academy of Sciences.



Role of the Halo Cell in Cervical Cancerigenesis

A virus manifestation in premalignancy?

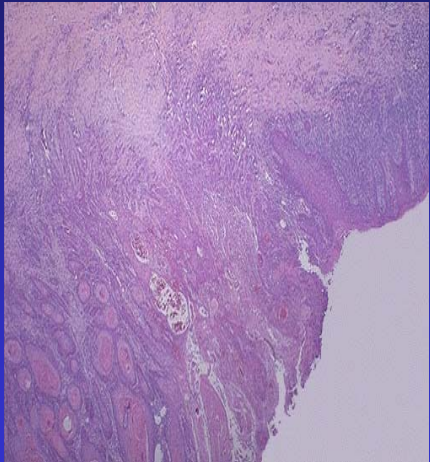
J. ERNEST AYRE, M.D.*

Obst. and Gyn. **15**, 481-491, 1960

Figure 5. Facsimile of the title of the paper by J. Ernest Ayre suggesting possible viral origin of koilocytosis. Reproduced with permission of Obstetrics and Gynecology.

HPV e cancro della cervice

- Meisels 1976**
HPV-condyloma-CIN correlation
- Zur Hausen 1982**
Ca as results of viral infection
- Durst 1983**
HPV 16 DNA is detected in Ca
- Zur Hausen 1989**
HPV viral oncogene E6/E7
- Dyson 1989**
HR-HPV E7 binds pRB
- Werness 1990**
HR-HPV E6 binds p53



Human Papillomavirus è un virus a DNA appartenente alla famiglia dei Papovaviridae.

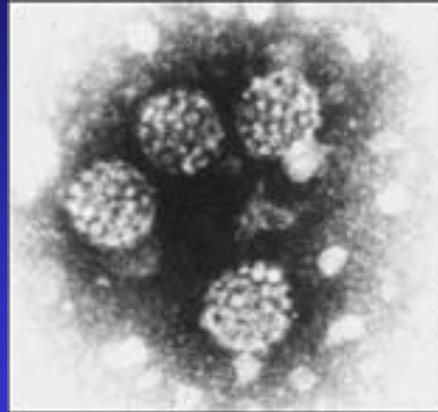
HPV

Induce lesioni iperproliferative degli epitelii cutanei e delle mucose.

Sono stati identificati più di 100 genotipi dei quali circa 30 infettano specificatamente l'epitelio genitale.

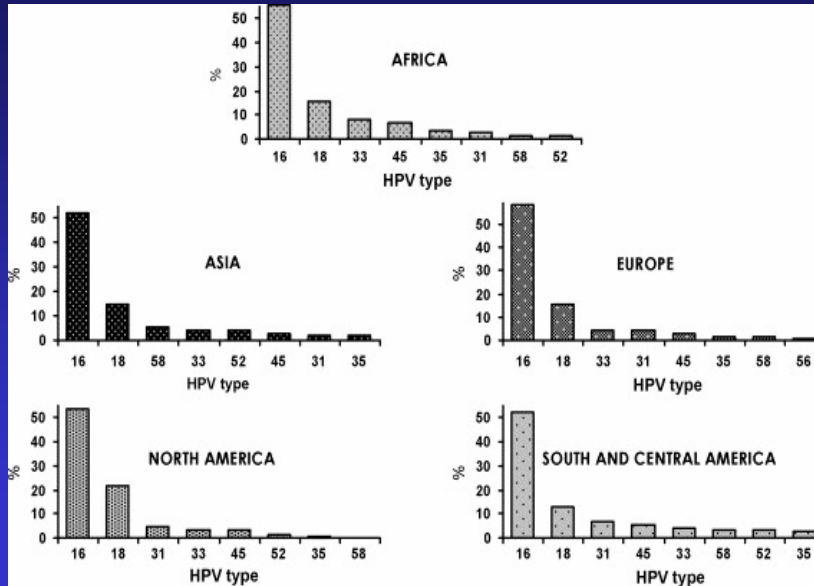
“HPV low-risk” sono associati con lesioni epidermoidali benigne e raramente sono presenti in lesioni neoplastiche

“HPV high-risk” sono associati con lo sviluppo di lesioni maligne preinvasive e tumorali



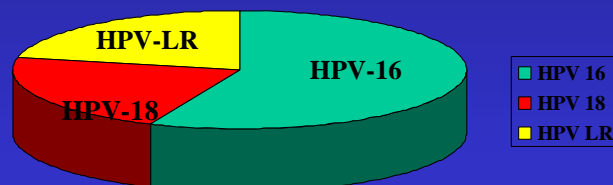
TIPI DI LESIONI	SEDE	TIPI DI HPV
Verruche volgari	cute, sedi varie	2,4
Verruche plantari e palmari	mani, piedi	1, 2, 4
Verruche dei macellai	mani	7
Verruche piane	cute, sedi varie	3
Verruche genitali (condilomi acuminati)	cervice uterina, vulva, pene	6, 11
Papilloma laringeo giovanile	laringe	6, 11
LESIONI MALIGNI		
Verruche piane	cute	10
Papulosi	vulva, pene	16
Neoplasia intraepiteliale premaligna	cervice uterina, pene	6, 11, 16, 18, 31, 40, 42, 44
Carcinoma	cervice uterina, pene	16, 18
Papilloma/carcinoma	laringe	16
Epidermodisplasia verruciforme	cute, sedi varie	molti tipi, tra i quali 5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 19

Prevalenza genotipi virali associati a CA

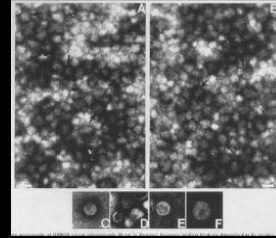
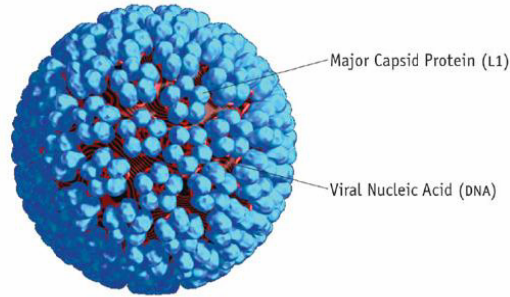


Prevalenza di infezione di HPV in una casistica selezionata nell'area di Trieste

Totale Campioni	HPV-pos	HPV-LR	HPV-HR	HPV-16	HPV-18
356	155/356 (43,5%)	30/155 (19,4%)	127/155 (82%)	64/127 (50,4%)	25/127 (19,7%)



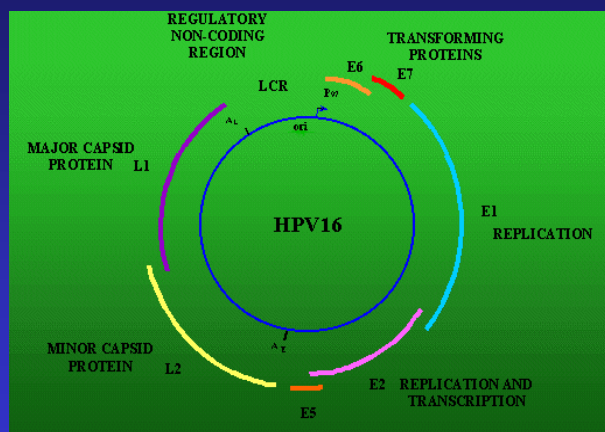
THREE-DIMENSIONAL MODEL OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS



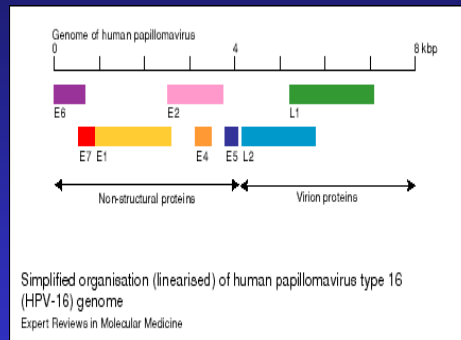
© Physicians' Research Network, Inc. All rights reserved.
 Published in The PRN Notebook, Volume 6, Number 3, September 2001 and The PRN Notebook Online at www.prn.org.
 Three-dimensional model of HPV created by Louis E. Henderson, Ph.D., Frederick Cancer Research Center.

- Doppia molecola di **Dna** circolare contenente 8 ORFs. Trascritte come mRNA polcistronico
- 2 promotori maggiori **P97** e **P72** che promuovono distintamente la trascrizione dei geni.
- **LCR** regione di controllo, non codificante, sede di interazione con fattori cellulari Sp-1, Oct-1 e YY1, per la regolazione negativa o positiva della trascrizione di HPV

Genoma



- La regione “early” (E1-8) è costituita da geni responsabili dei processi di replicazione, trascrizione plasmidica e trasformazione.
- La regione “late” codifica per le proteine strutturali del capsido maggiore (L1) e minore (L2).



Trasmissione del virus

- **Contatto sessuale:** 95% delle persone infette acquisiscono il virus per questa via
- **Trasmissione verticale** da madre infetta al neonato. Meno frequente. Difficile da rilevare a causa del periodo di latenza tra esposizione e manifestazione clinica.
- **Trasmissione orizzontale.** Rara.

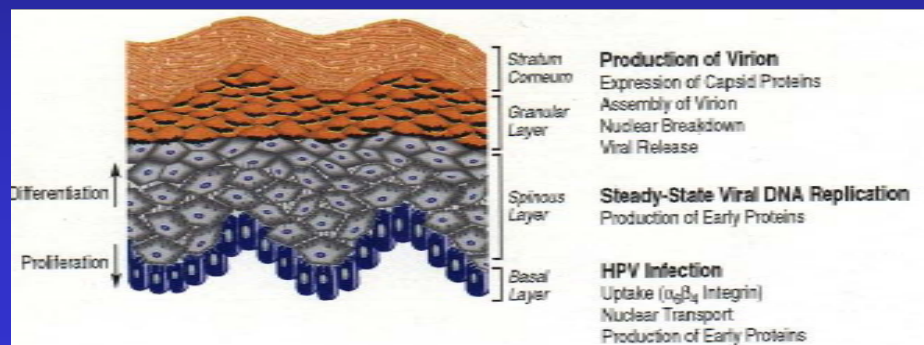
La trasmissione dell'infezione avviene per contatto diretto.

Gli epiteli sottili (mucose) sono i più suscettibili all'infezione.

L'infezione avviene nei cheratinociti basali replicanti capaci di raggiungere una differenziazione fino a maturazione completa.

E' necessario un microtrauma per raggiungere la cellula target .

	SINTESI DNA	SINTESI CAPSIDE
STRATO CORNEO	-	+
GRANULOSO	+++	+++
SPINOSO	+ / -	-
BASALE	+ / -	-



Nelle **verruche benigne** e nelle **lesioni preneoplastiche** il genoma dell'HPV rimane allo stato **episomiale** (non integrato), mentre nei **carcinomi** esso è generalmente **integrato** nel genoma della cellula ospite.

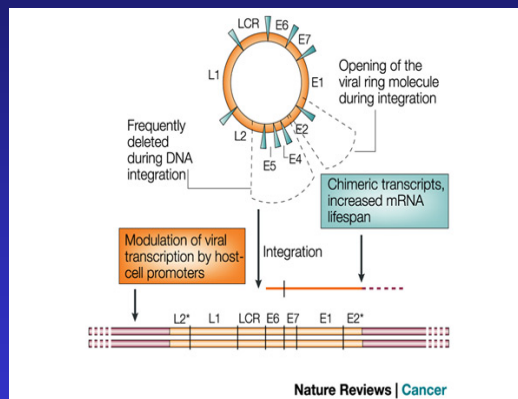


Questo indica che l'integrazione del DNA virale è importante per la trasformazione maligna.

Trasformazione cellulare: integrazione di HPV

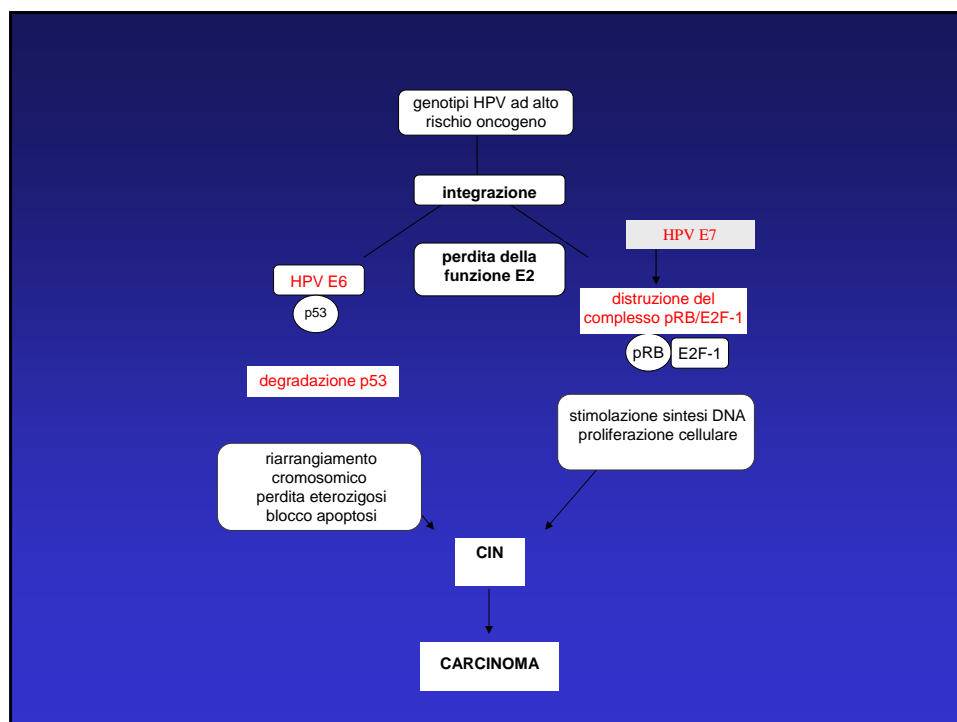
- L'integrazione abolisce l'effetto inibitore della proteina **E2** esercitato sul promotore virale dei geni **E6** ed **E7**.

- Sebbene il sito di integrazione del DNA virale nei cromosomi della cellula ospite sia casuale, il tipo di **integrazione è clonale**: lo stesso in tutte le cellule che compongono una determinata neoplasia.



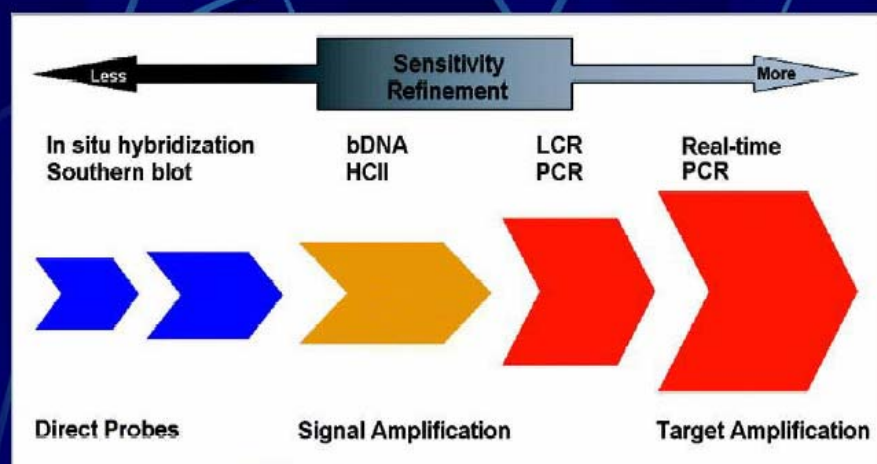
Trasformazione cellulare: E6-E7

- La capacità di progressione oncogena di HPV è attribuita all'espressione e alla capacità di due **proteine virali E6 ed E7** di interferire con i processi di controllo del ciclo cellulare.
- In particolare, queste proteine agiscono come fattori transattivanti che regolano la trasformazione cellulare.

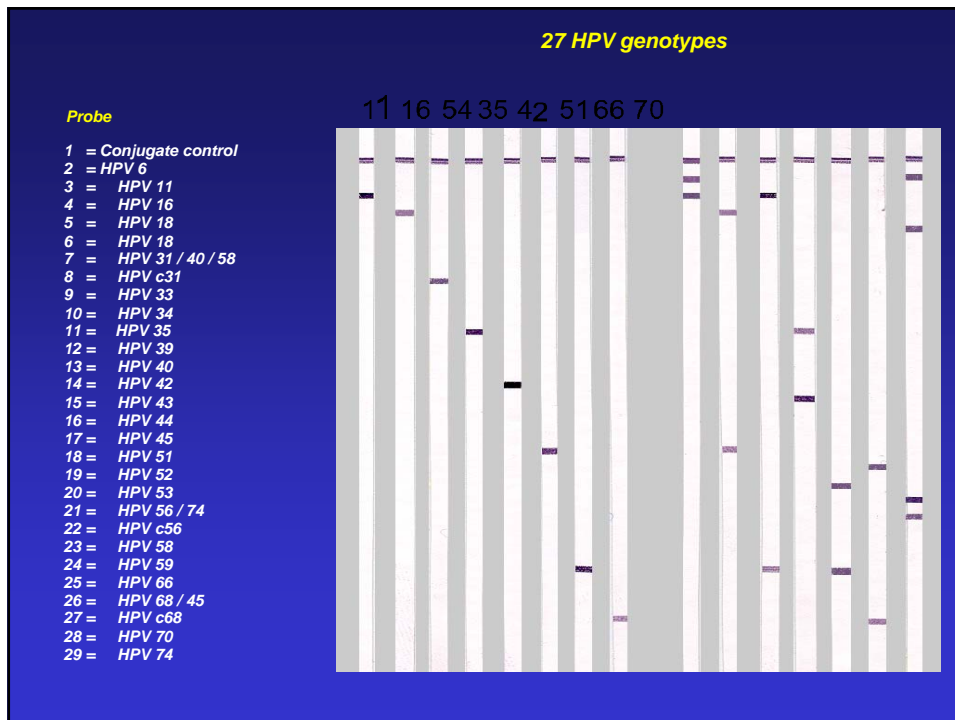


Metodi di individuazione di HPV DNA

Tecniche	Descrizione	Commenti
Southern Blot	Ibridiz su DNA digerito su un supporto	Specificità molto alta, molto laborioso
Dot Blot (es Virapap/Viratype)	Ibridiz su DNA purificato su filtro	Alta specificità, laborioso
Ibridazione in Situ (ISH) (es INFORM HPV III)	Ibridiz diretta su cellule o tessuti	Conservazione della morfologia, (1-2 copie HPV su SiHa cell)
Hybrid Capture II	Ibridiz liquida con RNA probes	Amplificazione del segnale
PCR (es Amplicor test LIPA,Real-time)	Amplificazione di DNA in vitro	Amplificazione target



Hubbard RA, Arch Pathol Lab Med, Vol.127,2003



Marcatori predittivi

- Polymorphism at cd 72 of p53
- HLA (DRB1-DQB1/DQB1)
- Viral load
- HPV varianti
- Integrazione virale: E6/E7 mRNA
- Markers precoci di trasformaione
- Nessun risultato conclusivo
- Maggiore o minore suscettibilità
- In corso di valutazione
- Varianti non-europee presentano un maggiore potenziale oncogeno
- Associazione con l'oncogenesi
- P16, survivina ERK1

**P53 AT CODON 72 POLYMORPHISM, HUMAN PAPILLOMAVIRUS
INFECTION AND CERVICAL LESIONS : A CROSS-SECTIONAL STUDY
FROM NORTHEASTERN ITALY .**

Objective: To test the hypothesis that p53 homozygous Arg/Arg genotype at codon 72 is a significant risk factor for the development of HPV induced cervical cancer.

Study design: A cross-sectional survey on p53 allelotypes distribution in women with different grade of cervical lesions and with or without HPV infection, in comparison to the distribution on a control group of women cytologically normal and HPV negative.

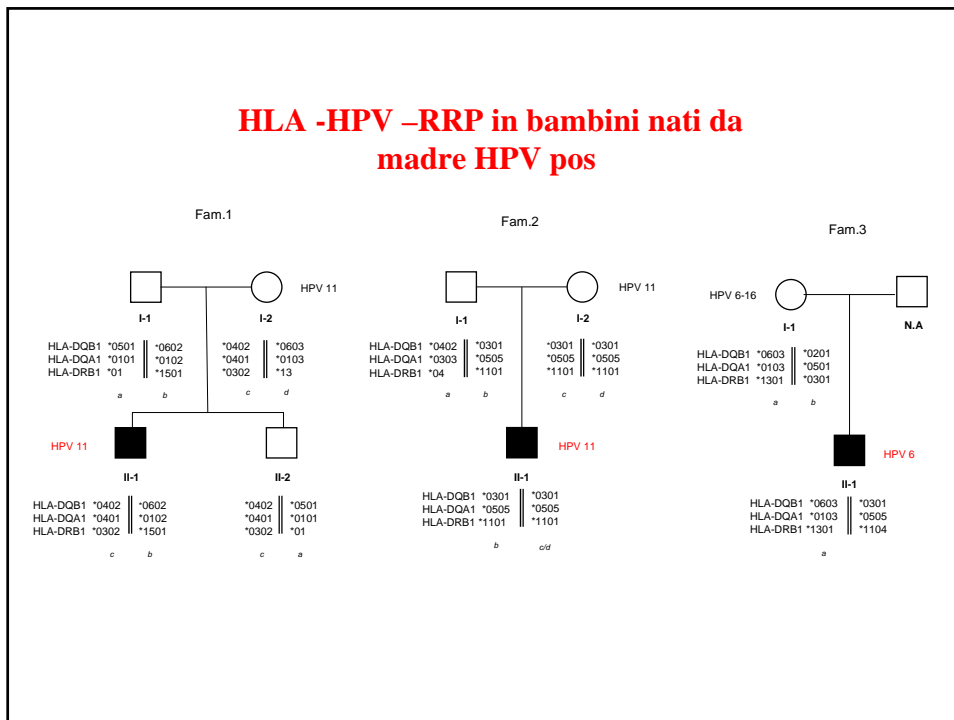
Results: No statistically significant difference in the p53 polymorphism distribution was found in relation to the infection with HPV, the cytological pattern and both conditions. A modest but constant over-representation of Pro-allelotypes was found in all groups in comparison to the control group.

Conclusion: Searching for p53 polymorphism in clinical setting does not seem to support secondary prevention procedures, at least for women of this area.

Associazione HLA e Ca della cervice

Gruppi confrontati	Allele individuato	p	effetto
HPV+ / HPV- bassa risoluzione	/	/	/
HPV+ / HPV- alta risoluzione	DRB1 *0407	P = 0,021 Py = 0,073	protettivo
HPV+ alto / basso rischio bassa risoluzione	DRB1 *10	P = 0,0123 Py = 0,0605	Protettivo (?)
HPV+ alto / basso rischio alta risoluzione	DRB1 *1104	P = 0,0123 Py = 0,0605	protettivo
HPV+ alto / basso rischio alta risoluzione	BQB1 *0604	P = 0,0425 Py = 0,205	protettivo
HPV+ alto rischio / HPV-	DQB1 *04	P = 0,0275 py = 0,09	predisponente
HPV+ alto rischio / HPV-	DRB1 *1104	P = 0,0338 Py = 0,0964	protettivo

HLA -HPV –RRP in bambini nati da madre HPV pos



Varianti geniche di HPV

- Diversità intratipica per gli HPV 16-18 45-11-6
- 2% in regioni codificanti e 5% in quelle non-codificanti
- **Mutazioni specifiche nei geni L1/L2** sono importanti per il potenziale d'infezione
- Variazioni specifiche nel gene E6 interferiscono con la risposta immune T-citotossica.
- **V europea:** Ep-T350; E-G350 **V non-europea:** AA; Af1

Determinazione dell'espressione degli mRNAs di E6/E7

- La persistenza **dell'espressione oncogenica di HPV** è uno dei più importanti fattori associati al rischio di sviluppo del cancro della cervice.

Il grado di espressione di E6/E7 è strettamente correlato con il grado della lesione : in lesioni di alto grado il virus esprime queste proteine ad alti livelli attraverso tutti gli strati dell'epitelio.



Il Test è in grado di fornire indicazioni sulla **persistenza** e sulla **valutazione del rischio di sviluppo del cancro della cervice** attraverso l'identificazione di HPV-RNA .

Prospettive: la prevenzione del cancro della cervice

