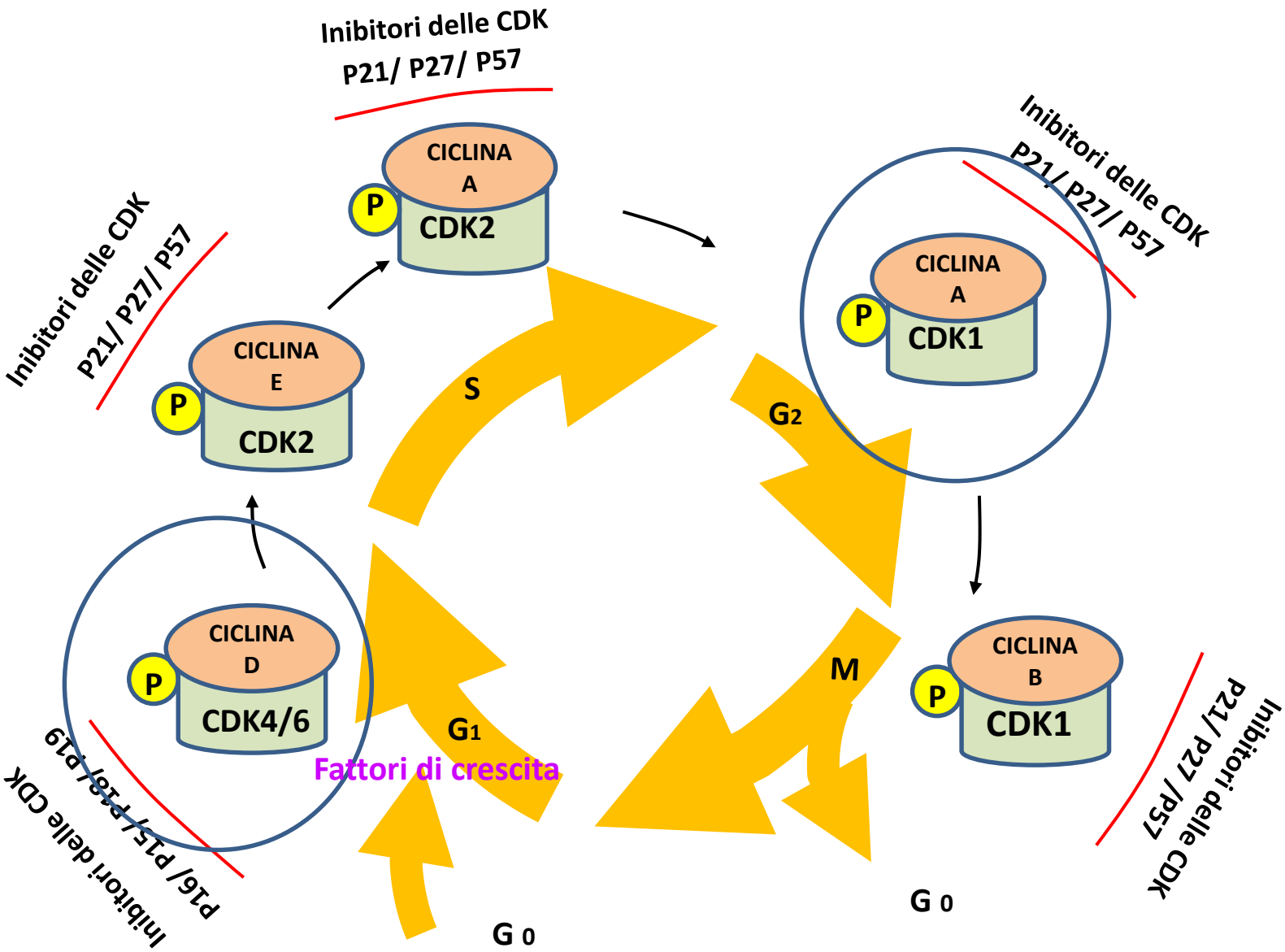
Definizioni istologiche e citologiche basali

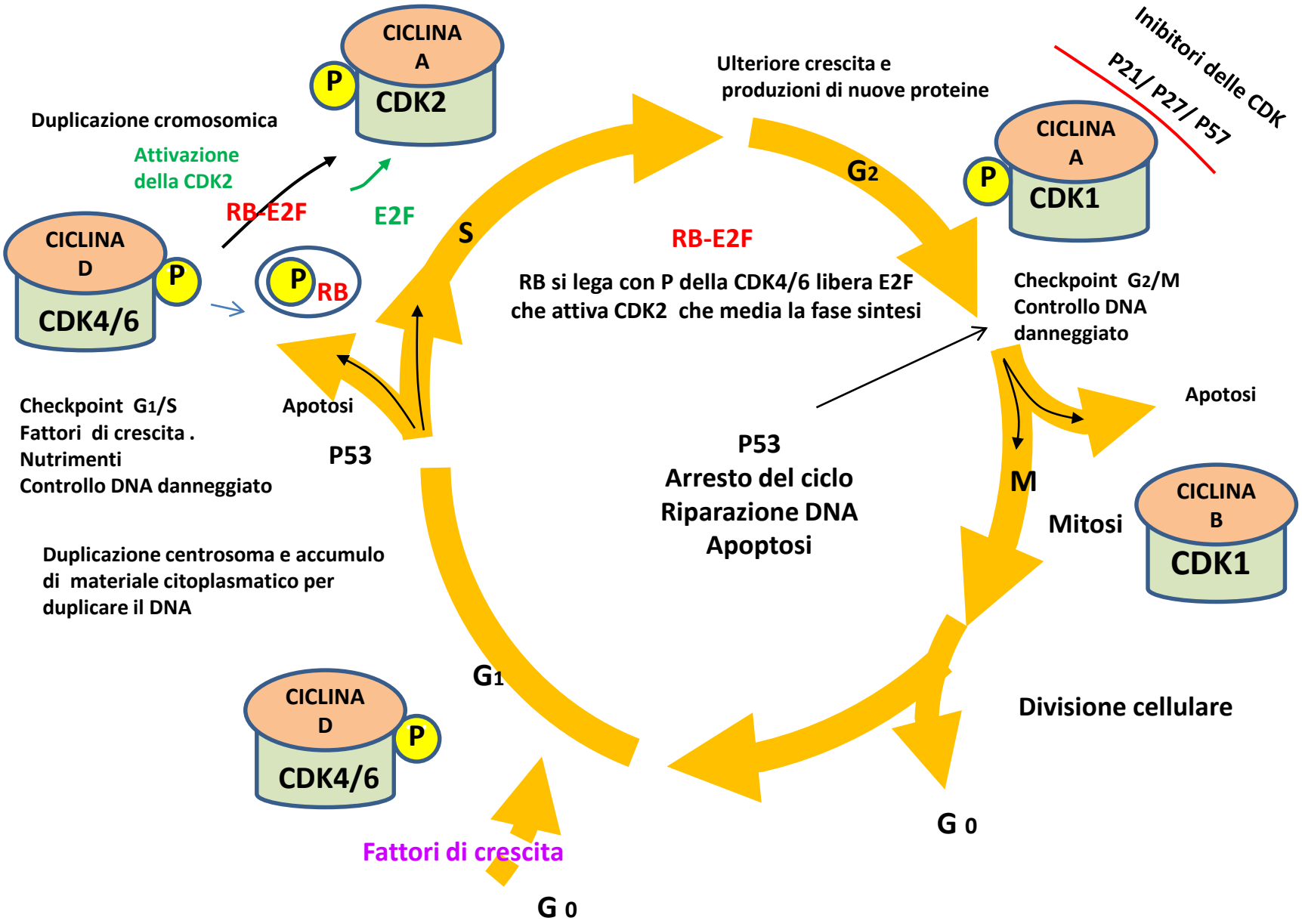
Dalla biologia molecolare alla morfologia

Cesare Gentili Carrara

Ciclo cellulare



Ciclo cellulare



Principali caratteristiche dell'HPV

Virus DNA costituito da una catena circolare a doppia elica con circa 8000 paia di basi rivestito da un capside a struttura isocaedrica

Specie specifico

Il tipo di virus è identificato dalle proteine per il capside (L1-L2)

Epiteliotropo e tessuto specifico

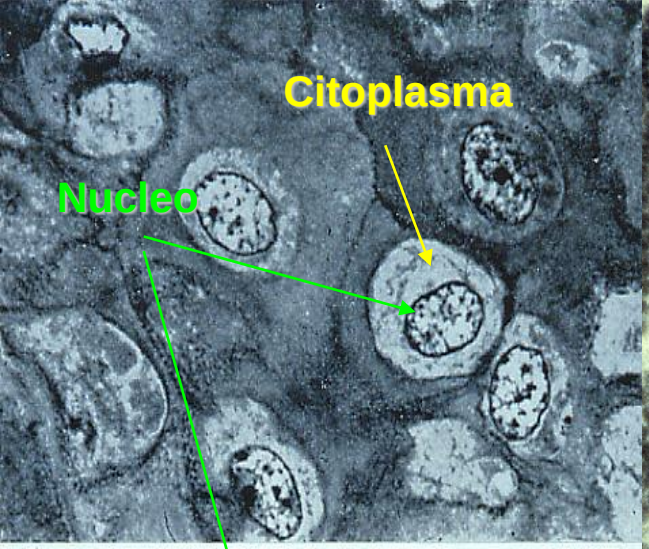
Condilomi, verru
papillomi

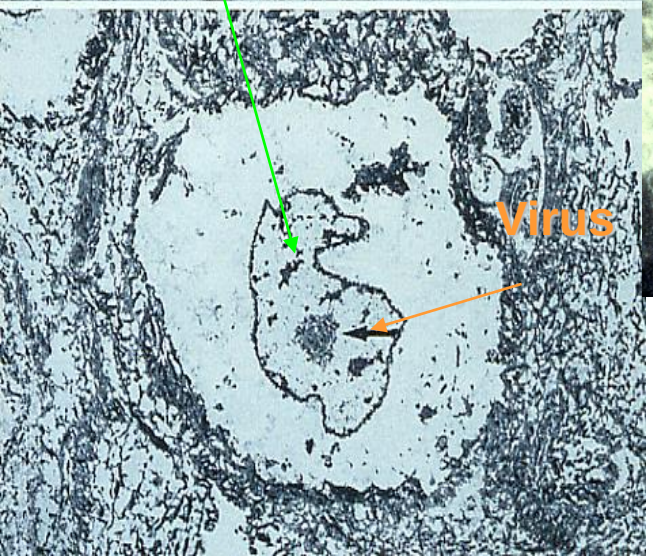
LR
-Cutanei
-Anello genomico stabile
-Media e t[illegible] Caratteristiche dell'ospite [illegible]on gli inibitori della crescita
Però
-Capaci di attività trasformante
-Lunga latenza e persistenza
in fase produttiva

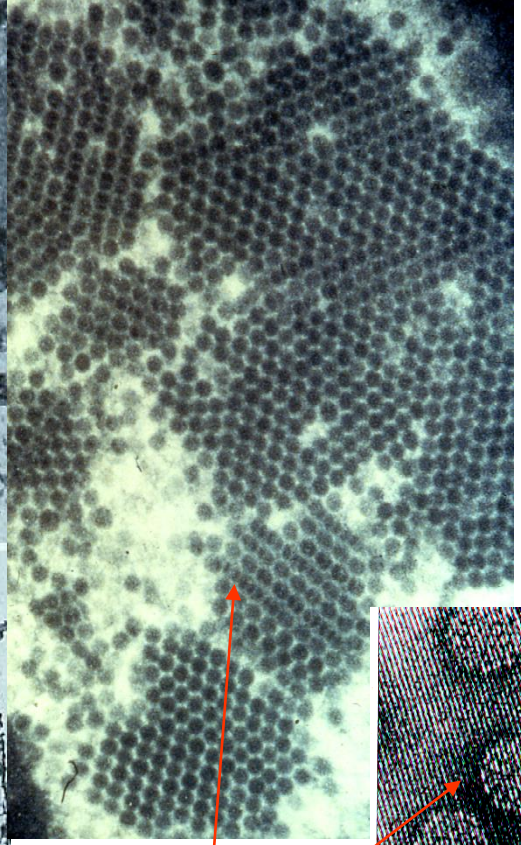
sali

R

cutanei

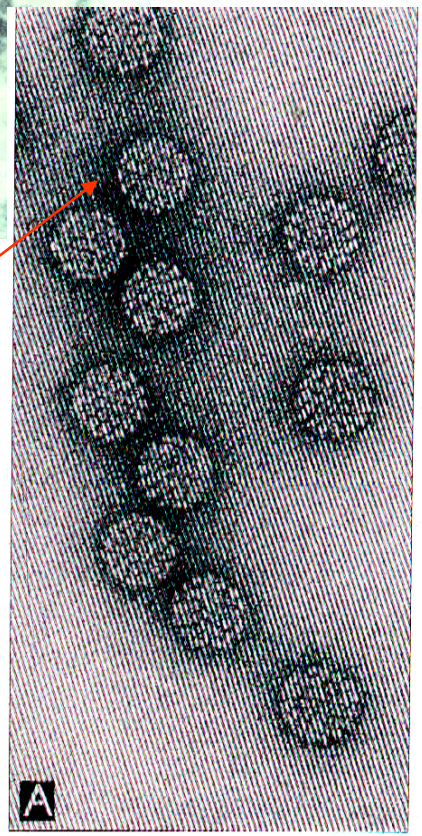


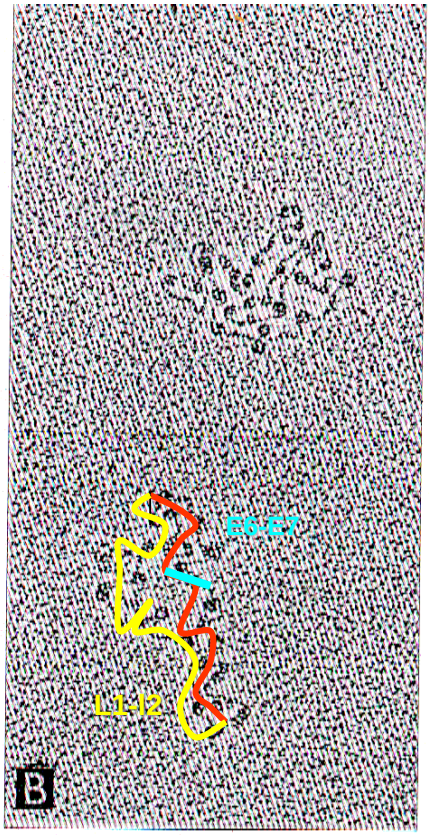




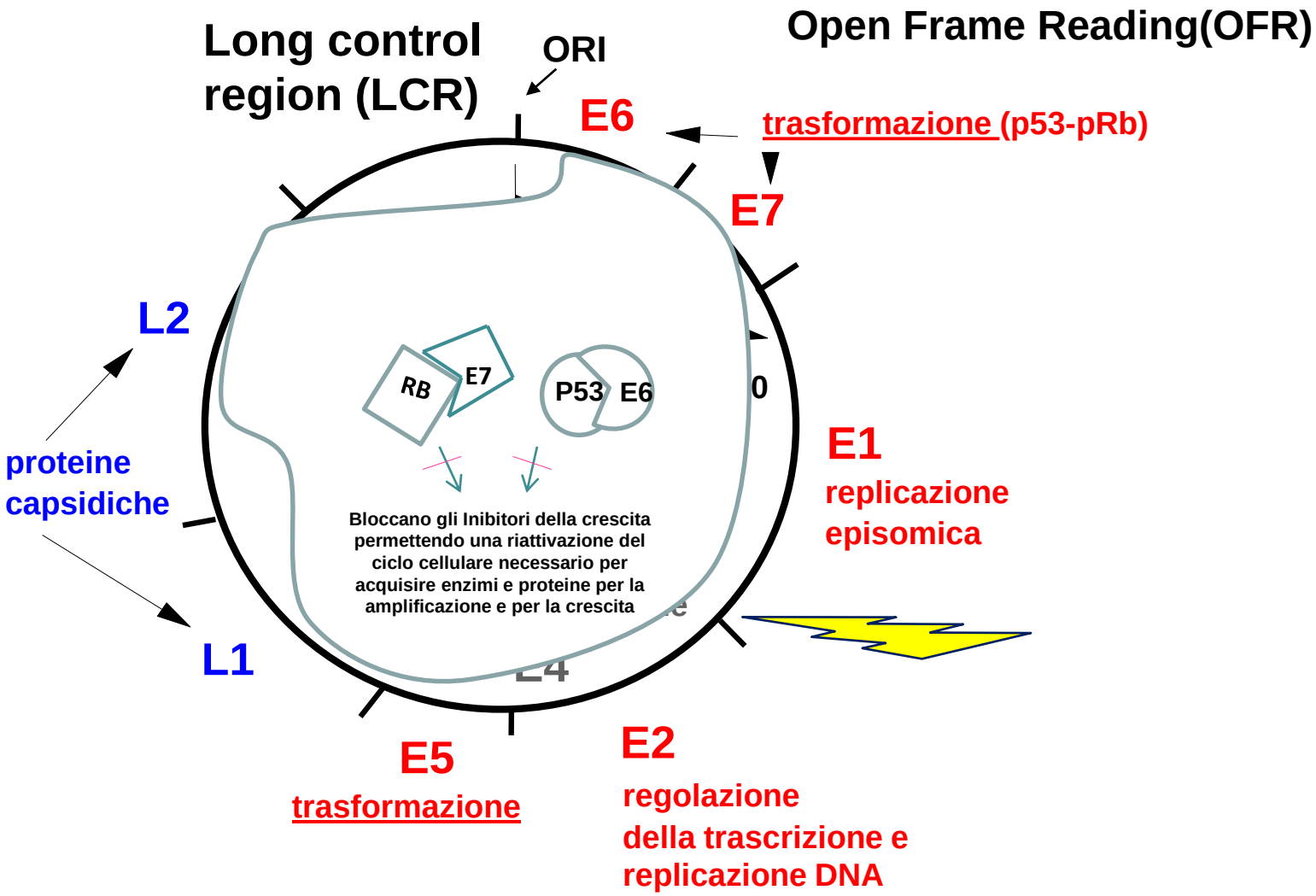
capside

Il DNA virale in forma episomica è circolare e spiralizzato

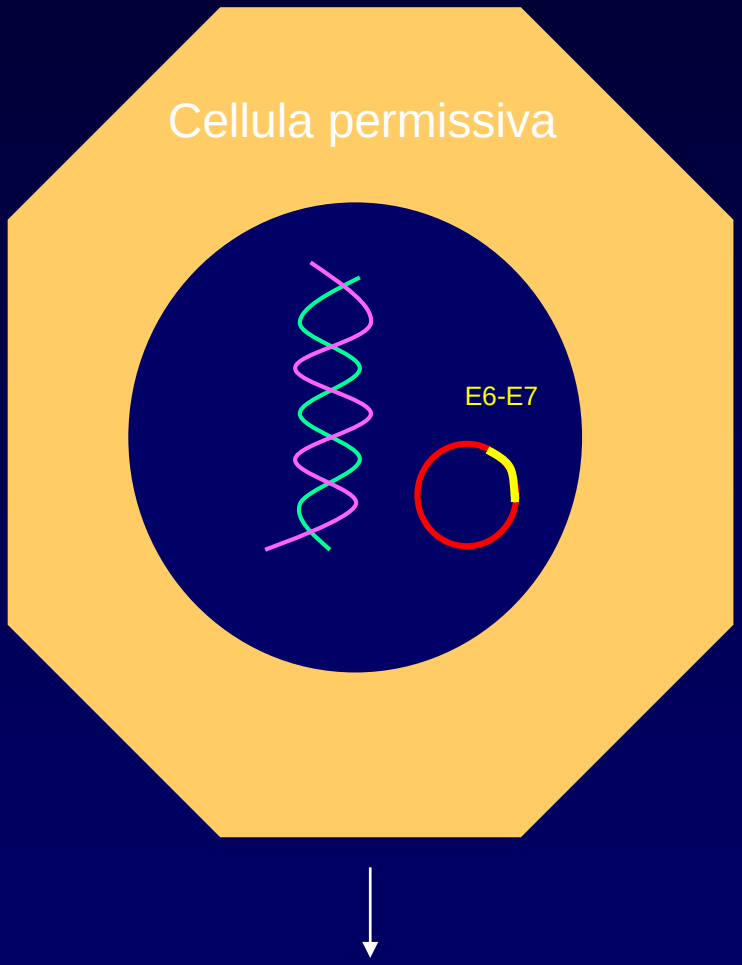




Organizzazione del genoma HPV

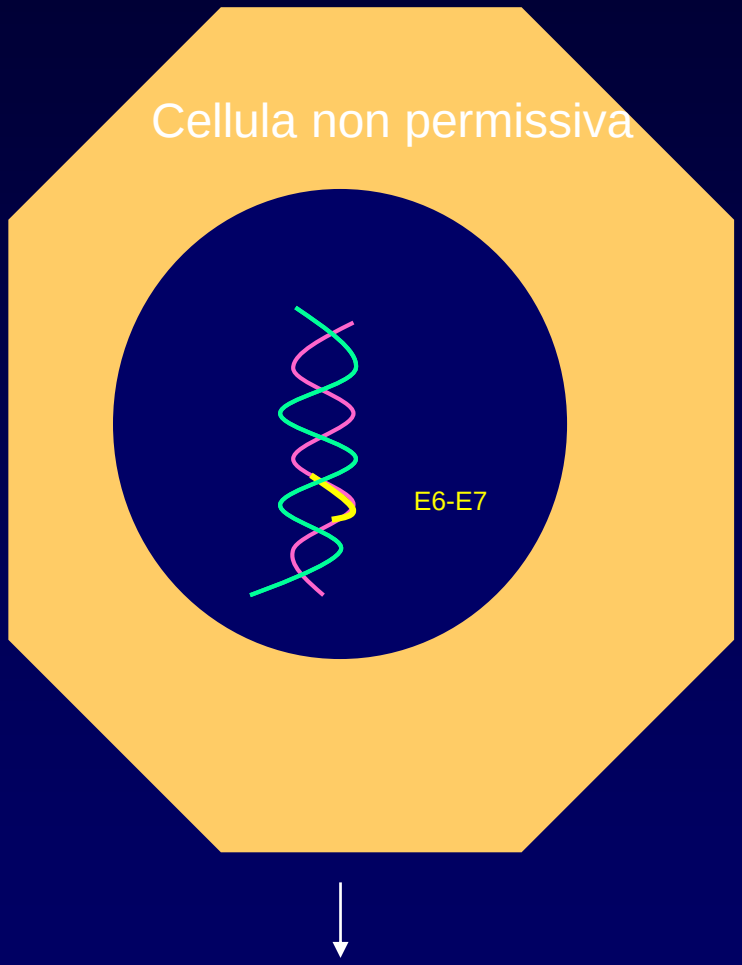


HPV in forma episomiale produttiva



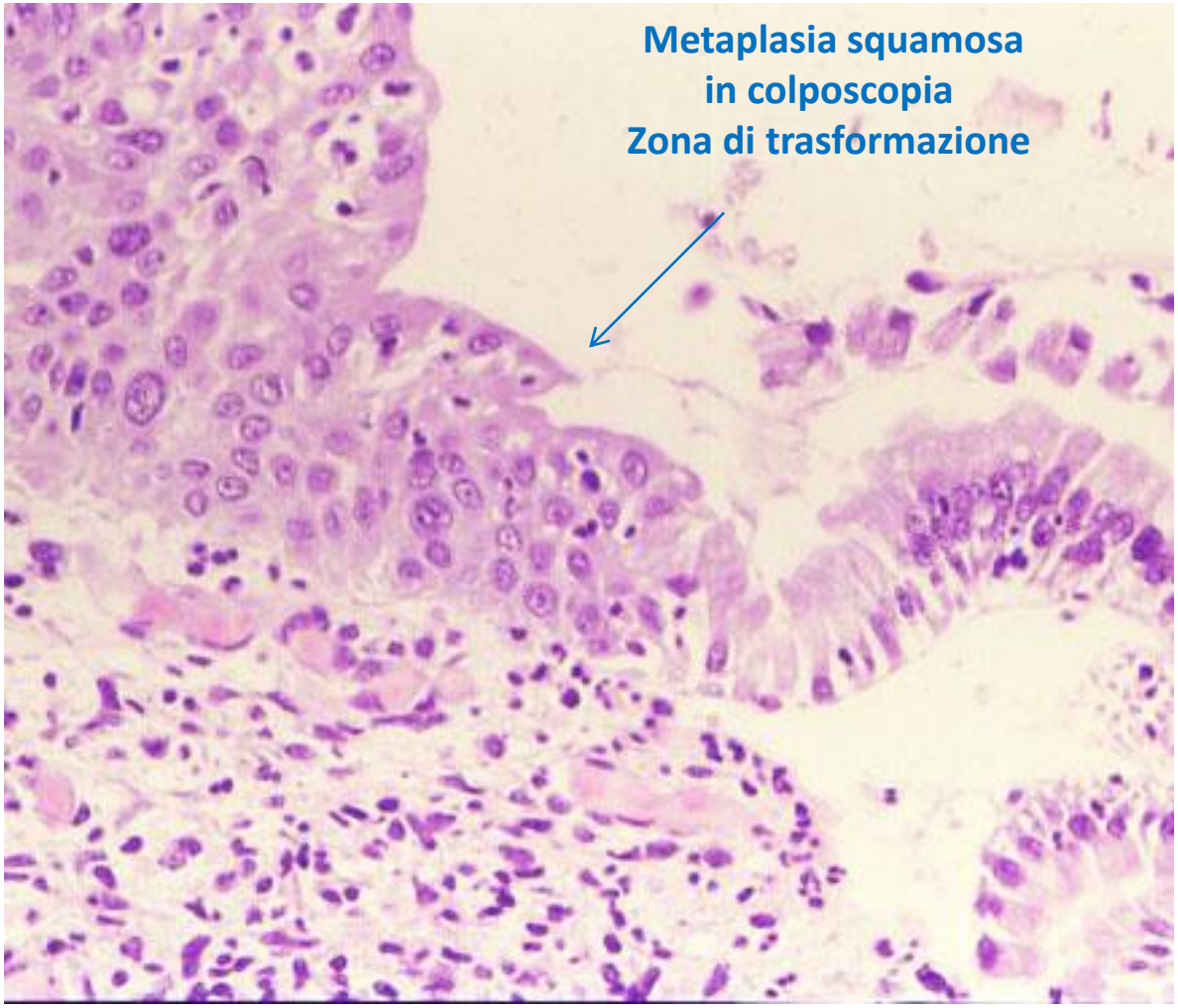
Morte programmata

HPV in forma integrata trasformante



Immortalità

Ciclo vitale dell'HPV



La replicazione dell'HPV dipende dalla replicazione e differenziazione delle cellule ospiti.
La metaplasia squamosa con la rapida moltiplicazione cellulare costituisce un terreno fertile per l'infezione da HPV e lo sviluppo della SIL

INFEZIONE LATENTE

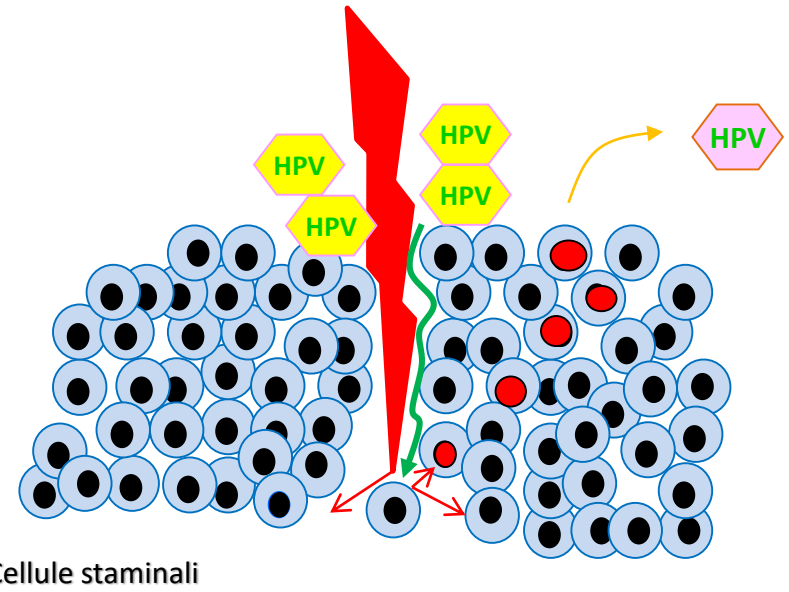
- VERA
- BIOLOGICAMENTE RILEVABILE

INFEZIONE PRODUTTIVA

INFEZIONE TRASFORMANTE

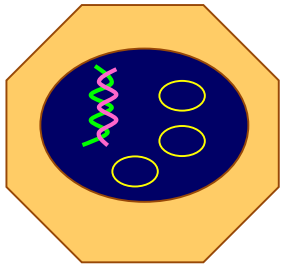
Forma latente vera

Trauma



Cellule staminali

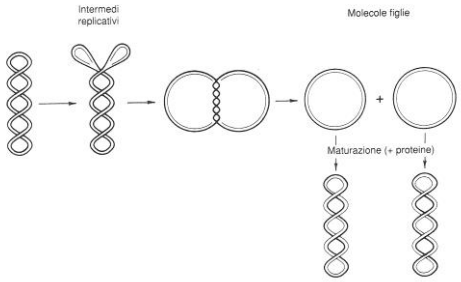
In piccolissime quantità
per essere rilevate



200 copie

Stato virale (E1-2)
Dormiente

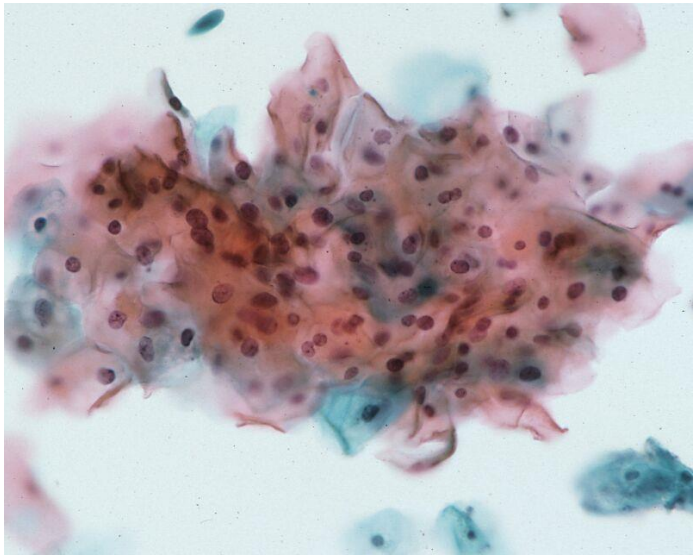
A bassa attività replicativa



Punti salienti della latenza

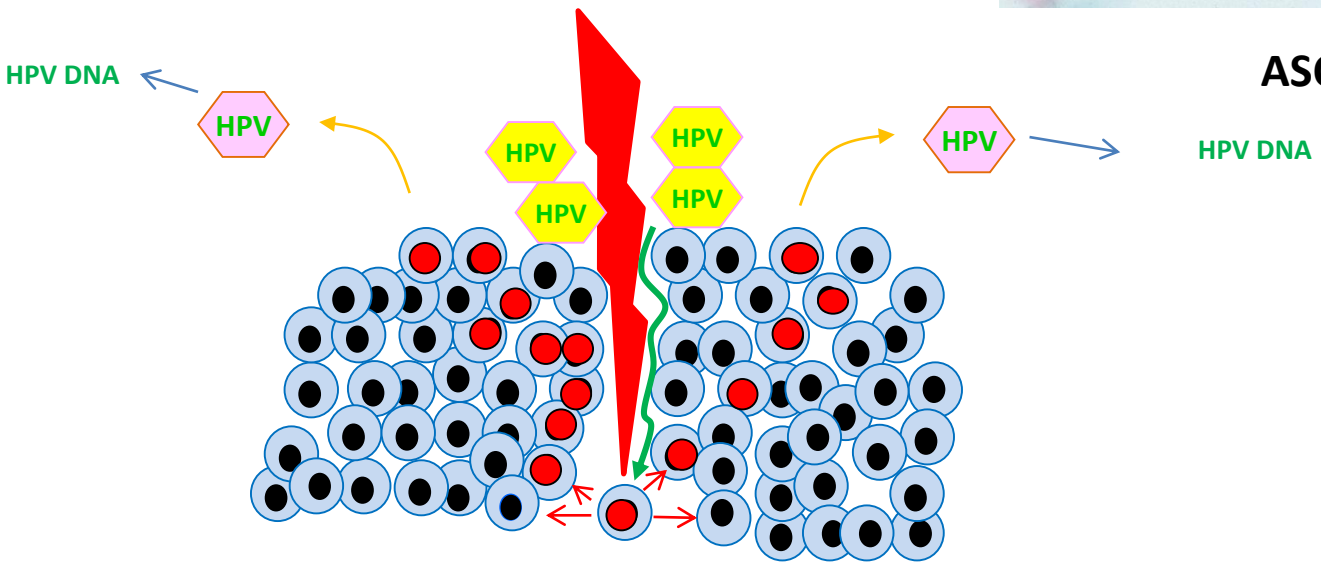
-L'esistenza di una stato di latenza è supportato da studi di immunosoppressione individuale
- Nella fase di latenza l'infezione è mantenuta da un basso numero di copie di DNA virale non rilevabile dai test molecolari convenzionali nelle cellule staminali dello strato basale
-Della latenza non si conosce
•Il numero di cellule interessate
•Lo stato fisico del virus
• La frequenza e la durata
• Che cosa causa la e la re-emergenza
•Quali percentuali di lesioni di alto grado e cancro nascono dopo un periodo di latenza

Forma clinicamente latente ma biologicamente rilevabile



ASC-US

Trauma



Cellule staminali

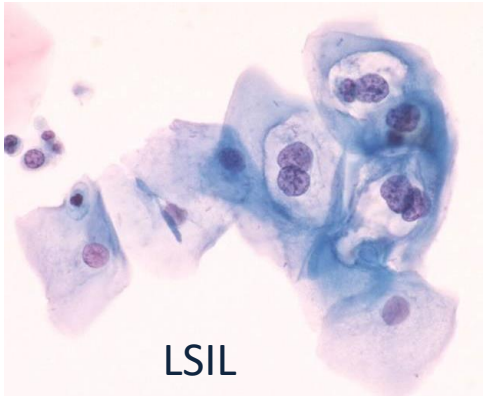
Punti salienti della forma clinicamente latente

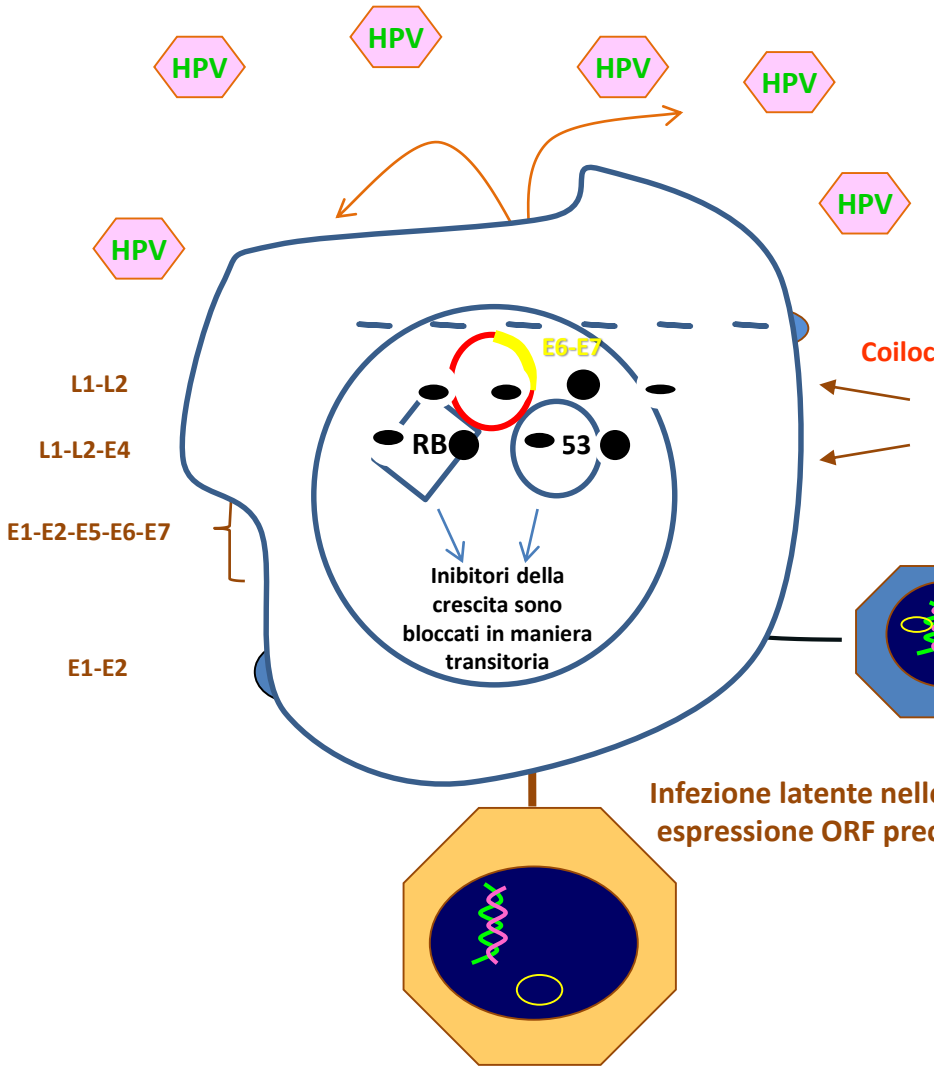
-Dura circa due anni
-Può risolversi spontaneamente

e poiché le infezioni mucosali sono sostenute principalmente da HPV HR

-Può evolvere in una forma produttiva
-Può evolvere in una forma trasformante

INFEZIONE PRODUTTIVA





Morte cellulare

Differenziazione cellulare
stimola l'azione di L1 ed L2

Coiloctosi, maturazione rapida

Espressione ORF tardivi

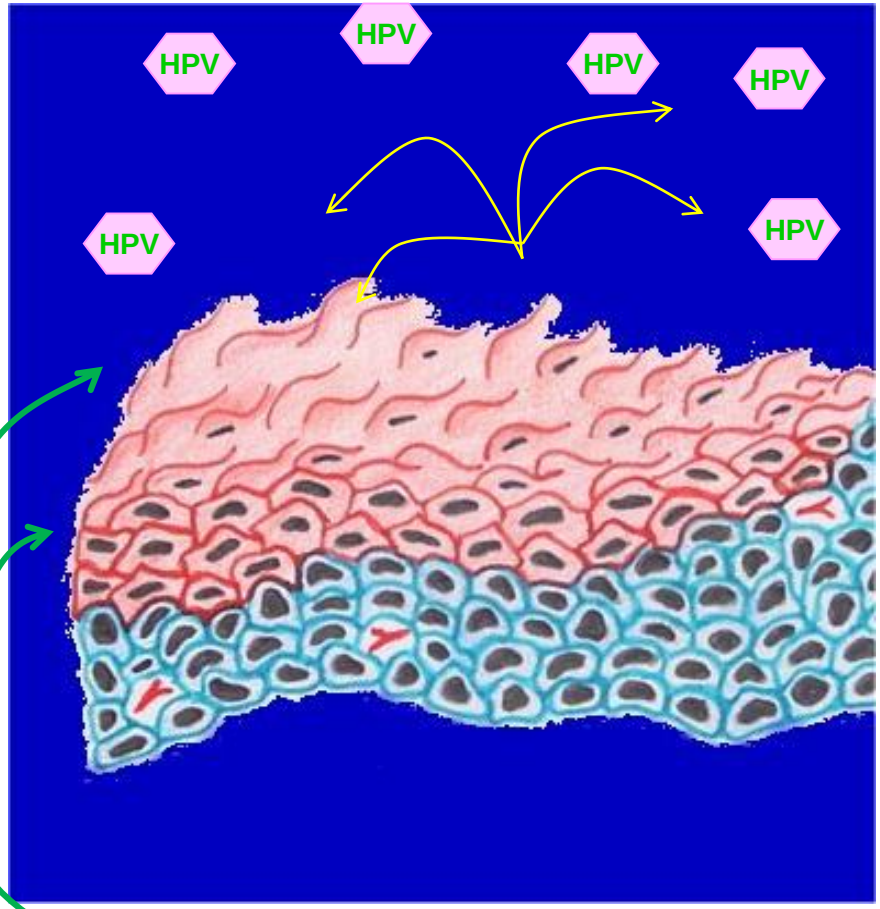
Per permettere la replicazione ed l'amplificazione virale è necessaria una riattivazione e accellerazione del ciclo cellulare per mezzo di E6/7
Disturbi mitotici (quantità 2nDNA, atipie, poliploidia, binucleazioni

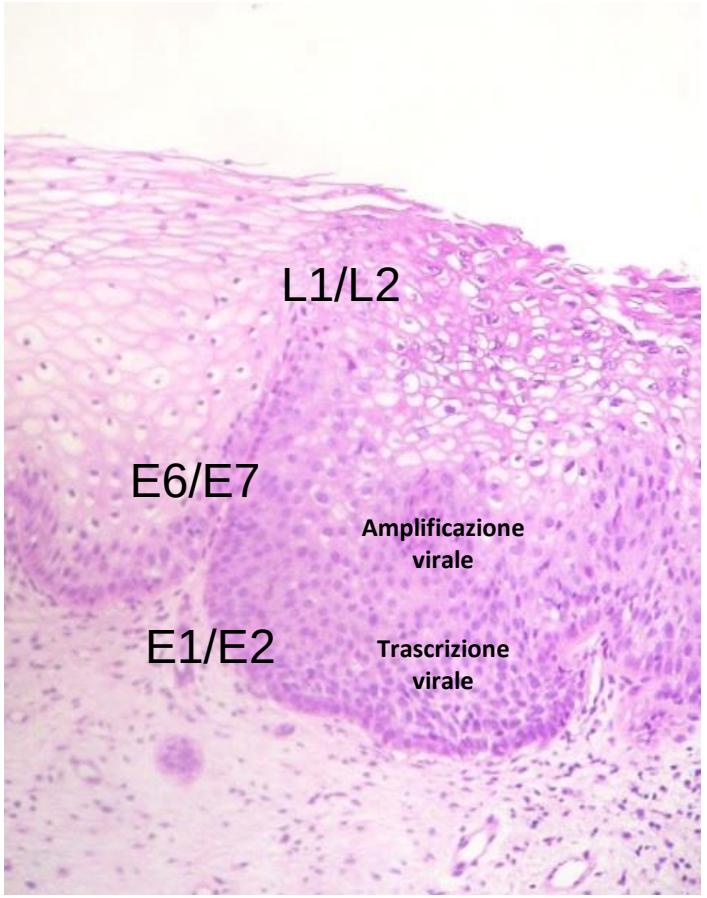
Attivazione, replicazione ed amplificazione virale.
Virus non integrato

Infezione latente nelle cellule basali
espressione ORF precoci

CIN 1

LSIL



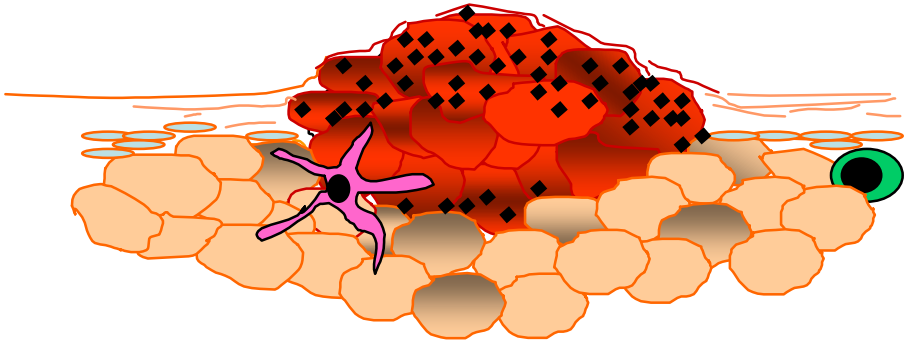


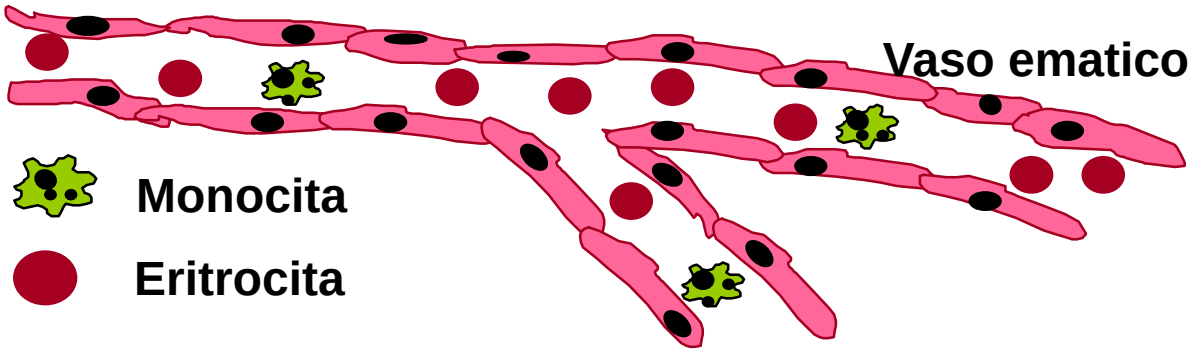
Maturazione cellulare e morte programmata

Punti salienti dell' infezione produttiva

-Lesioni sostenute da tutti i tipi di HPV (basso e alto rischio)
-Virus non integrato (in forma episomiale)
-Il tempo di rilascio delle particelle virali dall'inizio dell'infezione varia da 4 a 8 settimane, per HPV 16 3-4 mesi
-Produce lesioni cellulari di basso grado (LSIL/CIN1)
-Dura mediamente due anni
-Scarse possibilità di progressione

Punti salienti della clearance





-Il virus rimane segregato nelle cellule fino alla esfoliazione delle stesse

-L' assenza di riconoscimento immunitario dell'infezione varia da qualche mese a qualche anno, però non c'è una data precisa

-Non si conosce con certezza se clearance dell' HPV rappresenta un successo dell'immunocompetenza o una infezione che si autolimita (perché è stata infettata una cellula figlia destinata a differenziarsi invece di una cellule germinale immortale)

- Non si conosce se la clearance è definitiva o rimangono ancora un basso numero di copie in forma episomiale nello strato basale per tutta la vita

INFEZIONE TRASFORMANTE

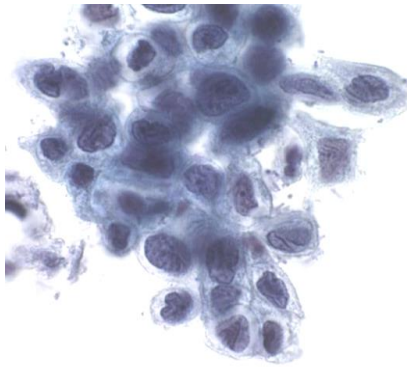
Il virus blocca gli inibitori
della crescita in maniera stabile

Apertura
casuale

E6

E7

HSIL



Proliferazione delle cellule basa
mutate, atipiche ed aneuplodi,
non maturanti, immortali

RB

E7

P53

E6

Attivazione virale

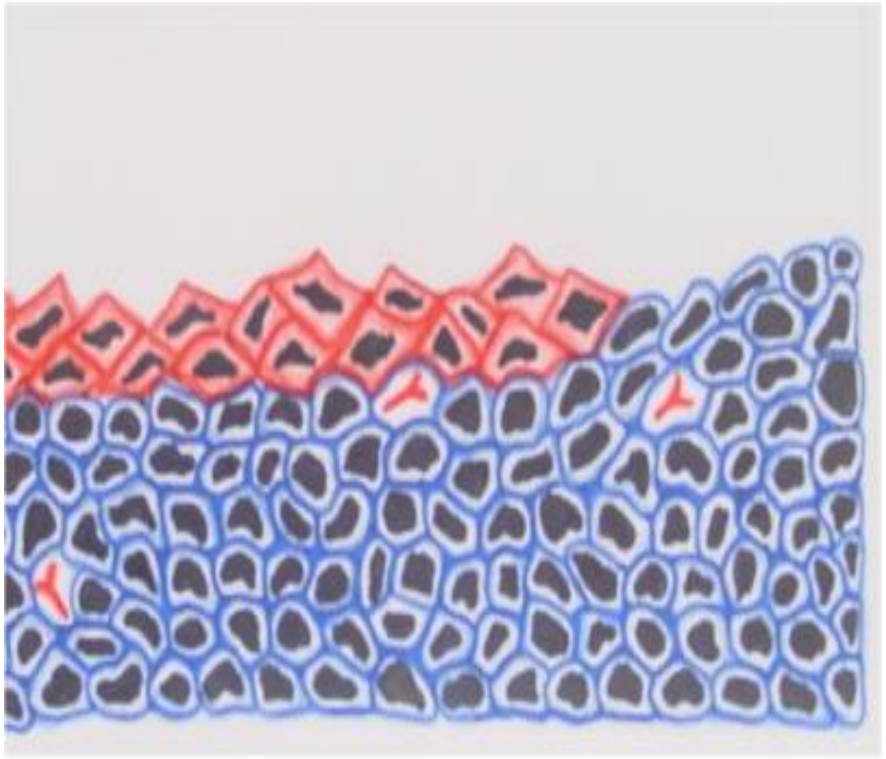
Inibitori della
crescita sono
bloccati stabilmente

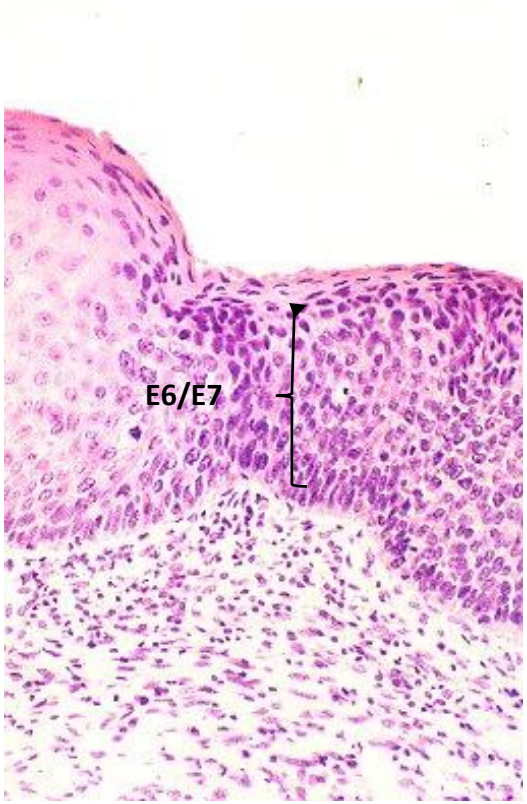
Espressione ORF precoci E6-E7

DNA cellulare mutato

Infezione latente nelle cellule basali
Probabile integrazione genomica
del DNA virale

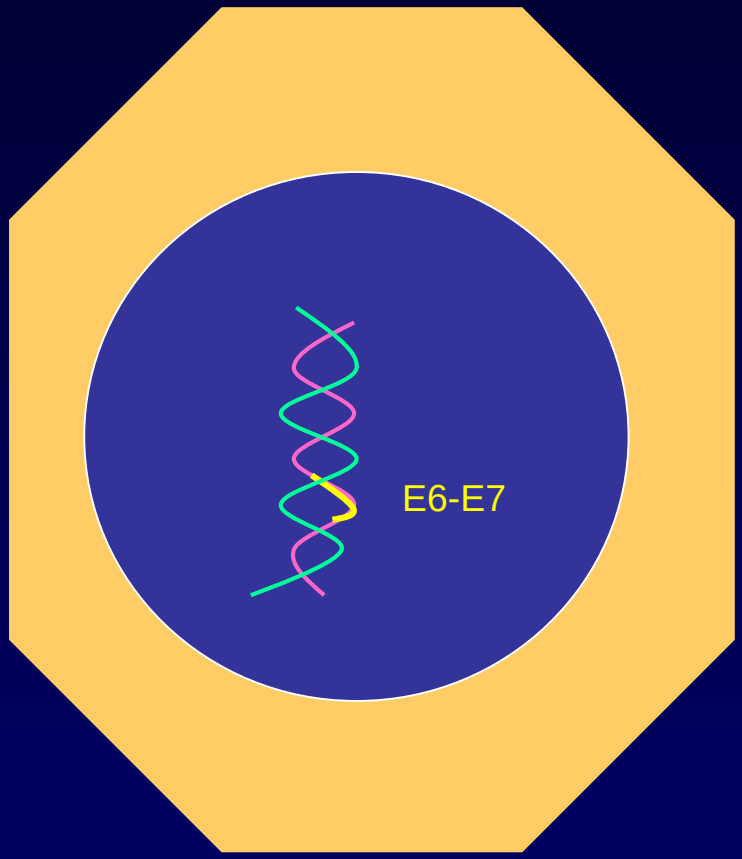
CIN 3
HSIL





Proliferazione di cellule mutate, non maturanti, immortali, atipiche,aneuploidi

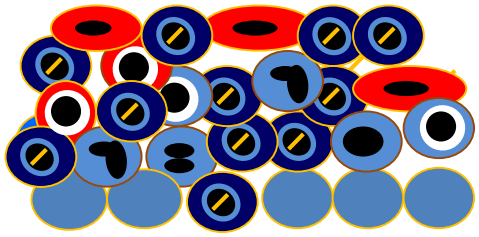
HPV in forma integrata
Tipi a medio ed alto rischio



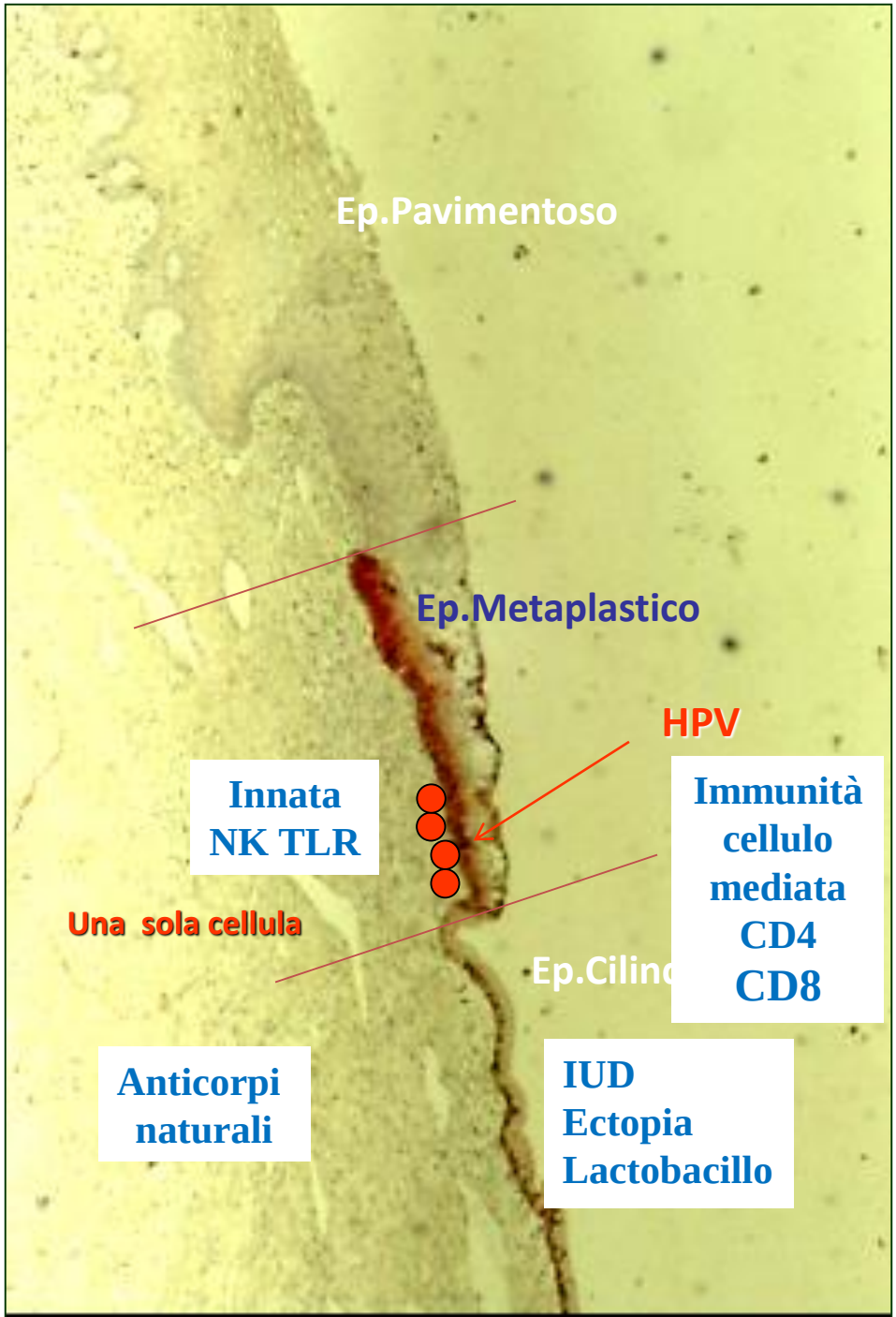
Punti salienti dell'infezione trasformante

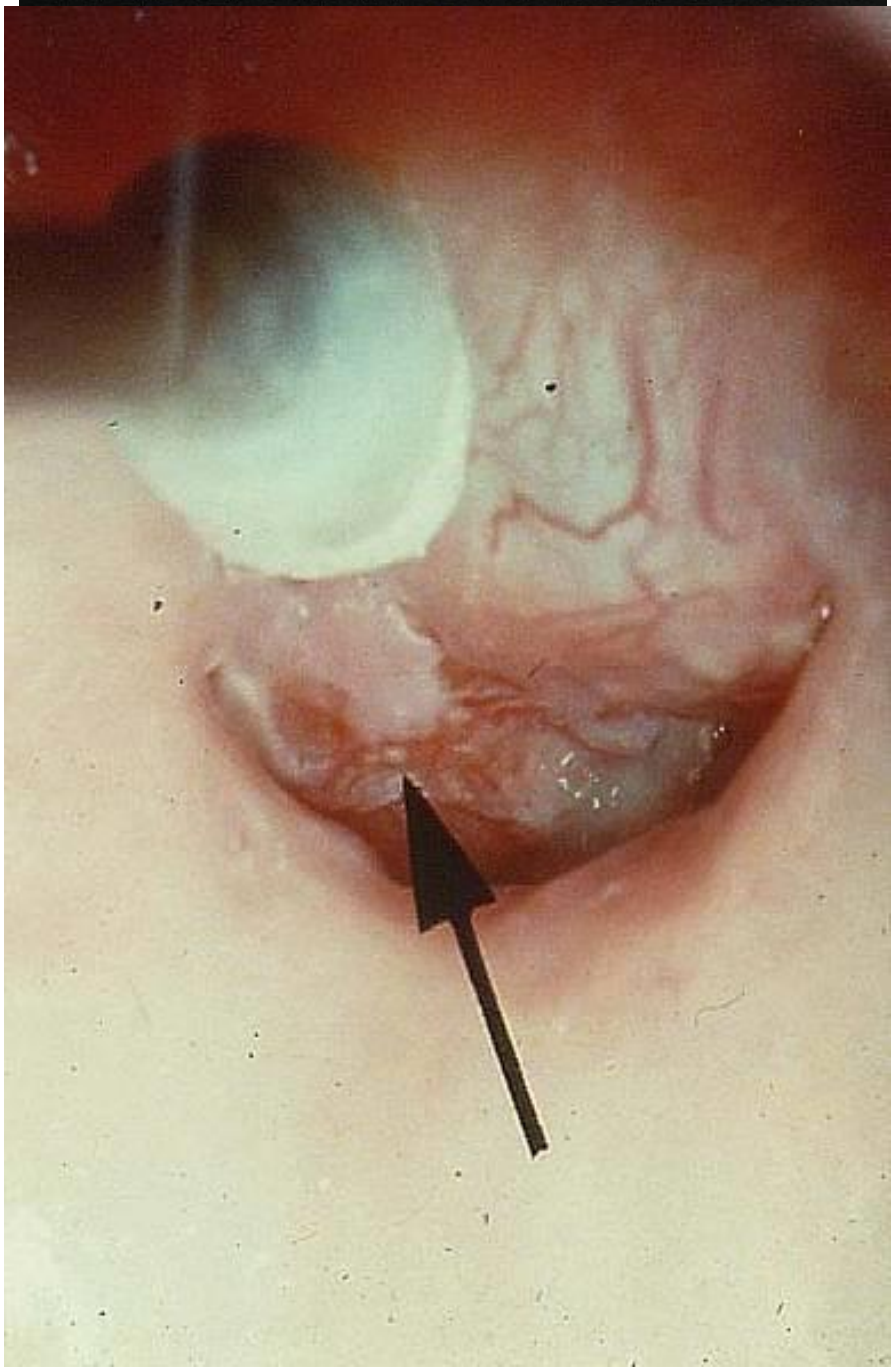
Lesioni sostenute da HPV-HR
Virus quasi sempre integrato
Produce lesioni cellulari di alto grado (HSIL/CIN3)
Percentuali di progressione verso il cancro alte
Scarse possibilità di regressione
Tempi di progressione verso il cancro sconosciute

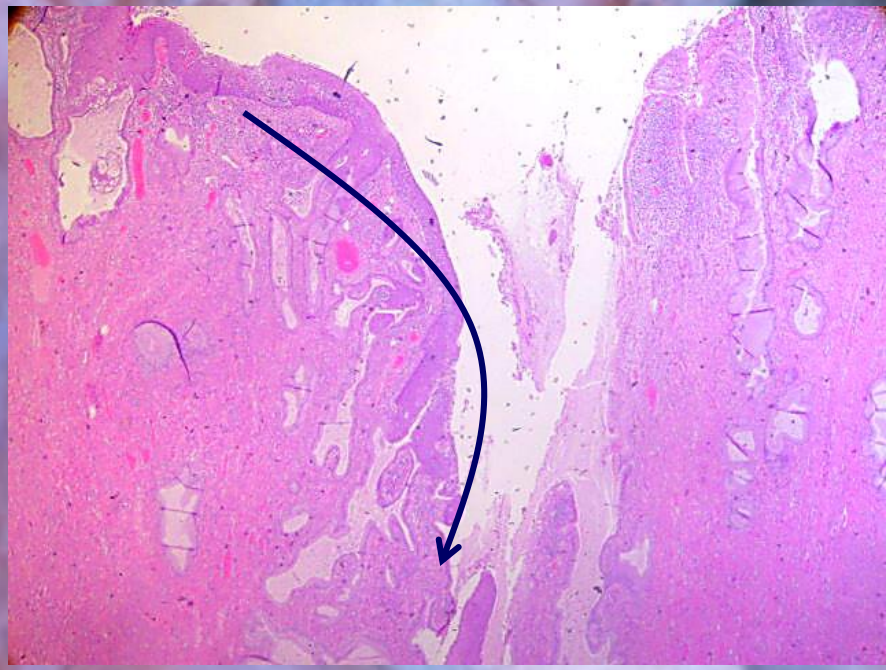
INFEZIONE MISTA



Mescolanza di infezione produttiva e di infezione trasformante
Produce lesioni epiteliali che esprimono entrambe le forme CIN1/2
Lesioni sostenute da HPV-HR
Percentuale di progressione verso il cancro basse


Ep.Pavimentoso
Ep.Metaplastico
HPV
Innata
NK TLR
Immunità
cellulo
mediata
CD4
CD8
Una sola cellula
Ep.Cilin
Anticorpi
naturali
IUD
Ectopia
Lactobacillo

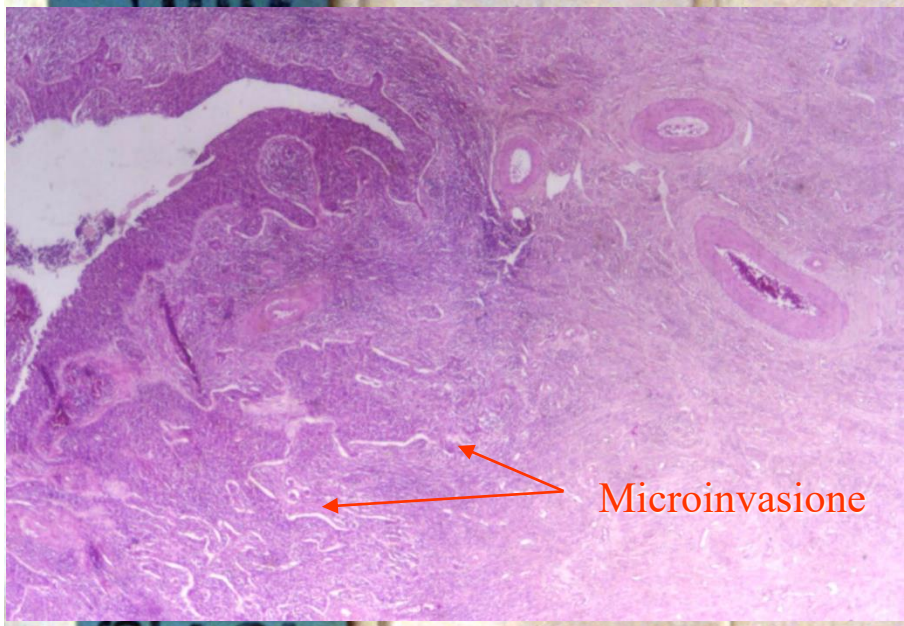


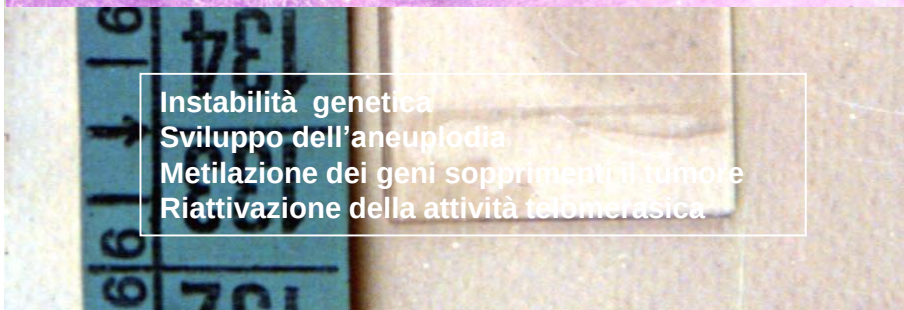


La lesione si approfonda nel canale

Mosaico irregolare

Le lesioni più gravi sono nel canale





Instabilità genetica
Sviluppo dell'aneuploidia
Metilazione dei geni sopprimenti il tumore
Riattivazione della attività telomerasica

Storia naturale della CIN			
Regressione	Persistenza	Progressione a CIS	Invasione
CIN1	32%	11%	1%
CIN2	35%	22%	5%
CIN3	56%		>12%

Quello che sappiamo

Il virus per riprodursi ha bisogno di una cellula

Se si riproduce completamente (genoma e capside)

Non integrazione, lesione produttiva

Modificazioni citopatiche e morte cellulare

Se riproduce solo parte del genoma

Integrazione, lesione trasformante

Modificazioni neoplastiche e immortalità cellulare

La rottura dell'anello è la condizione necessaria per la integrazione

Lesioni di basso grado con effetti citopatici, sostenute da virus non integrati, avranno scarsa probabilità di progressione

Lesioni di alto grado con atipie aneuploidi, sostenute da virus integrati, avranno alta probabilità di progressione

Quello che non sappiamo

Le dimensione del contagio
Durata del periodo di latenza, quali e quante cellule sono interessate
Durata del tempo di clerance e se vi è una vera clerance
Perché un solo piccolo numero di pazienti esposte ad HPV HR sviluppa lesioni di alto grado e cancro
Percentuali e tempi certi di progressione, permanenza e regressione delle lesioni HPV correlate
Perché il virus in alcuni casi nelle lesioni di alto grado non risulta integrato
Perché si passa da una lesione intraepiteliale a cancro

Bibliografia

Egawa N, **Doorbar J**.
The low-risk papillomaviruses.
Virus Res. 2017 Mar 2;231:119-127.

Doorbar J.
Host control of human papillomavirus infection and disease
Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017 Aug 12.

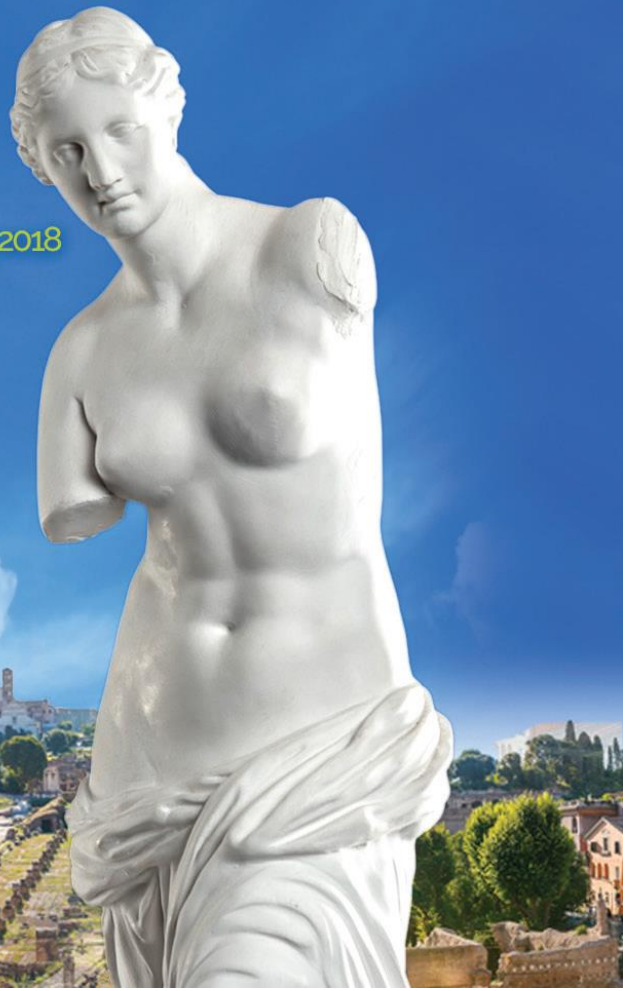
Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I.
Human papillomavirus molecular biology and disease association.
Rev Med Virol. 2015 Mar;25 Suppl 1:2-23.

Doorbar J. Latent papillomavirus infections and their regulation.
Curr Opin Virol. 2013 Aug;3(4):416-21.

Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA.
The biology and life-cycle of human papillomaviruses.
Vaccine. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F55-70.

XIII INTERNATIONAL WORKSHOP ON LOWER GENITAL TRACT PATHOLOGY

HPV Disease and Cervical Cancer: Summing Up



ROME,
APRIL 12-13 2018

COURSE DIRECTORS
Antonio Frega
Cesare Gentili
Philip Davies

www.hpvrome.com

A. FREGA - C. GENTILI

Gravidanza e Infezioni del Tratto Genitale Inferiore

Verduci Editore

http://www.verduci.it E-mail info@verduci.it

CAPITOLO 1

Note epidemiologiche e storia naturale dell'infezione da HPV

C. GENTILI

INTRODUZIONE

Il Papilloma virus umano (HPV) colpisce entrambi i sessi ed è, in tutto il mondo, tra le cause più frequenti di malattia sessualmente trasmessa.

Poiché all'infezione genitale da HPV non corrisponde una malattia notificabile, prevalenza e incidenza ne sono sconosciute. Si stima, però, che oltre il 75% delle donne sessualmente attive sia stata positiva all'infezione da HPV almeno una volta nella vita. Studi epidemiologici condotti negli USA hanno evidenziato un'incidenza annuale di nuove infezioni di 6.2 milioni con una prevalenza di oltre 20 milioni; secondo un recente studio (Satterwhite 2013), il 26.8% delle donne statunitensi tra i 14 e i 59 anni risulta positiva all'HPV: vale a dire, 24.9 milioni di donne in tutto il Paese. In Europa, la prevalenza dell'infezione da HPV in donne sane (in assenza, cioè, di alterazioni citologiche a carico dell'apparato genitale) è pari al 14% e la percentuale di incidenza risulta pari al 7%, con 16 milioni di nuovi casi ogni anno, in una popolazione di 230 milioni di persone.

La prevalenza dell'infezione diminuisce con l'aumentare dell'età registrando un picco massimo di circa il 30% nelle donne più giovani (<25 anni), del 15-20% (variabile a seconda delle aree geografiche) nelle donne tra i 30-50 anni e del 10% nelle ultracinquantenni (Smith 2008).

Numerose ricerche sperimentali e studi epidemiologici mostrano che un'infezione da HPV persistente è causa necessaria del cervico-carcinoma e delle sue lesioni precancerose (Woodman 2001; Munoz 2002). I genotipi di HPV sono più di 120, di cui almeno 40 infettano la mucosa. I genotipi genitali sono definiti "ad alto rischio", "a possibile alto rischio", "a basso rischio" a seconda della loro oncogenicità.

Tra i genotipi di HPV attualmente definiti ad alto rischio prevalente è il tipo 16, presente in più del 50% dei casi, seguito dal tipo 18 (10%-20%), mentre il restante 15%-20 % è rappresentato da altri tipi (tra cui, in particolare, i 31, 33 e 45).

Questi 5 tipi, nel loro insieme, rappresentano l'85% degli HPV presenti nei carcinomi della cervice uterina.

Poiché le classificazioni in genotipi sono in continua revisione, non sono possibili indicazioni definitive riguardo la loro oncogenicità, soprattutto per quanto riguarda i genotipi a classificazione intermedia.

HPV IN GRAVIDANZA

Gli effetti della gravidanza sull'infezione da HPV non sono ancora del tutto noti. Sebbene siano presenti fattori che dovrebbero favorire l'aumento di incidenza dell'infezione, quali il calo dell'immunità naturale e l'azione promotrice, dimostrata sperimentalmente, di estrogeni e progesterone nell'attivazione della *Long Control Region* (LCR) (Sethi 1997; Michel 1997), i dati che emergono dagli studi non sono uniformemente interpretabili.

La prevalenza dell'HPV in gravidanza varia, a seconda degli studi, dal 5.5% al 65%. Tale forte escursione è riconducibile a diversi fattori: area geografica, selezione del campione, metodi di rilevazione.

Ad esempio, mentre in Spagna, secondo uno studio che coinvolge 828 donne (Castellsagué 2009), si riferisce di una bassa prevalenza di infezione (6.5%), in Uganda, secondo uno studio che coinvolge 987 primipare (Banura 2008), si registra un'alta prevalenza di infezione (60%). In Austria la media risulta del 24% su 147 donne controllate (Eppel 2000); in Messico, del 37% su 274 (Hernández-Girón 2005), in Giappone del 35% su 151 (Yamasaki 2011). Ancora in Giappone, in uno studio precedente condotto su 1183 donne (Takakuwa 2006), si parla di una prevalenza in decremento con l'età (22% in donne < 25 anni, 11% in donne > 25 anni), dati confermati da una *review* di 28 studi osservazionali comprendente 13640 donne (Liu 2013).

Relativamente al confronto tra gravide e non gravide, alcuni studi non segnalano differenze (Chan 2002; Nob-

Grazie per l'attenzione

Chișinău, Moldova Marzo 2016