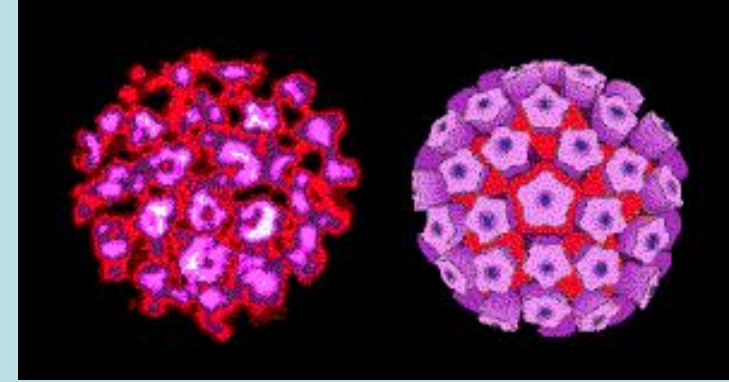


Лекція №6



Загальна характеристика родини *Papillomaviridae*

1. Морфологія вірусних часток
2. Фізико-хімічні властивості
3. Реплікація вірусу
4. Патогенез
5. Особливості епідемічного процесу
6. Діагностика
7. Лікування

Історія

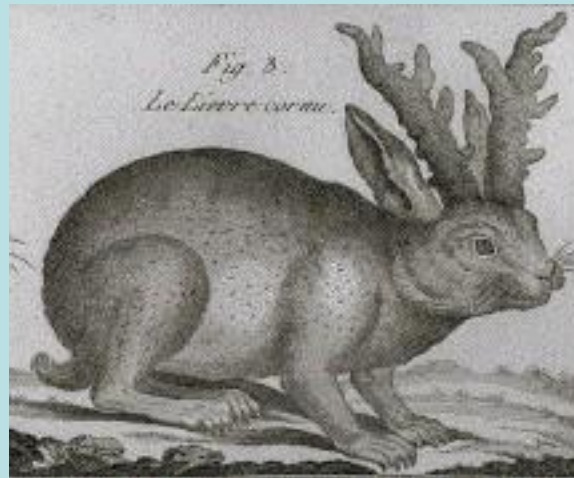
Інфекційна природа “звичайних” бородавок

- відомі ще з часів античності
- 100 років тому була показана інфекційна природа шкірних бородавок при штучному зараженні волонтерів (Jadassohn, 1896)
- вірусна природа була доведена Ciuffo, який використовував безклітинний екстракт звичайних бородавок для зараження (Ciuffo, 1907).
- “вірус бородавок людини ” був пізніше асоційований з генітальними (Serra, 1924) та глотковими (Ullmann, 1923) бородавками.

Історія

Папіломавіруси мають онкогенний потенціал

- Описання вірусу американського кроля (CRPV) (Shope, 1933)



- Індукція злоякісного переродження епітеліальних клітин у домашніх кролів після інокуляції CRPV (Rous, 1935)

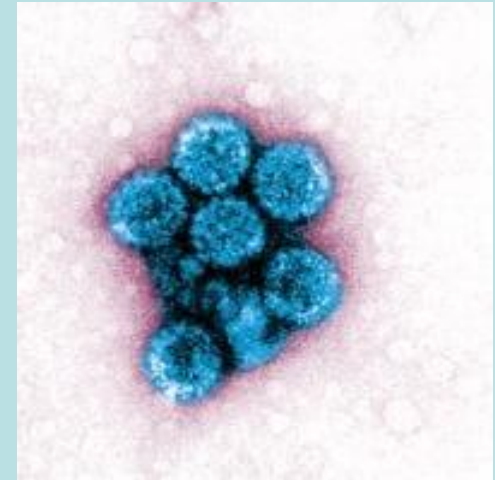
Історія

Інфекційна природа захворювань статеві системи

- З'язок між статевими стосунками та цервікальним раком був відомий здавна (Rigoni-Stern, 1842)
- Показна необхідність виявлення злущених клітин (Papanicolaou, 1946)
- Початок застосування технологій молекулярного клонування (1970 - 1980)

Родина *Papillomaviridae*

- 1 [Alphapapillomavirus](#)
- 2 [Betapapillomavirus](#)
- 3 [Chipapillomavirus](#)
- 4 [Deltapapillomavirus](#)
- 5 [Dyodeltapapillomavirus](#)
- 6 [Dyoepsilontapillomavirus](#)
- 7 [Dyoetapapillomavirus](#)
- 8 [Dyoiotapapillomavirus](#)
- 9 [Dyokappapillomavirus](#)
- 10 [Dyolambdapapillomavirus](#)
- 11 [Dyomupapillomavirus](#)
- 12 [Dyonupapillomavirus](#)
- 13 [Dyoomikrontapillomavirus](#)
- 14 [Dyopipapillomavirus](#)
- 15 [Dyorhopapillomavirus](#)
- 16 [Dyosigmatapapillomavirus](#)
- 17 [Dyothetapapillomavirus](#)
- 18 [Dyoxipapapillomavirus](#)
- 19 [Dyozetapapillomavirus](#)
- 20 [Epsilonpapillomavirus](#)
- 21 [Etapapillomavirus](#)
- 22 [Gamma papillomavirus](#)
- 23 [Iotapapillomavirus](#)
- 24 [Kappapapillomavirus](#)
- 25 [Lambdapapillomavirus](#)
- 26 [Mupapillomavirus](#)
- 27 [Nupapillomavirus](#)
- 28 [Omegapapillomavirus](#)
- 29 [Omikrontapillomavirus](#)
- 30 [Phipapillomavirus](#)
- 31 [Pipapillomavirus](#)
- 32 [Psipapillomavirus](#)
- 33 [Rhopapillomavirus](#)
- 34 [Sigmatapapillomavirus](#)
- 35 [Taupapillomavirus](#)
- 37 [Thetapapillomavirus](#)
- 38 [Upsilonpapillomavirus](#)
- 39 [Xipapillomavirus](#)
- 40 [Zetapapillomavirus](#)



Рід *Alphapapillomavirus* – віруси, що уражують слизові оболонки ротової порожнини та аногенітального тракту людей та приматів. людські папіломавіруси 6, 7, 10, 11, 16, 18, 26, 32, 61, 66, 67, 69, 68, 70, 71

Рід *Betapapillomavirus* – представники роду уражують шкіру людини та слизові оболонки. Перебіг інфекцій, спричинених даними вірусами, латентний, проте за умов імуносупресії відбувається активація вірусів. Папіломавіруси людини 5, 9, 49.

Рід *Chirapapillomavirus* – папіломавірус собак 3-го типу (чіпапіломавірус 1);

Рід *Deltapapillomavirus* включає в себе віруси – збудники фібропапілом. папіломавірус оленя (вірус фіброми оленів), папіломавірус корів 1 та 2, папіломавірус європейського лося, папіломавірус північного оленя, папіломавірус овець 1 та 2 серотипів,

До роду *Gammapapillomavirus* належать людські папіломавіруси, що викликають ураження шкіри, серотипів 4, 48, 50, 60 та 88. Типовим представником є людський папіломавірус 4 серотипу.

Представник роду *Epsilonpapillomavirus* – папіломавірус корів 5, призводить до формування папілом у ВРХ.

До роду *Zetapapillomavirus* належить папіломавірус коней 1 типу, а до роду *Etapapillomavirus* – папіломавірус зябликів.

Рід *Thetapapillomavirus* вміщує папіломавірус папуг, а рід *Iotapapillomavirus* – папіломавірус багатососкового пацюка.

Рід *Kappapapillomavirus* містить 2 представника папіломавірус американського жорсткошорстного кроля та оральний папіломавірус кроля.

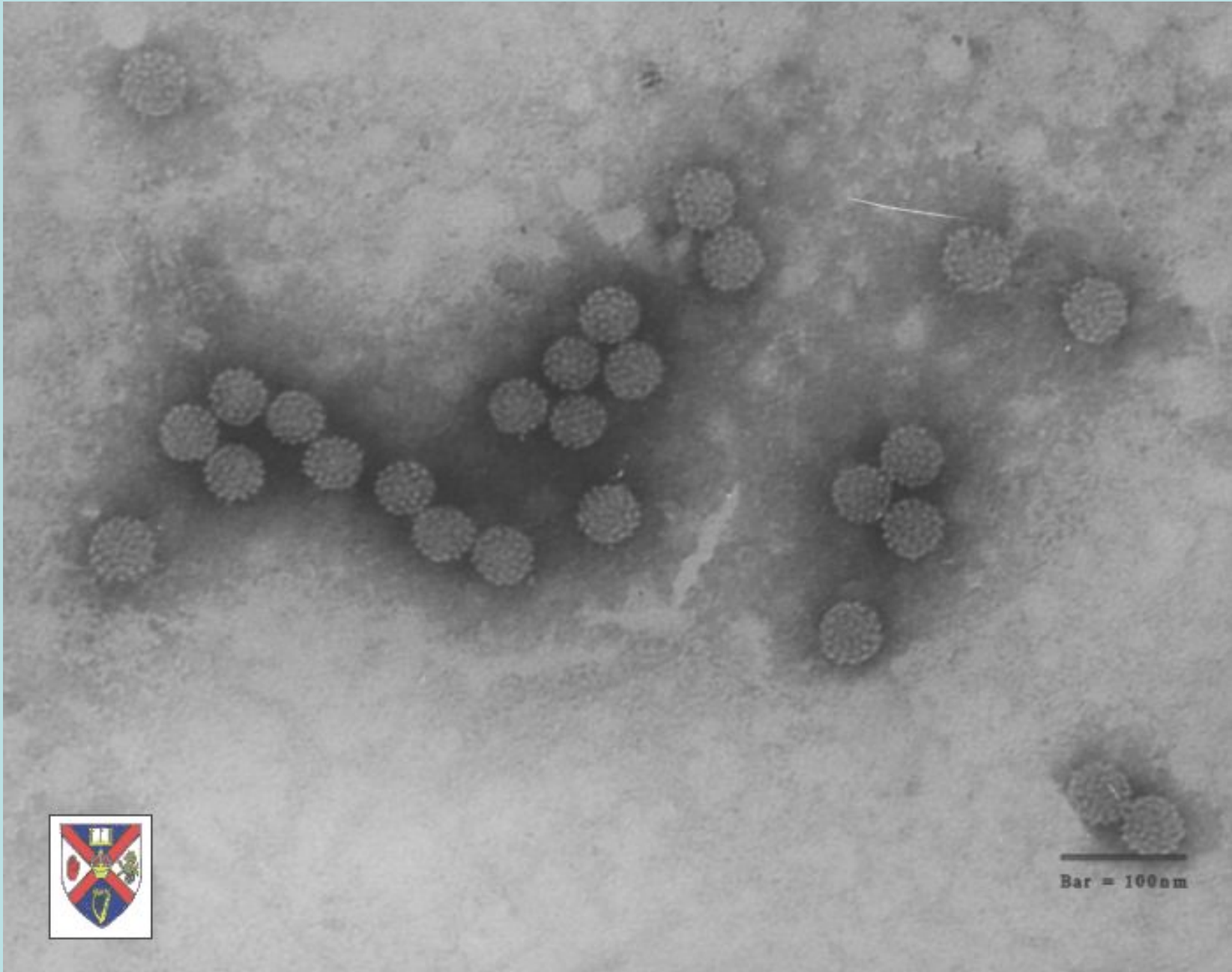
До роду *Lambdapapillomavirus* відносяться віруси, що уражують собак та кішок, оральний папіломавірус собак та папіломавірус котів.

Представники родів *Murapapillomavirus* (людський папіломавірус 1 та 63 типів) та роду *Nurapapillomavirus* (людський папіломавірус 41) викликають ураження шкіри людини.

Рід *Xipapillomavirus* вміщує віруси, що уражують ВРХ – папіломавірус корів 3, 4 та 6 типів.

До роду *Omikronpapillomavirus* належить папіломавірус морської свині Бурмейстера (*Phocoena spinipinnis*), який викликає формування генітальних бородавочок у китових.

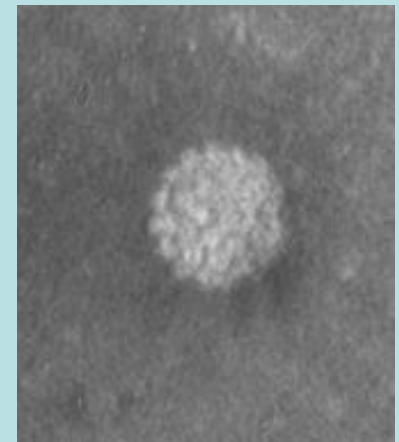
Рід *Pirapapillomavirus* містить оральний папіломавірус хом'яка.



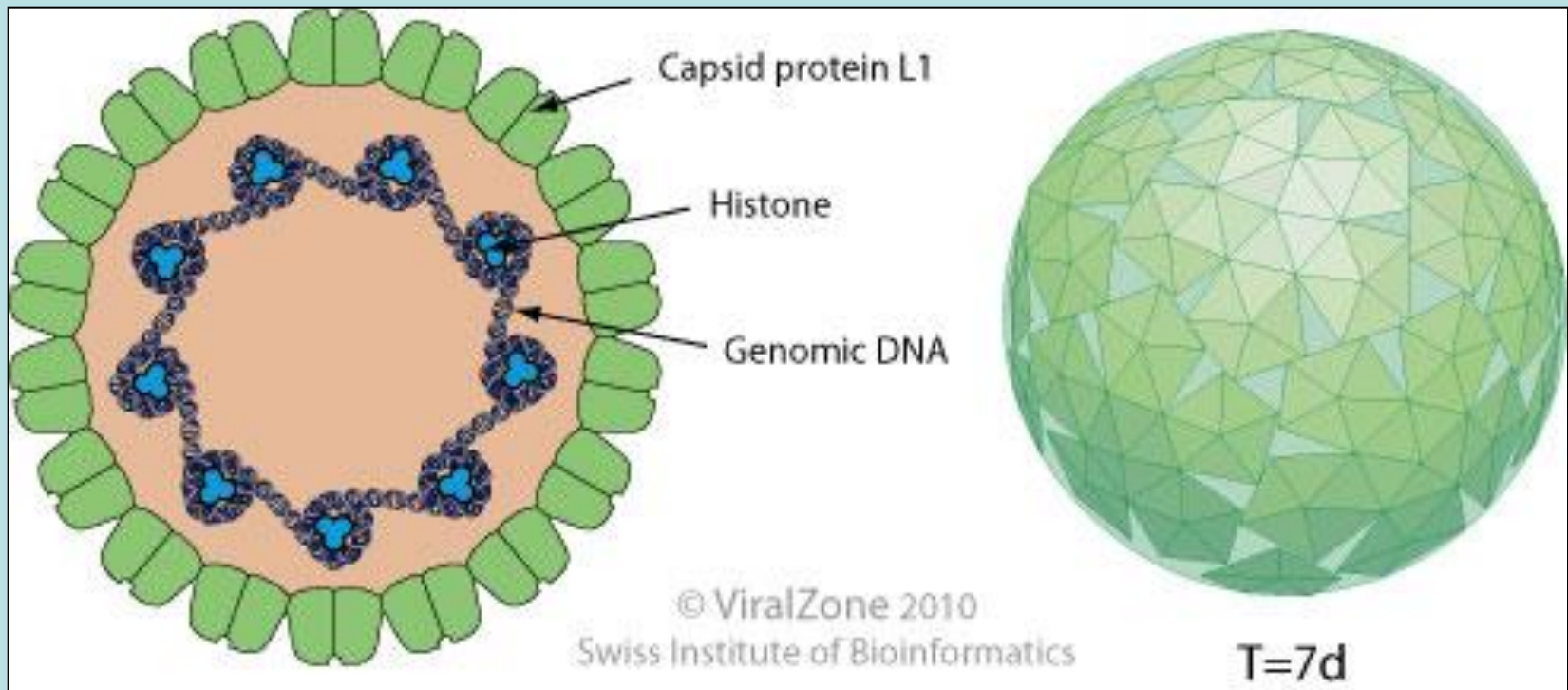
Bar = 100nm

Загальна характеристика віріону

- Капсид – ікосаедричний.
- Діаметр - 55 нм, капсомери розташовані симетрично.
- Геном – циркулярна 2лДНК (розмір ~7,900 bp)



Papillomavirus
Virion (Courtesy W
Bonnez)

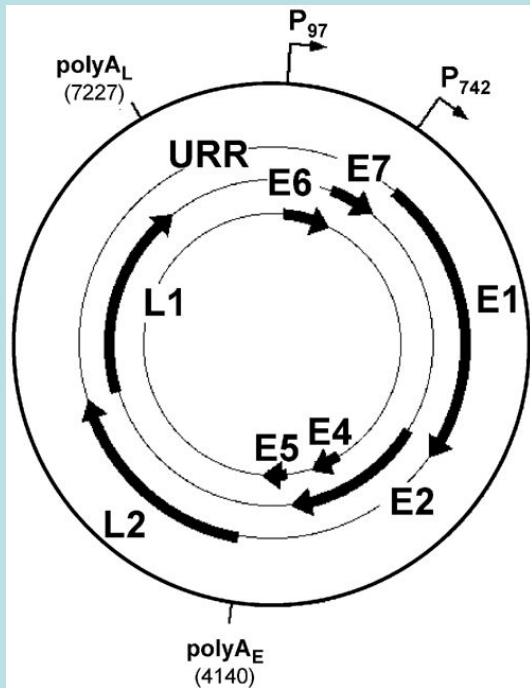


Організація геному папіломавірусів

Організація геному висококонсервативна.

Послідовність нуклеотидів визначає тропізм та інфекційний потенціал.

>100 генотипів людських папіломавірусів було ідентифіковано та охарактеризовано.



Геном містить ранню ділянку (E), пізню ділянку (L) та довгу некодуючу послідовність, що регулює транскрипцію (LCR).

Один з ланцюгів ДНК містить 9 відкритих рамок зчитування, які потенційно кодують до 10 протеїнів, та регуляторну ділянку геному (**upstream regulatory region, URR**). Дві з 10 відкритих рамок зчитування - L1 и L2 – кодують структурні білки віріону, інші сім (**E1-E7**) відносять до “ранніх” вірусних генів і контролюють функції, що необхідні для репродукції та прояву патогенного потенціалу.

Регуляторна ділянка URR знаходиться безпосередньо перед генами **E6** и **E7**. Інший ланцюг ДНК - некодуючий.

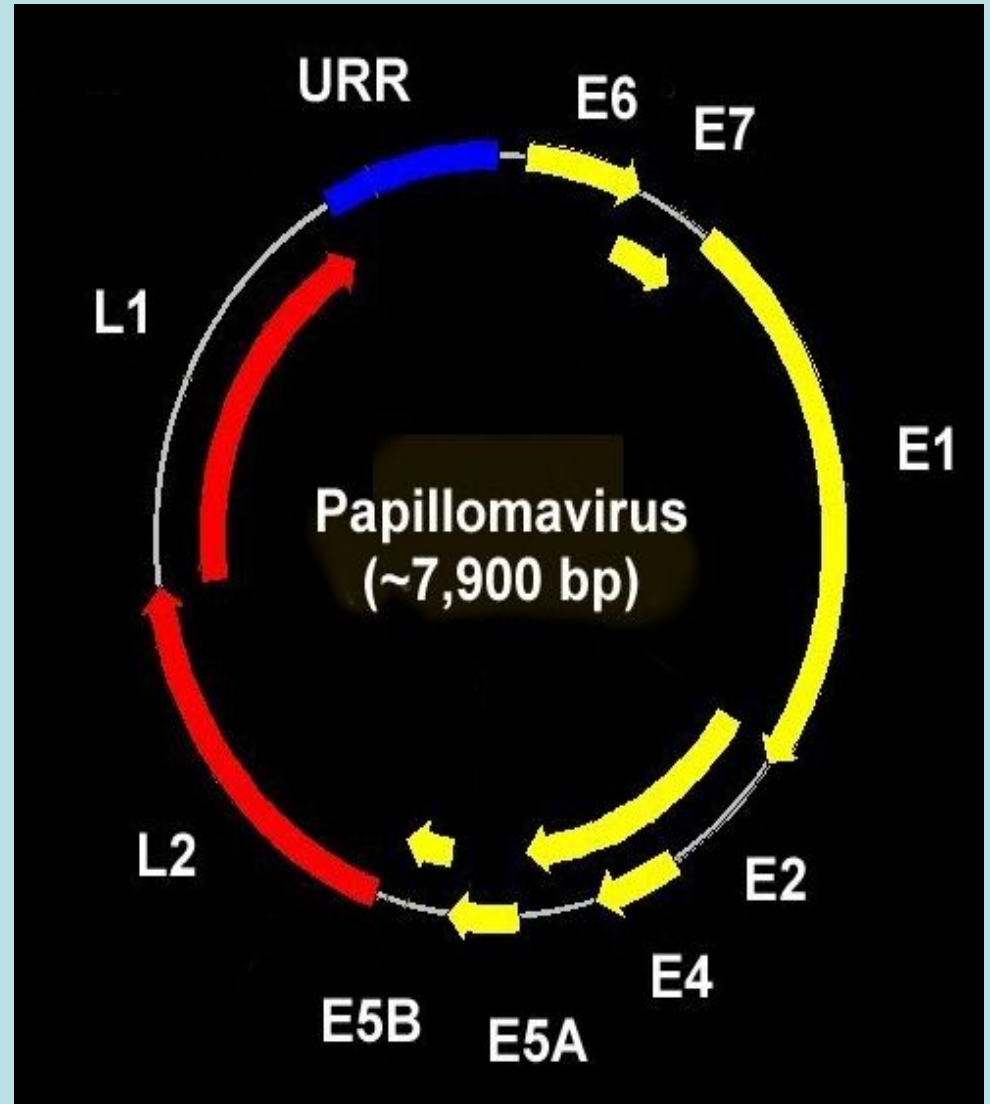
Організація геному

Три функціональні регіони:

Ранні

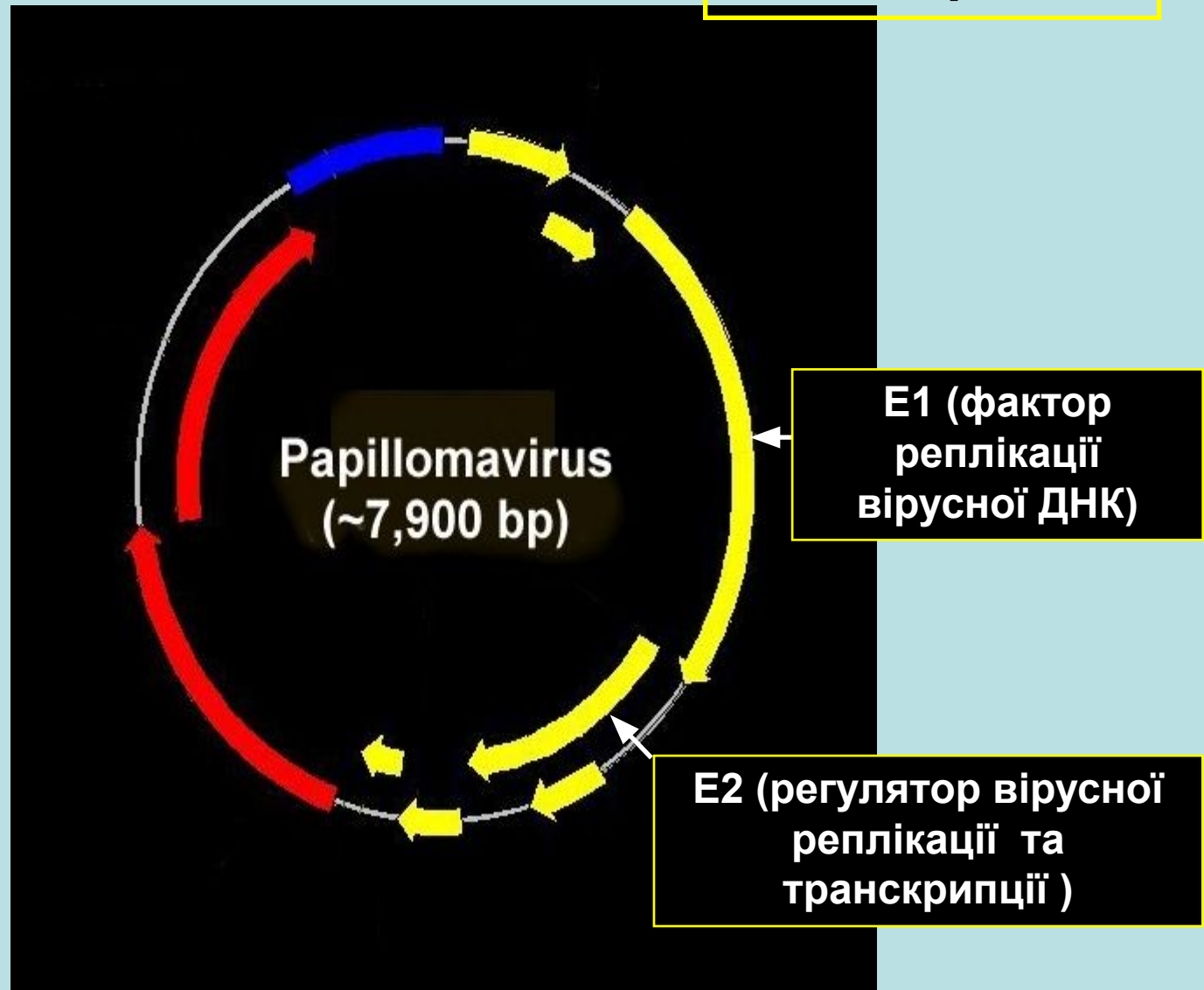
Пізні

Регуляторні



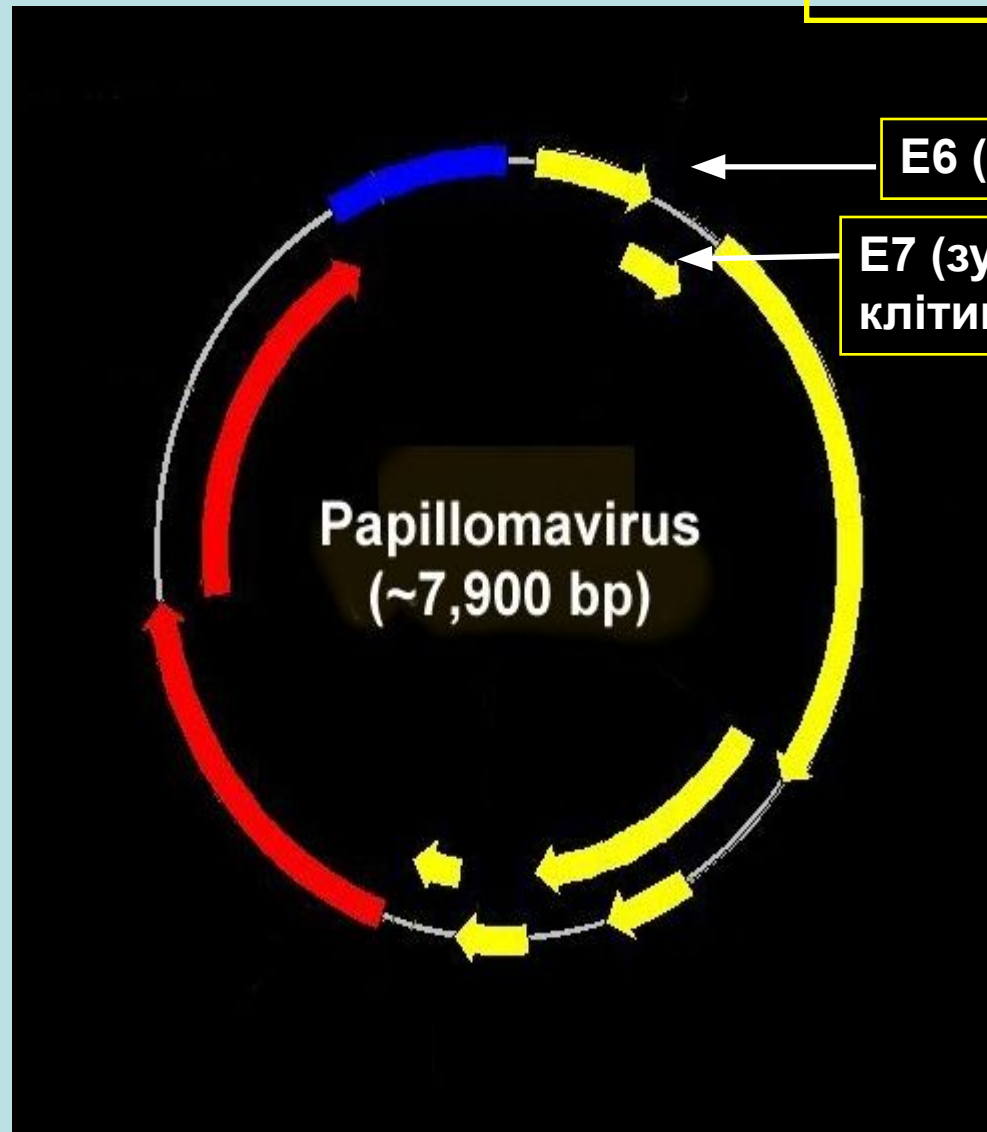
Функціональне призначення ранніх білків вірусу

Ранній регіон



Функціональне призначення ранніх білків вірусу

Ранній Регіон



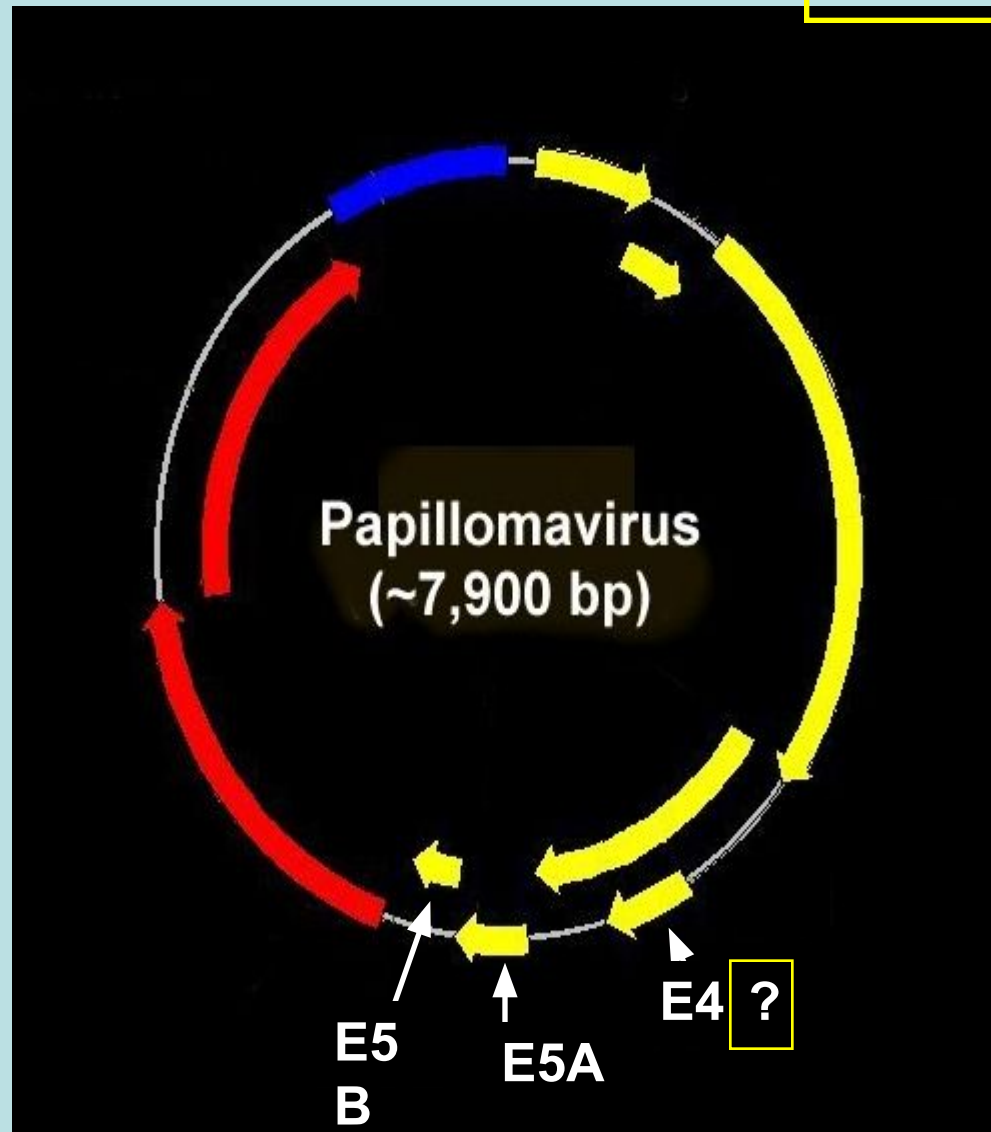
E6 (деградація p53)

E7 (зупиняє
клітинний цикл)

Papillomavirus
(~7,900 bp)

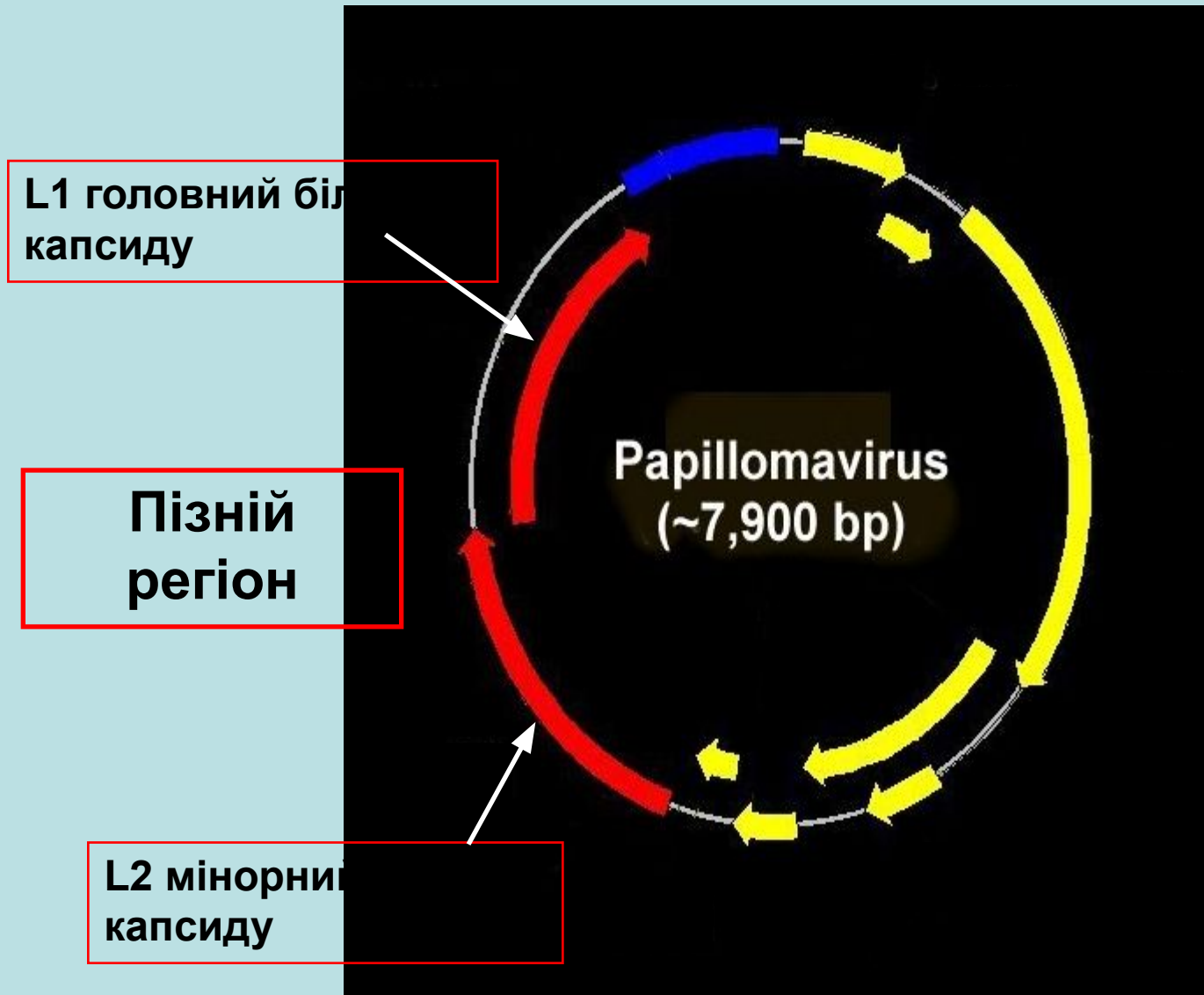
Функціональне призначення ранніх білків вірусу

Ранній регіон



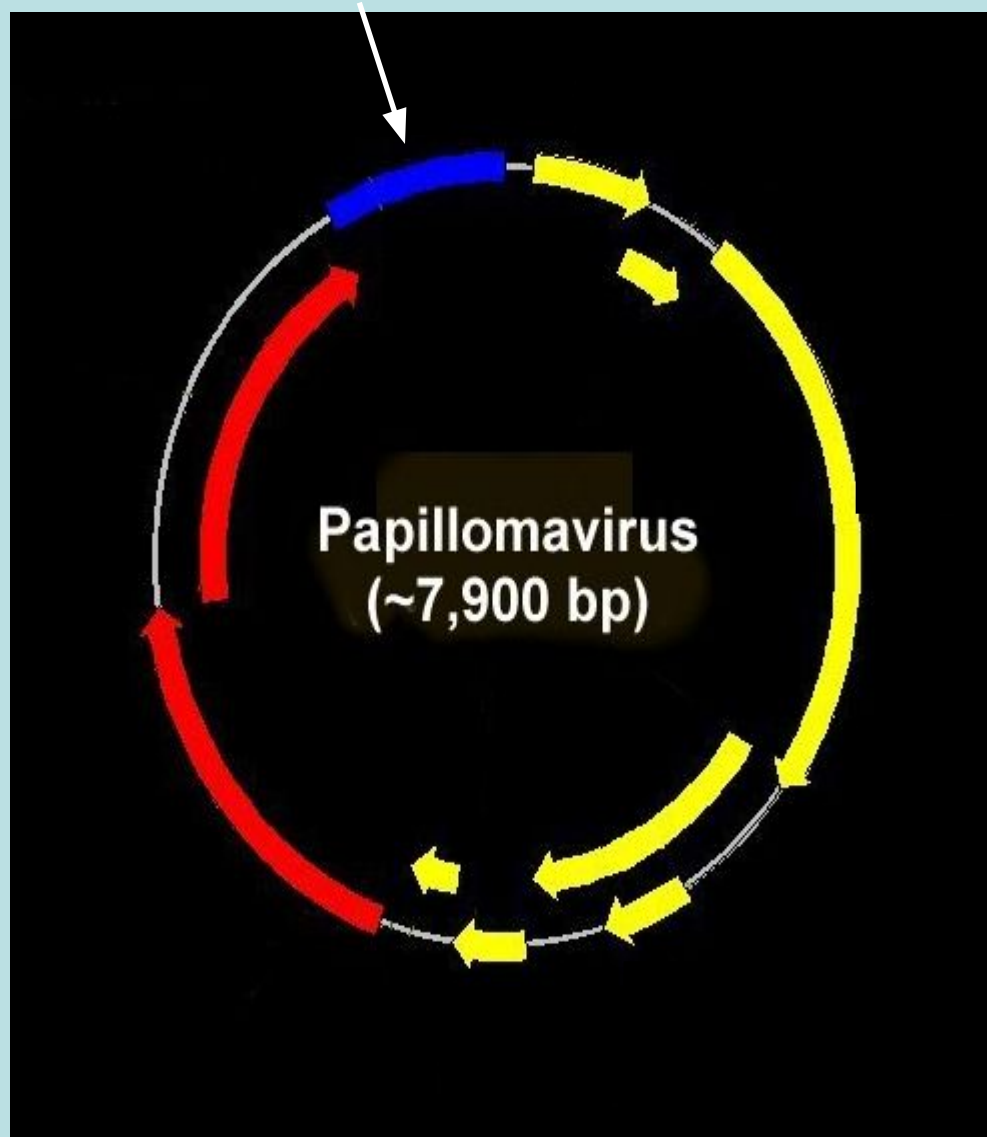
Модуляція регуляторних механізмів росту

Функціональне призначення пізніх вірусних білків

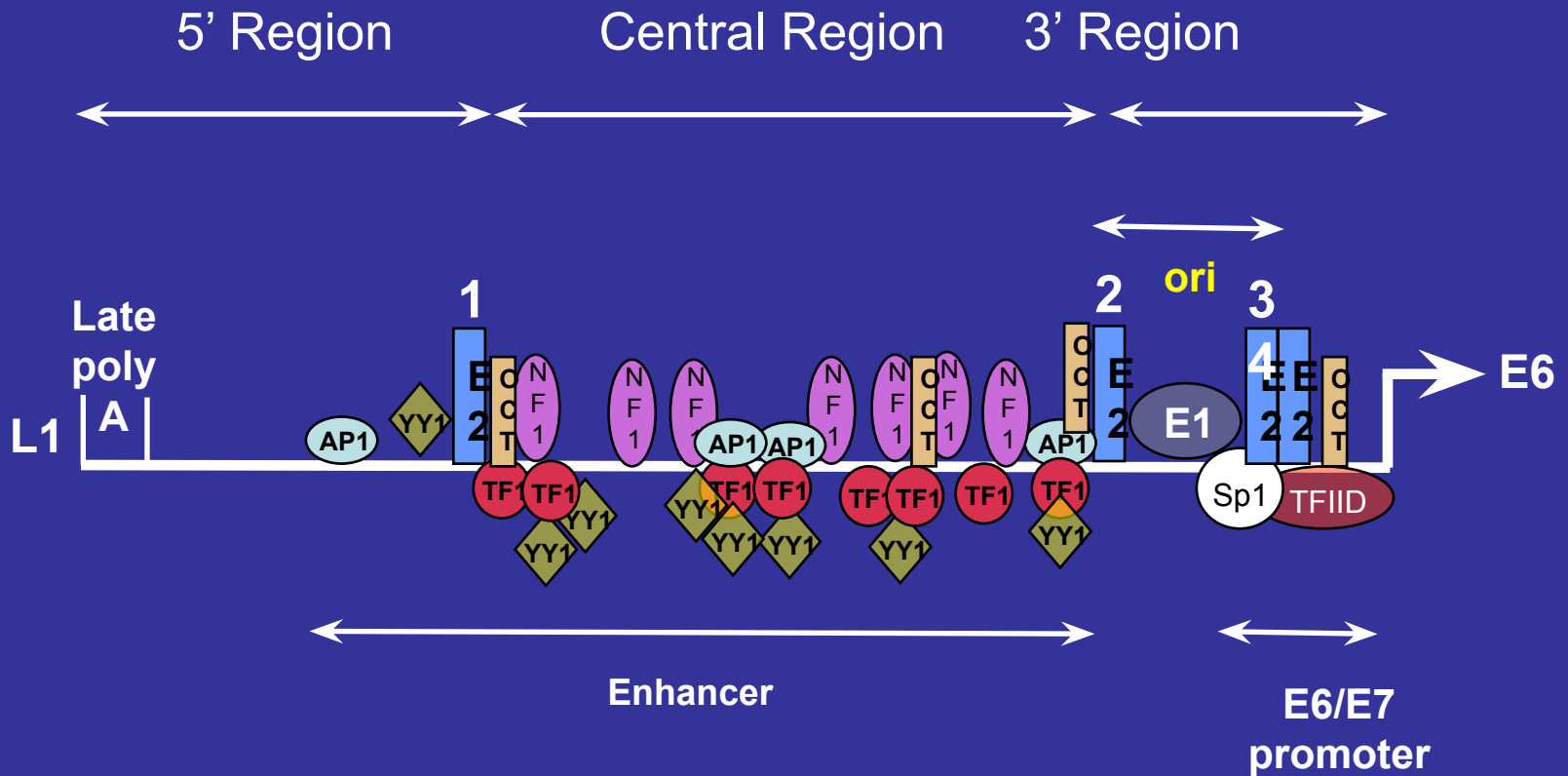


Регуляторний регіон

Регуляторний регіон вірусного геному (upstream regulatory region, URR) розташовується між кінцем ділянки пізніх генів та початком ділянки ранніх генів.

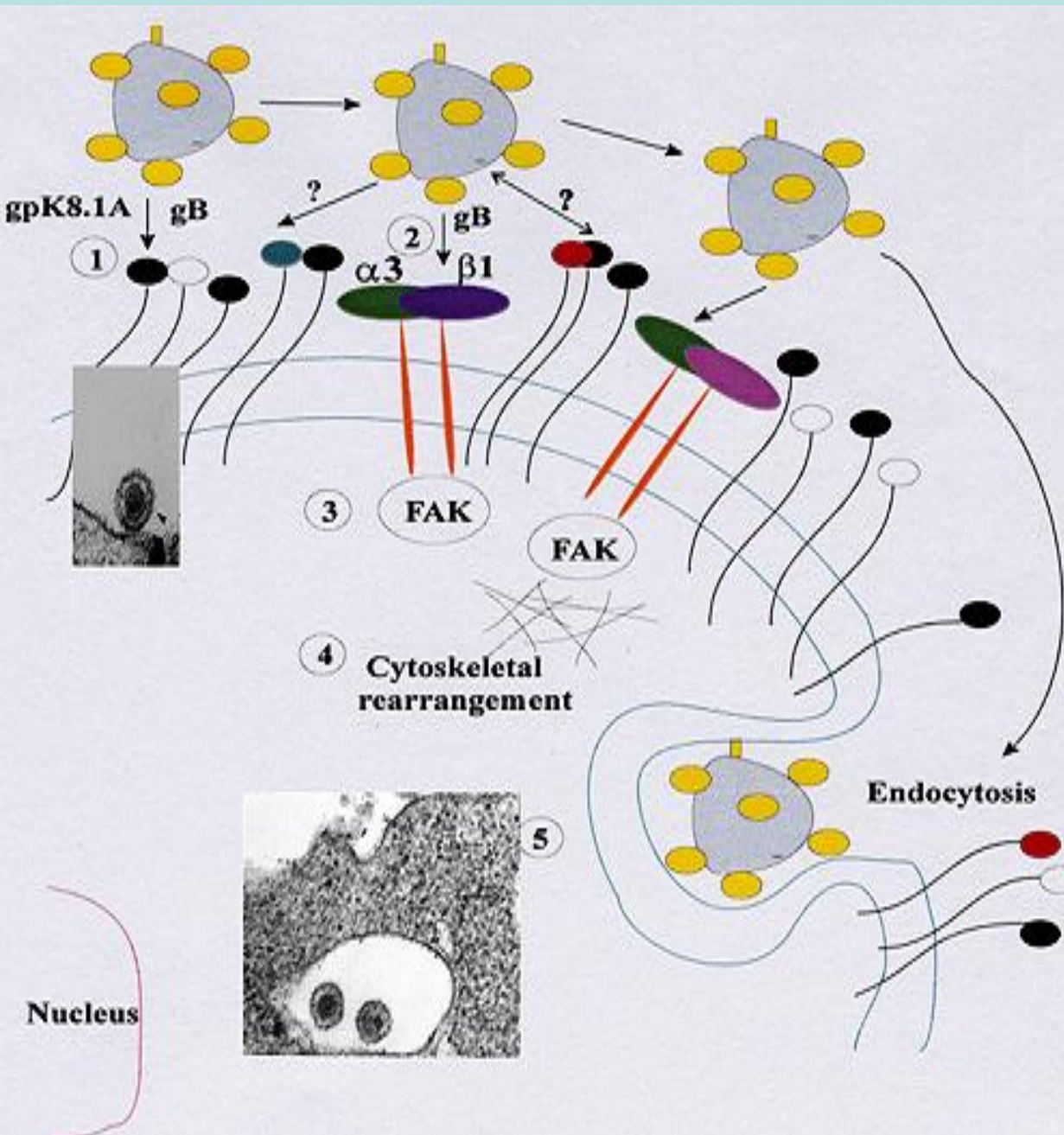


Регуляторна ділянка (URR / LCR)



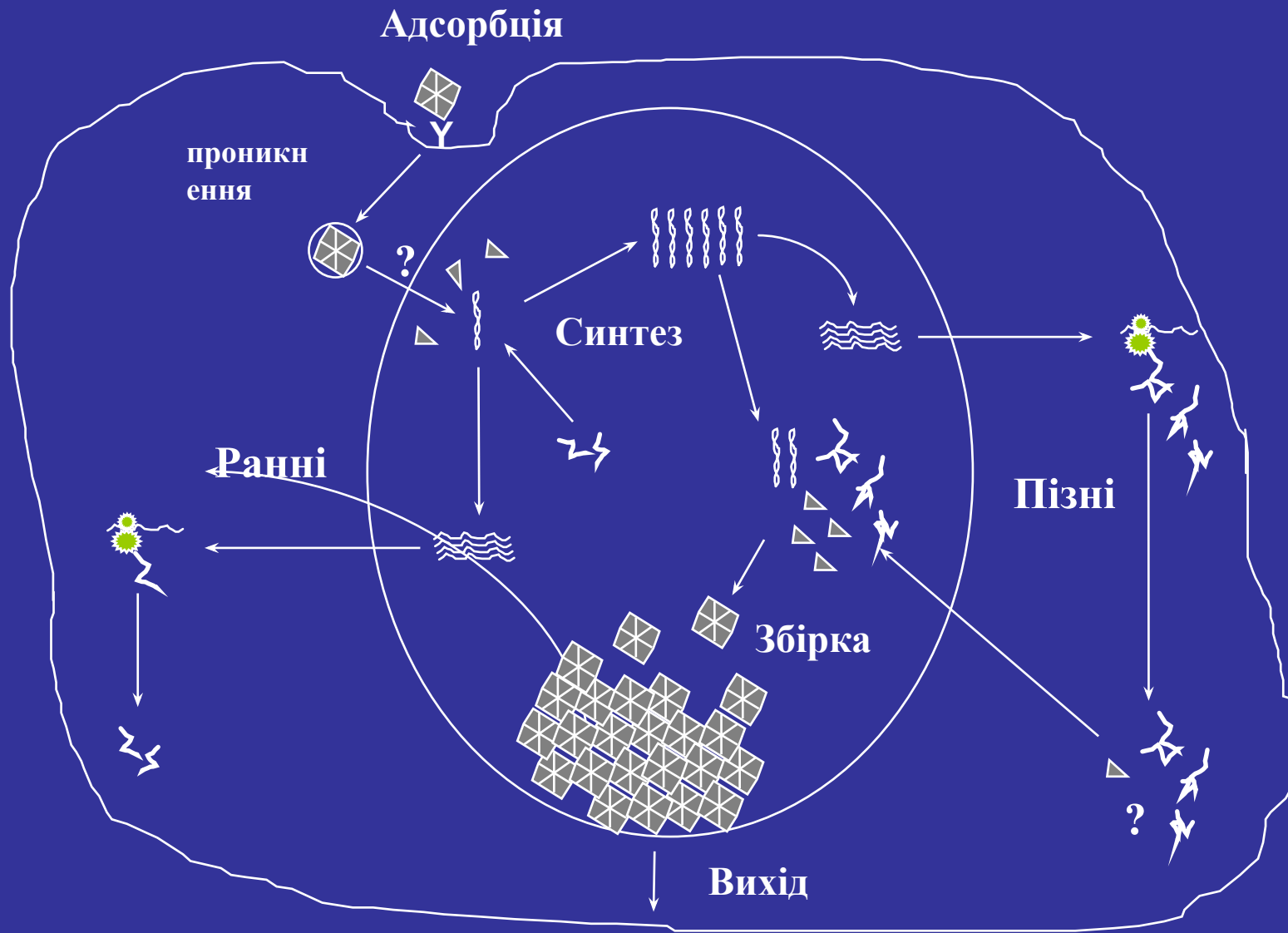
Функції папілломавірусних білків

ORF	Функція
L1	Білок L1, мажорний білок капсиду
L2	Білок L2, мінорний білок капсиду
E1	Ініціація реплікації вірусної ДНК
E2	Білок, що регулює транскрипцію, допоміжна роль у реплікації ДНК
E3	Функція невідома
E4	руйнування цитокератинів
E5	Білок, що трансформує мембрани; взаємодіє з рецепторами факторів росту
E6	Трансформуючий білок HPV; мішень дії (деградація) – p53
E7	Трансформуючий білок HPV; приєднується до білка ретинобластоми
E8	Функція невідома

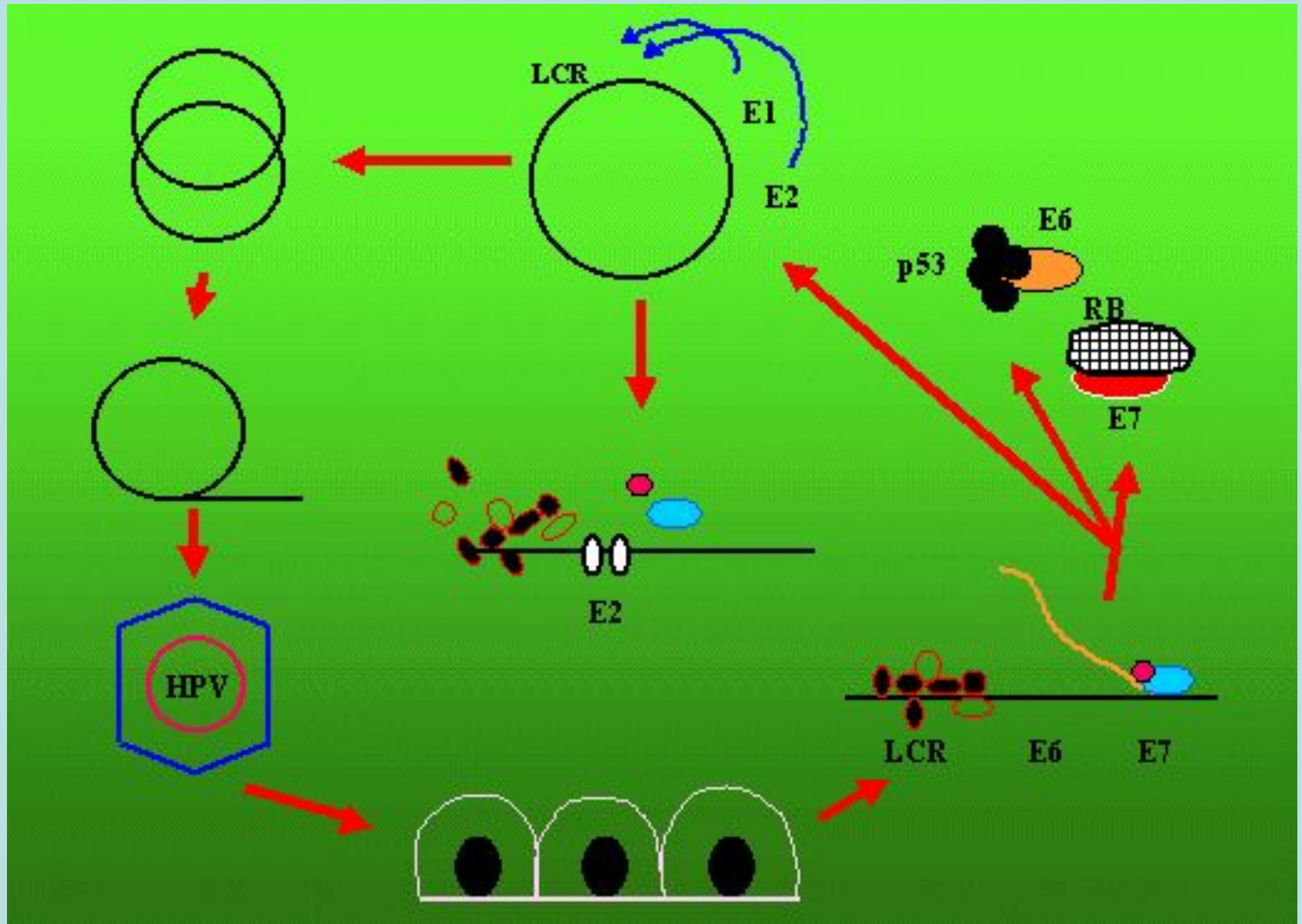


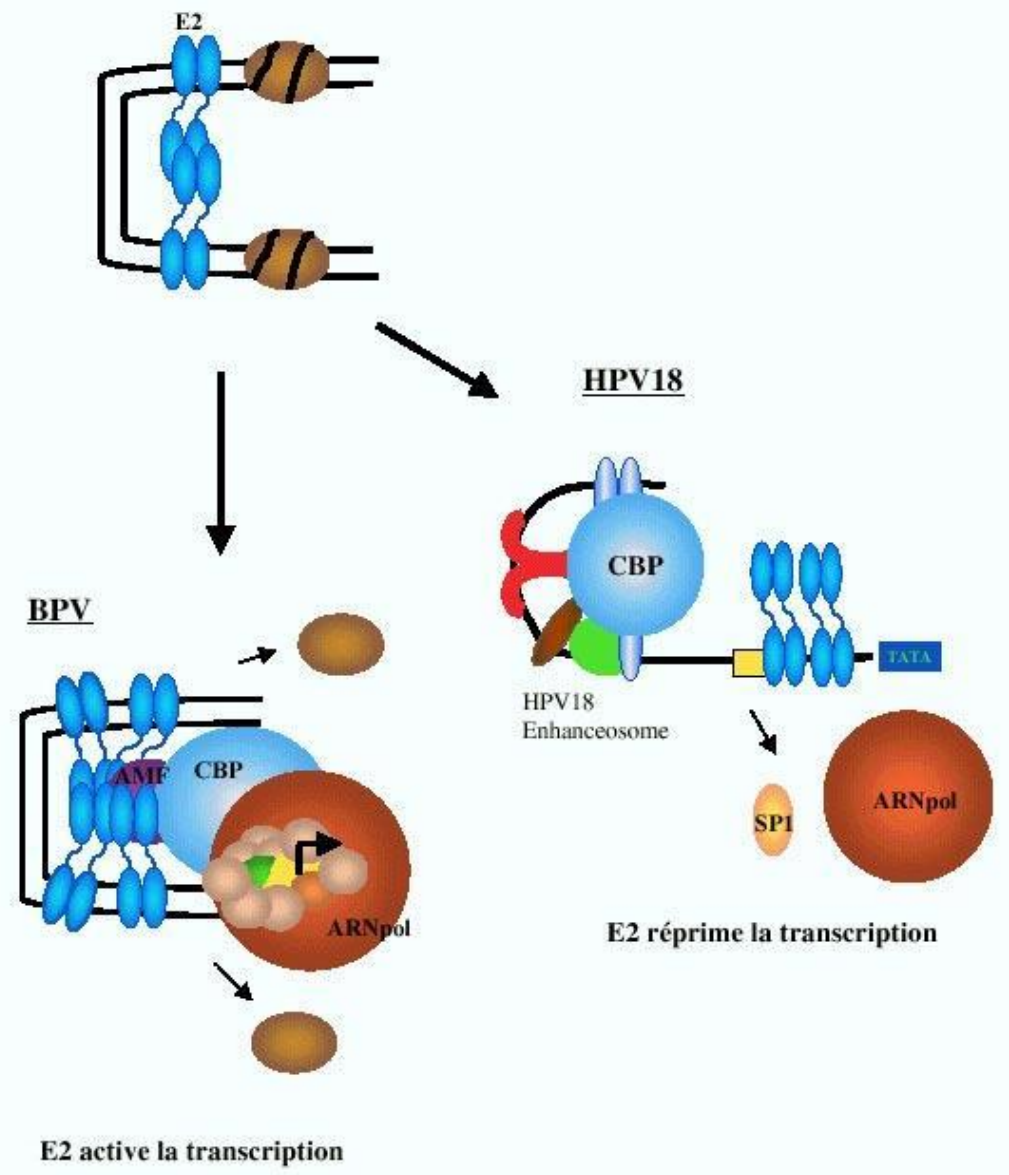
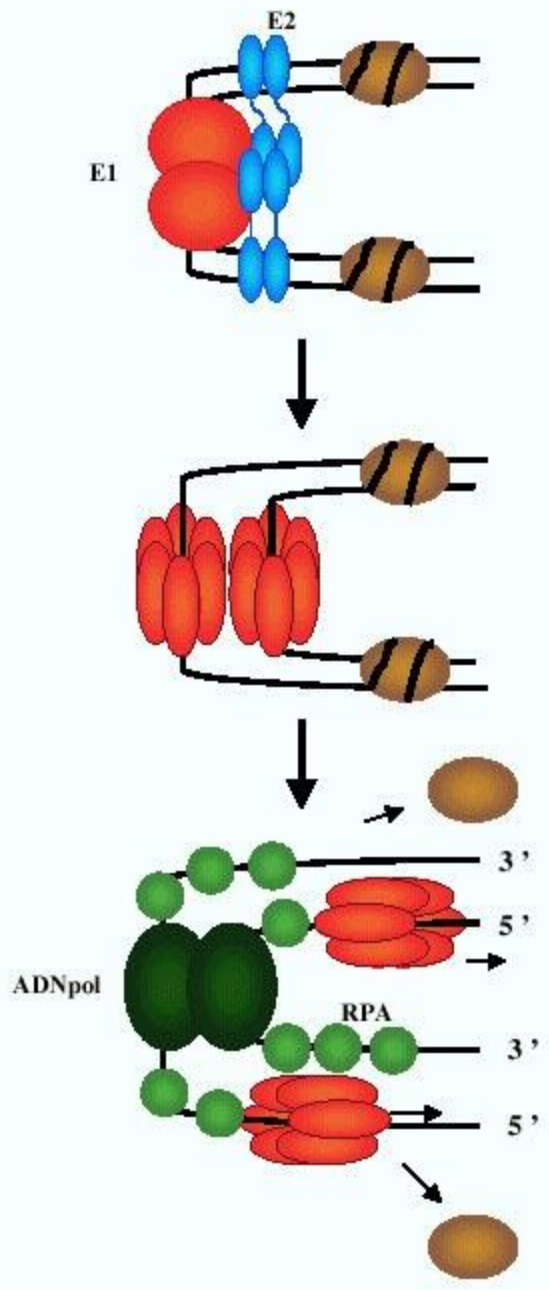
Проникнення віріонів в клітину

ЖИТТЄВИЙ ЦИКЛ

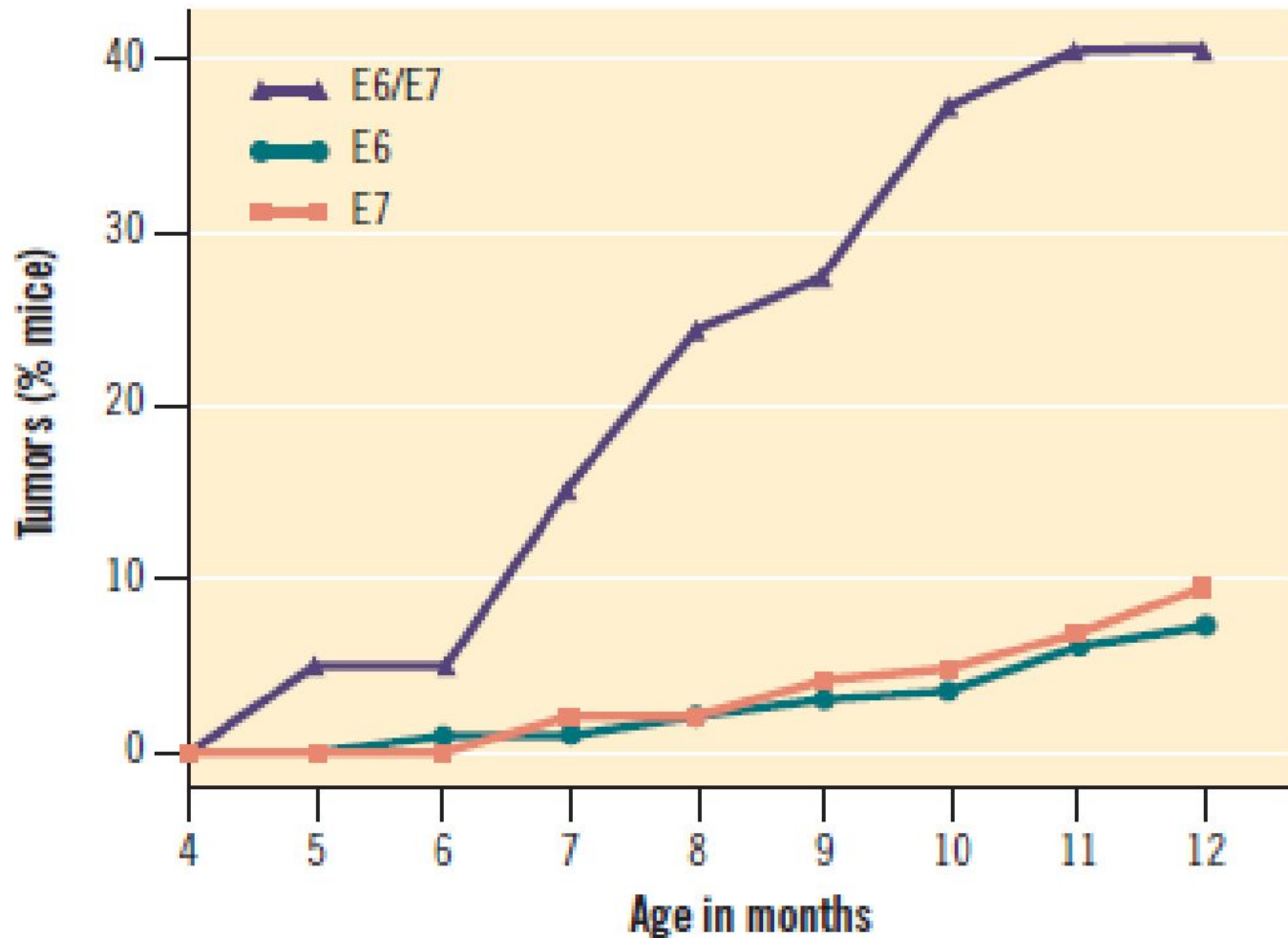


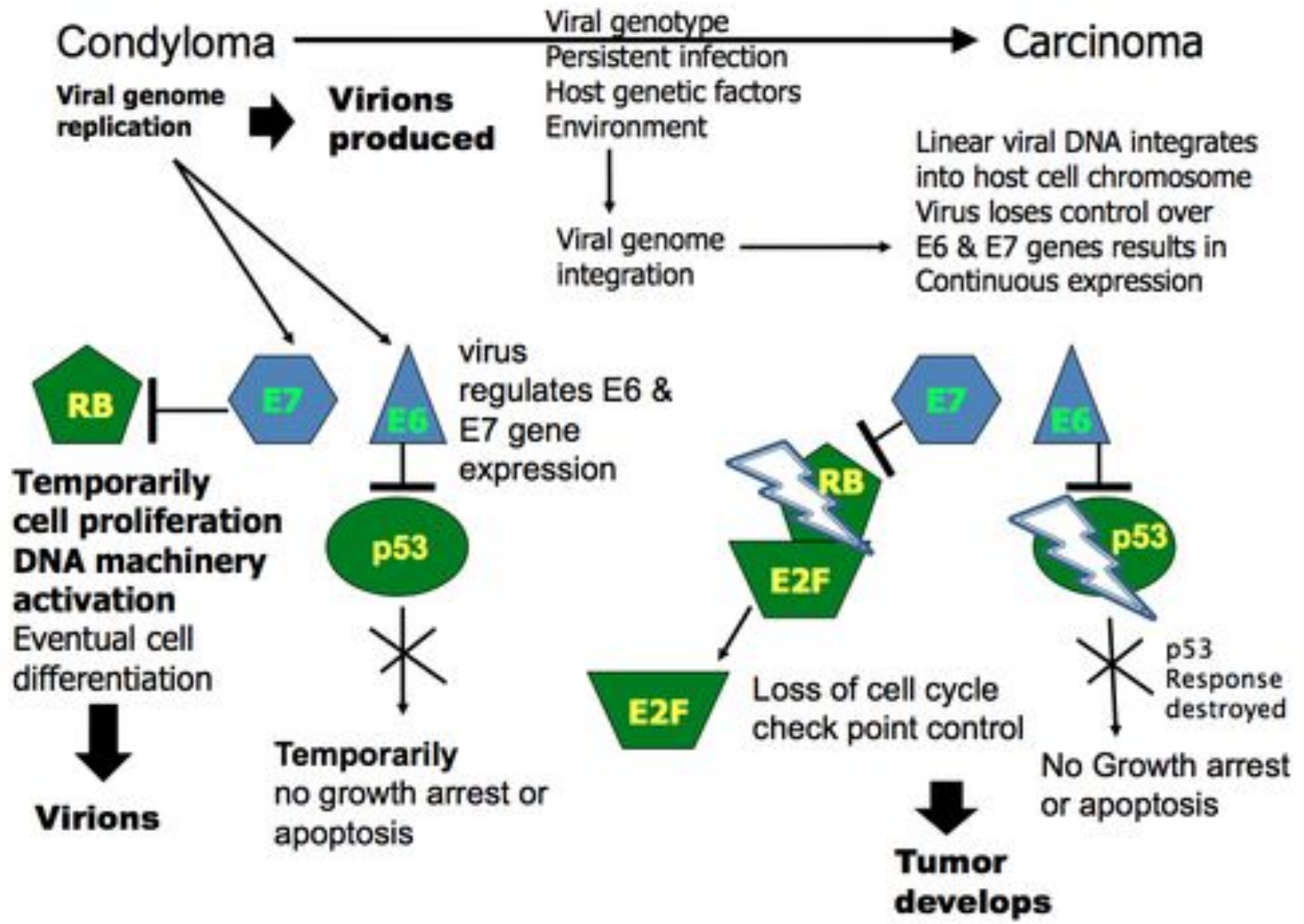
Події в клітині



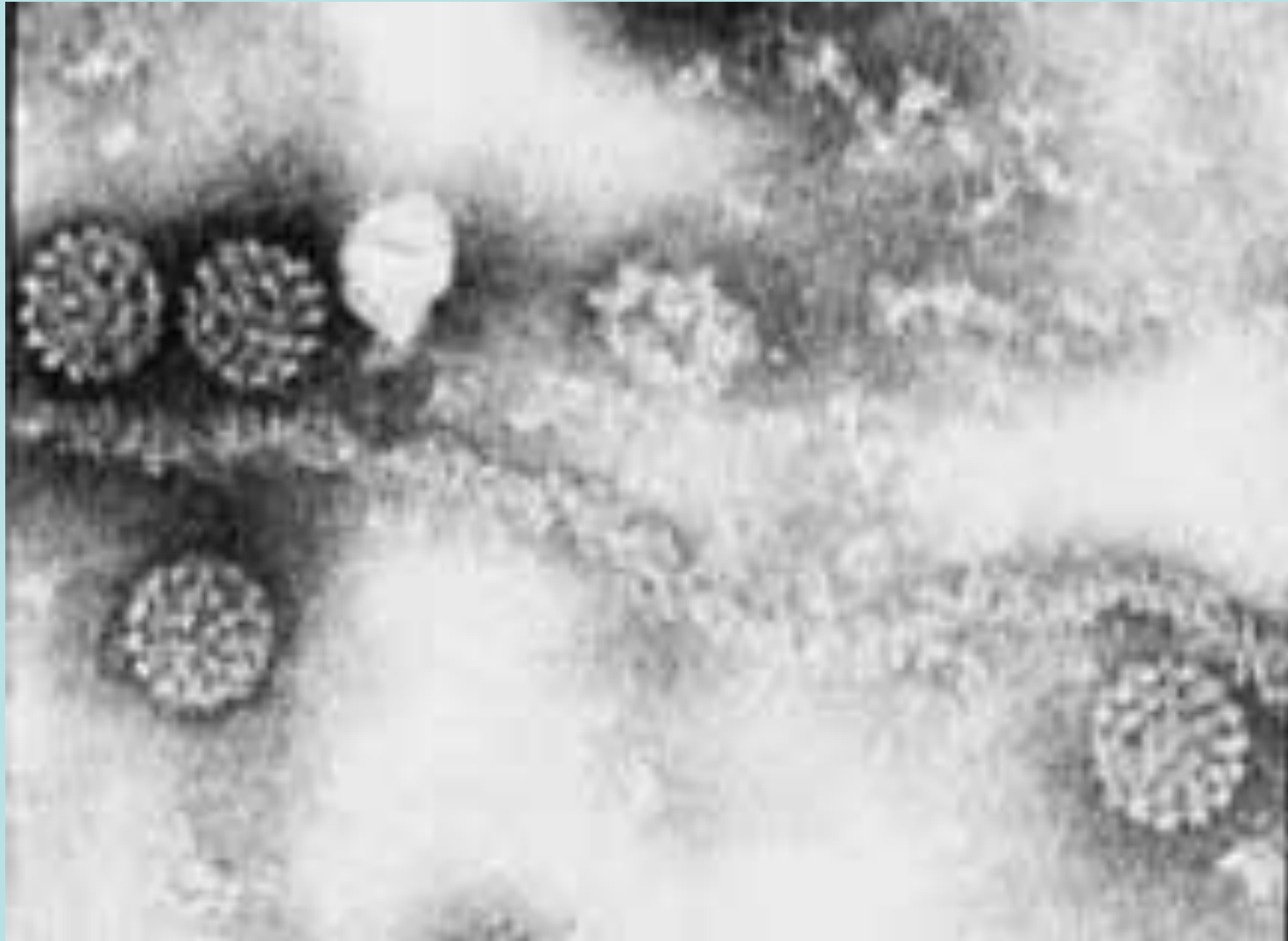


Синергічний ефект E6 та E7, двох онкогенів ВПЛ





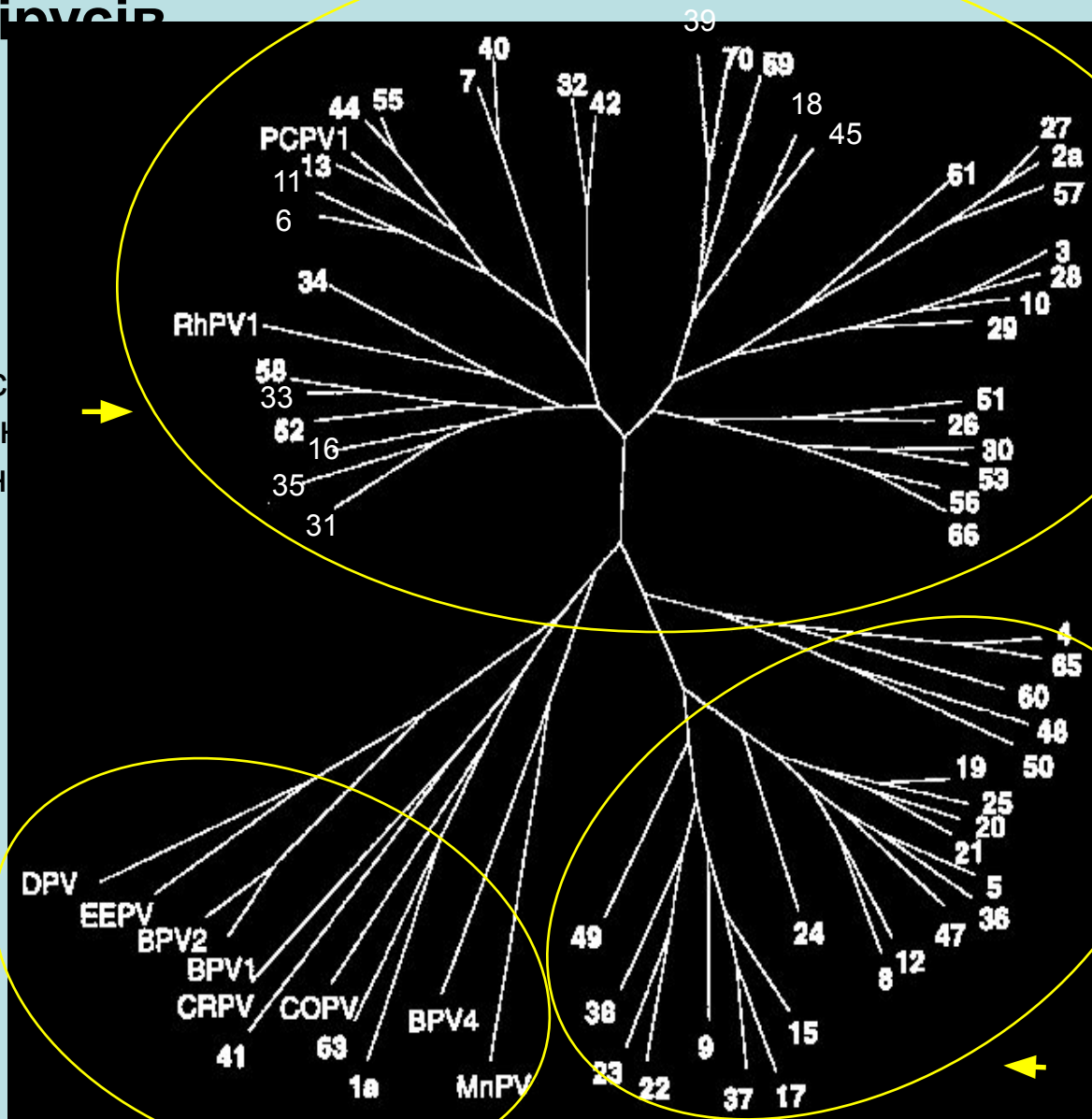
Вихід віріонів з клітини



Спорідненість папіломавірусів





Папіломавірус
слизових оболонок
статевих органів
людини

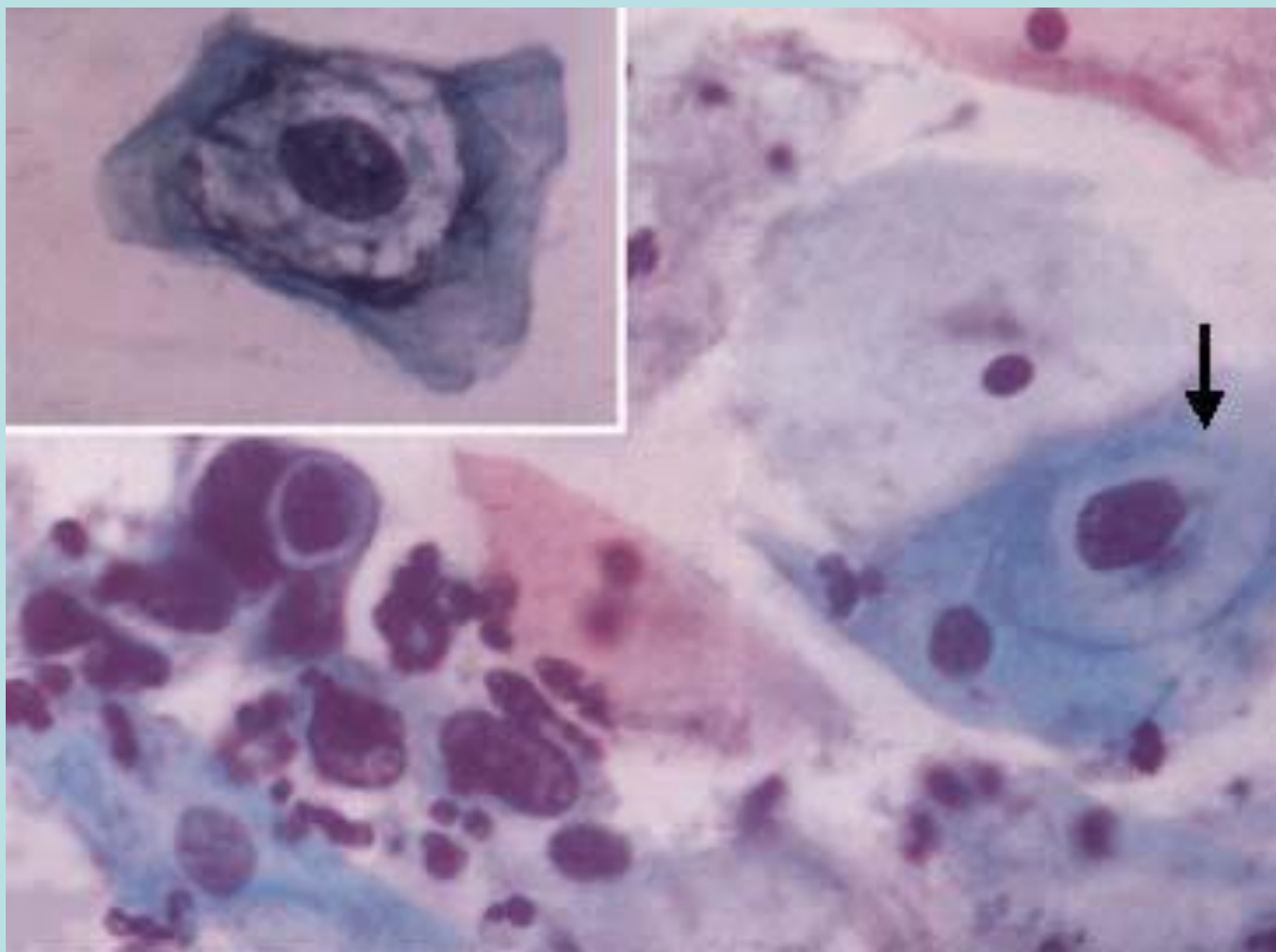
Папілломаіруси
тварин



папіломавіруси
шкіриних
покривів людини

Види уражень, викликаних папіломавірусами людини

Латентная инфекция	Острые кондиломы	Папулы-бородавки	Плоские поражения	Атипичные клетки
				
	6-11	16, 18	16, 18, 31, 42	16, 18
	Типы HPV			



Ознаки койлоцитарної атипії

Деякі з найпоширеніших папіломавірусів та захворювання, що вони викликають

HPV type	Anatomic site	Skin or mucosal disease	Risk of cancer
1, 4	Sole, palm	Plantar warts	None
2, 57	Skin, genital mucosa	Common warts	None
3, 10	Skin, genital mucosa	Flat warts	None
6, 11	Anogenital area, larynx	Warts	$\ll 1\%$
16, 18, 31, 45	Cervix, anogenital area, esophagus	Condylomas, dysplasias, carcinomas	1–3%
5, 8, 47	Skin, esophagus	Epidermodysplasia verruciformis	30–40%

Клінічний прояв папіломавірусної інфекції

Генотип	Захворювання
1, 2, 4	бородавки підошви
2, 26, 27, 29, 57	звичайні бородавки
3,10,28,49	плоскі бородавки
6, 11, 42-44, 54	генітальні бородавки;
6, 11, 30	папіломатоз гортані
16, 18, 31, 33, 35, неоплазії	анально-статева дисплазія ,
39, 45, 51, 52, 56	
58, 59, 68	



Photo credit:

<http://www.telemedicine.org/warts/Fig4b.htm>

Клінічний прояв папіломавірусної інфекції

Генотип

Захворювання

1

бородавки підошви

2, 4, 29

звичайні бородавки

3,10,28,49

плоскі бородавки

6, 11, 42

генітальні бородавки;

папіломатоз гортані

16, 18, 31, 33, 35,

анально-статева дисплазія ,

неоплазії

39, 45, 51, 52, 56

58, 59, 68



Клінічний прояв папіломавірусної інфекції

Генотип

Захворювання

1

бородавки підошви

2, 4, 29

звичайні бородавки

3,10,28,49

плоскі бородавки

6, 11, 42

генітальні бородавки;

папіломатоз гортані

16, 18, 31, 33, 35,

анально-статева дисплазія ,

неоплазії

39, 45, 51, 52, 56

58, 59, 68



Клінічний прояв папіломавірусної інфекції

Генотип

Захворювання

1

бородавки підошви

2, 4, 29

звичайні бородавки

3,10,28,49

плоскі бородавки

6, 11, 42

генітальні бородавки;

папіломатоз гортані

16, 18, 31, 33, 35,

анально-статева дисплазія ,

неоплазії

39, 45, 51, 52, 56

58, 59, 68



Клінічний прояв папіломавірусної інфекції

Генотип

Захворювання

1

бородавки підошви

2, 4, 29

звичайні бородавки

3,10,28,49

плоскі бородавки

6, 11, 42

генітальні бородавки;

папіломатоз гортані

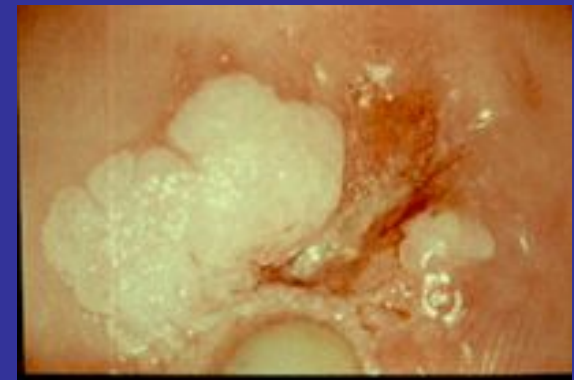
16, 18, 31, 33, 35,

анально-статева дисплазія ,

неоплазії

39, 45, 51, 52, 56

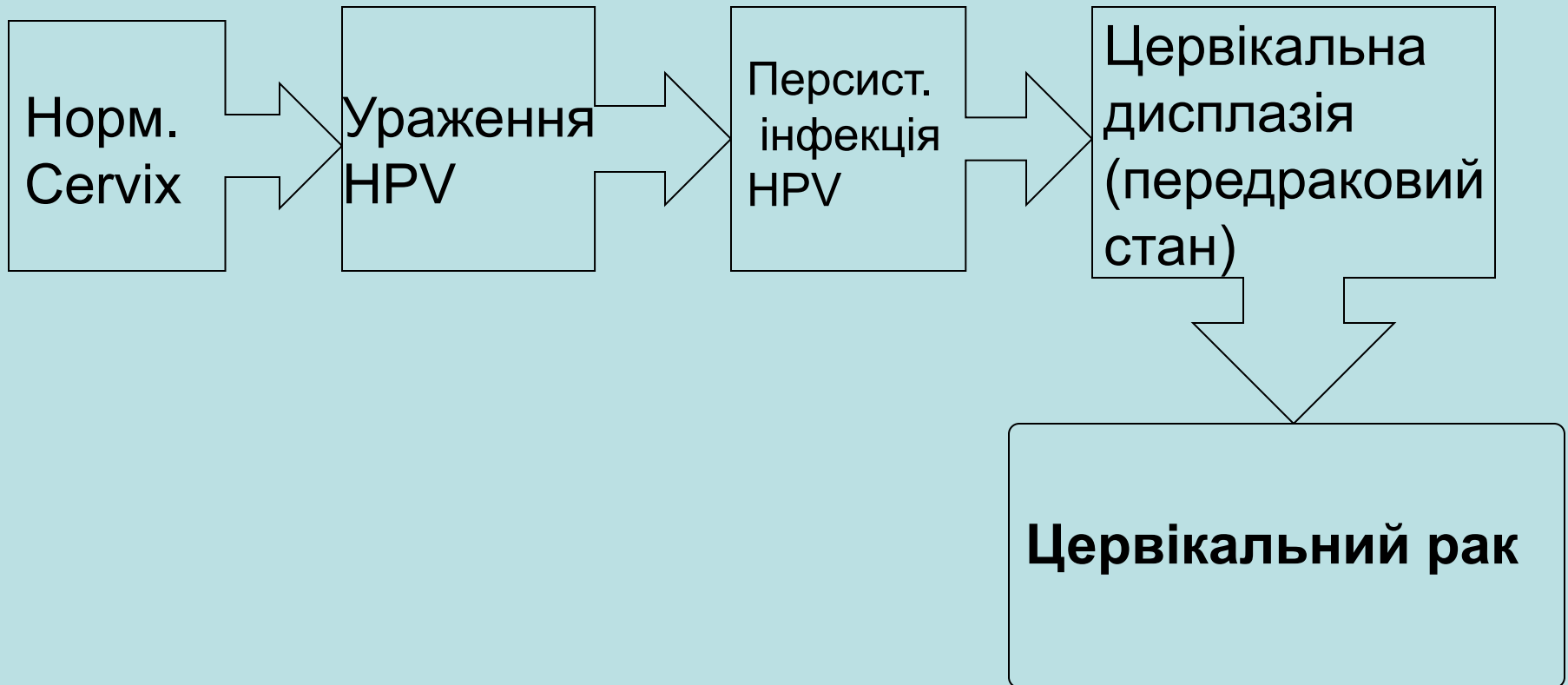
58, 59, 68

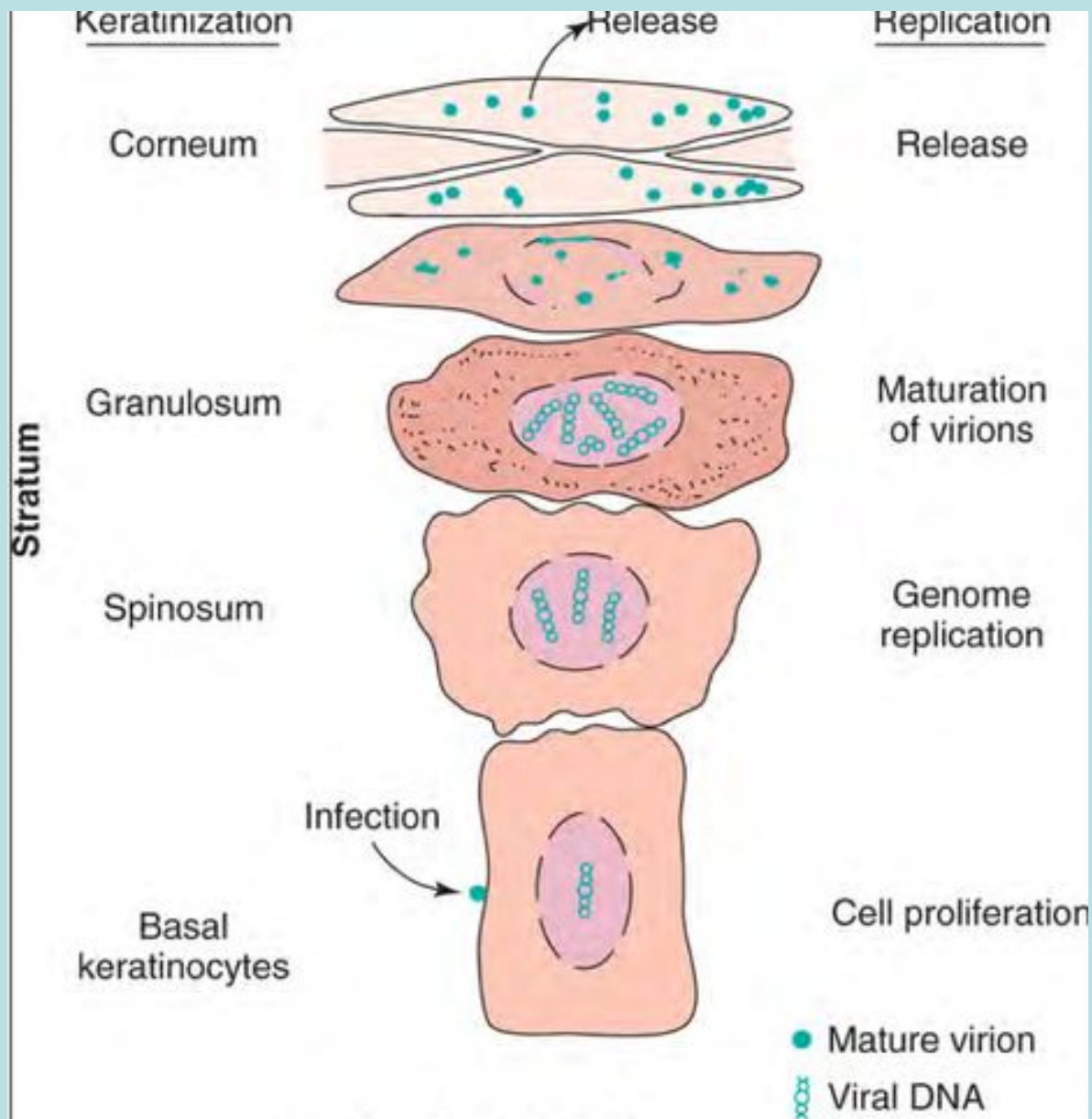


Кондиломи



Цервікальний рак

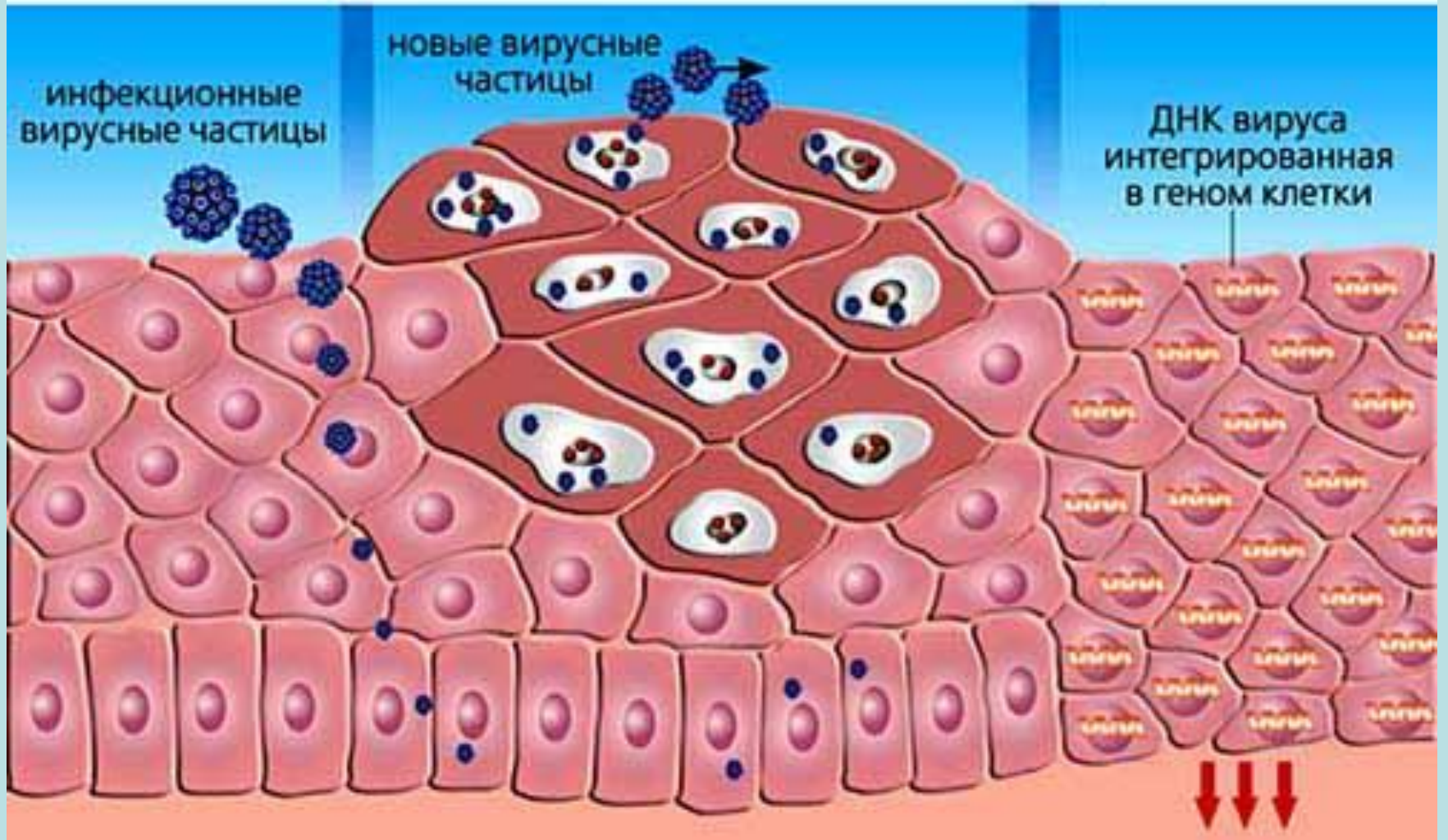


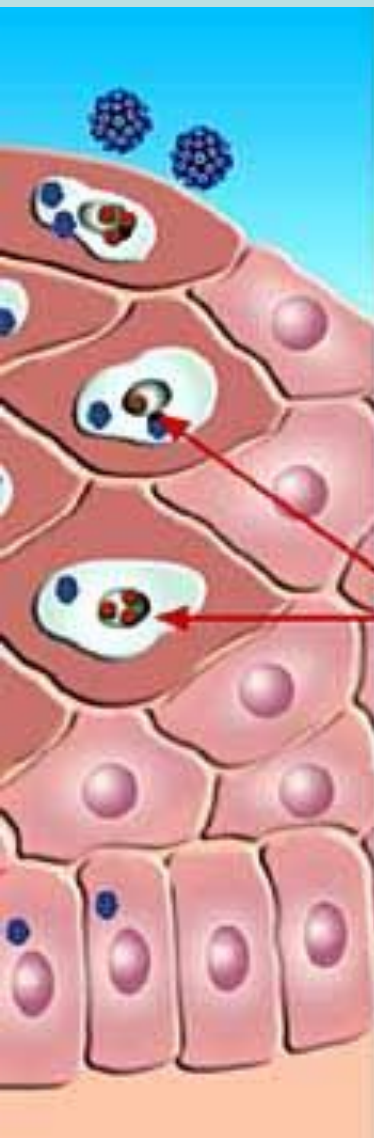


нормальный
эпителий

HPV-инфекция
интраэпителиальная
неоплазия стадии I

интраэпителиальная
неоплазия стадии II и III
рак шейки матки





**развитие
вируса**

**экспрессируемые
гены вируса**

упаковка ДНК
в капсид и выход
зрелых вирусов

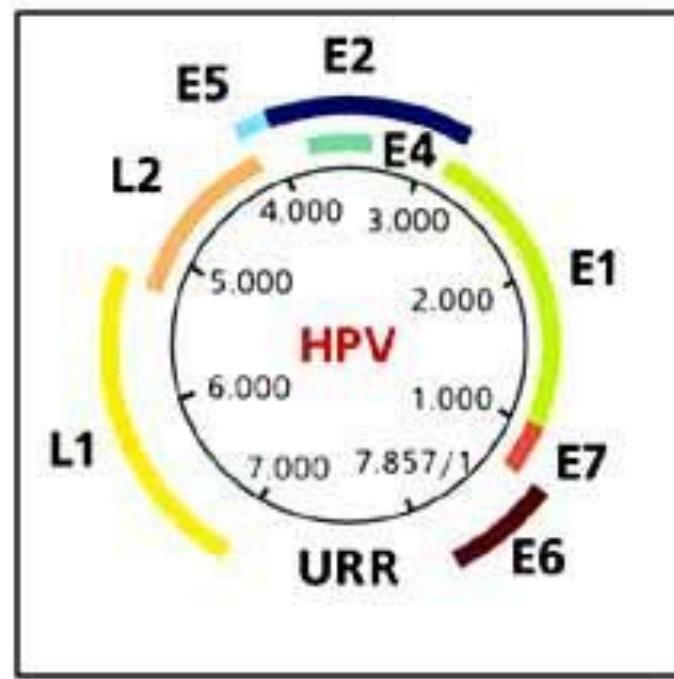
L1 и L2

вирусная ДНК
(эписома)
в ядрах
эпителия

вирусная ДНК
E6 и E7
E1 и E2, E6 и E7

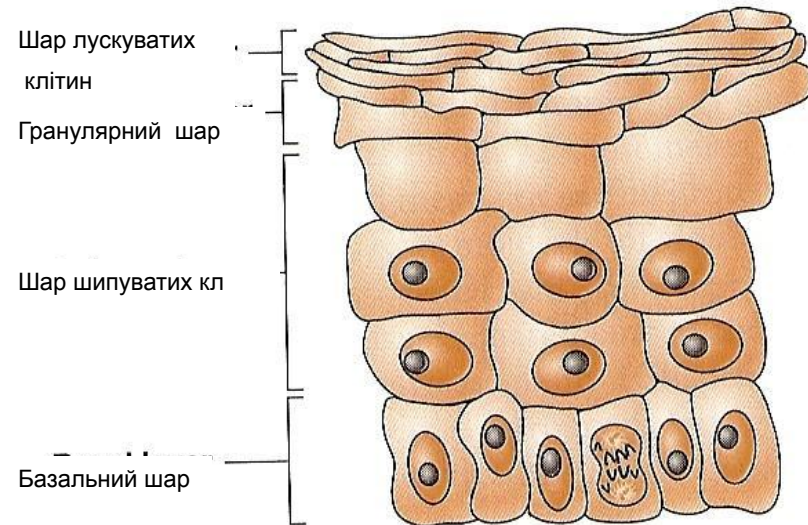
инфекция
базальных клеток

E1 и E2



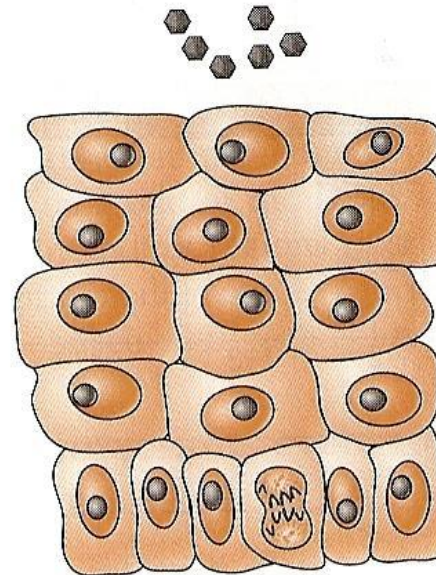
Структура епідермісу

Нормальний епітелій

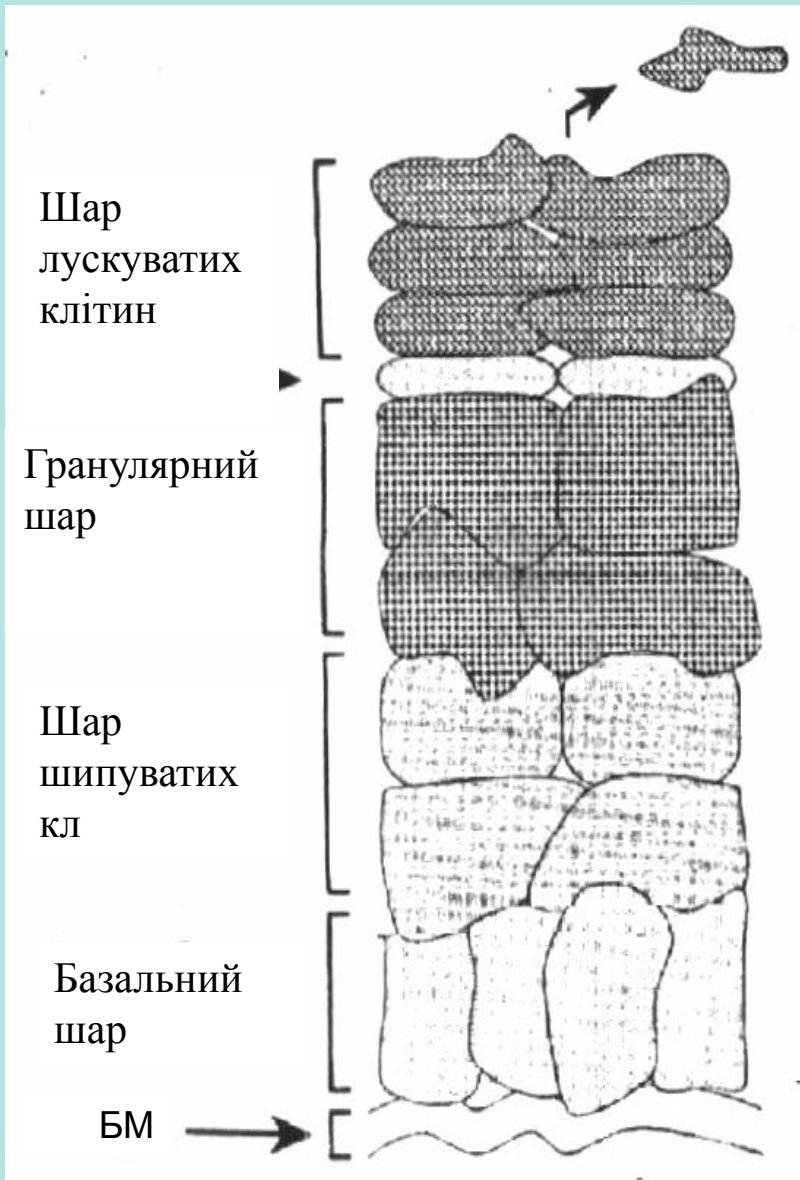


- Клітини, що злушуються
- Деградація ДНК
- Синтез високомолекулярних кератинів
- Стовбурові клітини: синтез ДНК та поділ кл

Епітелій інфікований ВПЛ



- Вихід віріонів
- Синтез структурних білків, Збірка віріону
- Ампліфікація вірусної ДНК
- Експресія ранніх генів
- Реплікація плазмідної ДНК
- Інфекційні стовбурові клітини



Реплікація ДНК

Експресія пізніх генів

+

+++

+++

+

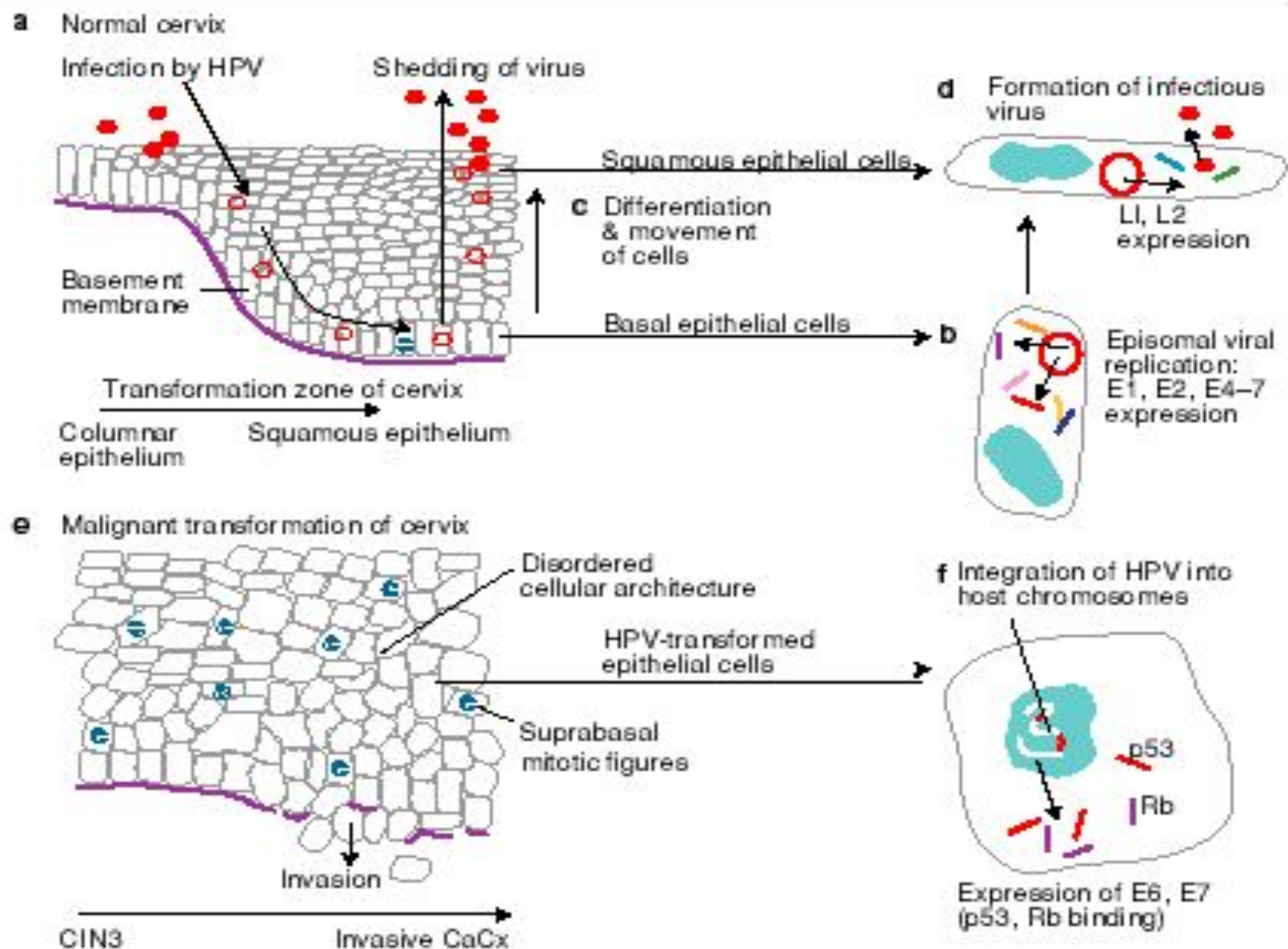
+/-

-

+

-

from Eckert & Welter, Mol Biol Rep, 1996



Human papillomavirus infection & replication in cervical epithelial cells

HPV та генітальні пухлини



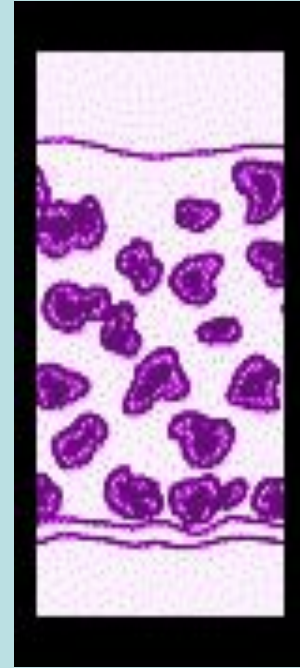
Нормальний Сх



Легка дисплазія (CIN I)



Помірна дисплазія (CIN II)



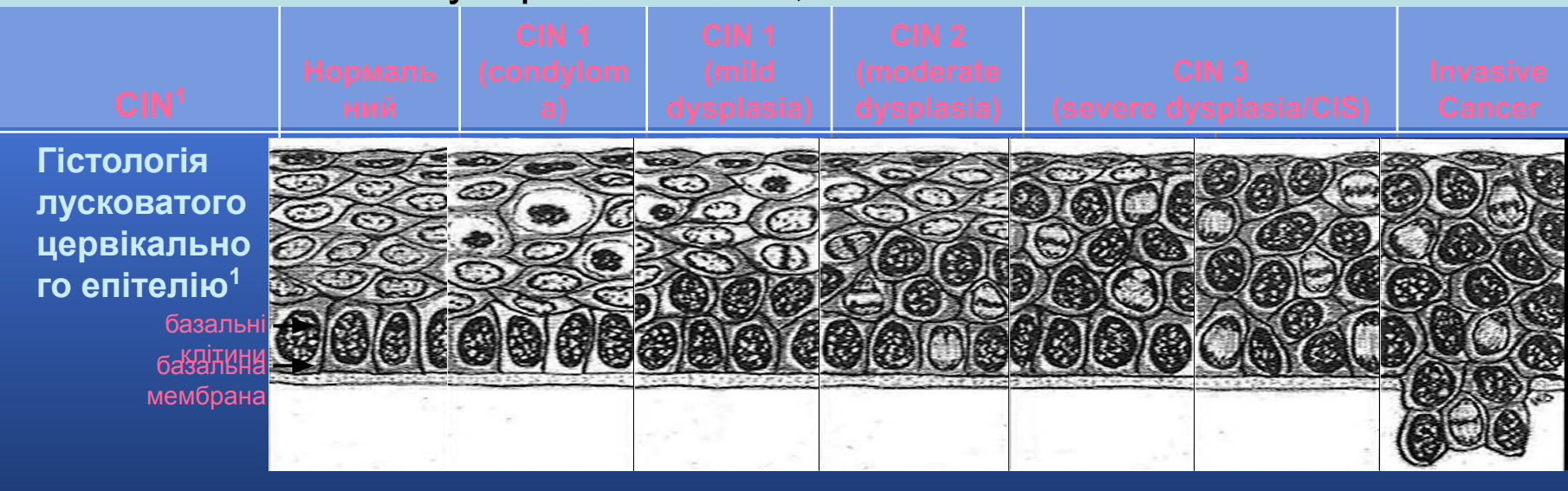
Тяжка дисплазія (CIN III / CIS)



Інвазивне захворювання

Класифікація гістологічних проб: цервікальна інтраепітеліальна неоплазія

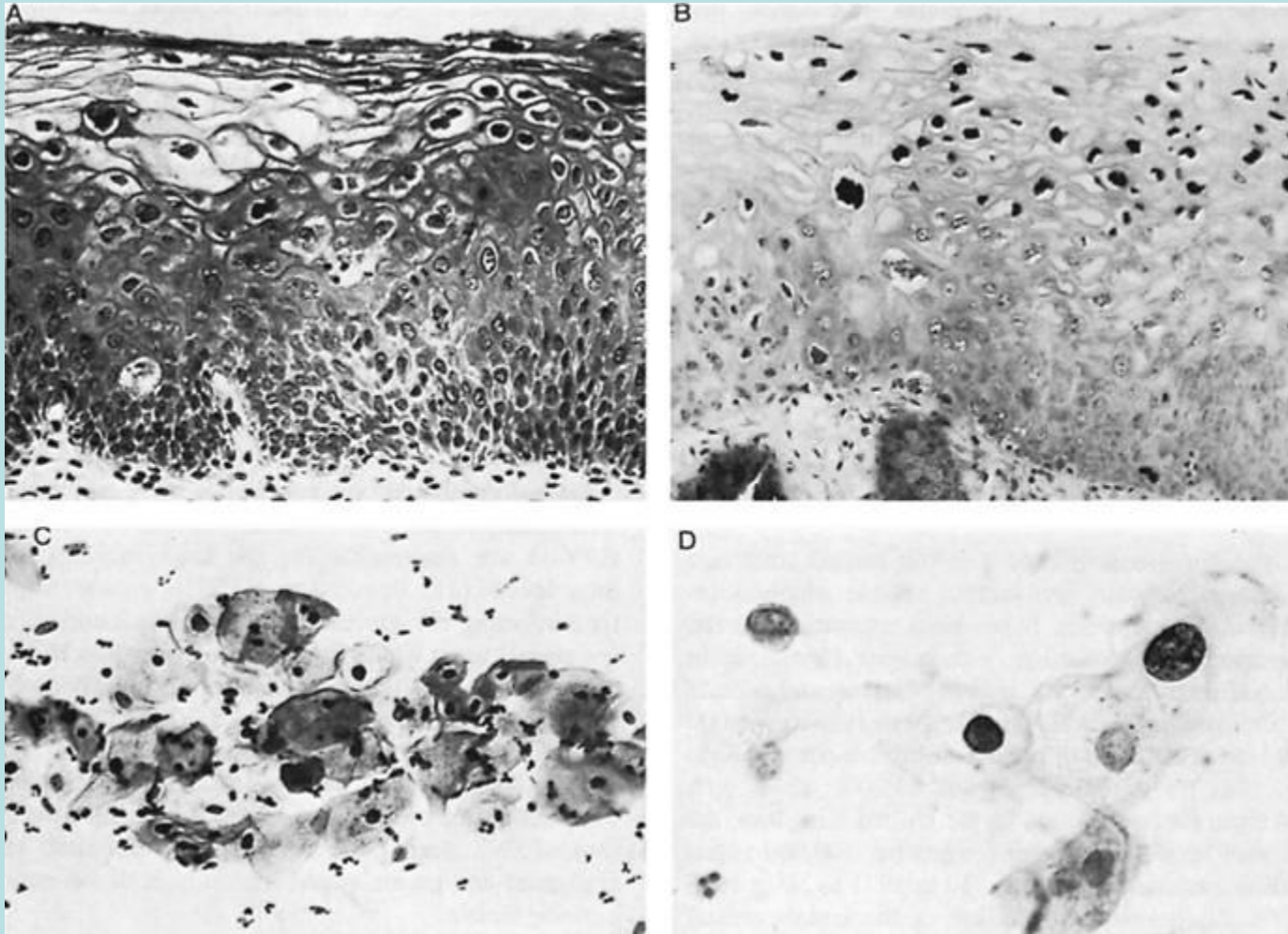
- Цервікальна інтраепітеліальна неоплазія
- (Cervical intraepithelial neoplasia (CIN))¹
 - CIN 1: Помірна дисплазія, включає кондилому (аногенітальні бородавки)
 - CIN 2: Дисплазія середнього ступеня
 - CIN 3: суворі дисплазія, включаючи CIS



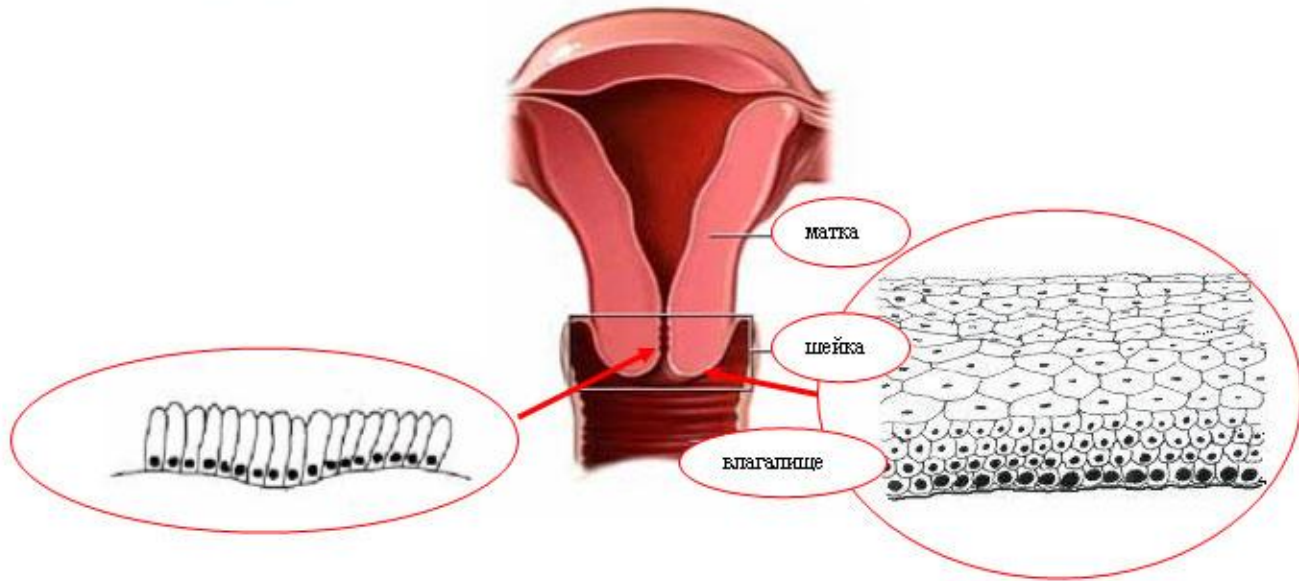
CIN, викликаний HPV, може зникати без терапії.²

1. Bonnez W. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FJ, eds. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2002:569–612. 2. Ostor AG. *Int J Gynecol Pathol.* 1993;12:186–192.

Дисплазія шийки матки



Low-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. A: Histologic section showing koilocytes with vacuolated cytoplasm and parakeratosis (H&E, *234). B: The darkly stained nuclei contain papillomavirus capsid antigen. [Immunoperoxidase stained with genus-specific antiserum (H&E, *234)]. C: Cervical smear. The squamous epithelial cells are rounded. They occur in clumps and display koilocytic changes (Papanicolaou stain; H&E *375). D: Cervical smear. The darkly stained nuclei contain papillomavirus capsid antigen. (Immunoperoxidase stained with genus-specific antiserum; H&E, *750). (From Fields Virology, 4th ed, Knipe & Howley, eds, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, Fig. 66-5.)



Дисплазия



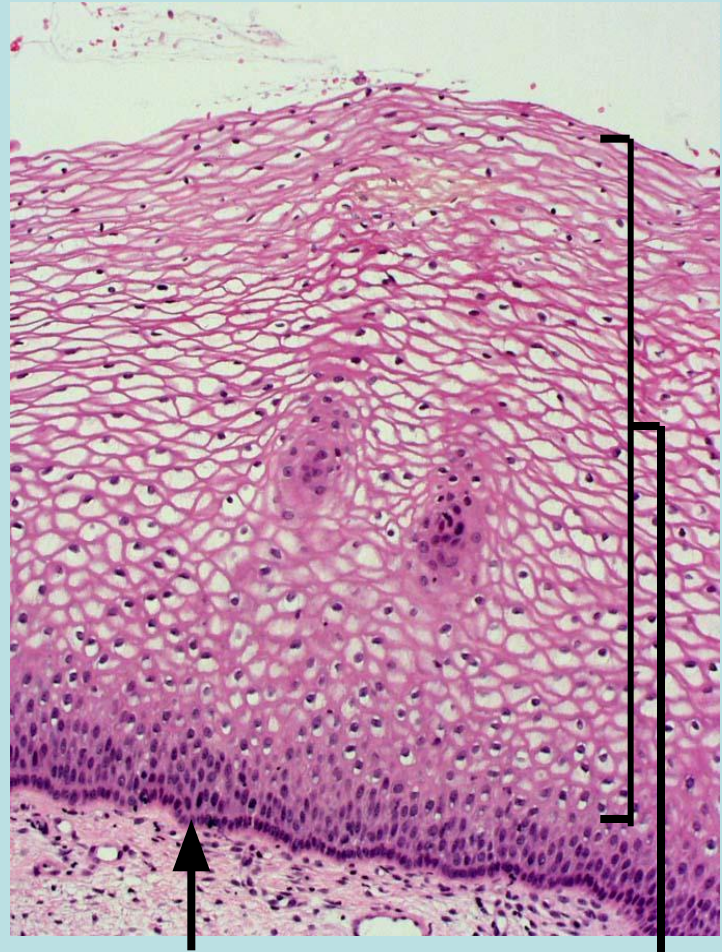
нормальные клетки



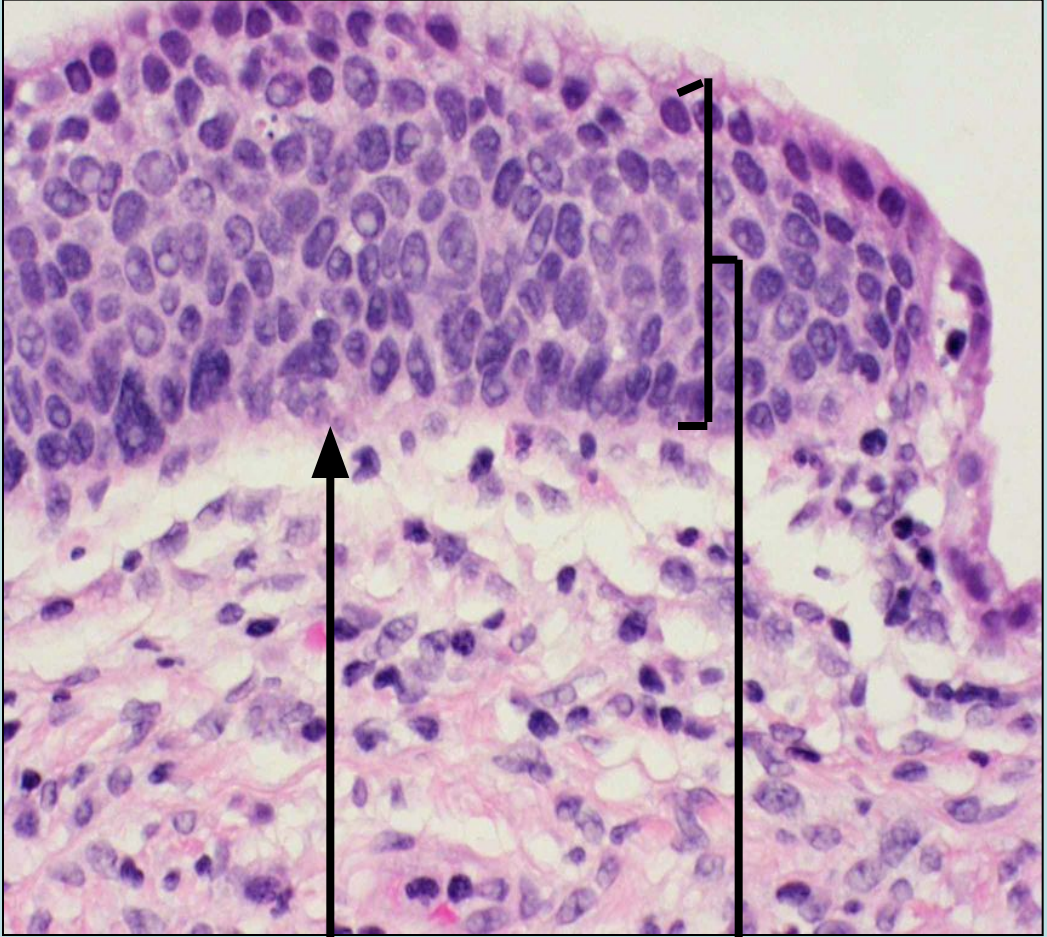
Раковые и предраковые клетки



Неушкоджений епітелій шийки матки



Кінцева стадія лізису лускуватого епітелію [HSIL]



Впорядкований базальний епітелій

Впорядкована диференціація [basket weave]

Зруйнований базальний епітелій

Порушена диференціація

Цервікальні ураження (рак шейки матки), обумовлені ПВЛ

>95% цервікальних уражень містять ДНК декількох споріднених HPV типів

Відсоток ураження HPV анально-статевої системи варіює від 20 до 40% серед сексуально активного населення

- Щорічно в усьому світі діагностується 500,000 випадків цервікального раку, щорічно ~200,000 загиблих з цієї причини**

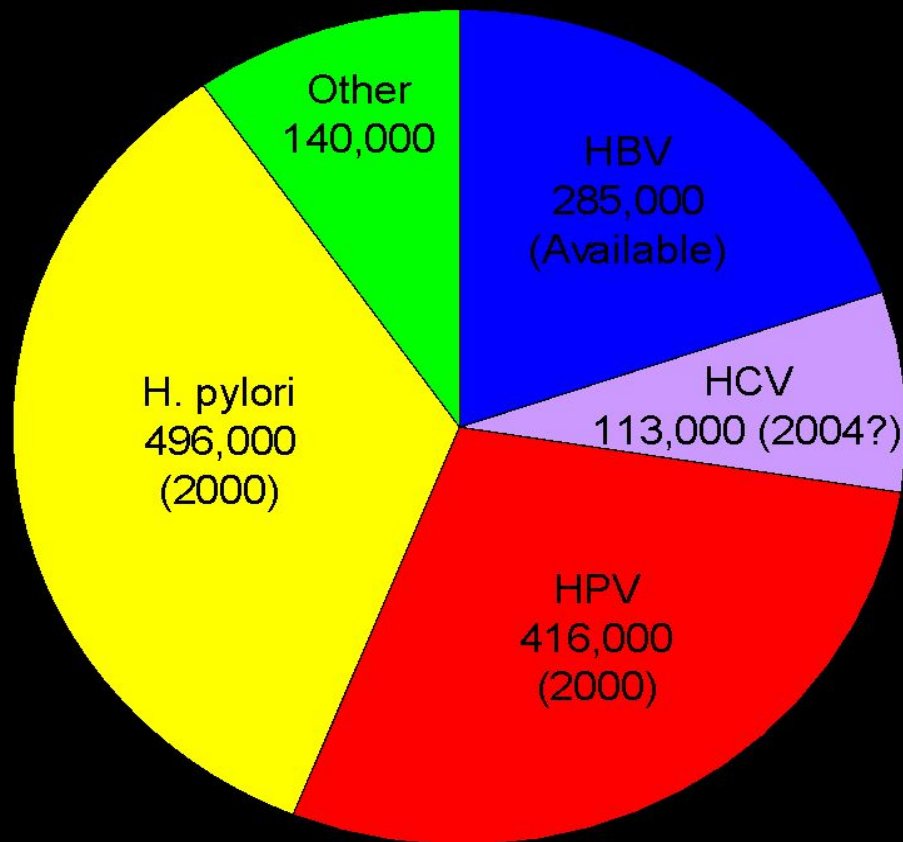
Фактори ризику розвитку цервікального раку

- **Фактори ризику персистенції інфекції ПВЛ**
 - Кількість сексуальних партнерів впродовж життя
 - Вік при першому статевому контакті
 - Куріння
 - Вживання оральних контрацептивів
 - Сексуальна поведінка партнера – чоловіка

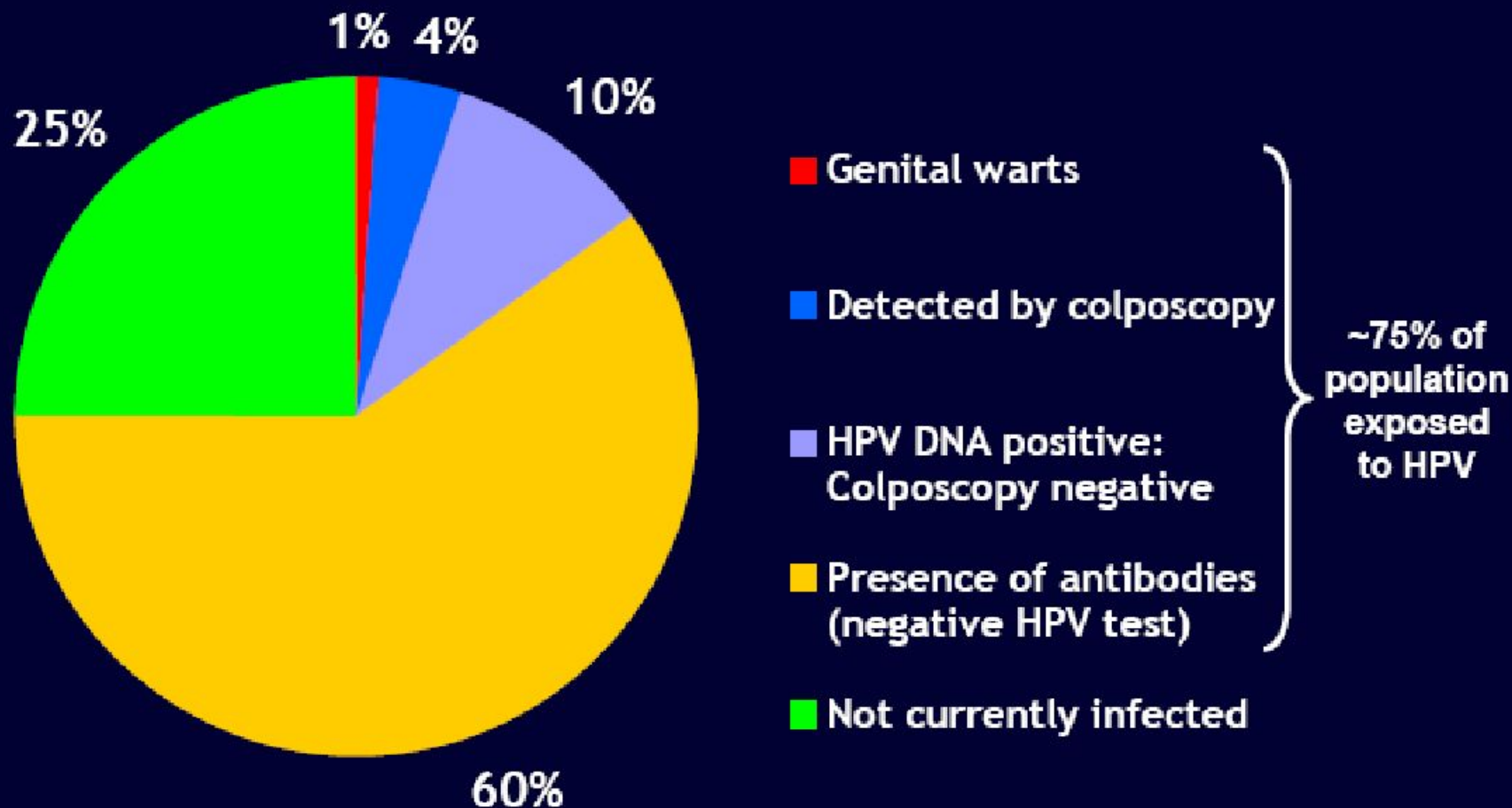
Додаткові фактори ризику

- Вік
- Спадковість
- Низький соціально-економічний рівень харчування
- Імуносупресивні стани

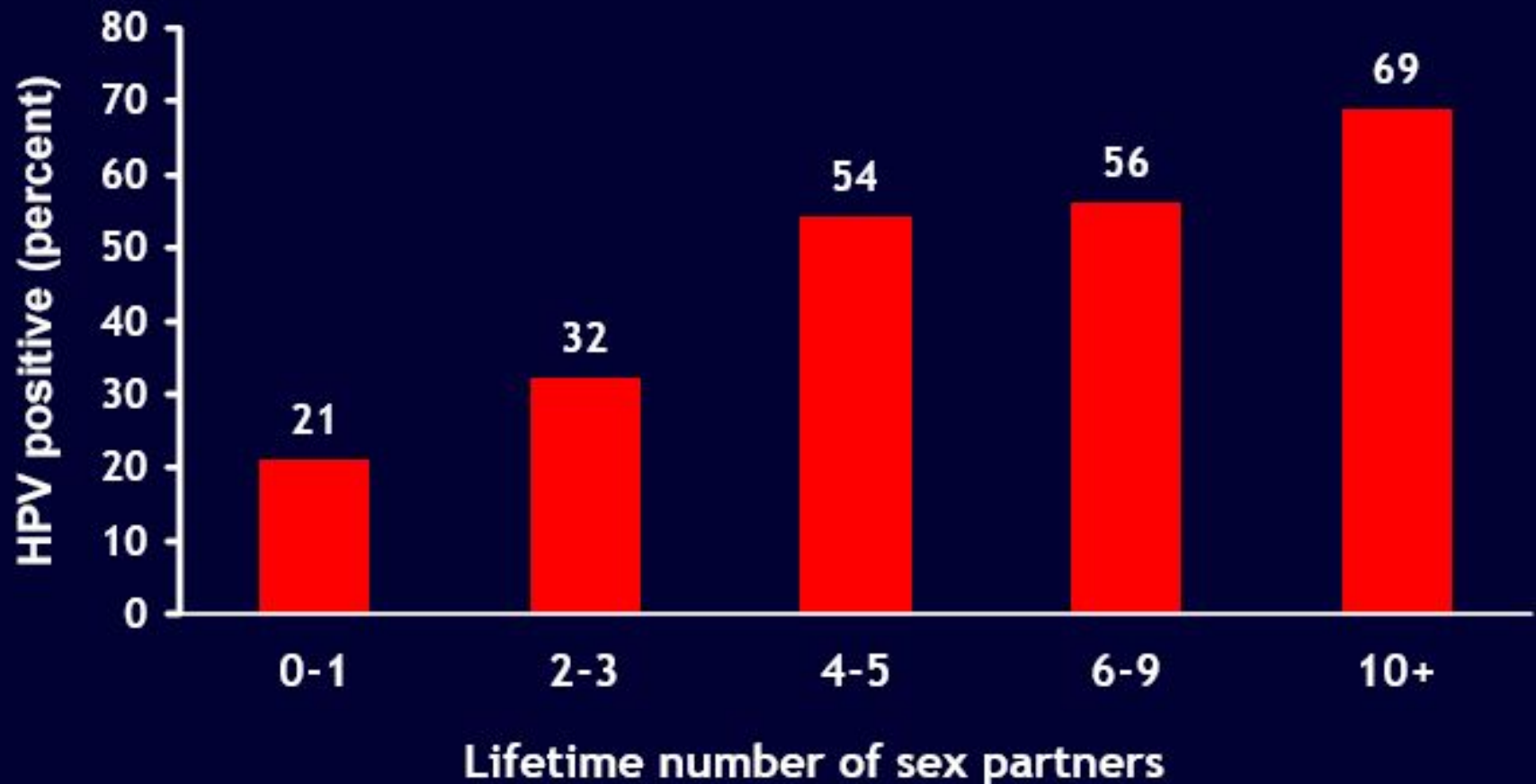
Рак, як наслідок інфекцій (щорічна смертність ~1.45млн.)



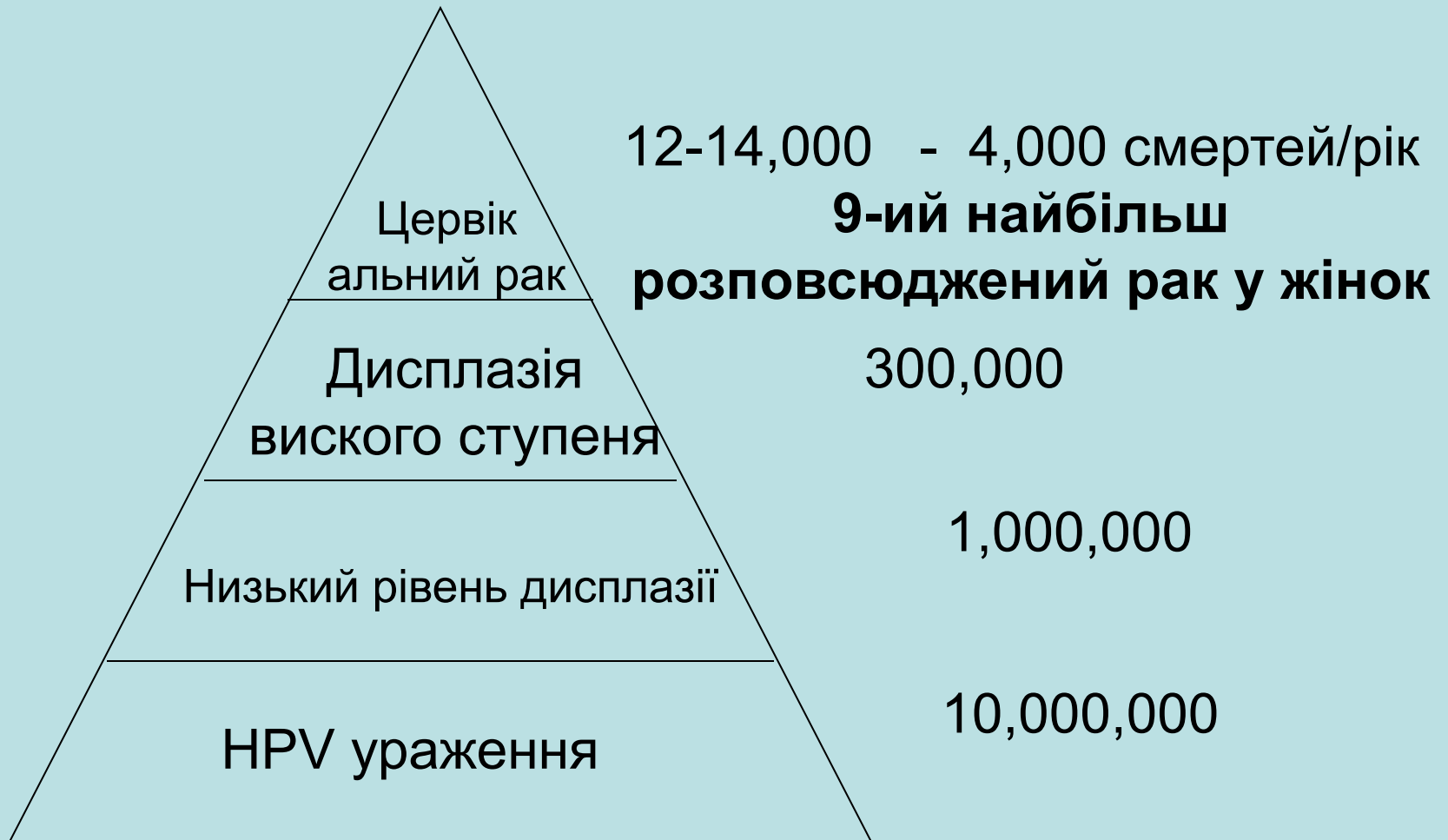
HPV Infection in the United States



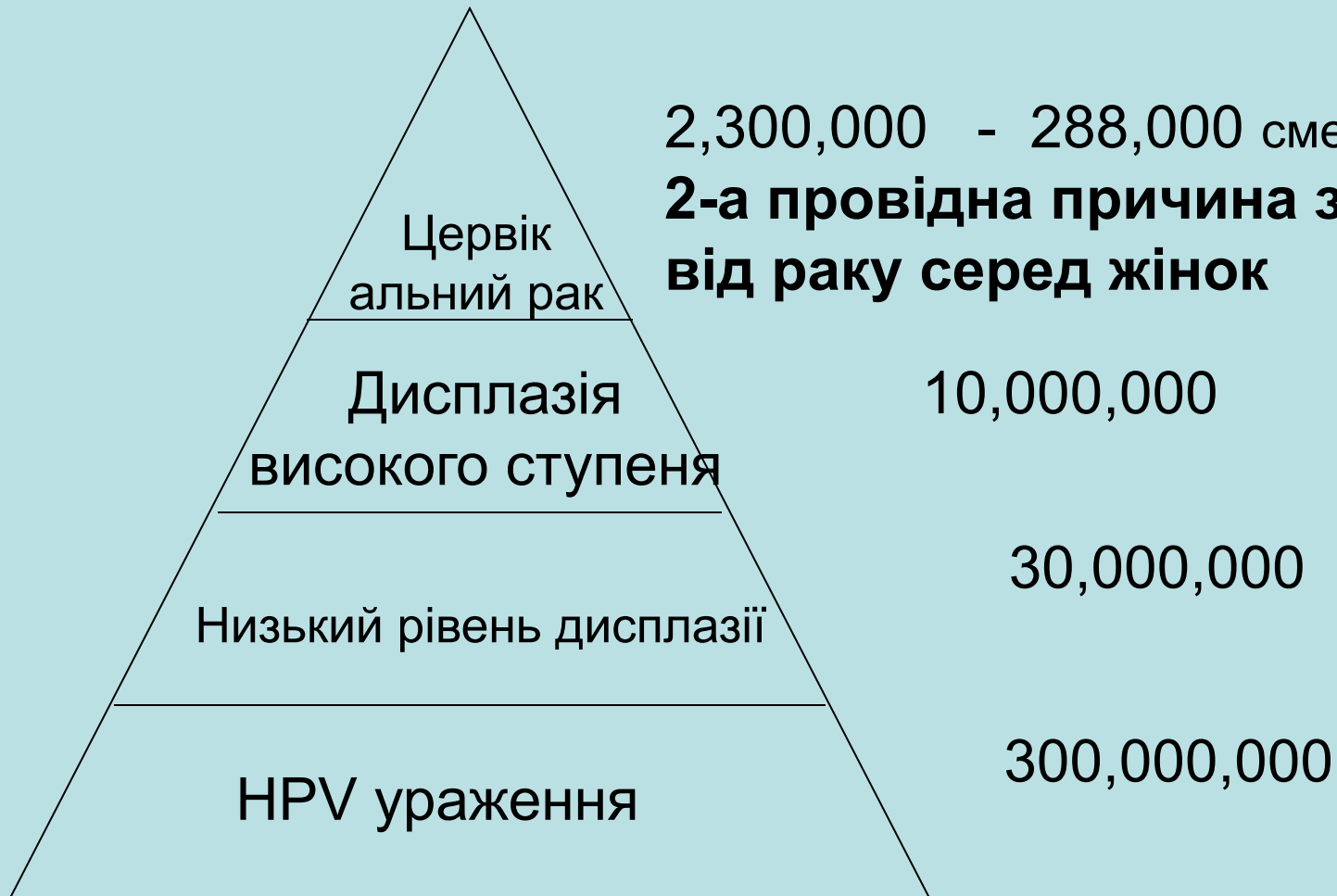
HPV Infection in Young Women



Шлях до цервікального раку - США



Цервікальний рак – у світі



Цервік
альний рак

2,300,000 - 288,000 смертей/рік
**2-а провідна причина загибелі
від раку серед жінок**

Дисплазія
високого ступеня

10,000,000

Низький рівень дисплазії

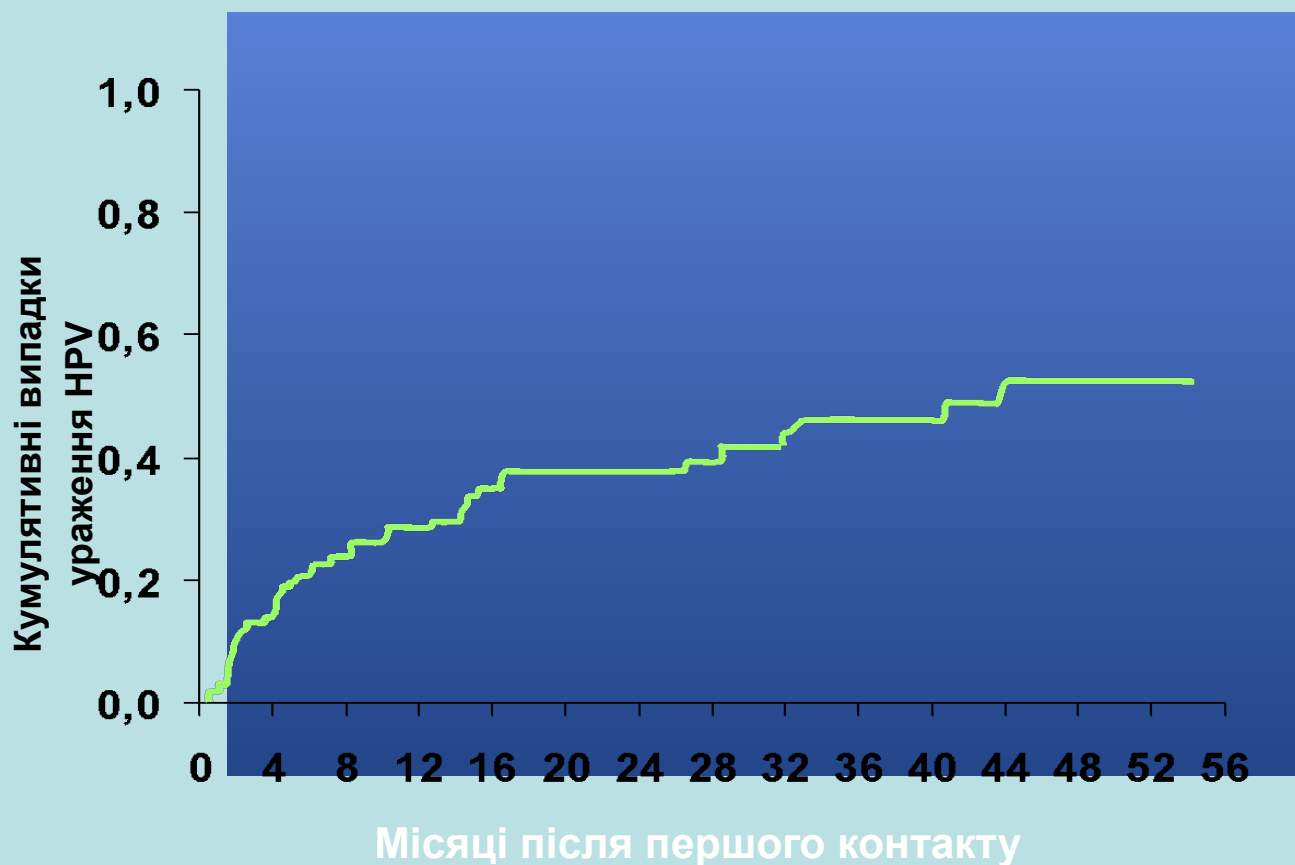
30,000,000

HPV ураження

300,000,000

Ураження після першого сексуального контакту

Дослідження студенток коледжу (N=603)



From Winer RL, Lee S-K, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: Incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol.* 2003;157:218–226, by permission of Oxford University Press.

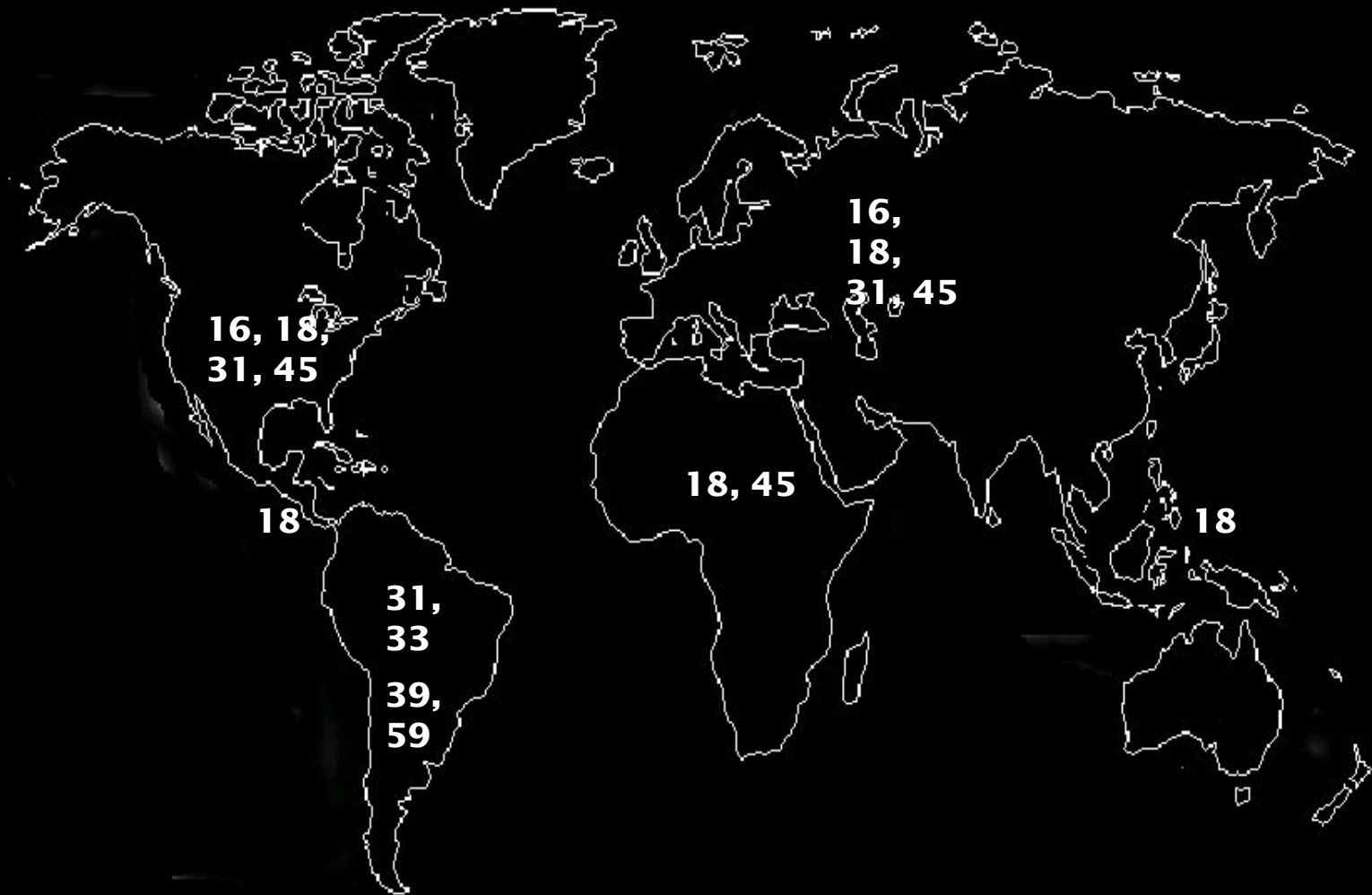
Інкубаційний період при аногенітальній ВПЛ-інфекції коливається від 1 до 12 місяців (в середньому 3 місяця).

Виділяють клінічну, субклінічну та латентну форми цієї інфекції.

Клінічні прояви ПВІ геніталій можуть бути різними: гострокінцеві конділоми, папіломи з екзофітним ростом, плоскі папіломи.

- **ВПЛ низького ступеня окогенного ризику** (ВПЧ 6, 11, 42, 43, 44 типів та ін.) асоціюються з розвитком генітальних кондилом (множинних виростів сполучної тканини, вкритих багат шаровим плоским епітелієм) та легкого ступеня дисплазії плоского епітелію матки.
- **ВПЛ високого ступеня окогенного ризику** (переважно ВПЛ 16, 18, 45, 56 іноді ще й типи 31,33, 35, 51, 52, 58 (середнього ступеня) виявляються в 50-80% зразків помірної та тяжкої дисплазії плоского епітелію шийки матки та в 90% інвазивного раку.

Розповсюдження онкогенних HPVs



Розповсюдженість цервікальних пухлин, обумовлених певними генотипами HPV

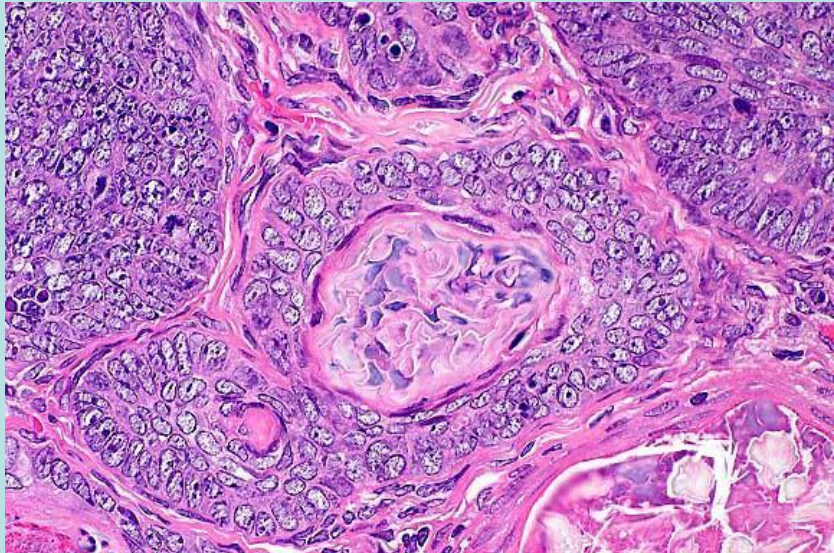
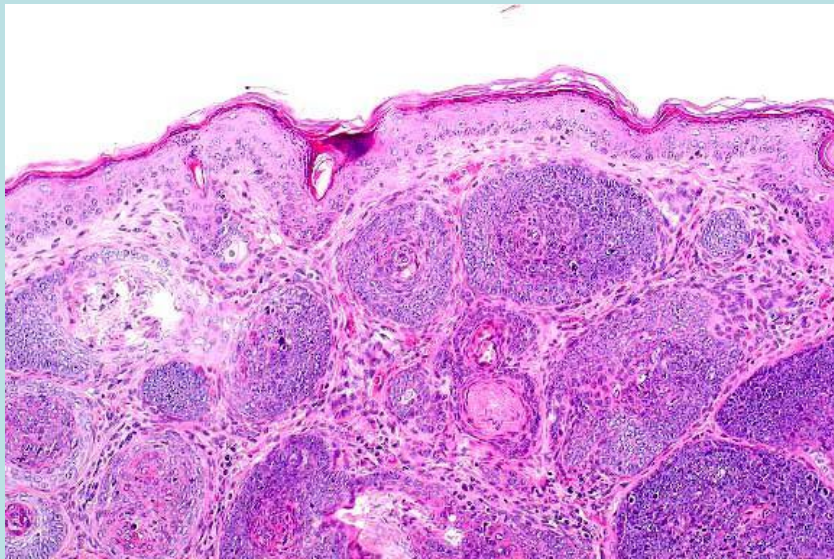


<u>Генотип</u>	<u>Розповсюдженість</u>
V-16	54%
V-18	15%
V-45	9%
V-31	6%
V-33	3%
Гальна:	87%

Джерело: ВООЗ 1999



звичайні бородавки



Рак шкіри

- Зріз шкіри

- 1. Поява великої кількості волосистих фоликулоподібних структур у товщі дерми
- 2. Поява прозорих внутрішньоядерних базофільних включень всередині розвинутих центральних клітин фоликула

Діагноз

Безпосереднє візуальне обстеження (анально-статеві бородавки)

Мазок Папаніколау

Кольпоскопія

Біопсія

Dot-гібридизація

ПЛР

Обстеження

- **Мазок Папаніколау (РАР) – цитологічний мазок**
 - Виявлення передракових клітин у піхві та шийці матки
 - Має проводитися, починаючи з віку 21 р. або через 3 роки після першого статевого контакту
- **Якщо не норма**
 - Виявлення ДНК HPV
 - Кольпоскопія та біопсія

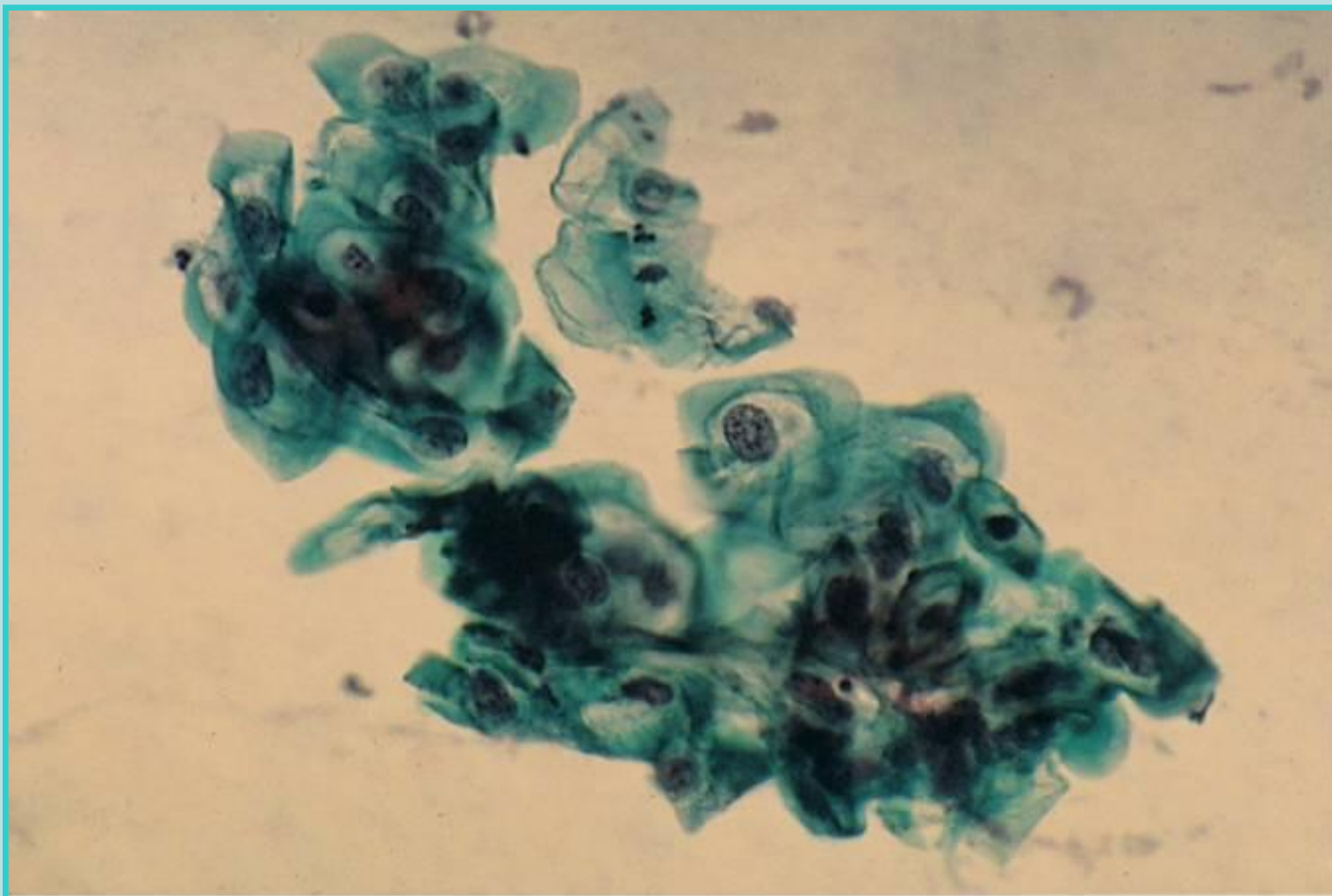
Кольпоскопія

Діагностичний огляд входу у піхву, стінок піхви та піхвової частини шийки матки за допомогою кольпоскопу (біноккуляр+ освітлюючий прилад).

1. **Проста** – без використання медикаментозних засобів.
2. **Розширена** – із застосуванням спеціальних тестів для огляду шийки матки:
 - 3% оцтова кислота – звужує незмінені судини, проба проводиться обов'язково, має найбільше клінічне значення;
 - проба Шилера (з розчином люголя)
 - проба Хробака (з зондом виявляються запусчені випадки раку)

.....

Цитологічна діагностика



Порядок досліджень при виявленні атипівних клітин



Терапія

У залежності від розміру та розташування уражень застосовують декілька підходів лікування.

Лікування може призводити до зникнення бородавки, але не вірусу (i.e., lesions recur)

Хірургічна цитодеструкція

- ∅ Хірургічна ексцизія (скальпель)
- ∅ Лазер
- ∅ Електрохірургія
- ∅ Кріотерапія

Кератолітичні засоби

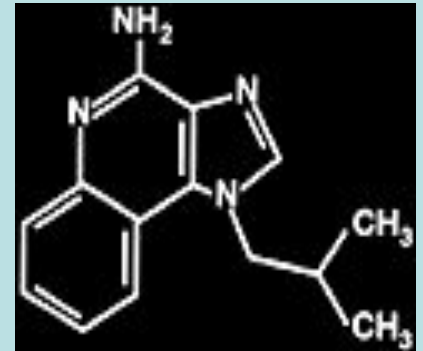
- ∅ Саліцилова кислота
- ∅ Трихлооцтова кислота
- ∅ Кантаридин
- ∅ Ферезол
- ∅ Солкодерм

Терапія

- Антивірусні / Імуномодулятори
- ∅ Інтерферон (альфа, бета, гамма)
- ∅ Іміквімод (Альдара)
- ∅ Цидофовір
- ∅ Античутливі олигонуклеотиды
- ∅ Лікувальні вакцини
-
- Хіміотерапевтичні препарати
- ∅ Блеоміцин
- ∅ 5-фторурацил
- ∅ Подофілін
- ∅ Подофілотоксин (подофілокс)
-
-
- інші
- ∅ Ретиноїди
- ∅ Циметидин

Терапія

Антивірусна терапія



Aldara™ (imiquimod)
3M Pharmaceuticals

Aldara™ (imiquimod) Cream, 5%: A patient-applied immune response modifier for treatment of external genital warts

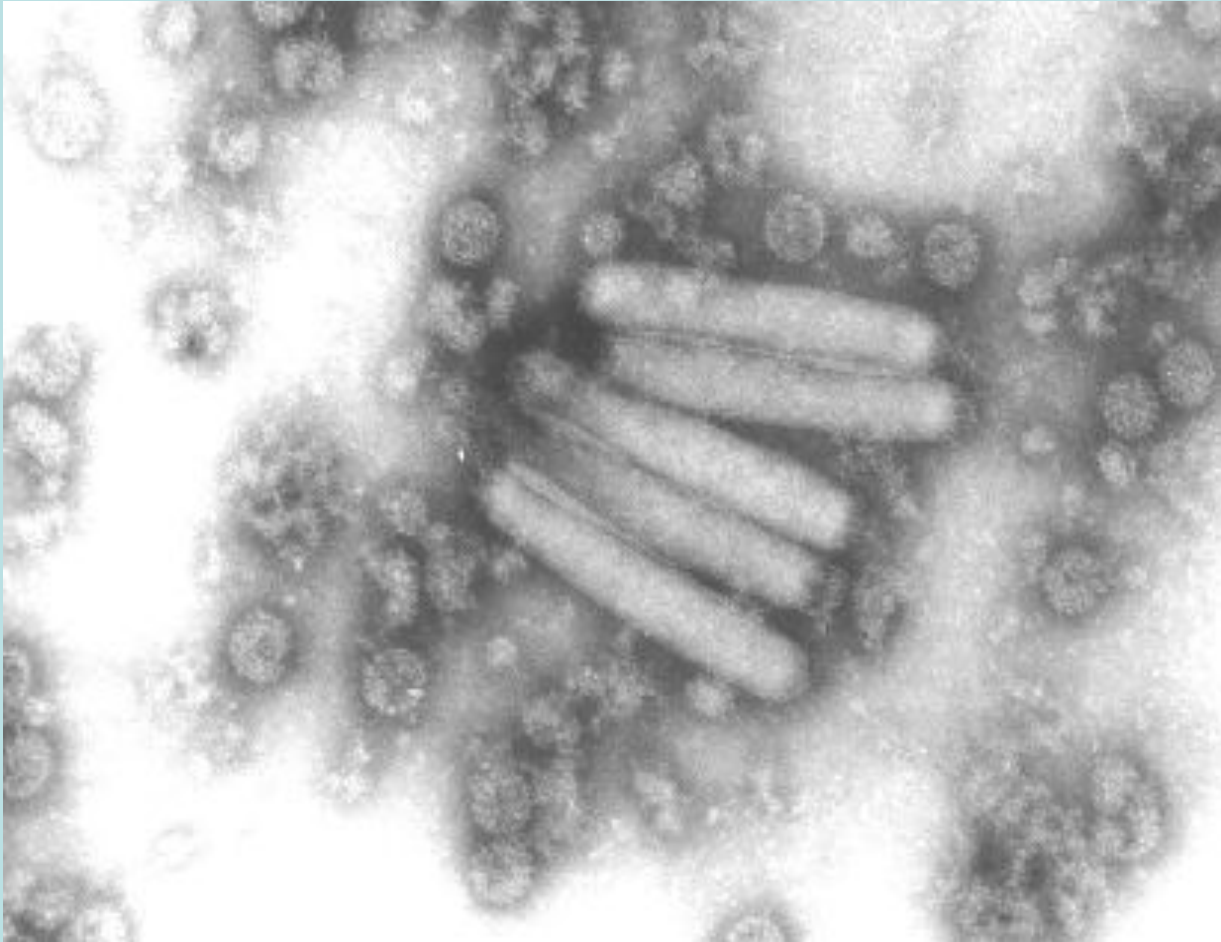
1-(2-methylpropyl)-1H-imidazo[4,5-c]quinolin-4-amine

(Molecular formula C₁₄H₁₆N₄)

Recently approved by FDA, imiquimod cream is the newest in a class of drugs called immune response modifiers, and represents a new therapeutic approach to genital warts

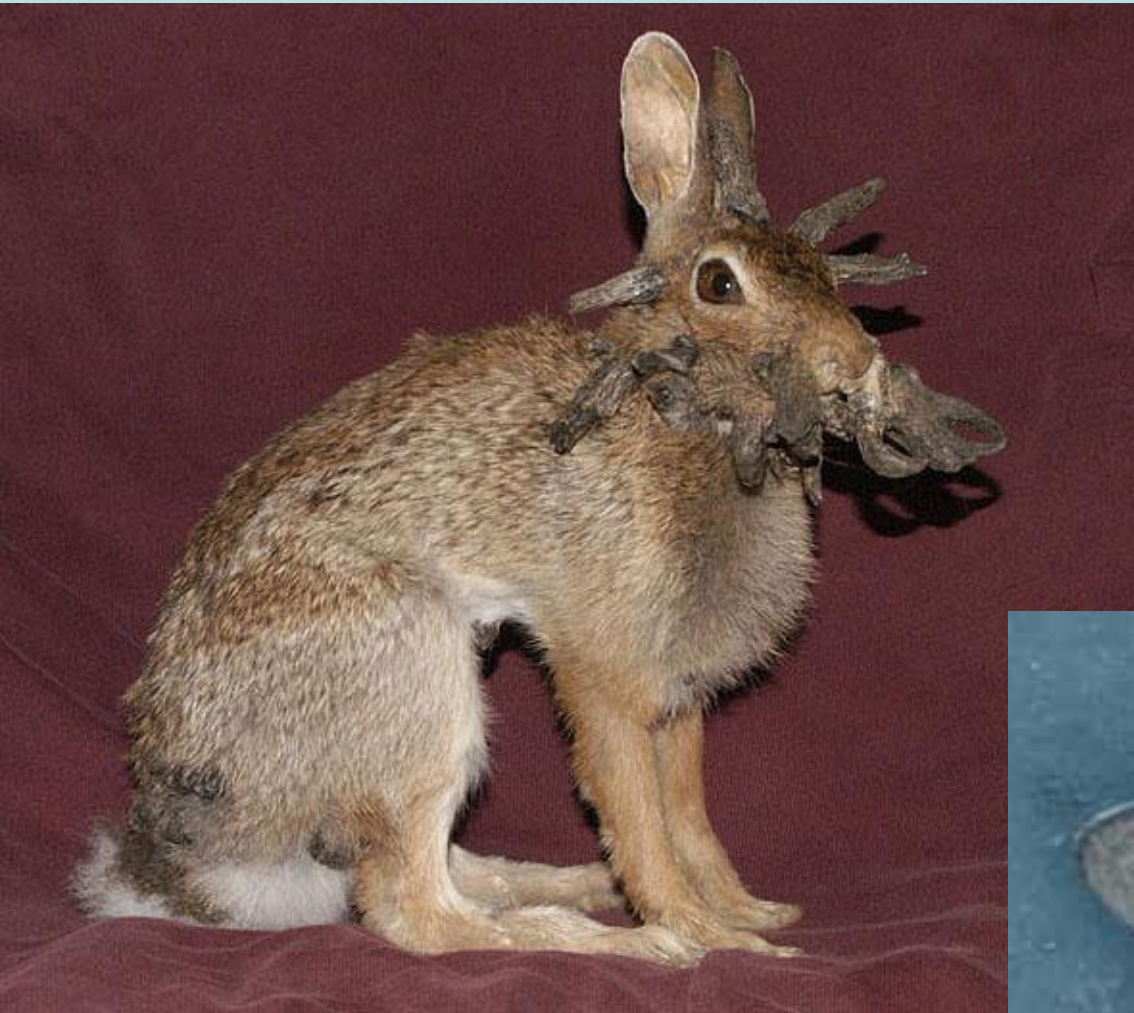
HPV вакцина

- Полівалентна вакцина **Гардасіл** (“Merck&Co”, США) субтипи 16, 18, 6, 11. вік дівчата (9-15р.) та жінки (16-26р.)
- Бівалентна вакцина **Церварикс** («ГлаксоСмитКляйн», Велика Британія), субтипи 16,18.



Human Papillomavirus L1 Virus-Like Particle Vaccine

**Папіломавірус
американського
жорсткошорстного
кроля**



Папіломавірус американського жорсткошорстного кроля





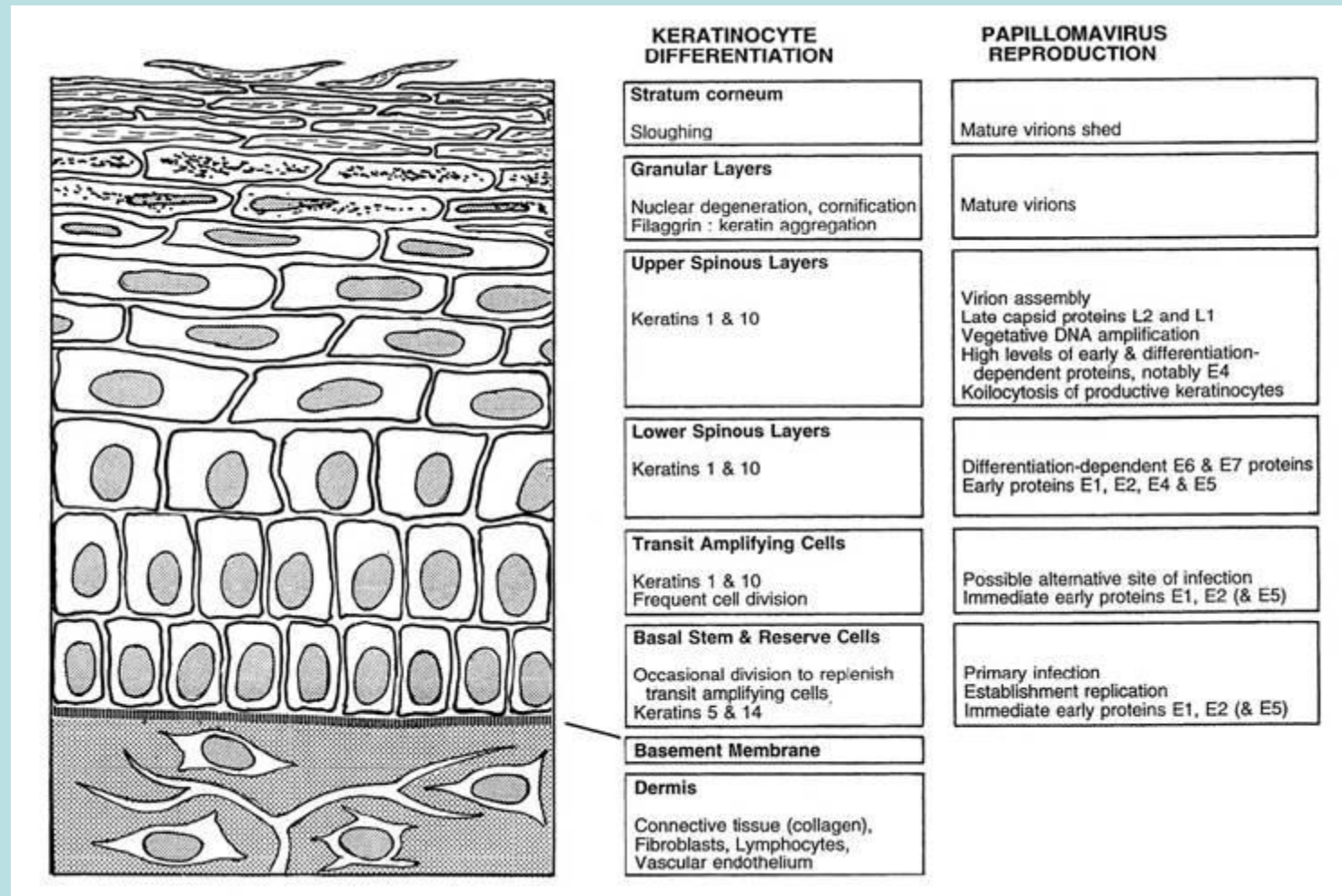


Папіломавірус корів

Папіломавірус собак



Реплікація папілломавірусів та диференціація епітелію



Differentiation of normal cutaneous squamous epithelium and papillomaviral activities in productively infected benign lesions. The various epithelial strata and the host-differentiation, stage-specific, gene-expression profile are indicated in the left and center panels. (From Fields Virology, 4th ed, Knipe & Howley, eds, Lippincott Williams & Wilkins, 2001, Fig. 65-4.)