Ministry of Higher Education
And scientific Research
Al Muthanna University
College of veterinary
medicine

Clinical Histopathological and Immunohistochemistry of papillomavirus cutaneous lesions in animals in Al Muthanna veterinary hospital/ Iraq

Tho Alfiqar Haidar Ali

Ibrahim Ali Erzuki

Year 5

Supervised by

Dr. Karima Al Salihi

Final year project submitted to College of veterinary medicine/ Al Muthanna University / Iraq, as partial fulfillment of the requirements of the Bachelor degree in Veterinary Medicine and Surgery

April 2018

Dedication

الاهداء

ألى معلم البشرية وهاديها ، ألى النور المبين ، ألى رسول الله صلى الله عليه وآله وسلم...

وألى من رضا الله برضاهما ، ألى أمي وأبي ،الى سندي في شدتي ورخائي ...

الى الذين ينظرون الي بعين المحبة و الاحترام ، ألى أخوتي و أخواتي

ألى من تابعني ونصحني ووجهني حتى اتممت بحثي ، الى أستاذتي الفاضلة ...

ألى من هم لولاهم لما كنا نكمل حياتنا ...

الحشد الشعبي المقدس والجيش العراقي البطل ...

ألى بلدي جريح بلدي الجريح العراق الحبيب ...

اهدي ثمرة جهدي المتواضع

ألباحثون

Acknowledgement
شكر وتقدير

نتقدم بالشكر والجزيل لأستاتنا في جامعة المثنى \ كلية الطب البيطري

لجهودهم المتميزة خلال سنين الدراسة ولتوجيهاتهم لنا اثناء كتابة البحث فجزاهم الله خيرآ عن العلم وآهله ...

كما نسجل شكرنا وتقديرنا الى أستاذتنا المشرفة الدكتورة (كريمة عاكول الصالحي) لما احاطتنا به من رعاية علمية ، وما بذلته من جهد ووقت ثمين ، ومنحتنا ثقه و إيمان بالعمل ...

ونتقدم بالشكر الجزيل ووافر الامتنان للجنة المناقشة التي تحملت عناء قراءة البحث وتعضيدها لما قد يعتريها من زلل آو خلل فجزاهم الله خيرآ عن العلم و آهله ...

وألى جميع استاذتنا في جامعة المثنى \ كلية الطب البيطري .. ونتقدم بالشكر الجزيل لكل من مد يد العون من التوجيه وتوفير المصادر ...

ألى كل هولاء شكرآ جزيلا

الباحثون

Abstract

Papilloma viruses (PVs) are non-enveloped, small, double stranded DNA viruses with circular genomes that replicate intranuclearly in infected cells. Papilloma viruses have high affinity for stratified squamous epithelia of warm blooded animals including cattle and occurs in all animal species throughout the world, and are highly species-specific. However, the only reported cases of cross-species infection had occurred in horses and other equids. Bovine cutaneous papillomatosis is a common skin disease in Iraq. The regulation of cells undergoing apoptosis is controlled by the **bcl-2 proteins family**; it includes both pro- (i.e. Bax, Bak) and antiapoptotic proteins (i.e. bcl-2 itself) triggering or blocking, respectively, the release from mythocondria of proteins activating the apoptotic molecular cascade. **P53** is a tumor suppressor protein that mediates cell cycle arrest, DNA integrity and repairing, apoptosis and senescence in response to specific cellular stresses (e.g. various types of DNA damage, hypoxia, oncogene deregulation, oxidative damage). **P53** has a significant role in cell cycle control, therefore the loss of its suppressive function has been reported for different types of human neoplasia and animal tumours, such as BPV induced tumours. **The aim of the present study** was to describe the clinical, histopathological and immunohistochemical aspects of naturally occurring cutaneous papillomatosis in bovine, ovine and caprine. A total of 3 cattle, 3 goats and 4 sheep were presented to Al Muthanna Veterinary Hospital with multiple cutaneous lesions that were diagnosed as cutaneous papilloma by clinical examination. The exophytic multiple, cauliflower-like growths (warts) of varying sizes (0.5-11 cm) were found in different areas of the body in bovine. Moreover, the lesions were found in the lips, genital, shoulder and chest in sheep and goat. **Histopathology revealed** various degrees of koilocytosis, ortho and parakeratotic, hyperkeratosis, hypergranulosis in granular layer and acanthosis, suggesting a cytopathic action of BPV in all neoplasms. **Immunohistochemical (IHC) examination** revealed some nuclei in the granular and basal layers of the epidermis that showed intense positivity for papilloma virus antigen . The tumour samples were also stained positively for bcl-2 throughout basal and parabasal layers, with most of cells showing strong cytoplasmic immunoreactivity. All tumor samples were found to be positive for p53 expression, showing a strong cytoplasmic and perinuclear staining of p53 protein mainly in the basal and parabasal layers. **In conclusion**, papilloma virus occurred in bovine, ovine and caprine in Al muthanna province that revealed different anatomical clinical presentation and similar histopathological features in all animals with minor variation. Moreover, tumor samples revealed positive results for papilloma virus antigen, bcl-2 and p53 markers that can be considered as very useful markers in the diagnosis of bovine cutaneous papilloma.

الخلاصة

فيروسات الورم الحليمي (PVs) هي عبارة عن فيروسات غير مغطاة وتمتلك الحمض النووي الثنائية ، ذات الجديلة المزدوجة التي تحتوي على جينومات دائرية تتكاثر داخل الخلايا المصابة . فيروسات Papilloma لها تقارب كبير للظهارة الحرشفية الطبقية في الحيوانات ذات الدم الدافئ بما في ذلك الماشية وتحدث في جميع أنواع الحيوانات في جميع أنحاء العالم ، وهي شديدة التنوع في الأنواع. ومع ذلك ، فإن الحالات الوحيدة المبلغ عنها من العدوى عبر الأنواع وقعت في الخيول.
داء الورم الحليمي الجلدي البقري هو مرض جلدي شائع في العراق.
يتم التحكم في تنظيم الخلايا التي تخضع لموت الخلايا المبرمج بواسطة عائلة البروتينات bcl-2 ؛ ويشمل كلا من pro-
(i.e. Bax, Bak)

وتعمل البروتينات المضادة لموت الخلايا (أي bcl-2 نفسها) على تحفيز او تثبيط ، إفراز البروتينات من الميتوكندريا والتي تُنشط تموت الخلايا البدائي الجزيئي ال P53 بروتين يقمع الورم و يتوسط عملية السيطرة على دورة تكاثر الخلية ، وسلامة الحمض النووي وإصلاحه ، وموت الخلايا المبرمج وشيخوختها لمنع التاثيرات المرضية الخلوية المحددة (على سبيل المثال ، أنواع مختلفة من ضرر الحمض النووي ، نقص الأكسجة ، تحرير الجين المسؤول عن نمو الاورام , و الضرر التأكسدي .
P53له دور كبير في التحكم في دورة الخلية ، وبالتالي فقدان وظيفته يودي الى تم نمو الخلايا السرطانية المختلفة البشرية والأورام الحيوانية ، مثل الأورام المستحثة بفيروس الورم الحليمي البشري. هدفت هذه الدراسة الى وصف الجوانب السريرية والنسيجية والمناعية للالتهاب الحليمي الجلدي التي تحدث بشكل طبيعي في الأبقار والأغنام والماعز. حيث تم تقييم ما مجموعه ٣ ماشية و ٣ ماعز و ٤ خراف في مستشفى المثنى البيطري والتي كانت تعاني من آفات جلدية متعددة تم تشخيصها على أنها اورام جلدية حليمية عن طريق الفحص السريري. تم العثور على النتوءات الباطنية المتعددة الشبيهة بالقرنبيط (الثآليل) ذات الأحجام المختلفة (٠,٥-١١ سم) في مناطق مختلفة من الجسم في الأبقار. وعلاوة على ذلك ، تم العثور على الآفات في الشفتين والأعضاء التناسلية والكتف والصدر في الأغنام والماعز. وكشف علم التشريح المرضي درجات مختلفة من الكيلوسيتوسيس ، أورثو ، ، فرط التقرن ، فرط الحلم في الطبقة الحبيبية ، مما يشير إلى تاثيرالفايروس BPV على الخلايا المصابة وفي جميع الأورام. فان كشف الفحص المناعى الكيميائي (IHC) عن بعض الانوية في الطبقات الحبيبية والقاعدية للبشرة ، أظهرت إيجابية قوية لمستضد فيروس الورم الحليميوكذلك للـ Bcl-2 في جميع الطبقات القاعدية وطبقات parabasal ، حيث أظهرت معظم الخلايا قابلية المناعة القوية السيتوبلازمية. تم العثور على جميع عينات الورم لتكون إيجابية للتعبيرp53 ، مما يدل على تفاعل السيتوبلازمية القوية و perinuclear من البروتين p53 أساسا في طبقات القاعدية و .parabasal ، في الخلاصة ، تم تشخيص حدث فيروس البابيلوما في الأبقار والأغنام والماعز في محافظة المثنى والتي كانت واضحة بالفحص السريري التشريحي وتميز بوجود خصائص نسيجية مماثلة في جميع الحيوانات مع اختلاف طفيف. علاوة على ذلك ، كشفت عينات الورم عن نتائج إيجابية لمضاد فيروس الورم الحليمي (papilloma virus antigen) و bcl-2 و p53 التي يمكن اعتبارها علامات مفيدة جدا في تشخيص ورم الحليمات الجلدي البقري.

Contents

Introduction…… 1
Aim of Study …….. 3
Review of literature
- Bovine papillomavirus infections in animals…….. 4
- The virus 5
- BPV gene products 5
  - E5…… 5
  - E6…… 6
  - E7…… 6
  - L1 and L2…… 6
- Natural history of BPV infection…….. 6
- BPV-4 and gastrointestinal tumors …… 7
- BPV-1/2 and urinary bladder tumors ……..... 7
- BPV-1/2 and equine sarcoids…….. 8
- Bovine and Human Papillomaviruses relation…… 8
- Biology of Papillomaviruses…… 8
- Human PV Biology…… 8
- Bovine PV Biology…… 9
- Papillomaviruses and Hyperplastic Lesions…… 9
  - Hyperplastic Human Diseases Caused by PVs…… 10
- Papillomaviruses and Epithelial Neoplasia ……. 11
  - Human PV-Associated Epithelial Neoplasia…… 11
  - Bovine PV-Associated Epithelial Neoplasia…… 15
  - Papillomaviruses and Mesenchymal Neoplasia 17

Materials and methods …… 18
- Animals and Sample Collection……. 18
- Immunohistochemistry……... 18
  - Detection of PV antigen……. 19
  - Detection of p53 expression…… 19
- Results……. 20
  - Clinical signs and gross appearance…… 22
  - Histopathological features…… 23
  - Immunohistochemistry……. 23

- **Discussion**…….. 24
- **Conclusions**……. 26
- **References**……... 27