

EGYETEMI DOKTORI (Ph. D.) ÉRTEKEZÉS

**A humán papillomavírusok prognosztikai szerepe a méhnyak rákmegelőző elváltozásaiban**

**Szőke Krisztina**

Témavezető: Dr. Kónya József

DEBRECENI EGYETEM

Orvos- és Egészségtudományi Centrum

Orvosi Mikrobiológiai Intézet

2004

## TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK	3
BEVEZETÉS	4
CÉLKITŰZÉSEK	7
IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
Humán papillomavírusok szerkezete és osztályozása	8
A korai fehérjék szerepe a humán papillomavírusok replikációjában	10
Humán papillomavírusok szerepe a hámsejtek diszpláziájában	12
A méhnyak hámelváltozásainak szerepe a nőgyógyászati szűrésben	13
Humán papillomavírus kimutatás diagnosztikai jelentősége	17
Antivirális immunitás	18
Citokinek szerepe a hámszövetek humán papillomavírus ellenes immunvédekezésében	20
KLINIKAI MINTÁK ÉS MÓDSZEREK	22
<i>Betegcsoportok</i>	22
<i>HPV genotipizálás</i>	22
<i>IL-10 promóter nt-1082 meghatározás</i>	23
<i>Statisztikai analízis</i>	24
EREDMÉNYEK	25
A magas kockázatú HPV típusok szerepe a CIN kialakulásában	25
Az IL-10 nt-1082 polimorfizmus vizsgálata	28
<i>Az IL-10 polimorfizmus, a HPV fertőzés, valamint a nőgyógyászati státusz összefüggése</i>	29
<i>Az IL-10 polimorfizmus és a cervikális elváltozások kimenetele</i>	30
MEGBESZÉLÉS	31
ÖSSZEFOGLALÁS	34
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	35
IRODALOMJEGYZÉK	36
KÖZLEMÉNYEK	50
FONTOSABB ELŐADÁSOK, POSZTEREK	50

## RÖVIDÍTÉSEK

AGC	atípiás mirigyhám sejtek (atypical glandular cells)
AIS	adenocarcinoma in situ
ASC	atípiás laphámsejtek (atypical squamous cells)
CI <sub>95%</sub>	95%-os konfidencia intervallum
CIN	cervikális intraepithelialis neoplasia
CTL	citotoxikus T-limfocita
GM-CSF	granulocita monocita kolóniastimuláló faktor
HLA	humán leukocita antigén
HPV	humán papillomavírus
IFN- $\gamma$	interferon- $\gamma$
IL	interleukin
LC/DC	Langerhans-féle dendritikus sejtek
LCR	szabályozó régió (long control region)
MHC	major hisztokompatibilitási komplex
nt	nukleotid
OR	esélyhányados (odds ratio)
ORF	nyitott leolvasási keret (open reading frame)
P, Pap	Papanicolaou
PCR	polimeráz láncreakció
RB	retinoblasztóma
RFLP	restriktív fragment hossz polimorfizmus (restriction fragment length polymorphism)
RLU/PC	relatív fény egység/pozitív kontrollra vonatkoztatva
RR	relatív kockázat (relative risk)
SIL	többrétegű laphámok intraepitheliális léziója (squamous intraepithelial lesion)
TGF- $\beta$	transzformáló növekedési faktor- $\beta$
TNF- $\alpha$	tumor nekrozis faktor- $\alpha$

## BEVEZETÉS

A méhnyakrák a nők harmadik leggyakoribb malignus daganata a világon. Az invazív *cervix carcinomát* progrediáló *dysplasiás* elváltozások, *cervicalis intraepithelialis neoplasiák* (CIN) előzik meg. Az invazív rák kialakulása több évet vesz igénybe. A CIN léziók leggyakrabban 30-40 éves korban alakulnak ki, de egyre gyakoribbak a 20-30 éves korosztályban is. Mivel hosszú idő telik el a *cervicalis dysplasiák* kialakulása és a méhnyakrák kifejlődése között, a nőgyógyászati szűrési program segítségével a legtöbb premalignus lézió időben felismerhető.

A női genitáliák laphámsejt eredetű, neopláziás elváltozásaiban a humán papillomavírusok (HPV) etiológiai szerepe jól ismert (Franco et al., 1999; Walboomers et al., 1999; Wallin et al., 1999). A vírusok onkológiai szempontból két csoportba sorolhatók. Az alacsony kockázatú csoportba tartozó vírusok, mint a HPV6, 11, 42, 43, 44 jóindulatú elváltozásokat okoznak. A magas kockázatú csoportba tartozó típusok, mint a HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 a CIN különböző típusaiban, valamint az invazív méhnyakrákban mutathatók ki. A HPV előfordulása a 20-25 éves korosztályban a leggyakoribb és az életkor előrehaladtával csökken. A cervikális HPV fertőzés nagyon gyakori a fiatal, szexuálisan aktív nők körében. A fertőzés szexuális úton terjed, az anogenitális HPV-k prevalenciája függ a szexuális promiskuitás mértékétől, így a szexuális partnerek számától, valamint gyakori váltogatásától. A korábbi nemi betegségek, valamint a méhnyak sérülései is befolyásolják a CIN kialakulására való hajlamot. A laphámsejt eredetű méhnyakrákok közel 100%-ban hordoznak HPV genomot, többnyire a gazdasejt genomjába integrálódott állapotban. Az invazív *cervix carcinomákban* világszerte leggyakrabban előforduló HPV típusok a HPV16 és HPV18 (Bosch et al., 1995). A HPV18 típust adenocarcinomákban mutatták ki nagy számban, míg a HPV16 típust a laphámsejtes carcinomákban. Feltételezik, hogy a HPV18 típust hordozó carcinomákban gyorsabb és rosszabb prognózisú a folyamat, mint a HPV16 esetében. Más onkogén típusok, mint a HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 is gyakran okoznak citológiai és kolposzkópos elváltozásokat. Ezen típusok együttesen a méhnyakrákok közel egyharmadában mutathatók ki. Epidemiológiai adatok szerint azonban a magas kockázatú csoporton belül is vannak eltérések az egyes típusok onkogenitásában. A HPV16, 18, 45, 52 és 59 típusok által okozott fertőzésekben nagyobb az esély a *cervix carcinoma* kialakulására, mint a többi típusnál (Munoz, 2000; Munoz et al., 2003). A HPV16 típuson belül még a különböző variánsok onkogenitása is eltérő, az ázsiai-amerikai variánsoké magasabb, mint az európai variánsoké (Hildesheim et al., 2001).

Azonban, a magas kockázatú HPV fertőzéseknek csak kis hányada vezet végül *invazív cervix carcinoma* kialakulásához, mivel a HPV fertőzés lefolyása alapvetően meghatározza a rákmegelőző elváltozások, illetve a méhnyakrák kialakulásának kockázatát. A fertőzés az esetek többségében - különösen 30 éves kor alatt - tranziens (Evander et al., 1995; Hildesheim et al., 1994), onkológiai szempontból jelentős elváltozások nem alakulnak ki, a szervezet eliminálja a fertőzött sejteket. Azonban a perzisztens HPV fertőzés talaján, az E6 és E7 virális onkogének hatására a fertőzött laphámsejtek *dysplasiássá* válhatnak, rákmegelőző elváltozás (CIN2, CIN3) alakulhat ki, amelyeket a hámsejtek *dyskaryotikus* elváltozása és differenciálódási zavara jellemez. Még a CIN3 is lehet reverzibilis, de a folyamat malignizálódhat is (zur Hausen 1994). Ez a végső állomás, melynek felismerésével a méhnyakrák még teljes mértékben megelőzhető.

Bizonytalan citológiai atípiá esetén az onkogén HPV típusok kimutatása fontos annak megállapítására, hogy mely betegeknél áll fenn onkogén progresszió kialakulásának kockázata (Ho et al., 1995; Manos et al., 1999; Nobbenhuis et al., 1999). Hazánkban a HPV kimutatás a szekunder szűrési program része. Nemzetközi tanulmányokban (Cuzick et al., 2000; Clavel et al., 1999) vizsgálják, hogy a HPV kimutatás a primer szűrés része legyen, de a költséghatékonyság miatt ez csak 30-35 éves kor felett lenne indokolt, ahol a HPV előfordulása ugyan alacsony, de a fertőzés hajlamosabb perzisztálni. 35 év alatt a HPV előfordulása gyakori, de a fertőzés általában átmeneti.

Jóllehet, a magas kockázatú HPV fertőzés a méhnyakrák kialakulásának fő etiológiai faktora, számos kofaktor létezik, amely befolyásolhatja a HPV fertőzés kimenetelét. Más korábbi- vagy egyidejű fertőzések, mint a *Chlamydia trachomatis*, fogékonyabbá teszi a cervikális epitheliumot a HPV-k által indukált neopláziára (Koskela et al., 2000). A gazdaszervezet oldaláról szintén számos kofaktor létezik, ami a cervikális neoplázia kialakulásában szerepet játszik, például ilyen a dohányzás, a szülések száma, stb. (Kjellberg et al., 2000; Munoz et al., 2002).

Fiziológias körülmények között a normál transzformációs zónában - ahol a legtöbb cervikális neoplázia keletkezik - megnövekedett TGF- $\beta$ 1 és IL-10 expresszió mutatható ki, amely valószínűleg elnyomja a lokális sejt mediált immunitást (Giannini et al., 1998). A súlyos fokú CIN léziókban az IFN- $\gamma$  expresszió tovább csökken, az IL-10 expresszió tovább emelkedik (Giannini et al., 1998; El Sherif et al., 2001). Adatok vannak arra vonatkozóan, hogy az IL-10 promóter polimorfizmusnak szerepe lehet a méhnyak daganatos elváltozásaiban (Stanczuk et al., 2001).

Az IL-10 gén promóter régiója több mint 4 kb hosszú (Eskdale et al., 1997), melyben több ponton is előfordul polimorfizmus, mind a proximális, mind a disztális szakaszon. A proximális szakaszon három egyedi nukleotidot érintő polimorfizmust írtak le a transzkripció kezdőhelyétől számított -1082 (A/G), -819(C/T) és az -592(C/A) nukleotid (nt) pozíciókban (Turner et al., 1997). A polimorf szakaszok genetikai kapcsoltsága következtében korlátozott számú, mindössze három haplotípus fordul elő a kaukázusi populációban: GCC, ACC és ATA (Perrey et al., 1998), a lehetséges genotípusok száma pedig hat. Egyetlen nukleotid, az 1082-es pozícióban lévő nukleotid polimorfizmusa alapján meg lehet határozni az IL-10 termelő képesség fenotípusát: alacsony (AA), közepes (AG) és magas (GG) citokin termelés (Turner et al., 1997).

## CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során először azt kívántuk vizsgálni, hogy diagnosztikai és epidemiológiai szempontból mennyire indokolt a humán papillomavírusok (HPV) magas kockázatú csoportján belül megkülönböztetni a fertőzést okozó (geno)típusokat. A tanulmány indításakor a téma aktualitását az adta, hogy egyes hazai diagnosztikus körökben a részletes tipizálást szorgalmazó javaslatok jelentek meg, bevezetés előtt álltak erre megfelelő diagnosztikus tesztek és a frissen megjelent nemzetközi multicentrikus vizsgálatok adatai is jeleztek biológiai variációt a magas kockázatú HPV csoporton belül. A klinikai adatok és a virológiai vizsgálatok alapján a következő kérdésekre kerestünk választ:

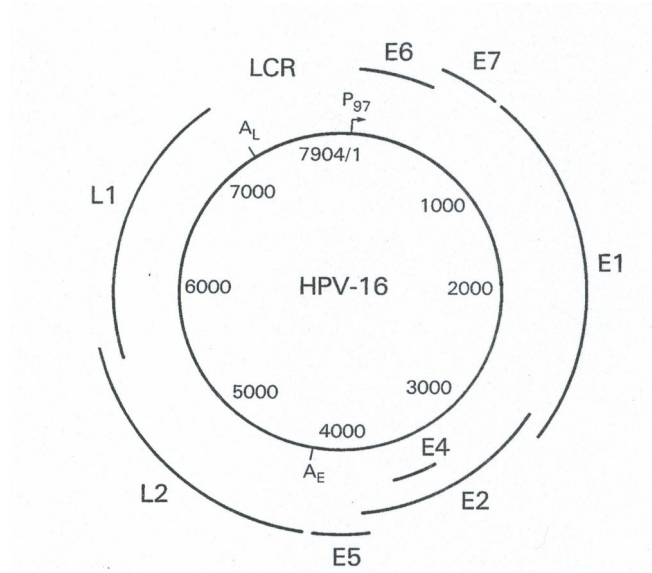
- A premalignus *cervicalis intraepithelialis neoplasiák* kialakulásánál megfigyelhető-e olyan biológiai variancia a magas kockázatú HPV csoporton belül, mint amelyet a multicentrikus vizsgálatok eredményeztek az invazív *cervix carcinomák* vonatkozásában?
- Különböző magas kockázatú HPV típusok által egy időben okozott többszörös fertőzés milyen kockázatot jelent *cervicalis intraepithelialis neoplasiák* kialakulására az egyszeres fertőzéshez képest?
- A vírusfertőzés kiterjedtségére, mértékére utaló vírusterhelés befolyásolja-e a *cervicalis intraepithelialis neoplasiák* kialakulásának kockázatát?

Munkánk második részében az IL-10 promóter -1082. nukleotid polimorfizmusának (A/G) a kofaktor szerepét kívántuk vizsgálni. Az idevonatkozó szakirodalommal szemben mi ezt a polimorfizmust olyan populáción tudtuk tanulmányozni, ahol az A és G allél közel egyenlő arányban fordul elő és mindegyik genotípus megfelelő arányban van jelen. A klinikai és virológiai adatokat a vizsgált polimorfizmus adatokkal kiegészítve a következő kérdésekre kerestünk választ:

- Az IL-10 promóter nt-1082 polimorfizmusa befolyásolja-e a magas kockázatú HPV fertőzés és a citológiai atípiára iránti fogékonyságot?
- Az IL-10 promóter nt-1082 polimorfizmusa befolyásolja-e a *cervicalis intraepithelialis neoplasiák* kialakulásának kockázatát?

## IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### Humán papillomavírusok szerkezete és osztályozása



1. ábra : Humán papillomavírus 16 genomi térképe. P<sub>97</sub>: transzkripció promóter; E1-E7: korai fehérjék génjei; L1, L2: késői fehérjék génjei; A<sub>E</sub> és A<sub>L</sub>: korai és késői poliadenilációs szignál; LCR: nem kódoló, szabályozó régió (long control region)  
(Az ábrát Fields Virology 4<sup>th</sup> ed. 2001. kiadásából vettem át.)

A Papovaviridae családba tartozó papillomavírusok kis méretű (52-55 nm átmérőjű), burok nélküli, ikozahedrális szimmetriájú DNS vírusok. A cirkuláris, duplaszálú DNS kb. 8 kb hosszú. A virális DNS replikáció és a virionok összeszerelődésének helyszíne a sejtmag. A víruskapszid 72 kapszomerből áll, melyet az L1 és L2 struktúrfehérjék építenek fel.

A humán papillomavírusok taxonómiai osztályozása a DNS genom szerkezete alapján történik. A konzervatív E6, E7 és L1 génszakaszok nukleotidszekvenciáját vizsgálják, akkor fogadják el új típust, ha ezen génszakaszok kevesebb mint 90% homológiát mutatnak a korábban megismert típusok szekvenciájával (Deliuss & Hofmann, 1994). Az ettől nagyobb hasonlóságot szubtípusnak vagy variánsnak tekintik. A genom felépítése a papillomavírusokban rendkívül hasonló. A leolvasási keretek (ORF: open reading frame) a virális DNS egyik szálán helyezkednek el, tehát az összes virális gén egy szálla lokalizálódik. A kódoló szál a papillomavírusokban maximum 10 ORF-et tartalmaz, melyek lehetnek korai (E=early) és késői (L=late) ORF-ek. A korai régióban olyan virális gének helyezkednek el, melyek szabályozó fehérjéket kódolnak, beleértve azon vírusfehérjéket, melyek fontosak a virális DNS replikáció elindításában. A késői régióban kódolt fehérjék a vírus kapszid fehérjéi és csak a produktív fertőzésben expresszálódnak (Baker & Howley, 1987). Minden papillomavírus genomjában az ORF-ek mellett van egy nem-kódoló régió, a long control region (LCR), korábbi nevén upstream regulatory region (URR), amely a korai ORF-ek átírását szabályozza. Enhancer elemei transzkripció faktor kötőhelyeket tartalmaznak. Az

enhancer elemek szerepe a vírus kezdeti génexpressziójában van, valamint a virális látencia fenntartásában (Chong et al., 1991; Butz & Hoppe-Seyler, 1993; O'Connor & Bernard, 1995; Veress et al., 2001).

Több mint 100 humán papillomavírus ismert és feltételezhetően számos típus létezik, amit eddig még nem írtak le (de Villiers 1997). A humán papillomavírusok többnyire benignus, ritkán malignus sejtproliferációt indukálnak. A különböző szemölcsöket (*verruca vulgaris*, *verruca plana*) okozó típusok (pl. HPV1, 2, 7) a bőr elszarusodó laphámjában szaporodnak, valamint itt szaporodnak az *epidermodysplasia verruciformis* okozó típusok is (HPV5, 8, 9, 12, 14, 15, 17). Az *epidermodysplasia verruciformis* egy ritka, familiárisan halmozódó, örökletes immundeficiencia, melyben a betegek immunrendszere nem képes eradikálni a vírusfertőzést. Az ismert HPV típusok harmada - elsősorban az anogenitális régióban - a nyálkahártyák el nem szarusodó laphámját fertőzi meg, leggyakrabban a *cervix uterit*. Ennek oka a laphám és hengerhám találkozásából adódó transzformációs zóna jelenléte. A sejtek fokozott proliferációs képessége következtében ez a terület érzékenyebb a malignus elváltozások kialakulása szempontjából. A vírus ezen kívül fertőzheti a *vaginát*, a külső nemi szerveket (*vulva*, *penis*), valamint a *perianalis régiót* is. Ezen vírusok okozzák a legnagyobb egészségügyi problémát. Az elváltozások a *condylomáktól* az invazív carcinomáig különböző formákban jelenhetnek meg. A fertőzés átvitele főleg szexuális úton történik, de ráterjedhet az anyáról az újszülöttre is a szülőcsatornán való áthaladás közben, melynek következtében *laryngealis ill. nasalis papillomatosis* alakulhat ki. Az alacsony kockázatú, nem onkogén típusok (pl. HPV6, 11, 42, 43, 44) benignus elváltozásokat (*condyloma acuminatum*) és *enyhe fokú intraepithelialis léziókat (low grade SIL)* okoznak. Számos anogenitális HPV típus összefüggésbe hozható rákos elváltozásokkal (Bosch et al., 1995; Munoz, 2000; Munoz et al., 2003). A magas kockázatú onkogén típusok (HPV16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) *súlyos intraepithelialis léziókban (high grade SIL)* és invazív méhnyakrákban fordulnak elő (Lőrincz et al., 1992). Az intraepithelialis léziók az esetek többségében spontán visszafejlődnek, ritkán perzisztálnak. Invazív carcinoma az onkogén HPV típust hordozó elváltozásokból alakul ki. A különböző kórképekben eltérő a vírus fizikai állapota. A benignus és premalignus léziókban inkább epizómálisan van jelen a vírus a sejtekben, a malignus tumorokban viszont a gazdasejt genomjába ékelődve (Szarka et al., 2000).

## **A korai fehérjék szerepe a humán papillomavírusok replikációjában**

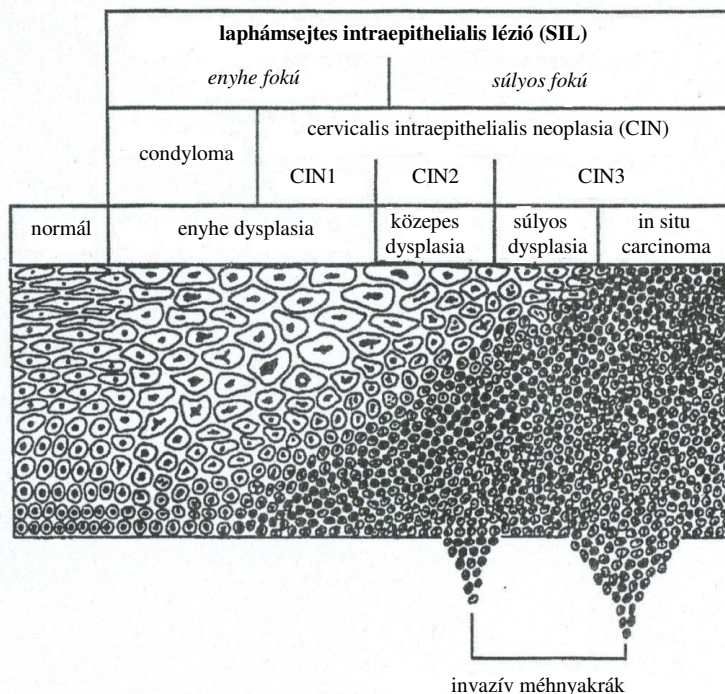
A papillomavírusok közvetlen kontaktus útján terjednek, nagyfokú affinitást mutatnak a bőr és a nyálkahártyák hámsejtjei iránt. A vírusok szaporodása sajátos, a szaporodási ciklus szorosan kapcsolódik a hámsejtek differenciálódási folyamatához. Mivel a többrétegű laphámában a bazális sejtek osztódnak folyamatosan, a vírus ezen sejteket fertőzi meg. A bazális sejt osztódása alatt mindkét utódsejtben megmarad a vírus, mely egyrészt biztosítja a fertőzés fennmaradását, másrészt a differenciálódó sejtben elindul a virális életciklus. A vírus DNS nagyobb mennyiségben az epithélium középső vagy felső rétegében mutatható ki. A virális életciklus korai szakaszában a vírusgenom replikációja összehangoltan megy végbe a sejtosztódással. A korai vírusfehérjéket kódoló gének a nem kódoló (LCR-long control region), szabályozó régió mellett helyezkednek el egy csoportban. A bazális sejtekre elsősorban az E1 és E2 gének expressziója jellemző. Az E1 és E2 proteinek a vírusreplikáció elindításában játszanak szerepet. Az E1 ORF a legnagyobb a papillomavírus genomjában. Terméke, az E1 protein helikáz, valamint DNS-dependens ATP-áz aktivitással rendelkezik (Bream et al., 1993; Seo et al., 1993a; Yang et al., 1993). A replikációs kezdőponthoz kapcsolódva elindítja az iniciációs komplex kialakulását (Park et al., 1994). Szükséges mind a DNS szintézis iniciációjához, mind az elongációhoz (Liu et al., 1995). Az E2 fehérje egy szekvensspecifikus DNS-kötő domént tartalmaz a C-terminális régióban, centrálisan egy kapcsoló régió, az N-terminális részen pedig egy transzaktivátor domén található (Giri & Yaniv, 1988; McBride et al., 1989). Az E2 fehérjének fontos szabályozó szerepe van a virális transzkripcióban és replikációban, stimulálja az E1 fehérje replikációt indító szerepét azáltal, hogy növeli az E1 kötődési képességét a replikációs origóhoz (Mohr et al., 1990; Sedman & Stenlund; 1995; Seo et al., 1993b). Az E2 fehérje a HPV genom LCR régiójához kötődve szabályozza a virális promóter aktivitását. Gátolhatja a virális korai promótert (pl. HPV16-nál P97), azáltal, hogy a promóter proximális régiójához kötődik. Alacsony koncentrációban transzaktivátorként növeli az E6-E7 gén P97-es promóteréről képződő mRNS mennyiségét, míg magasabb koncentrációban gátló hatást fejt ki ugyanezen génekre (Bouvard et al., 1994). A bazális rétegben az E1, E2 mellett feltehetően az E5 protein is kifejeződik, amelyet onkoproteinek tekintenek. A fertőzött sejt membránjába épülve képes kapcsolatba lépni növekedési faktorok receptoraival (EGF-R, PDGF-R) és aktiválni azokat. Transzformáló aktivitással rendelkezik, megnöveli a humán keratinociták proliferatív képességét (Storey et al., 1992), valamint serkenti a sejt DNS szintézisét. A legtöbb HPV-pozitív daganatos elváltozásban az E5 gén nem expresszálódik, ami arra enged következtetni, hogy a sejt

proliferációt stimuláló hatását inkább a benignus elváltozásokban fejt ki. Az E6 és E7 virális onkoproteinek szerepe az, hogy a már nem osztódó, differenciált sejteket újra a sejtciklus S fázisába kényszerítik és így a sejt enzimeinek felhasználásával a vírus maga is képes replikálódni. Az E6 ORF transzaktiváló hatása hasonló, mind az alacsony-, mind a magas kockázatú humán papillomavírusokban (Sedman et al., 1991), de transzformáló hatása csak a magas kockázatú HPV-k E6 fehérjéjének van. Az alacsony kockázatú HPV-k E6 fehérjeje nem kötődik a p53 proteinhez és nincs hatással a p53 fehérje stabilitására. Az onkogén HPV típusok E6 proteinje a celluláris p53 tumorszupresszor fehérjéhez kötődik és annak ubiquitin-függő lebontását stimulálja (Scheffner et al., 1990). A p53 szelektíven aktiválja a sejtciklus-inhibitor faktorok (pl. p21) expresszióját. A HPV16 E6 fehérje komplexet képez a celluláris ubiquitin-protein ligáz E6AP fehérjével (Huibregtse et al., 1991; Huibregtse et al., 1993), amely képes kötődni és ubiquitinálni a p53 fehérjét (Scheffner et al., 1993). A p53 génnek két alléja létezik, melyek a 72. aminosav pozícióban eltérőek és prolin vagy arginin aminosavakat kódolnak. A p53 fehérje szekvencia polimorfizmusa hatással van a p53 tumorszupresszor fehérje érzékenységre az E6-mediált degradációban. Egyes szerzők a p53Arg izoformát érzékenyebbnek találták, ezek szerint a p53Arg homozigóta genotípussal rendelkező nők esetében nagyobb a kockázat a HPV-vel kapcsolatos méhnyakrák kialakulására, mint a heterozigótákban vagy a p53Pro homozigótákban (Storey et al., 1998). Azonban a legtöbb tanulmány nem talált összefüggést ezen polimorfizmus és a méhnyakrák között (Szarka et al., 1999). Az E7 protein képes megkötni a gazdasejt számos fontos szabályozó fehérjéjét, beleértve a hypofoszforilált retinoblasztóma tumor szupresszor fehérjét (pRB), megakadályozva annak az E2F faktorhoz való kötődését. Így a sejt beléphet az S fázisba. Az E7-pRB kölcsönhatás következtében, az E7 fehérje elősegíti a pRB proteolízisét (Boyer et al., 1996). Az E7 fehérje a ciklin dependens kináz (cdk) gátló p21 lekötésével is a sejtproliferációt fokozza. A negatív szabályozó fehérjék (pRB, p53) kiiktatásának következtében a károsodott DNS fennmarad, a *dysplasia* súlyosbodik, egyre inkább gátlódik a hámréteg normál differenciálódási folyamata. A HPV-k viszont nem képesek szaporodni a nem differenciálódó sejtekben, így ez egy zsákutcának tekinthető a vírus szempontjából. A gazdaszervezetben az előrehaladó *dysplasia* következtében malignus elváltozás alakulhat ki. A virális onkoproteinek (E6/E7) szerepet játszanak in vitro körülmények között nemcsak a természetes célsejtek, hanem egyéb sejtfeleségek pl. primer humán fibroblasztok hatékony immortalizációjában (Hawley-Nelson et al., 1989; Münger et al., 1989; Watanabe et al., 1989). Az E3 és E8 ORF nincs jelen a genitális papillomavírusokban.

A késői génexpresszió (L1 és L2), a virionok összeszerelődése a terminálisan differenciálódott, már nem osztódó keratinociták legfelső rétegében zajlik. Itt szintetizálódik az E4 fehérje, amelynek génje ugyan a korai régióban található, de a fehérje expressziója a vírus szaporodási ciklusának késői fázisára korlátozódik. Szerepe van a produktív infekcióban, annak a tulajdonságának köszönhetően, hogy a gazdasejt citokeratin hálózatához kötődve annak összeomlását idézi elő, ezzel segítve a vírus kiszabadulását a sejtből (Doorbar et al., 1991). Expressziója megelőzi az L1 kapszid protein expresszióját (Crum et al., 1990). Az L1 a fő kapszidfehérje, a vírusfehérjék 80%-át adja, mely önmagában is képes a kapszidszerkezet kialakítására. Az L2 valószínűleg a genom és a kapszid összeépülését segíti elő. A hám legfelső rétegében fertőzőképes virionok keletkeznek, melyek a folyamatosan leváló, pusztuló réteggel ürülnek a környezetbe.

### Humán papillomavírusok szerepe a hámsejtek diszpláziájában

HPV fertőzésben a méhnyak hámváltozásai fokozatosan alakulnak ki. Ezen elváltozások egy része benignus, más része premalignus, mely malignizálódhat. A folyamat több jól felismerhető szakaszból áll.



2. ábra: Cervikális laphámsejtes rákmegelőző elváltozások.

A méhnyak precancerosus lézióinak sematikus bemutatása, és azok osztályozására használt elnevezések. (Az ábrát Wright et al., 1994. közleményéből vettem át.)

A HPV által okozott hámváltozás lehet enyhe, közepes vagy súlyos fokú, illetve ha a hám egésze daganatos transzformációt mutat, de a folyamat a bazális membránt nem törte át, in situ carcinomáról beszélünk. A HPV által okozott *dysplasiás* elváltozások citológiai jelei

elsősorban a sejtmagok részéről mutatkoznak *dyskaryosis* formájában, a sejtmagok megnagyobbodnak, szabálytalan alakot vesznek fel, hyperchromasiássá válnak, valamint a kromatinállomány irreguláris, rögös formát ölt (Szende Béla: Pathológia, 1999).

A vírus a bazális sejtekben marad fenn, tehát a *dysplasiák* a hám alsó rétegéből indulnak ki. Általánosságban elmondható, hogy minél előrehaladottabb a *dyskaryosis*, annál vastagabb rétegben foglalják el a *dysplasiás* sejtek a hámot. Az így kialakuló *cervikális intraepithelialis neoplasiákban* (CIN) a *dysplasiás* réteg teljes vastagságában meg lehet figyelni szabályosan osztódó sejteket. A *dysplasia* súlyosságától és a *dysplasiás* réteg kiterjedtségétől függően a következőképpen osztályozzák a CIN elváltozásokat:

- CIN1 (enyhe *dysplasia*): a *dyskaryosis* mértéke legalább enyhe fokú és a *dysplasiás* sejtek a hám basalis egyharmadát foglalják el.
- CIN2 (közepes/mérsékelt *dysplasia*): a *dysplasiás* sejtek a cervikális epithelium basalis kétharmadában találhatóak.
- CIN3 (súlyos *dysplasia*): az egész hám érintett. A sejtek és a sejtmagok kifejezettebb változatossága, rendezetlensége jellemző. Szinonímaként használják a *carcinoma in situ* elnevezést is. Egyes patológusok szerint a kettő ugyanaz, mások az alapján különítik el a kettőt, hogy a hám legfelső rétege *dysplasiás*-e vagy sem, amennyiben igen, *carcinoma in situ*ról beszélnek, amennyiben nem, CIN3-ról.
- Invazív méhnyakrák: a bazális membrán alatti területekbe terjed, a sejtek mitotikus aktivitása és morfológiája malignus folyamatokra utal (Szende Béla: Pathológia, 1999.)

### **A méhnyak hámelváltozásainak szerepe a nőgyógyászati szűrésben**

A nőgyógyászati szűrés célja időben felismerni és kezelni a méhnyak rákmegelőző állapotait, valamint a korai méhnyakrákot. A méhnyakrák kialakulásának kiindulási pontja a külső méhszáj. Ezen a területen található a méhnyak hüvelybe domborodó külső felszínét borító laphám és a nyakcsatornát bélelő hengerhám találkozásából adódó transzformációs zóna, ahol a sejtek fokozott proliferációs képessége következtében nagyobb a kockázata a malignus elváltozások kialakulásának.

Az elváltozás a szövettani képnek megfelelően lehet laphámcarcinoma (*carcinoma planocellulare*), adenocarcinoma, valamint előfordul kevert *adenosquamosus carcinoma* is. A

laphámából kiinduló laphámcarcinomának több típusa van. A nagysejtes, elszarusodó formát az atípusos laphámsejtek szabálytalan sejtcsoportokba rendeződése jellemzi, melyekben szarugyöngy található. A nagysejtes, el nem szarusodó formában szarugyöngyök nincsenek, de az atípusos laphámsejteket *dyskeratosis* jellemezheti. A kissejtes laphámrák a legkevésbé differenciált forma, sejtjei kisméretűek, magjuk hyperchromaticus, közepes mennyiségű citoplazma, valamint osztódó alakok jelenléte jellemzi őket. Az adenocarcinomák többsége atípusos mirigyelemekből áll, a sejtek a malignitás morfológiai jeleit mutatják. A jól differenciált tumorokban magas hengerhámsejtekkel határolt mirigyek találhatók, a kevésbé differenciált tumorokban a sejtek polimorfak és szabálytalan csoportokba rendeződnek. A *carcinoma adenosquamosum* malignus laphám- és mirigyhámrészeket tartalmaz, melyek malignus differenciáltsága különböző. Általában rosszabb a prognózisa, mint a laphámráké. (Papp Zoltán: A szülészeti-nőgyógyászat tankönyve, 2002; Szende Béla: Pathológia 1999).

A papillomavírus fertőzés talaján kialakuló hámelváltozások fokozatosan progrediálnak. Az invazív rák kialakulása éveket vesz igénybe. A folyamat lassú kialakulása lehetőséget ad arra, hogy ésszerű időközönként - hazánkban 1 évenként, nemzetközi ajánlásokban 2 évenként - szűrővizsgálattal még a rákmegelőző stádiumban felismerjék az elváltozásokat. A szűrés legfontosabb módszere a citológiai vizsgálat. Az onkocitológiai vizsgálat során a kenetet a nőgyógyászok veszik a *portio uteri vaginalis* felszínéről és a nyakcsatornából.

A precarcinómás elváltozások felismerésének céljából az értékelés a cytomorphológiai malignitás kritériumai alapján történik. A hámelváltozások osztályozására többféle megközelítés létezik.

Legrégebb óta a Papanicolaou-osztályozást használják a citológiai kenetek értékelésére, mely a laphámsejtek elváltozásai alapján osztályoz:

Pap1: negatív citológiai lelet, érett superficialis sejtek találhatóak benne.

Pap2: a superficialis és intermediaer sejtek mellett enyhe gyulladás jelei láthatóak, de malignitásra utaló jel nincs.

Pap3: enyhe, közepes vagy súlyos *dyskaryosis* jellemzi a sejtek morfológiáját, de a malignitás egyéb citológiai jellegzetességei nem találhatóak meg. Ez a legproblémásabb csoport, mert sok esetben sem kizárni, sem megerősíteni nem lehet a malignus elváltozást.

Pap4: a kép in situ carcinomára utal.

Pap5: invazív carcinoma gyanúja merül fel, a malignitás összes jele megtalálható (Papp Zoltán: A szülészeti-nőgyógyászat tankönyve, 2002; Endes Pongrác: Pathológia, 1983).

A Papanicolaou klasszifikáció csak a laphámsejtek elváltozásai szerint osztályoz.

A citológián alapuló szűrést legrégebben és legkövetkezetesebben Finnországban alkalmazzák a '60-as évek óta. Ennek következtében közel 80-90%-kal csökkent a *cervix carcinoma* miatti halálozás (Levi et al., 2000). Annak oka, hogy nem sikerült 100%-ban megelőzni a halálozást, egyrészt az, hogy a szervezett szűrés mellett észlelt invazív carcinomák között átütő csökkenést a laphámsejt eredetű carcinomák között értek el, míg a mirigyhám eredetű adenocarcinomák előfordulása nem csökkent. Másrészt, a szűrt populáció együttműködési készsége (compliance) soha sem 100%, és életvitelük miatt többnyire a magas kockázatú társadalmi csoportból maradnak le többen a szűrésről. Az adenocarcinomákkal kapcsolatos nem kielégítő szűrési eredmény, valamint a pontosabb beosztásra való igény, a szövettani vizsgálatoknak megfelelő morfológiai leírásra való igény következtében 1989-ben bevezették a Bethesda rendszer szerinti osztályozást a *cervicalis* és *vaginalis* cytológiai diagnózisok értelmezésére, melyet 1991-ben és 2001-ben újraértékeltek. Ebben a rendszerben a kenet akkor értékelhető, ha mind az *ectocervix* hámja (többrétegű elszarusodó laphám), mind a nyakcsatorna hámja (hengerhám, mirigyhám) kellő mennyiségben megtalálható benne. A mintavétel a *squamocolumnaris junctioról* és az *endocervixből* cytobrush eszközzel, míg az *ectocervixről* spatulával történik.

A Bethesda rendszer a következő szempontok alapján osztályoz:

- Általános osztályozás:
  - a minta negatív az intraepitheliális léziók vagy a malignitás szempontjából
  - epitheliális (laphám vagy mirigyhám eredetű) sejtelváltozások vannak jelen
  - más jellegű eltérések vannak jelen
- Kiértékelés/eredmény szempontjai:
  1. A minta az intraepitheliális elváltozások vagy a malignitás szempontjából negatív, de jelen lehet a mintában *Trichomonas vaginalis*, gomba, *Actinomyces* fajok, Herpes simplex vírus, valamint bakteriális vaginózis. Olyan nem neopláziás sejtelváltozások jelenléte, melyek gyulladáshoz vezetnek, sugárzás vagy méhen belüli fogamzásgátló következtében alakultak ki.
    - 2 a. Laphámsejtek elváltozása szempontjából:
      - Atípiás/dysplasiás laphámsejtek (ASC: *atypical squamous cells*):
        - \* atípusos laphámsejtek nem meghatározható okokból (ASC-US: *atypical squamous cells of undetermined significance*)
        - \* nem zárható ki HSIL (ASC-H)

- Enyhe-fokú intraepitheliális lézió (*LSIL: low-grade squamous intraepithelial lesio*), mely magában foglalja a *koilocytosist* és az enyhe *dysplasiás* elváltozást is (CIN1)
- Súlyos fokú intraepitheliális lézió (*HSIL: high-grade squamous intraepithelial lesio*), mely magában foglalja a mérsékelt vagy súlyos *dysplasiát* és a *carcinoma in situ* (CIN2, CIN3)
- Laphámsejtes carcinoma

2 b. Mirigyhámsejtek elváltozása szempontjából:

- atípiás mirigyhámsejtek (*AGC: atypical glandular cells*), melyek lehetnek endocervikális vagy endometriális eredetűek
- atípiás mirigyhámsejtek, főleg neopláziás elváltozások, melyek endocervikális eredetűek
- endocervikális adenocarcinoma in situ (*AIS: adenocarcinoma in situ*)
- adenocarcinoma (Solomon et al., 2002).

Jelenleg mind a két osztályozási rendszert alkalmazzák Magyarországon.

Hazánkban a nőgyógyászati rutin szűrési eljárás másik része a kolposzkópiai vizsgálat. Az onkocitológiai anyagvétel mellett a *portio uterit* kolposzkóppal vizsgálják. A kolposzkóp egy binokuláris készülék, mellyel 5-20 szoros nagyítás mellett nagy biztonsággal elkülöníthetők a gyanús és a nem gyanús elváltozások. A kolposzkóp segítségével a méhnyak felszínét borító hám vizsgálata során először természetes állapotban, majd vegyszeres (3%-os ecetsav, jóddoldat) ecsetelés után történik a vizsgálat.

A kolposzkópos kép alapján észlelhető gyanús elváltozások a következők:

- *Leukoplákia* (fehér folt): a felszínből kiemelkedő hámmegvastagodás.
- *Pontozottság*: a leukoplákia letörlése után válik láthatóvá. A vékony hámrétegen a kötőszöveti papillákban a felszínre merőlegesen futó érkacsok pontszerű keresztmetszete áttűnik, élénken kirajzolódik.
- *Tagoltság* vagy *mozaik*: szabálytalan elrendeződésű sárgás területek, melyek piros vonalak által határoltak. Ennek az a magyarázata, hogy a kötőszöveti papillák közötti hámcseppek kiszélesednek a kóros proliferáció következtében.
- *Erosio vera*: valódi hámhiány.
- *Szabálytalan érrajzolat*: az erek kalibere ingadozik, lefutása megtörések miatt bizarr, változatos, dugóhúzó szerű. A tumorszövet megváltozott anyagcseréje okozhatja.
- *Nívókülönbségek*: a felszín szokatlanul egyenetlen, szabálytalan.

A premalignus folyamatokban a gyanús elváltozások közül 2-3 általában együttesen fordul elő és a *portio uteri* nagyobb területén észlelhető (Lampé László: Szülészeti nőgyógyászat I., 1981).

### **Humán papillomavírus kimutatás diagnosztikai jelentősége**

A vírus perzisztálása elengedhetetlen a súlyos fokú *intraepithelialis neoplasia* és az invazív *cervix carcinoma* kialakulásához (Ho et al., 1995; Nobbenhuis et al., 1999; Wallin et al., 1999), az onkogén progresszió folyamán a transzformált laphámsejtekben az onkogén HPV típusok végig kimutathatók. A HPV kimutatás azonban önmagában nem biztosítja a premalignus elváltozások kiszűrését, mivel a HPV fertőzések többségében nem indul el onkológiai folyamat. Ahol az onkocitológiai vagy a kolposzkópos vizsgálat egyértelműen onkológiai jelentőségű folyamatot jelez, ott szintén nem nyújt többlet információt a HPV kimutatása. Azonban bármelyik citológiai osztályozást is alkalmazzuk, onkológiai szempontból az eredmények egy része bizonytalan lesz.

Azon nők esetében, akik bizonytalan eredményű Pap-kenettel és onkogén HPV fertőzéssel rendelkeznek, nagyobb eséllyel alakul ki *cervicalis intraepithelialis neoplasia* (CIN), míg HPV negatív citológiai atípiában nincs nagyobb valószínűsége az onkológiai folyamat kialakulásának, mint normál citológia mellett (Kjellberg et al., 1998; Manos et al., 1999; Nobbenhuis et al., 1999).

A HPV diagnosztika eltérő helyen áll a rutin nőgyógyászati szűrés során a világ országaiban. Hazánkban a primer szűrési program a citológiai és a kolposzkópos vizsgálatot foglalja magában, a HPV diagnosztika a szekunder szűrési program része, melyre azon betegek esetében kerül sor, akiknél bizonytalan citológiai elváltozást mutattak ki. Cuzick és munkatársai vizsgálataik során a HPV kimutatás jelentőségét tanulmányozták az elsődleges szűrési program részeként citológiával kombinálva. A HPV tesztelésnek a méhnyakrák kialakulása szempontjából jó prediktív értéke van, de még további vizsgálatok szükségesek annak megállapítására, hogy populációs szinten csökkenthető-e az invazív méhnyakrák kialakulásának esélye a HPV kimutatás elsődleges szűrési programba való bevezetésével (Cuzick et al., 2000).

Általában kielégítő diagnosztikus információt kapunk, ha csak azt határozzuk meg, hogy van-e magas kockázatú (high-risk) HPV fertőzés. Legszélesebb körben a kereskedelmi forgalomban kapható, az összes jelentős magas kockázatú típusra specifikus Hybrid Capture rendszereket alkalmazzák, amelyek nukleinsav próba keverékkel végzik a hibridizációs

kimutatást (Cox et al., 1995; Clavel et al., 1999; Manos et al., 1999). Azonban, más diagnosztikus tesztek, mint a „reverse line blot” hibridizáció (van den Brule et al., 2002; van Doorn et al., 2002) és a micro-array (Cho et al., 2003) is már bevezetés előtt állnak. Ezen tesztek információt nyújtanak a pontos HPV típusról és a többszörös fertőzés jelenlétéről. Mivel ezen információ klinikai és epidemiológiai vonatkozásai még kevésbé ismertek, további vizsgálatokat kíván annak megállapítása, hogy a klinikai HPV tesztelésnek célja legyen-e a HPV típus és a többszörös fertőzés meghatározása, és ha igen, hogyan kell az eredményeket interpretálni.

### **Antivirális immunitás**

A HPV fertőzésekkel kapcsolatos elváltozások kialakulásának kockázata elsősorban a fertőzés tranziens vagy perzisztens mivoltától függ. A tranziens fertőzések esetén az immunrendszer eliminálja a vírust a szervezetből. Amennyiben ez nem történik meg - a védekező rendszer elégtelensége miatt - a fertőzés perzisztens lesz. A perzisztens fertőzés talaján kialakuló *intraepithelialis neoplasiák* is visszafejlődhetnek, valószínűleg az immunvédekezés későbbi aktiválódása miatt.

#### *Humorális immunitás szerepe*

A neutralizáló ellenanyagok védelmet nyújthatnak az infektív vírusokkal szemben (Breitburd et al., 1995), a nyálkahártya felszínére választódnak ki és típus specifikus módon védenek az új HPV fertőzés ellen, azaz csak az adott HPV típusal szemben van védő hatásuk. Amennyiben a fertőzés végbement és a vírus bejutott a keratinocitákba, már nincs antivirális védő hatásuk (Veress et al., 1994; Wang et al., 1997). A neutralizáló ellenanyagok védő hatásán alapul a HPV fertőzés elleni vakcinák kifejlesztése, mely jelenleg a klinikai kipróbálás fázisában tart. A kísérleti vakcinák L1 kapszidfehérjét tartalmaznak, mely immunogén hatása erősebb, mint az L2 proteiné. Az L1 fehérje mellett néhány vakcina tartalmaz nem-strukturális vírusfehérjét is. A következő vakcinák állnak kipróbálás alatt: HPV16 VLPs (virus-like particles); HPV16, 18, 6 és 11 típusok elleni, L1 antigént tartalmazó vakcinák.

#### *Celluláris immunitás szerepe*

Klinikai megfigyelések a *cervix uteri* nyálkahártyájának immunvédelmében a HPV-ellenes immunitás során a celluláris immunitás (CD4+ és CD8+ sejtek) védő szerepét támasztják alá. A citotoxikus T-limfociták (CTL) valószínűleg a vírus korai fehérjéit ismerik fel, melyek mind a látens, mind a permisszív ciklusban kifejeződnek. A szervtranszplantált,

immunszuppresszált betegekben és a HIV-pozitívokban a papillomavírus fertőzéssel kapcsolatos léziók jóval gyakrabban fordulnak elő (Petry et al., 1994). A súlyos fokú SIL kialakulása összefügg azzal, hogy a CTL-k felismerő képessége csökken a virális E6 és E7 fehérjékkel szemben (Nakagawa et al., 1997). A mononukleáris sejtek infiltrációja a regrediáló léziókban fokozottabb, mint a progrediáló elváltozásokban (Coleman et al., 1994). A polimorf HLA allélok összefüggésben vannak a cervikális neopláziára való különböző érzékenységgel (Kónya & Dillner, 2001). A méhnyakrákok jelentős hányadában kimutatták a HLA-I osztályú molekulák expressziójának részleges vagy teljes hiányát (Keating et al., 1995), ami arra utal, hogy a carcinoma sejtek ilyen módon is kikerülik az immunvédekezést. Olyan HPV16 E6 variánsok, melyekben a hipotetikus HLA-B7 restriktív CTL epitópban aminosavváltozás történt, fokozhatják a méhnyakrák kialakulásának kockázatát HLA-B7 pozitív betegekben (Ellis et al., 1995). Viszonylag kevés közvetlen bizonyíték van a HPV-specifikus CTL-k létezésére. Egy nyolc betegből álló, méhnyakrákban szenvedő, a HLA-I osztályba tartozó HLA-A2 haplotípussal rendelkező csoportban csak egyetlen esetben lehetett kimutatni a CTL memóriát a HPV16 típus E7 fehérjéje elleni jól meghatározott CTL-epitópok ellen (Ressing et al., 1996). A malignus transzformáció alatt az E1 és E2 vírusfehérjék gyakran elvesznek, ami jelentheti a tumor-rejekciós antigének elvesztését is (Kónya et al., 1997).

A *cervicalis neoplasia* kialakulásának kockázata kapcsolatban áll az MHC-II csoportba tartozó sajátos haplotípusokkal is (Kónya & Dillner., 2001). A HLA-DR13 haplotípus védő hatású, tekintet nélkül a fertőző HPV típusra. A HLA-DR7 és a HLA-DR15 haplotípus növeli a fogékonyságot a HPV16 által indukált cervikális neopláziák kialakulására. Érdekes, hogy a HLA-DR7 ugyanakkor védő hatásúnak látszik azokkal a cervikális neopláziákkal szemben, amelyeket HPV16-tól eltérő magas kockázatú típus okoz. A DQB1\*03 allélok jelenléte is megnöveli a méhnyakrák kialakulásának kockázatát. A DQB1\*0302 és a DQB1\*0303 allélok növelik a fogékonyságot a HPV16 fertőzésre. A DQB1\*0301 allél nincs kapcsolatban a méhnyakrák kialakulásával, valamint a HPV fertőzéssel. Érdekes, hogy a HLA-II osztályba tartozó molekulák expressziója általában emelkedett a HPV-val fertőzött cervikális keratinocitákban. Ennek jelentősége nem ismert, de feltételezik, hogy a HLA-II osztályba tartozó molekulák fokozott expressziója inkább toleranciát indukál abban az esetben, ha az antigén stimuláláshoz szükséges járulékos molekulák - mint a B7 - hiányoznak.

## **Citokinek szerepe a hámszövetek humán papillomavírus ellenes immunvédekezésében**

A sejtek közötti kommunikáció a hámrétegben is citokinválasztás révén valósul meg. A neopláziás, HPV fertőzött keratinociták fokozott interleukin-6 (IL-6) termelő képessége következtében a lokális immunválaszok megváltozhatnak (Malejczyk et al., 1991). A citokin profil megváltozását mutatták ki cervikális neopláziában szenvedő betegekben mind specifikus antigén stimuláció (Tsukui et al., 1996), mind nem-specifikus stimuláció után (Clerici et al., 1997). A vírus életciklusa során nincs viraemia. Ez azt jelenti, hogy a gazdaszervezet-vírus közötti kölcsönhatás helye a fertőzött epithelium. Az epithelium immunfolyamatait alapvetően három sejtféleség határozza meg. Az afferens szarat a Langerhans/dendritikus sejtek (LC/DC) alkotják, amelyek az antigén felvétele után a regionális nyirokcsomókba vándorolnak, ahol limfocitákat aktiválnak, melyek visszajutnak a célsejtekhez, a keratinocitákhoz. A *cervicalis neopláziákban* az infiltrálódó Langerhans sejtek száma csökken a normál ectocervixhez képest (Morelli et al., 1993).

A keratinociták által kiválasztott IL-1 autokrin és parakrin módon sejtproliferációt indukál (Ristow, 1987) és stimulálja további IL-1, IL-6, IL-8 és kolóniastimuláló faktorok (CSF) termelését (Kondo, 1999). Az IL-1 a GM-CSF-ral együtt fokozza a Langerhans sejtek antigénprezentáló funkcióját (Heufler et al., 1988). Az IL-6 és az IL-8 fiziológiás szerepe valószínűleg a sebgyógyuláshoz szükséges proliferáció és a kemotaxis indukálása (Grossman et al., 1989; Michel et al., 1992). A keratinociták az IL-1 mellett TNF $\alpha$ -t is szekretálnak, amely az IL-1-el szemben gátolja a keratinociták proliferációját (Symington, 1989), viszont az LC/DC sejteken kiegészíti az IL-1 hatását azzal, hogy serkenti az antigénprezentáló LC/DC sejtek migrációját a regionális nyirokcsomókba (Cumberbatch & Kimber, 1992). Az epithelium által szintén termelt IL-10 antagonista hatású, mely redukálja a kemokinreceptorok és a B7-1, B7-2 kostimulációs molekulák expresszióját, azaz gátolja az LC/DC sejtek migrációját a nyirokcsomókba ill. az antigénprezentációt (Cumberbatch & Kimber, 1992; Kawamura & Furue, 1995). A súlyos fokú CIN-ben szenvedő betegekben a szisztémás citokin profil eltolódott a Th-2 típusú citokinválasz irányába (Jacobs et al., 1998; Clerici et al., 1997). A humán interleukin-10 (IL-10) gén az 1-es kromoszómán helyezkedik el és 4 exont tartalmaz (Benjamin et al., 1992). Az IL-10-et eredetileg egy citokin gátló faktorként írták le, mivel gátolja a Th1-típusú citokintermelést (Fiorentino et al., 1989). IL-10 citokint T-sejtek, B-sejtek, monociták, makrofágok, eozinofil granulociták, Ehrlich-hízósejtek és a placentában lévő trophoblastok is termelnek (Moore et al., 1993). Az IL-10-nek pleiotrópiás immunmodulátor hatása van (Moore et al., 2001). Alapvetően ez egy Th-2 típusú citokin,

amely gátolja az antigén-prezentáló funkciót (de Waal Malefyt et al., 1991; Kawamura & Furue, 1995) és a CD4+ T-limfociták anergiáját idézi elő (Groux et al., 1996). Ezáltal, az IL-10 gátolja a sejt mediált immunválasz kezdetét. Azonban, a CD8+ CTL aktiválásakor az IL-10-nek egy közvetlen stimuláló hatása van az aktivált állapot fenntartásában és fokozásában. Ez a jelenség fennáll mind a poliklonális (Groux et al., 1998), mind a HPV-specifikus stimuláció után (Santin et al., 2000). Az IL-10 receptorok expressziója indukálható keratinocitákban, melyek a humán papillomavírusok gazdasejtjei (Michel et al., 1997; Farkas et al., 2001). Megnövekedett IL-10 termelést észleltek bizonyos daganatokban, mint például az ovariumcarcinomában, melanomában (Moore et al., 2001). Az emelkedett IL-10 termelésnek elméletileg okai lehetnek maguk a daganatos sejtek vagy a tumor infiltráló limfociták.

Az IL-10 promóter polimorfizmusnak szerepe lehet a méhnyak daganatos elváltozásaiban (Stanczuk et al., 2001). Az nt-1082 allélok és más polimorfizmusok IL-10 termelő képességre való hatását széles körben vizsgálták. A három egyedi nukleotidot érintő polimorfizmus az IL-10 gén promóterében - az -1082, -819, és -592 nukleotid pozíciókban - a feltételezett transzkripció faktor kötőhelyeket érinti (Eskdale et al., 1997). Az 1082-es nukleotidban különböző allélok eltérő affinitással kötődnek egy transzkripció faktorhoz, valószínűleg az ETS-hez (Rees et al., 2002) és ezek az allélok hatással vannak az IL-10 promóter transzkripció aktivitására is (Rees et al., 2002; Crawley et al., 1999). Úgy tűnik, hogy az nt-1082 allélok transzkripciója eltérő a különböző sejttípusokban: az U937 monocita sejtvonalban a G allél transzkripció aktivitása magasabb (Crawley et al., 1999), míg egy B-limfocita eredetű sejtvonalban az A allél transzkripció aktivitása magasabb (Rees et al., 2002). Az IL-10 termelő képesség szintén függ a sejttípusoktól: concanavalin A stimulált mononukleáris sejtekben az nt-1082 G allélhoz fokozott IL-10 termelő-képesség kapcsolódik (Turner et al., 1997), míg az nt-1082-es polimorfizmus nincs hatással az IL-10 termelő képességre teljes vérminták lipopoliszacharid kezelése után (de Jong et al., 2002). A genitális régióban szekretálódó IL-10 szint nincs összefüggésben a plazma szinttel, jelezvén a helyi citokin termelés túlsúlyát (Castle et al., 2002). Mivel a genitális epitheliumban az infiltrálódó mononukleáris sejtek többsége T-limfocita (Kónya & Dillner, 2001), feltételezhető, hogy a Turner és munkatársai által concanavalin A stimuláció után megfigyelt fenotípusos jegyek az irányadók a *cervix uteris*-ben. Erre utal az is, hogy eddig az nt-1082 polimorfizmust hozták összefüggésbe a méhnyakrák kialakulásával (Stanczuk et al., 2001), míg a nt-819 és nt-592 polimorfizmusban ilyen hatást nem észleltek (Roh et al., 2002).

## KLINIKAI MINTÁK ÉS MÓDSZEREK

### *Betegcsoportok*

A magas kockázatú humán papillomavírus fertőzés és a *cervicalis intraepithelialis neoplasiák* (CIN) összefüggését vizsgáló követéses tanulmányban a Debreceni Egyetem Szülészeti - és Nőgyógyászati Klinikáján elvégzett nőgyógyászati szűrővizsgálat betegadatait használtuk fel, ahol a szekunder szűrés elvének megfelelően HPV kimutatásra is vesznek mintát a *cervix*ről. Retrospektíven azonosítottunk 455 beteget, akiknél citológiai és/vagy kolposzkópiai vizsgálattal észlelt atípiás méhnyaki hámelváltozás miatt HPV kimutatás történt 1997. május és 1999. december között, majd a kontrollvizsgálatokon rendszeresen megjelentek. A betegek kórtörténetében nem fordult elő korábbi CIN vagy attól súlyosabb elváltozás.

Az alacsony- és magas kockázatú HPV fertőzés azonosítását Digene's Hybrid Capture Tube (Digene, Madison, MA) teszttel végeztük el. A betegek nyomonkövetése az elektronikus betegadat nyilvántartásból történt. A betegadatokat a citológiai vagy a kolposzkópos atípiia első észlelésének időpontjától követtük az utolsó regisztrált megjelenésig vagy a műtéti eltávolításig. Vizsgálatainkban a citológiai atípiia Papanicolaou osztályozással P3 citológiás elváltozásnak felelt meg.

Az interleukin-10 (IL-10) promóter polimorfizmus, a HPV fertőzés és a citológiai/kolposzkópiai atípiia összefüggését vizsgáló tanulmányban az első 140 magas kockázatú HPV pozitív és az első 140 HPV negatív beteg cervikális hámsejtmintáit dolgoztuk fel. A betegadatokat non-intervenciós módon követtük: amennyiben sebészi kimetszés történt, akkor a szövettani diagnózis volt a követés végpontja, ha a beteget konzervatív módon követték, akkor az utolsó regisztrált megjelenésig dolgoztuk fel az adatokat.

### *HPV genotipizálás*

A cervikális hámsejtmintákból származó DNS izolálását követően a fertőző HPV típus pontos meghatározása a munkacsoportunk által kidolgozott és közölt MY09-MY11 PCR termékek RFLP tipizálásával történt. A tipizáláshoz a következő restriktív enzimeket használtuk: *AluI*, *BamHI*, *DdeI*, *HaeIII*, *HinfI* és *PstI*. A különböző HPV típusok MY09-MY11 fragmentjeinek RFLP mintázatát korábban leírták (Bernard et al., 1994; Kónya et al., 2000). A PCR termékek restriktív fragmentjeit elektroforézist követően detektáltuk 2% agaróz gélben. A többszörös fertőzések esetén poliakrilamid gélelektroforézist alkalmaztunk. A különböző HPV típusok

RFLP mintázatát 1-2-4 kódszisztémával jelöltük, mely azon alapult, hogy az MY09-MY11 PCR termékeket hasították-e a különböző restrikciós enzimek vagy sem (Kónya et al., 2000). A terápia megválasztása idején a nőgyógyászok rendelkezésére állt a Hybrid Capture teszt eredménye, de nem ismerték a pontos HPV genotípust. Az onkológiai kockázat vizsgálata céljából a tipizálással meghatározott magas kockázatú genotípusokat három, az irodalmi adatok alapján egymástól eltérő csoportba osztottuk: HPV16 és HPV18, melyek a leggyakrabban előforduló méhnyakrákot okozó típusok mind az általunk vizsgált földrajzi területen (Kónya et al., 1995), mind világszerte (Bosch et al., 1995). A második csoportba soroltuk a ritkább típusokat (HPV45, 52, 56), melyekről korábban szintén feltételezték, hogy a többi onkogén típusnál nagyobb eséllyel okoz malignus transzformációt (Lőrincz et al., 1992; Munoz, 2000). A harmadik csoportba a fennmaradó onkogén HPV típusok tartoznak, mint a HPV31, 33, 35, 51, 58. A vizsgálat még egy további csoportot is magába foglalt, amelybe Digene's magas kockázatú HPV teszttel pozitív jelet adó más HPV típusok tartoztak. A virusterhelést a Hybrid Capture teszt hibridizációs jel erősségével határoztuk meg és relatív fényegységekben fejeztük ki 10 pg/ml HPV16 DNS pozitív kontrollhoz viszonyítva (RLU/PC). A gyártó előírásai szerint a minták pozitívnak tekinthetők ha a RLU/PC arány egy vagy annál nagyobb. Az RLU/PC értékek a Hybrid Capture tesztben használt *aliquot* DNS tartalmához voltak standardizálva, amely 0,01-2,32 µg közötti mennyiséget jelentett (median: 0,44 µg).

#### *IL-10 promóter nt-1082 meghatározás*

A cervikális hámsejtekből származó DNS izolálását követően az egyedi nukleotidot érintő génpolimorfizmus meghatározása az IL-10 promóter régió 1082-es nt pozíciójában allélspecifikus primerek alkalmazásával polimeráz láncreakcióval történt. Két allélspecifikus szenz és egy antiszenz primerrel dolgoztunk (Perrey et al., 1999). A szenz primerek 3' vége komplementer az 1082-es nukleotiddal. A klinikai mintákon két független PCR reakciót végeztünk. Az egyikben az IL-10 A primer és a generál primer, a másikban az IL-10 G primer és a generál primer kombinációját alkalmaztuk. Abban az esetben, ha mindkét primerkombinációnál kaptunk jelet, akkor a minta AG heterozigóta volt. Amennyiben csak az egyik esetben kaptunk jelet, akkor a primereknek megfelelően AA vagy GG homozigóta volt a minta. A primerek 258 bp-nyi szakaszt szaporítottak fel. A kezdeti 95°C-os 2 min időtartalmú denaturáció után, a PCR amplifikációt 35 cikluson keresztül a következő

hőmérsékleteken végeztük: 95°C 30 sec, 64°C 1 min, 72°C 1 min. A PCR termékeket ethidium-bromide festéssel detektáltuk 1,5% agaróz gélelektroforézist követően.

### *Statisztikai analízis*

A különböző betegcsoportokban a CIN kialakulásának kumulatív valószínűségét a nyomkövetés ideje alatt Kaplan-Meier statisztikai módszerrel vizsgáltuk. A CIN kialakulásának kockázatát (RR: relative risk) és a 95%-os konfidencia intervallumokat (CI<sub>95%</sub>) egy- és többváltozós Cox regressziós analízissel határoztuk meg a HPV státusz, a citológiai eredmény és a nt-1082 genotípusok alapján. Amennyiben több mint két csoportban vizsgáltuk a rizikó faktorokat, a relatív kockázatot minden egyes rizikócsoportban a referencia csoporthoz viszonyítottuk.

A diszkrét típusú változók esetén (pl. nt-1082 polimorfizmus, citológiai eredmény, HPV-fertőzés megléte) a betegcsoportok közötti eltérést Yates által módosított  $\chi$ -négyzet statisztikával értékeltük ki. Az nt-1082 genotípusok fogékonyságát a HPV fertőzésre illetve a citológiai atípiára többváltozós logisztikus regressziós analízissel határoztuk meg. A folyamatos változók - mint a koreloszlás és a virusterhelés - különbségét vagy két mintás Kolmogorov-Smirnov statisztikával, vagy több mintás Kruskal-Wallis statisztikával vizsgáltuk.

## EREDMÉNYEK

### **A magas kockázatú HPV típusok szerepe a CIN kialakulásában (I. közlemény)**

Az első tanulmányban 455 nőbeteg nyomonkövetésével vizsgáltuk a *cervicalis intraepitheliális neoplasiák* (CIN) előfordulását a HPV fertőzéssel és a cervikális elváltozásokkal kapcsolatosan. A betegek életkora a vizsgálat kezdetén 18 és 61 év közé esett (median: 32). A Hybrid Capture HPV tesztet általában a követés kezdetén elvégeztük, de 28 beteg esetében csak több mint 6 hónappal a cervikális atípiá első diagnosztizálása után történt a HPV kimutatás. Magas kockázatú HPV fertőzést 152 beteg esetében azonosítottunk, míg alacsony kockázatú HPV fertőzést 23 beteg esetében. 16 beteg cervikális mintájából mind alacsony-, mind magas kockázatú HPV-t mutatott ki a Hybrid Capture teszt. Azonban ebből a 16 Hybrid Capture kettős pozitív mintából tipizálással csak 5 esetben sikerült azonosítani a többszörös fertőzéseket: 3 esetben egy alacsony- és egy magas kockázatú típusal való fertőzöttséget, 2 esetben magas kockázatú típusokkal való kettős fertőzést (16+31 és 16+52). A maradék 11 Hybrid Capture kettős pozitív minta genotipizálásával csak egyszeres, magas kockázatú típusal való fertőzést mutattunk ki. A Hybrid Capture eredmények elemzésénél a HPV magas és alacsony kockázatú típusra pozitív betegeket egy csoportba vettük a csupán magas kockázatú HPV-vel fertőzött betegekkel, mivel korábban leírták, hogy a Hybrid Capture magas kockázatú HPV pozitivitás érzékenyen detektálja a súlyos fokú SIL-t, tekintet nélkül arra, hogy pozitív-e az alacsony kockázatú HPV teszt (Schiffman et al., 1995). A citológiai atípiás betegek aránya sokkal alacsonyabb volt az alacsony kockázatú HPV fertőzöttek csoportjában (5%), mint a magas kockázatú HPV pozitívak esetében (37%).

A sebészileg eltávolított biopsziák szövettani vizsgálata CIN1 elváltozást 13 esetben, CIN2 elváltozást 31 esetben, CIN3 elváltozást 19 esetben, in situ carcinomát 23 esetben, valamint microinvaszív carcinomát 2 esetben mutatott ki. A magas kockázatú HPV fertőzéssel együtt járó citológiai atípiában 131 betegből 77-ben (58,7%) alakult ki CIN és 69 esetben (52,6%) ez az elváltozás súlyos fokú volt (CIN2 vagy súlyosabb). A összes CIN elváltozás 88%-át és a súlyos fokú esetek 92%-át ebben a betegcsoportban találtuk (I. közlemény I. táblázat). A negatív citológiai eredménnyel rendelkező betegek közül háromban alakult ki CIN. Egyikben negatív HPV teszt után CIN1 léziót diagnosztizáltak, míg két magas kockázatú HPV pozitív, de citológiai negatív betegben CIN2 fejlődött ki. A fennmaradó CIN léziókat olyan citológiai atípiás betegekben találtuk, akik nem voltak magas kockázatú HPV-vel fertőzve: egy CIN2 léziót mutattunk ki 13 hónappal az alacsony kockázatú HPV fertőzés (HPV6)

detektálása után és 7 CIN esetet találtunk a HPV negatív citológiai atípiával rendelkező betegek között, melyből 3 volt CIN2. A súlyos fokú intraepithelialis neoplasiák (CIN2, CIN3, carcinoma in situ) kockázatát P3-as citológiai atípiára 16,2-szeresre ( $CI_{95}$ : 3,9-66,6), a magas kockázatú HPV fertőzés 76,8-szorosra ( $CI_{95}$ : 23,7-249,5) növelte (*I. közlemény 2. táblázat*).

A magas kockázatú HPV fertőzéssel együtt járó citológiai atípiában a CIN hisztológiai diagnosztizálása az esetek nagy részében a követés első évében megtörtént, azaz sok esetben már kialakult CIN volt a háttérben a cervikális atípiára első észlelésekor. Nemcsak a CIN esetek aránya, de az időbeni eloszlása is különböző volt a magas kockázatú HPV pozitív és a HPV negatív csoportok között. A HPV negatív citológiai atípiás csoportban 7 CIN esetből 5 - beleértve 2 CIN2 esetet - több mint két évvel a követés kezdete után került diagnosztizálásra. Az utóbbi esetekben a kiindulási citológiai atípiára először gyógyult, majd újból kiújult, ami a követés kezdete után kialakult etiológiára utalt. A fenti betegcsoportok koreloszlása különböző volt. A citológiai atípiás betegek idősebbek voltak, mint azok, akiknek nem volt citológiai eltérése (median kor: 34 vs. 28,  $p=0,001$ ), a citológiai atípiás csoportban a HPV negatív betegek idősebbek voltak, mint azok, akiknek magas kockázatú HPV fertőzésük volt (median kor: 38 vs. 31,  $P<0,001$ ). A normál citológiájú betegek között a HPV negatív és magas kockázatú HPV pozitív betegek koreloszlása nem különbözött jelentősen (median kor: 28 vs. 26,  $p=0,59$ ). A kor hatását a CIN kialakulására együtt vettük figyelembe a magas kockázatú HPV fertőzéssel és citológiai atípiával. Az alkalmazott többváltozós Cox regressziós analízis alapján 35 év felett 1,99-szer ( $CI_{95}$ : 1,26-3,16) nagyobb volt a kockázata, hogy a magas kockázatú HPV-fertőzés talaján súlyos fokú CIN fejlődik ki, mint 35 év alatt. Fiatalabb korban kisebb eséllyel alakult ki CIN magas kockázatú HPV fertőzés után, viszont ebben a korban magasabb a HPV fertőzés incidenciája, ami az idősebb betegekéhez (18%) hasonló CIN előfordulási arányt (16%) eredményezett (*I. közlemény 2. táblázat*).

168 magas kockázatú HPV pozitív mintát azonosítottunk Hybrid Capture Tube teszttel, ebből 150 (89,2%) mintát lehetett genotipizálni PCR-RFLP módszerrel. Ezen mintákat használtuk fel a típus specifikus onkogén kockázat kiértékelésére a magas kockázatú HPV pozitív csoporton belül. A genotipizálással fény derült a többszörös HPV fertőzésre 19 beteg (12,7%) esetében, akik fiatalabbak voltak azoknál, akiknél egyszeres HPV fertőzést mutattunk ki (median kor: 24 vs. 31,  $p=0,056$ ). Az átlagos vírusterhelés az egyszeres fertőzések esetében 23,2 RLU/PC (range: 2,0-164) volt, míg az összetett fertőzések esetében 10,9 RLU/PC (range: 1,0-262) ( $p=0,27$ ). A súlyos fokú CIN kialakulásának kockázata a többszörös HPV fertőzések után némileg, de nem jelentős mértékben kisebb volt (RR: 49,5;  $CI_{95}$ : 12,2-201,7), mint az egyszeres magas kockázatú HPV fertőzések után (RR: 85,6;  $CI_{95}$ : 26,2-279,3), mind

az egyváltozós, mind a többváltozós analízissel kapott eredmények szerint (*I. közlemény 2. táblázat*). A súlyos fokú CIN kialakulási kockázatának aránya (RR) a többszörös és egyszeres fertőzések között 0,58 (CI<sub>95</sub>: 0,25-1,34) volt. Mind az egyszeres, mind a többszörös fertőzéseket figyelembe véve a leggyakrabban előforduló típusok a következők voltak: HPV16 típus 78 esetben (52%), HPV33 típus 21 esetben (14%), HPV31 típus 20 esetben (13,3%) és HPV18 típus 9 esetben (6%). A kevésbé gyakori magas kockázatú HPV típusok 26 esetben (17,3%) voltak jelen (HPV35, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58) (*I. közlemény 1. táblázat*). A betegek magas kockázatú HPV típusainak vizsgálatával megállapítottuk, hogy a HPV16 fertőzés valamivel gyakrabban fordult elő a citológiai atípiás csoportban, mint a citológiai atípiánélküli csoportban (55% vs. 40%, p=0,20), míg a HPV18 típus szignifikánsan kevesebb volt a citológiai atípiás csoportban (3,3% vs. 16,7%, p=0,016). Másrészt, a HPV31, HPV33 illetve a fennmaradó magas kockázatú típusok egyenletesen oszlottak el a citológiai atípiás és a normál citológiájú csoportokban (P értékek: 1,0; 1,0; 0,66). A tanulmány korlátozott méretéből kifolyólag a magas kockázatú genotípusokat - mint már korábban említettük - csoportosítottuk. Mivel a többszörös HPV típusokkal való fertőzéseknek nem volt magasabb onkológiai kockázata, mint az egyszeres fertőzéseknek (*I. közlemény 2. táblázat*), a többszörös fertőzéseket egy csoportba vettük az egyszeres fertőzésekkel a következőképpen: amennyiben a többszörös típusok egyike HPV16 vagy HPV18 volt, a fertőzést a HPV16/18 csoportba soroltuk. Amennyiben az összetett típusok egyike HPV45, HPV52, HPV56 volt, de a másik típus nem volt HPV16 vagy HPV18, akkor a fertőzést a HPV45/52/56 csoportba soroltuk. Amennyiben a többszörös fertőzéseket a fentiekől eltérő magas kockázatú típusok okozták akkor a HPV31/33/35/51/58 csoportba soroltuk őket. A különböző magas kockázatú HPV típusok alapján csoportosított betegek között a koreloszlás (p=0,57) és a citológiai atípiá gyakorisága (p=0,63) nem különbözött szignifikánsan. A relatív kockázat többváltozós értékeléséből arra következtettünk, hogy minden magas kockázatú genotípus szignifikáns kockázati tényező volt a CIN kialakulása szempontjából (*I. közlemény 2. táblázat*). HPV16 vagy 18 típust 87 esetben azonosítottunk. 57 esetben alakult ki CIN (RR: 52,7; CI<sub>95</sub>: 24,2-114,8), illetve 51 esetben CIN2 (RR: 119,1; CI<sub>95</sub>: 36,2-390,9). A legmagasabb kockázati értékeket ebben a csoportban találtuk. A HPV31/33/35/51/58 csoportba 43 esetet soroltunk, ahol 12 esetben alakult ki CIN (RR: 17,2; CI<sub>95</sub>: 6,9-43,2) és 11 esetben CIN2 (RR: 39,7; CI<sub>95</sub>: 10,9-144,8). A HPV45/52/56 csoportba 11 beteget soroltunk, ahol 4-4 esetben alakult ki CIN (RR: 17,8; CI<sub>95</sub>: 5,3-60,5), illetve CIN2 (RR: 44,4; CI<sub>95</sub>: 9,8-201,0). A HPV csoportok közül a HPV16/18 csoportnak körülbelül háromszor magasabb onkológiai kockázata volt, mint a másik két csoportnak (*I. közlemény 3.*

*táblázat*). Kilenc esetben azonosítottunk HPV53, 66 és 72 típust, melyek kereszt-hibridizálhatnak a Hybrid Capture Tube teszt magas kockázatú próbakoktéljával (Kónya et al., 2000). A súlyos fokú CIN kialakulására a „keresztreagáló típusokkal” való fertőzés után 1,38-5,38-szor kevesebb volt az esély, mint a jól ismert magas kockázatú típusokkal való fertőzés után (*I. közlemény 3. táblázat*). A vírusterhelés mértékét a Hybrid Capture teszttel kapott hibridizációs szignál (RLU/PC) jelerőséggel jellemeztük (*I. közlemény 2. táblázat*). A HPV pozitív betegekben az RLU/PC érték 1,0 és 262,5 közé esett (median: 10,5). A vírusterhelés nem volt összefüggésben sem a citológiai atípiával ( $p=0,87$ ), sem a 35 év feletti korrall ( $p=0,77$ ), sem a különböző magas kockázatú HPV csoportokkal ( $p=0,70$ ). A súlyos fokú CIN kialakulására sem a magas ( $>100$  RLU/PC; RR: 0,86; CI<sub>95</sub>: 0,33-2,23), sem a közepes (10-100 RLU/PC; RR: 1,54; CI<sub>95</sub>: 0,95-2,51) vírusterhelés nem jelentett fokozott kockázatot az alacsony vírusterheléshez képest (1-10 RLU/PC). Mindamellet, mind a nyolc HPV pozitív CIN1 lézióban 10 alatt voltak az RLU/PC értékek.

#### **Az IL-10 nt-1082 polimorfizmus vizsgálata (*II. közlemény*)**

A második tanulmányban az nt-1082 allél-specifikus PCR módszert alkalmazva, az IL-10 promóter specifikus szekvenciákat 125 magas kockázatú HPV pozitív és 128 HPV negatív cervikális elváltozásból származó mintából mutattuk ki. A követés kezdetén a magas kockázatú HPV pozitív cervikális elváltozással rendelkező betegek kora 18 és 56 év (median: 31) közé esett. 97 (78%) betegnek volt P3 citológiai atípiája. A magas kockázatú HPV fertőzés pontos típusát 120 betegben tudtuk meghatározni. A magas kockázatú HPV pozitív betegek között a leggyakoribb HPV típus a HPV16 volt, 63 esetben (50,4%). Más jelentős mértékben előforduló HPV típusok a következők voltak: HPV33 (12,6%), HPV31 (10%), HPV18 (6%). A HPV35, 45, 52, 53, 56, 58, 66, 72 és MM4 típusok ritkábban fordultak elő. 5 nem tipizált mintában a HPV16-tól eltérő HPV típus volt. Többszörös HPV típusokkal történő fertőzést (16/31, 16/33, 16/52, 16/53, 18/58, 31/52, 31/56, 33/54, 33/66, 45/6, 52/56, 56/55, 58/6) 15 esetben találtunk (12%). A HPV negatív cervikális elváltozással rendelkező betegek kora 19 és 61 év közé esett a követés kezdetén (median: 35) és 83 betegnek (65%) volt bizonytalan citológiai atípiája.

### *Az IL-10 polimorfizmus, a HPV fertőzés, valamint a nőgyógyászati státusz összefüggése*

Az IL-10 gén promóter régiójában az nt-1082 polimorfizmusának vizsgálata során a genotípusok megoszlása a kontroll csoportban a következő volt: AA: 25%, AG: 51%, GG: 24%), ami megfelelt a Hardy-Weinberg egyensúlynak ( $p=0,95$ ). Az A és G allélok relatív gyakorisága 0,51 és 0,49 (*II. közlemény 1. táblázat*). Hasonló eredményeket kaptunk (AA: 23%, AG: 56%, GG: 23%), amikor az IL-10 polimorfizmust egy korábbi tanulmányból származó (Veress et al., 1996) 44 egészséges terhes nő cervikális DNS mintájában vizsgáltuk. Az allél-specifikus PCR analízis alkalmazásával megállapítottuk, hogy a genotípus megoszlása eltérő volt a betegcsoportban ( $p=0,05$ ): AA genotípust 88 esetben (35%) találtunk, AG genotípust 123 esetben (49%) és GG genotípust 42 esetben (16%). Azonban a változás nem egyformán érintette a HPV pozitív és negatív betegeket. A HPV pozitívokban az AA (28%), AG (52%) és GG (20%) genotípusok megoszlása nem különbözött jelentősen a kontroll csoporttól ( $p=0,70$ ). Mivel a magas kockázatú HPV típusok között a HPV16-nak a legmagasabb az elterjedtsége világszerte (Bosch et al., 1995) és a legszorosabb a kapcsolata a méhnyakrákkal (Munoz et al., 2003), külön vizsgáltuk az nt-1082 genotípusok eloszlását a HPV16-os típusal fertőzött betegeken, ami azonban ebben a csoportban sem különbözött a kontroll csoporttól ( $p=0,61$ ). Másrészt, az nt-1082 allélok előfordulási aránya eltérő volt a HPV negatív cervikális elváltozással rendelkező betegek között (A: 0,66; G: 0,34). A genotípusok eloszlása a normál citológiájú HPV-negatív betegek között a következő volt: AA: 40%, AG: 42%, GG: 18%, míg a P3-as citológiai eredménnyel rendelkező HPV-negatív betegek között: AA: 42%, AG: 47%, GG: 11%. Szignifikáns különbséget ( $p=0,006$ ) az utóbbi csoportban észleltünk (*II. közlemény 1. táblázat*).

Figyelembe véve, hogy a legtöbb nem-kaukázusi populációban az A allél sokkal nagyobb gyakorisággal fordul elő, mint a G allél, referenciaként az AA genotípust vettük. Az esélyhányadossal ill. az ahhoz tartozó konfidencia intervallummal azt fejeztük ki, hogy az egyes genotípusoknak eltérő-e az esélye a különböző nőgyógyászati elváltozások kialakulására. A GG genotípus esélye HPV negatív citológiai atípiára (P3) szignifikánsan kisebb volt (OR: 0,27; CI<sub>95</sub>: 0,11-0,63) az AA genotípusnál. Az AG genotípus is kisebb eséllyel fordult elő (OR: 0,56), de az utóbbi eltérés nem volt szignifikáns, csak tendenciaszerű (CI<sub>95</sub>: 0,31-1,02) (*II. közlemény 2. táblázat*). A betegek között az nt-1082 genotípusok megoszlása nem függött az életkortól. Az AA genotípushoz képest, az AG genotípus 1,18-szor (CI<sub>95</sub>: 0,71-1,97), a GG genotípus 0,78-szor (CI<sub>95</sub>: 0,41-1,50) nagyobb eséllyel fordult elő a 35 év feletti, mint a 35 év alatti betegeken.

### *Az IL-10 polimorfizmus és a cervikális elváltozások kimenetele*

A cervikális elváltozások kimenetelét követéses vizsgálat során értékeltük ki. 57 beteg esetében történt sebészi beavatkozás a követés első 6 hónapjában, akik közül 36 betegben diagnosztizáltak súlyos fokú *cervicalis intraepitheliális neoplasiát* és 3 esetben találtak CIN1-et. A hat hónapon túl követett betegek esetében 30 betegből sebészileg eltávolított biopszia közül 17 esetben találtak súlyos fokú CIN-t és 4 esetben CIN1 léziót. Összesen 53 súlyos fokú CIN esetet azonosítottunk, amelyet 50 betegben magas kockázatú HPV pozitivitás és citológiai atípiát előzött meg. Meghatároztuk a súlyos fokú CIN relatív kockázatát (RR) (*II. közlemény 3. táblázat*). Mint várható volt, ebben a tanulmányban is a magas kockázatú HPV fertőzés (RR: 104,6; CI<sub>95</sub>: 14,2-769,9) és a citológiai atípiát (RR: 9,6; CI<sub>95</sub>: 2,3-39,6) független kockázati tényezők voltak a súlyos fokú CIN kialakulására. Ugyan a súlyos fokú CIN kialakulásának abszolút kockázata némileg magasabb volt az AG heterozigótákban 0,24 (CI<sub>95</sub>: 0,17-0,33), mint a másik két genotípusban AA: 0,17 (CI<sub>95</sub>: 0,10-0,26), GG: 0,19 (CI<sub>95</sub>: 0,09-0,34), de ez nem tekinthető valódi biológiai eltérésnek. A relatív kockázat szintén nem volt jelentősen különböző az IL-10 nt-1082 genotípusok között, AA: 1,0, AG: 1,11(CI<sub>95</sub>: 0,59-2,08), GG: 0,62 (CI<sub>95</sub>: 0,25-1,05), utalva arra, hogy ez a polimorfizmus nem befolyásolja a súlyos fokú CIN kifejlődését.

## MEGBESZÉLÉS

Tanulmányunk első részében a rutin nőgyógyászati szűrésben a másodlagos szűrési módszerként alkalmazott HPV teszt részeként elvégzett genotipizálás kiértékelése állt a középpontban. Mivel az elsődleges szűrés mind a citológiát, mind a kolposzkópiát alkalmazza Magyarországon, onkológiai jelentőségű citológiai elváltozással nem járó eseteket is nyomonkövettünk. Mint vártuk, mind a magas kockázatú HPV fertőzés, mind a citológiai atípiá fő rizikó faktor volt a CIN vagy annál súlyosabb szövettani elváltozás kialakulására. Az idősebb kor (>35 év) szintén független rizikófaktornak bizonyult. Következésképpen, a legtöbb - de nem az összes - súlyos fokú CIN esetet a magas kockázatú HPV pozitív citológiai atípiában mutattuk ki. A citológia és a HPV teszt kombinálásán alapuló módszer nagy fokú érzékenységének következtében minden súlyos fokú CIN esetet meg lehetett jósolni vagy a citológiai atípiá vagy a magas kockázatú HPV fertőzés megléte alapján. A magas kockázatú HPV fertőzés kimutatásán túl a többszörös fertőzések, a genotípusok és a vírusterhelés mértékének hatását is megvizsgáltuk. A genotipizálással meghatározott többszörös fertőzések aránya hasonló volt a korábbi közép-európai tanulmányokhoz (Tachezy et al., 1999). A többszörös HPV fertőzések nem jártak magasabb onkológiai kockázattal, mint az egyszeres fertőzések. Sőt, a CIN kialakulásának relatív kockázata az összetett fertőzések után bár nem szignifikánsan, de alacsonyabb volt, mint az egyszeres fertőzések után. Hasonló a többszörös és egyszeres HPV fertőzések kockázati viszonya az invazív méhnyakrák tekintetében egy széles körű, teljes populációt vizsgáló costa ricai tanulmány szerint is (Herrero et al., 2000). A tanulmányunkban leggyakrabban előforduló magas kockázatú HPV típusok, mint a HPV16, 33 és 31 előfordulása a citológiai atípiás esetekben hasonló volt, mint az Európából jelentett invazív méhnyakrákos esetekben (Bosch et al., 1995). A HPV18 előfordulása azonban alacsonyabb volt a citológiai atípiában, mint az invazív carcinomában, mások eredményeihez hasonlóan (Kalantari et al., 1997; Nindl et al., 1999). A HPV18 fertőzés viszonylag sokáig nem okoz citológiai atípiát, emiatt a citológiai szűrés önmagában nem tökéletes a HPV18 által indukált onkogén folyamatok időbeni felismerésében (Woodman et al., 2003). Tanulmányunkban is a két normál citológia után kialakuló súlyos fokú CIN lézió egyike HPV18 pozitív volt. A másik esetben egy HPV16 és 52 típus által okozott kettős fertőzést mutattunk ki.

A kevésbé közönséges típusok alacsony száma miatt a magas kockázatú HPV típusokat a szakirodalomban jól ismert klinikai epidemiológiai közlemények adatai szerint csoportosítottuk (Lőrincz et al., 1992; Munoz, 2000). Saját adataink feldolgozása közben

jelent meg Munoz és munkatársai (2003) ide vonatkozó multicentrikus teljes populáción alapuló epidemiológiai felmérése. Az utóbbi tanulmányban leírt esélyhányados értékek alsó konfidencia limitjei következetesen hasonlítottak a klinikai-epidemiológiai tanulmányokban leírtakhoz. A fenti szakirodalommal megegyezően, körülbelül háromszoros különbséget találtunk a HPV16-os és 18-as csoport és a kevésbé gyakori magas kockázatú HPV típusok csoportjának onkogenitása között. A HPV45, 52, 56 típusokkal fertőzött csoportban azonban nem találtunk nagyobb esélyt a CIN kialakulására, mint a többi fennmaradó típusnál. Szintén megvizsgáltuk a Hybrid Capture magas kockázatú próbákkal keresztreagáló típusok onkogenitását. Ezek egyikét, a HPV53-at, először alacsony kockázatú típusként osztályozták (Meyer et al., 2001), de később a HPV53, HPV66 és HPV72 típusokat lehetséges onkogénként azonosították (Herrero et al., 2000; Munoz et al., 2003). A Hybrid Capture teszttel keresztreagáló típusok CIN kockázata valóban a magas (high-risk) és alacsony (low-risk) kockázatú csoportoké közé esett.

A vírusterhelés hatásának a cervikális elváltozások kimenetelére vonatkozó értékelésénél figyelembe kell venni, hogy a mi munkánkban a HPV tesztelés, mint egy másodlagos szűrési módszer szerepel a citológiai vagy kolposzkópiai eredmények alapján kiválasztott betegekben. Tehát eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a vírusterhelés adatait nem használhatjuk fel a cervikális neoplázia kockázatának megjósolására a cervikális atípiákban. Ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy primer HPV szűrési modellvizsgálatokban az érzékeny PCR detektálást alkalmazva sok olyan citológiailag negatív, alacsony vírusterheléssel járó esetet is észlelnek, amelyeket a Hybrid Capture rendszerrel nem észlelnének, és amelyekben nincs is kimutatható onkológiai kockázat növekedés (Gravitt et al., 2003a). Tehát ezekben az esetekben (van Duin et al., 2002; Gravitt et al., 2003a; Schlecht et al., 2003) a PCR alapú kópiaszám meghatározással gyakorlatilag ugyanazt a differenciálást végzik el, mint amit a Hybrid Capture is elvégez az RLU/PC=1 küszöbérték alatti és feletti értékek elkülönítésével. Ezt igazolja Lőrinc és munkatársainak (2002) a Kaiser Permanente tanulmányban végzett megfigyelése, mely szerint a magasabb vírusterheléssel járó megnövekedett *in situ carcinoma* kockázat nem mutatható ki, ha a vírusterhelést jellemző értékeket a citológiai eredményekre standardizálják.

A második tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy az IL-10 promóter nt-1082 polimorfizmus befolyásolhatja-e a cervikális carcinogenesis korai fázisát. Az nt-1082 polimorfizmust együtt vizsgáltuk a cervikális neoplázia fő rizikófaktorával, a HPV fertőzéssel.

Nem találtunk összefüggést az IL-10 nt-1082 polimorfizmus és a HPV-vel kapcsolatos cervikális elváltozások között, melyből arra következtethetünk, hogy ezen polimorfizmus nem

befolyásolja magát a HPV fertőzést. Az 1082-es nukleotidban eltérő genotípusú betegek esetében a premalignus cervikális léziók kialakulásának kockázata nem különbözött. Végeredményben, az IL-10 nt-1082 polimorfizmust nem találtuk kockázati tényezőnek a cervikális carcinogenezissel kapcsolatban. Ami az invazív méhnyakrákot illeti, korábban összefüggést találtak az AG genotípussal kapcsolatban (Stanczuk et al., 2001), amelyet azonban egy újabb keletű tanulmányban nem erősítettek meg (Govan et al., 2003).

Másrészt az nt-1082 G allél védő hatásának bizonyult a HPV-től független citológiai atípiával szemben, amely egyébként sem jár fokozott onkológiai kockázattal. Az nt-1082 G allélhoz kapcsolódó fokozott IL-10 termelőképeség védő hatású lehet a gyulladásos reakciók mellett kialakuló citológiai atípiákkal szemben.

Azon eredményünk, hogy az nt-1082 polimorfizmus nem befolyásolta a CIN kialakulásának kockázatát megfelel Gravitt és munkatársai (2003b) megfigyeléseinek, akik a cervixváladék IL-10 koncentrációját mérték. Az utóbbi tanulmányban megállapították, hogy az aktuális IL-10 koncentrációt számos kofaktor befolyásolja, mint a betegek életkora, életmódja stb. Ez azt is jelenti, hogy ha a cervixváladék IL-10 szintjét, mint kockázati tényezőt kívánják a jövőben vizsgálni, akkor azt megfelelő méretű - valószínűleg több ezres - beteg és kontroll csoportokban kell végezni, hogy az ismert kofaktorok zavaró hatását kiküszöbölhessék.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A humán papillomavírusok (HPV) magas kockázatú csoportjába tartozó (geno)típusok onkogenitásában megnyilvánuló különbségeket vizsgáltuk klinikai epidemiológiai tanulmányban. A súlyos fokú intraepithelialis neoplasiák (CIN2, CIN3, carcinoma in situ) kockázatát P3-as citológiai atípiá 16,2-szeresre (CI<sub>95</sub>: 3,9-66,6), a magas kockázatú HPV fertőzés 76,8-szorosra (CI<sub>95</sub>: 23,7-249,5), a 35 év feletti életkor pedig 1,99-szeresre (CI<sub>95</sub>: 1,26-3,16) növelte. Többszörös HPV fertőzést 12,7%-ban észleltünk, azonban a többszörös fertőzések onkológiai kockázata (RR: 49,5, CI<sub>95</sub>: 12,2-201,7) nem különbözött szignifikánsan az egyetlen típus által okozott fertőzésektől (RR: 85,6, CI<sub>95</sub>: 26,2-279,3). A tipizálással meghatározott genotípusokat három, az irodalmi adatok alapján egymástól eltérő csoportba osztottuk: 1.: HPV16/18, 2.: HPV45/52/56, 3.: HPV31/33/35/51/58. Az első csoport onkológiai kockázata 119,1-szeres (CI<sub>95</sub>: 36,2-390,9), a másodiké 44,4-szeres (CI<sub>95</sub>: 9,8-201,0), a harmadiké 39,7-szeres (CI<sub>95</sub>: 10,9-144,8) volt. A relatív kockázatok aránya az invazív carcinomában előforduló típusok között nem haladta meg a 3-szoros értéket, ami diagnosztikai és prognosztikai szempontból szükségtelenné teszi a további tipizálást a magas kockázatú csoporton belül.

A virális kópiaszámra jellemző hibridizációs szignál erősségét a minta DNS tartalmára standardizáltuk és megállapítottuk, hogy a Hybrid Capture HPV teszt detektálási küszöbértéke fölött a vírusterhelés mértékéből prognosztikai következtetéseket nem lehet levonni. A vírusterhelés egyébként független volt a többi vizsgált kockázati tényezőtől, így a HPV típustól is.

A magas kockázatú HPV típusok mellett a CIN kifejlődésének kockázatát gazdaszervezeti és mikrobiális kofaktorok fokozhatják. A gazdaszervezet részéről az IL-10 promóter -1082 helyzetű polimorf nukleotidjának (nt-1082 A/G) szerepét vizsgáltuk. A HPV fertőzés talaján kialakuló citológiai atípiában az nt-1082 genotípusok eloszlása nem különbözött a kontroll csoporttól (p=0,70) és nem befolyásolta a CIN kockázatát sem (AA: ref, AG: RR=1,11 [CI<sub>95</sub>: 0,59-2,08], GG: RR=0,62 [CI<sub>95</sub>: 0,25-1,50]). Ugyanakkor a HPV-negatív citológiai atípiára kisebb volt a hajlama a non-AA genotípusoknak, amelyeket magasabb IL-10 termelő képesség jellemez (esélyhányadosok AA: ref. AG=0,56 [CI<sub>95</sub>: 0,31-1,02], GG=0,27 [CI<sub>95</sub>: 0,11-0,63]). Adataink alapján az IL-10 promóter nt-1082 polimorfizmusa nem befolyásolja a cervikális carcinogenezist, de befolyásolhatja a HPV-től független hámdiszpláziák kialakulását.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Kónya József egyetemi docensnek, aki elméleti és gyakorlati munkámat egyaránt lelkiismeretesen irányította, segítette.

Köszönöm az intézet munkatársainak, Szarka Krisztinának, Veress Györgynek, Juhász Attilának, Kissné Deák Andreának, Kissné Geréby Viktóriának, Márton Józsefnek, Rácz Péternének, valamint Borbély Ágnes Anikó, Csoma Eszter, Nagy Etelka és Szládek Györgyi hallgatótársaimnak a segítséget és a támogatást.

Külön hálával tartozom Murvai Melinda hallgatótársamnak, hogy barátságával és tanácsaival segítségemre volt.

Köszönetet mondok a szakmai együttműködésért Dr. Hernádi Zoltánnak és Dr. Sápy Tamásnak (Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika).

Végül szeretnék köszönetet mondani Dr. Gergely Lajos professzor úrnak, amiért lehetővé tette számomra, hogy az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben végezzek kutatómunkát.

## IRODALOMJEGYZÉK

Baker CC, Howley PM.

Differential promoter utilization by the bovine papillomavirus in transformed cells and productively infected wart tissues.

EMBO J. 1987. Apr; 6 (4): 1027-35.

Benjamin D, Knobloch TJ, Dayton MA.

Human B-cell interleukin-10: B-cell lines derived from patients with acquired immunodeficiency syndrome and Burkitt's lymphoma constitutively secrete large quantities of interleukin-10.

Blood. 1992. Sep 1; 80 (5): 1289-98.

Bernard HU, Chan SY, Manos MM, Ong CK, Villa LL, Delius H, Peyton CL, Bauer HM, Wheeler CM.

Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms.

J Infect Dis. 1994. Nov; 170 (5): 1077-85.

Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV.

Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective.

International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group.

J Natl Cancer Inst. 1995. Jun 7; 87 (11): 796-802.

Bouvard V, Storey A, Pim D, Banks L.

Characterization of the human papillomavirus E2 protein: evidence of trans-activation and trans-repression in cervical keratinocytes.

EMBO J. 1994. Nov 15; 13 (22): 5451-9.

Boyer SN, Wazer DE, Band V.

E7 protein of human papilloma virus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteasome pathway.

Cancer Res. 1996. Oct 15; 56 (20): 4620-4.

Bream GL, Ohmstede CA, Phelps WC.

Characterization of human papillomavirus type 11 E1 and E2 proteins expressed in insect cells.

J Virol. 1993. May; 67 (5): 2655-63.

Breitburd F, Kirnbauer R, Hubbert NL, Nonnenmacher B, Trin-Dinh-Desmarquet C, Orth G, Schiller JT, Lowy DR.

Immunization with viruslike particles from cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) can protect against experimental CRPV infection.

J Virol. 1995. Jun; 69 (6): 3959-63.

Butz K, Hoppe-Seyler F.

Transcriptional control of human papillomavirus (HPV) oncogene expression: composition of

the HPV type 18 upstream regulatory region.  
J Virol. 1993. Nov; 67 (11): 6476-86.

Castle PE, Hildesheim A, Bowman FP, Strickler HD, Walker JL, Pustilnik T, Edwards RP, Crowley-Nowick PA.  
Cervical concentrations of interleukin-10 and interleukin-12 do not correlate with plasma levels.  
J Clin Immunol. 2002. Jan; 22 (1): 23-7.

Cho NH, An HJ, Jeong JK, Kang S, Kim JW, Kim YT, Park TK.  
Genotyping of 22 human papillomavirus types by DNA chip in Korean women: comparison with cytologic diagnosis.  
Am J Obstet Gynecol. 2003. Jan; 188 (1): 56-62.

Chong T, Apt D, Gloss B, Isa M, Bernard HU.  
The enhancer of human papillomavirus type 16: binding sites for the ubiquitous transcription factors oct-1, NFA, TEF-2, NF1, and AP-1 participate in epithelial cell-specific transcription.  
J Virol. 1991. Nov; 65 (11): 5933-43.

Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P.  
Hybrid Capture II-based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518 women.  
Br J Cancer. 1999. Jul; 80 (9): 1306-11.

Clerici M, Merola M, Ferrario E, Trabattoni D, Villa ML, Stefanon B, Venzon DJ, Shearer GM, De Palo G, Clerici E.  
Cytokine production patterns in cervical intraepithelial neoplasia: association with human papillomavirus infection.  
J Natl Cancer Inst. 1997. Feb 5; 89 (3): 245-50.

Coleman N, Birley HD, Renton AM, Hanna NF, Ryaik BK, Byrne M, Taylor-Robinson D, Stanley MA.  
Immunological events in regressing genital warts.  
Am J Clin Pathol. 1994. Dec; 102 (6): 768-74.

Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RJ.  
Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance.  
Am J Obstet Gynecol. 1995. Mar; 172 (3): 946-54.

Crawley E, Kay R, Sillibourne J, Patel P, Hutchinson I, Woo P.  
Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis.  
Arthritis Rheum. 1999. Jun; 42 (6): 1101-8.

Crum CP, Barber S, Symbula M, Snyder K, Saleh AM, Roche JK.  
Coexpression of the human papillomavirus type 16 E4 and L1 open reading frames in early

cervical neoplasia.

Virology. 1990. Sep; 178 (1): 238-46.

Cumberbatch M, Kimber I.

Dermal tumour necrosis factor-alpha induces dendritic cell migration to draining lymph nodes, and possibly provides one stimulus for Langerhans' cell migration.

Immunology. 1992. Feb; 75 (2): 257-63.

Cuzick J, Sasieni P, Davies P, Adams J, Normand C, Frater A, van Ballegooijen M, van den Akker-van Marle E.

A systematic review of the role of human papilloma virus (HPV) testing within a cervical screening programme: summary and conclusions.

Br J Cancer. 2000. Sep; 83 (5): 561-5. Review.

de Jong BA, Westendorp RG, Eskdale J, Uitdehaag BM, Huizinga TW.

Frequency of functional interleukin-10 promoter polymorphism is different between relapse-onset and primary progressive multiple sclerosis.

Hum Immunol. 2002. Apr; 63 (4): 281-5.

de Villiers EM.

Papillomavirus and HPV typing.

Clin Dermatol. 1997. Mar-Apr; 15 (2): 199-206.

de Waal Malefyt R, Haanen J, Spits H, Roncarolo MG, te Velde A, Figdor C, Johnson K, Kastelein R, Yssel H, de Vries JE.

Interleukin 10 (IL-10) and viral IL-10 strongly reduce antigen-specific human T cell proliferation by diminishing the antigen-presenting capacity of monocytes via downregulation of class II major histocompatibility complex expression.

J Exp Med. 1991. Oct 1; 174 (4): 915-24.

Delius H, Hofmann B.

Primer-directed sequencing of human papillomavirus types.

Curr Top Microbiol Immunol. 1994.; 186: 13-31.

Doorbar J, Ely S, Sterling J, McLean C, Crawford L.

Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network.

Nature. 1991. Aug 29; 352 (6338): 824-7.

Ellis JR, Keating PJ, Baird J, Hounsell EF, Renouf DV, Rowe M, Hopkins D, Duggan-Keen MF, Bartholomew JS, Young LS, et al.

The association of an HPV16 oncogene variant with HLA-B7 has implications for vaccine design in cervical cancer.

Nat Med. 1995. May; 1 (5): 464-70.

El-Sherif AM, Seth R, Tighe PJ, Jenkins D.

Quantitative analysis of IL-10 and IFN-gamma mRNA levels in normal cervix and human papillomavirus type 16 associated cervical precancer.

J Pathol. 2001. Sep; 195 (2): 179-85.

- Endes Pongrác: Pathológia, Medicina könyvkiadó, Budapest, 1983., 2. kötet, 736.o.
- Eskdale J, Kube D, Tesch H, Gallagher G.  
Mapping of the human IL10 gene and further characterization of the 5' flanking sequence.  
Immunogenetics. 1997.; 46 (2): 120-8.
- Evander M, Edlund K, Gustafsson A, Jonsson M, Karlsson R, Rylander E, Wadell G.  
Human papillomavirus infection is transient in young women: a population-based cohort study.  
J Infect Dis. 1995. Apr; 171 (4): 1026-30.
- Farkas A, Kemeny L, Szony BJ, Bata-Csorgo Z, Pivarsci A, Kiss M, Szell M, Koreck A, Dobozy A.  
Dithranol upregulates IL-10 receptors on the cultured human keratinocyte cell line HaCaT.  
Inflamm Res. 2001. Jan; 50 (1): 44-9.
- Fields: Virology, Editors-in-Chief: Knipe DM., Howley PM., Lippincott Williams & Wilkins, USA, 4<sup>th</sup> edition, Volume 2, 2001., page: 2233.
- Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR.  
Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones.  
J Exp Med. 1989. Dec 1; 170 (6): 2081-95.
- Franco EL, Rohan TE, Villa LL.  
Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer.  
J Natl Cancer Inst. 1999. Mar 17; 91 (6): 506-11.
- Giannini SL, Al-Saleh W, Piron H, Jacobs N, Doyen J, Boniver J, Delvenne P.  
Cytokine expression in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix: implications for the generation of local immunosuppression.  
Clin Exp Immunol. 1998. Aug; 113 (2): 183-9.
- Giri I, Yaniv M.  
Study of the E2 gene product of the cottontail rabbit papillomavirus reveals a common mechanism of transactivation among papillomaviruses.  
J Virol. 1988. May; 62 (5): 1573-81.
- Govan VA, Carrara HR, Sachs JA, Hoffman M, Stanczuk GA, Williamson AL.  
Ethnic differences in allelic distribution of IFN-g in South African women but no link with cervical cancer.  
J Carcinog. 2003. May 16; 2 (1): 3.
- Gravitt PE, Burk RD, Lorincz A, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti MC, Rodriguez AC, Helzlsouer KJ, Schiffman M.  
A comparison between real-time polymerase chain reaction and hybrid capture 2 for human papillomavirus DNA quantitation.  
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2003 (a). Jun; 12 (6): 477-84.

Gravitt PE, Hildesheim A, Herrero R, Schiffman M, Sherman ME, Bratti MC, Rodriguez AC, Morera LA, Cardenas F, Bowman FP, Shah KV, Crowley-Nowick PA.  
Correlates of IL-10 and IL-12 concentrations in cervical secretions.  
J Clin Immunol. 2003 (b). May; 23 (3): 175-83.

Grossman RM, Krueger J, Yourish D, Granelli-Piperno A, Murphy DP, May LT, Kupper TS, Sehgal PB, Gottlieb AB.  
Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 1989. Aug; 86 (16): 6367-71.

Groux H, Bigler M, de Vries JE, Roncarolo MG.  
Interleukin-10 induces a long-term antigen-specific anergic state in human CD4+ T cells.  
J Exp Med. 1996. Jul 1; 184 (1): 19-29.

Groux H, Bigler M, de Vries JE, Roncarolo MG.  
Inhibitory and stimulatory effects of IL-10 on human CD8+ T cells.  
J Immunol. 1998. Apr 1; 160 (7): 3188-93.

Hawley-Nelson P, Vousden KH, Hubbert NL, Lowy DR, Schiller JT.  
HPV16 E6 and E7 proteins cooperate to immortalize human foreskin keratinocytes.  
EMBO J. 1989. Dec 1; 8 (12): 3905-10.

Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg MD, Alfaro M, Burk RD, Wacholder S, Plummer M, Schiffman M.  
Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica.  
J Natl Cancer Inst. 2000. Mar 15; 92 (6): 464-74.

Heufler C, Koch F, Schuler G.  
Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and interleukin 1 mediate the maturation of murine epidermal Langerhans cells into potent immunostimulatory dendritic cells.  
J Exp Med. 1988. Feb 1; 167 (2): 700-5.

Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, Scott DR, Rush BB, Lawler P, Sherman ME, et al.  
Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women.  
J Infect Dis. 1994. Feb; 169 (2): 235-40.

Hildesheim A, Schiffman M, Bromley C, Wacholder S, Herrero R, Rodriguez A, Bratti MC, Sherman ME, Scarpidis U, Lin QQ, Terai M, Bromley RL, Buetow K, Apple RJ, Burk RD.  
Human papillomavirus type 16 variants and risk of cervical cancer.  
J Natl Cancer Inst. 2001. Feb 21; 93 (4): 315-8.

Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Lewis R, Romney S.  
Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia.  
J Natl Cancer Inst. 1995. Sep 20; 87 (18): 1365-71.

Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM.

A cellular protein mediates association of p53 with the E6 oncoprotein of human papillomavirus types 16 or 18.

EMBO J. 1991. Dec; 10 (13): 4129-35.

Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM.

Localization of the E6-AP regions that direct human papillomavirus E6 binding, association with p53, and ubiquitination of associated proteins.

Mol Cell Biol. 1993. Aug; 13 (8): 4918-27.

Jacobs N, Giannini SL, Doyen J, Baptista A, Moutschen M, Boniver J, Delvenne P.

Inverse modulation of IL-10 and IL-12 in the blood of women with preneoplastic lesions of the uterine cervix.

Clin Exp Immunol. 1998. Jan; 111 (1): 219-24.

Kalantari M, Karlsen F, Johansson B, Sigurjonsson T, Warleby B, Hagmar B.

Human papillomavirus findings in relation to cervical intraepithelial neoplasia grade: a study on 476 Stockholm women, using PCR for detection and typing of HPV.

Hum Pathol. 1997. Aug; 28 (8): 899-904.

Kawamura T, Furue M.

Comparative analysis of B7-1 and B7-2 expression in Langerhans cells: differential regulation by T helper type 1 and T helper type 2 cytokines.

Eur J Immunol. 1995. Jul; 25 (7): 1913-7.

Keating PJ, Cromme FV, Duggan-Keen M, Snijders PJ, Walboomers JM, Hunter RD, Dyer PA, Stern PL.

Frequency of down-regulation of individual HLA-A and -B alleles in cervical carcinomas in relation to TAP-1 expression.

Br J Cancer. 1995. Aug; 72 (2): 405-11.

Kjellberg L, Wiklund F, Sjoberg I, Wadell G, Angstrom T, Dillner J, Mahlck CG.

A population-based study of human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing for predicting cervical intraepithelial neoplasia.

Am J Obstet Gynecol. 1998. Dec; 179 (6 Pt 1): 1497-502.

Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, Angstrom T, Dillner J.

Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection.

Br J Cancer. 2000. Apr; 82 (7): 1332-8.

Kondo S.

The roles of keratinocyte-derived cytokines in the epidermis and their possible responses to UVA-irradiation.

J Invest Dermatol Symp Proc. 1999. Sep; 4 (2): 177-83. Review.

Konya J, Veress G, Hernadi Z, Soos G, Czegledy J, Gergely L.

Correlation of human papillomavirus 16 and 18 with prognostic factors in invasive cervical

neoplasias.

J Med Virol. 1995. May; 46 (1): 1-6.

Konya J, Eklund C, af Geijerstam V, Yuan F, Stuber G, Dillner J.

Identification of a cytotoxic T-lymphocyte epitope in the human papillomavirus type 16 E2 protein.

J Gen Virol. 1997. Oct; 78 (Pt 10): 2615-20.

Konya J, Veress G, Juhasz A, Szarka K, Sapy T, Hernadi Z, Gergely L.

Additional human papillomavirus types detected by the hybrid capture tube test among samples from women with cytological and colposcopic atypia.

J Clin Microbiol. 2000. Jan; 38 (1): 408-11.

Konya J, Dillner J.

Immunity to oncogenic human papillomaviruses.

Adv Cancer Res. 2001.; 82: 205-38. Review.

Koskela P, Anttila T, Bjorge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M, Hakulinen T, Jellum E, Lehtinen M, Lenner P, Luostarinen T, Pukkala E, Saikku P, Thoresen S, Youngman L, Paavonen J.

Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer.

Int J Cancer. 2000. Jan 1; 85 (1): 35-9.

Lampé László: Szülészet nőgyógyászat I., Medicina könyvkiadó, Budapest, 1981., 147-149.

Levi F, Lucchini F, Negri E, Franceschi S, la Vecchia C.

Cervical cancer mortality in young women in Europe: patterns and trends.

Eur J Cancer. 2000. Nov; 36 (17): 2266-71.

Liu JS, Kuo SR, Broker TR, Chow LT.

The functions of human papillomavirus type 11 E1, E2, and E2C proteins in cell-free DNA replication.

J Biol Chem. 1995. Nov 10; 270 (45): 27283-91.

Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ.

Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types.

Obstet Gynecol. 1992. Mar; 79 (3): 328-37.

Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, Scott DR, Glass AG, Wacholder S, Rush BB, Gravitt PE, Schussler JE, Schiffman M.

Viral load of human papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer.

Lancet. 2002. Jul 20; 360 (9328): 228-9.

Malejczyk J, Malejczyk M, Urbanski A, Kock A, Jablonska S, Orth G, Luger TA.

Constitutive release of IL6 by human papillomavirus type 16 (HPV16)-harboring keratinocytes: a mechanism augmenting the NK-cell-mediated lysis of HPV-bearing neoplastic cells.

Cell Immunol. 1991. Aug; 136 (1): 155-64.

Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, Shieh-Ngai J, Kurman RJ, Ransley JE, Fetterman BJ, Hartinger JS, McIntosh KM, Pawlick GF, Hiatt RA.

Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results.

JAMA. 1999. May 5; 281 (17): 1605-10.

McBride AA, Byrne JC, Howley PM.

E2 polypeptides encoded by bovine papillomavirus type 1 form dimers through the common carboxyl-terminal domain: transactivation is mediated by the conserved amino-terminal domain.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1989. Jan; 86 (2): 510-4.

Meyer T, Arndt R, Beckmann ER, Padberg B, Christophers E, Stockfleth E.

Distribution of HPV 53, HPV 73 and CP8304 in genital epithelial lesions with different grades of dysplasia.

Int J Gynecol Cancer. 2001. May-Jun; 11 (3): 198-204.

Michel G, Kemeny L, Peter RU, Beetz A, Ried C, Arenberger P, Ruzicka T.

Interleukin-8 receptor-mediated chemotaxis of normal human epidermal cells.

FEBS Lett. 1992. Jul 6; 305 (3): 241-3.

Michel G, Mirmohammadsadegh A, Olasz E, Jarzebska-Deussen B, Muschen A, Kemeny L, Abts HF, Ruzicka T.

Demonstration and functional analysis of IL-10 receptors in human epidermal cells: decreased expression in psoriatic skin, down-modulation by IL-8, and up-regulation by an antipsoriatic glucocorticosteroid in normal cultured keratinocytes.

J Immunol. 1997. Dec 15; 159 (12): 6291-7.

Mohr IJ, Clark R, Sun S, Androphy EJ, MacPherson P, Botchan MR.

Targeting the E1 replication protein to the papillomavirus origin of replication by complex formation with the E2 transactivator.

Science. 1990. Dec 21; 250 (4988): 1694-9.

Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR.

Interleukin-10.

Annu Rev Immunol. 1993.; 11: 165-90. Review.

Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A.

Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor.

Annu Rev Immunol. 2001.; 19: 683-765. Review.

Morelli AE, Sananes C, Di Paola G, Paredes A, Fainboim L.

Relationship between types of human papillomavirus and Langerhans' cells in cervical condyloma and intraepithelial neoplasia.

Am J Clin Pathol. 1993. Feb; 99 (2): 200-6.

Munger K, Phelps WC, Bubb V, Howley PM, Schlegel R.

The E6 and E7 genes of the human papillomavirus type 16 together are necessary and sufficient for transformation of primary human keratinocytes.

J Virol. 1989. Oct; 63 (10): 4417-21.

Munoz N.

Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence.  
J Clin Virol. 2000. Oct; 19 (1-2): 1-5. Review.

Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, Shah KV, Meijer CJ, Bosch FX; International Agency for Research on Cancer. Multicentric Cervical Cancer Study Group.

Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study.

Lancet. 2002. Mar 30; 359 (9312): 1093-101.

Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group.

Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.

N Engl J Med. 2003. Feb 6; 348 (6): 518-27.

Nakagawa M, Stites DP, Farhat S, Sisler JR, Moss B, Kong F, Moscicki AB, Palefsky JM. Cytotoxic T lymphocyte responses to E6 and E7 proteins of human papillomavirus type 16: relationship to cervical intraepithelial neoplasia.

J Infect Dis. 1997. Apr; 175 (4): 927-31.

Nindl I, Lotz B, Kuhne-Heid R, Endisch U, Schneider A.

Distribution of 14 high risk HPV types in cervical intraepithelial neoplasia detected by a non-radioactive general primer PCR mediated enzyme immunoassay.

J Clin Pathol. 1999. Jan; 52 (1): 17-22.

Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EK, van der Linden HC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meijer CJ.

Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study.

Lancet. 1999. Jul 3; 354 (9172): 20-5.

O'Connor M, Bernard HU.

Oct-1 activates the epithelial-specific enhancer of human papillomavirus type 16 via a synergistic interaction with NFI at a conserved composite regulatory element.

Virology. 1995. Feb 20; 207 (1): 77-88.

Papp Zoltán: A szülészeti-nőgyógyászati tankönyve, Semmelweis Kiadó, Budapest, 2002., 730-731.

Park P, Copeland W, Yang L, Wang T, Botchan MR, Mohr IJ.

The cellular DNA polymerase alpha-primase is required for papillomavirus DNA replication and associates with the viral E1 helicase.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1994. Aug 30; 91 (18): 8700-4.

Perrey C, Pravica V, Sinnott PJ, Hutchinson IV.

Genotyping for polymorphisms in interferon-gamma, interleukin-10, transforming growth factor-beta 1 and tumour necrosis factor-alpha genes: a technical report.

Transpl Immunol. 1998. Sep; 6 (3): 193-7.

Perrey C, Turner SJ, Pravica V, Howell WM, Hutchinson IV.  
ARMS-PCR methodologies to determine IL-10, TNF-alpha, TNF-beta and TGF-beta 1 gene polymorphisms.  
Transpl Immunol. 1999. Jun; 7 (2): 127-8.

Petry KU, Scheffel D, Bode U, Gabrysiak T, Kochel H, Kupsch E, Glaubitz M, Niesert S, Kuhnle H, Schedel I.  
Cellular immunodeficiency enhances the progression of human papillomavirus-associated cervical lesions.  
Int J Cancer. 1994. Jun 15; 57 (6): 836-40.

Rees LE, Wood NA, Gillespie KM, Lai KN, Gaston K, Mathieson PW.  
The interleukin-10-1082 G/A polymorphism: allele frequency in different populations and functional significance.  
Cell Mol Life Sci. 2002. Mar; 59 (3): 560-9.

Ressing ME, van Driel WJ, Celis E, Sette A, Brandt MP, Hartman M, Anholts JD, Schreuder GM, ter Harmsel WB, Fleuren GJ, Trimbos BJ, Kast WM, Melief CJ.  
Occasional memory cytotoxic T-cell responses of patients with human papillomavirus type 16-positive cervical lesions against a human leukocyte antigen-A \*0201-restricted E7-encoded epitope.  
Cancer Res. 1996. Feb 1; 56 (3): 582-8.

Ristow HJ.  
A major factor contributing to epidermal proliferation in inflammatory skin diseases appears to be interleukin 1 or a related protein.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 1987. Apr; 84 (7): 1940-4.

Roh JW, Kim MH, Seo SS, Kim SH, Kim JW, Park NH, Song YS, Park SY, Kang SB, Lee HP.  
Interleukin-10 promoter polymorphisms and cervical cancer risk in Korean women.  
Cancer Lett. 2002. Oct 8; 184 (1): 57-63.

Santin AD, Hermonat PL, Ravaggi A, Bellone S, Pecorelli S, Roman JJ, Parham GP, Cannon MJ.  
Interleukin-10 increases Th1 cytokine production and cytotoxic potential in human papillomavirus-specific CD8 (+) cytotoxic T lymphocytes.  
J Virol. 2000. May; 74 (10): 4729-37.

Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM.  
The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53.  
Cell. 1990. Dec 21; 63 (6): 1129-36.

Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM.  
The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53.  
Cell. 1993. Nov 5; 75 (3): 495-505.

Schiffman MH, Kiviat NB, Burk RD, Shah KV, Daniel RW, Lewis R, Kuypers J, Manos MM, Scott DR, Sherman ME, et al.

Accuracy and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture.

J Clin Microbiol. 1995. Mar; 33 (3): 545-50.

Schlecht NF, Trevisan A, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa LL, Franco EL. Viral load as a predictor of the risk of cervical intraepithelial neoplasia.

Int J Cancer. 2003. Feb 10; 103 (4): 519-24.

Sedman J, Stenlund A.

Co-operative interaction between the initiator E1 and the transcriptional activator E2 is required for replicator specific DNA replication of bovine papillomavirus in vivo and in vitro.

EMBO J. 1995. Dec 15; 14 (24): 6218-28.

Sedman SA, Barbosa MS, Vass WC, Hubbert NL, Haas JA, Lowy DR, Schiller JT.

The full-length E6 protein of human papillomavirus type 16 has transforming and trans-activating activities and cooperates with E7 to immortalize keratinocytes in culture.

J Virol. 1991. Sep; 65 (9): 4860-6.

Seo YS, Muller F, Lusky M, Hurwitz J.

Bovine papilloma virus (BPV)-encoded E1 protein contains multiple activities required for BPV DNA replication.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 (a). Jan 15; 90 (2): 702-6.

Seo YS, Muller F, Lusky M, Gibbs E, Kim HY, Phillips B, Hurwitz J.

Bovine papilloma virus (BPV)-encoded E2 protein enhances binding of E1 protein to the BPV replication origin.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 (b). Apr 1; 90 (7): 2865-9.

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N; Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop.

The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology.

JAMA. 2002. Apr 24; 287 (16): 2114-9. Review.

Stanczuk GA, Sibanda EN, Perrey C, Chirara M, Pravica V, Hutchinson IV, Tswana SA. Cancer of the uterine cervix may be significantly associated with a gene polymorphism coding for increased IL-10 production.

Int J Cancer. 2001. Dec 15; 94 (6): 792-4.

Storey A, Greenfield I, Banks L, Pim D, Crook T, Crawford L, Stanley M.

Lack of immortalizing activity of a human papillomavirus type 16 variant DNA with a mutation in the E2 gene isolated from normal human cervical keratinocytes.

Oncogene. 1992. Mar; 7 (3): 459-65.

Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, Breuer J, Leigh IM, Matlashewski G, Banks L.

Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer.

Nature. 1998. May 21; 393 (6682): 229-34.

Symington FW.

Lymphotoxin, tumor necrosis factor, and gamma interferon are cytostatic for normal human keratinocytes.

J Invest Dermatol. 1989. Jun; 92 (6): 798-805.

Szarka K, Veress G, Konya J, Gergely L.

Frequency of p53 codon 72 genotypes in human papillomavirus associated squamous intraepithelial lesions and cervical cancer.

Anticancer Res. 1999. May-Jun; 19 (3B): 2377-9.

Szarka K, Veress G, Juhasz A, Konya J, Sapy T, Soos G, Hernadi Z, Gergely L.

Integration status of virus DNA and p53 codon 72 polymorphism in human papillomavirus type 16 positive cervical cancers.

Anticancer Res. 2000. May-Jun; 20 (3B): 2161-7.

Szende Béla: Pathológia, Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 1999., 148. o., 153. o., 450-451.

Tachezy R, Hamsikova E, Hajek T, Mikyskova I, Smahel M, Van Ranst M, Kanka J, Havrankova A, Rob L, Guttner V, Slavik V, Anton M, Kratochvil B, Kotrsova L, Vonka V. Human papillomavirus genotype spectrum in Czech women: correlation of HPV DNA presence with antibodies against HPV-16, 18, and 33 virus-like particles.

J Med Virol. 1999. Aug; 58 (4): 378-86.

Tsukui T, Hildesheim A, Schiffman MH, Lucci J 3rd, Contois D, Lawler P, Rush BB, Lorincz AT, Corrigan A, Burk RD, Qu W, Marshall MA, Mann D, Carrington M, Clerici M, Shearer GM, Carbone DP, Scott DR, Houghten RA, Berzofsky JA.

Interleukin 2 production in vitro by peripheral lymphocytes in response to human papillomavirus-derived peptides: correlation with cervical pathology.

Cancer Res. 1996. Sep 1; 56 (17): 3967-74.

Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV.

An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter.

Eur J Immunogenet. 1997. Feb; 24 (1): 1-8.

van den Brule AJ, Pol R, Fransen-Daalmeijer N, Schouls LM, Meijer CJ, Snijders PJ.

GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes.

J Clin Microbiol. 2002. Mar; 40 (3): 779-87.

van Doorn LJ, Quint W, Kleter B, Molijn A, Colau B, Martin MT, Kravang-In, Torrez-Martinez N, Peyton CL, Wheeler CM.

Genotyping of human papillomavirus in liquid cytology cervical specimens by the PGM1 line blot assay and the SPF (10) line probe assay.

J Clin Microbiol. 2002. Mar; 40 (3): 979-83.

van Duin M, Snijders PJ, Schrijnemakers HF, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Nobbenhuis MA, van den Brule AJ, Verheijen RH, Helmerhorst TJ, Meijer CJ.

Human papillomavirus 16 load in normal and abnormal cervical scrapes: an indicator of CIN

II/III and viral clearance.

Int J Cancer. 2002. Apr 1;98 (4): 590-5.

Veress G, Konya J, Csiky-Meszaros T, Czegledy J, Gergely L.

Human papillomavirus DNA and anti-HPV secretory IgA antibodies in cytologically normal cervical specimens.

J Med Virol. 1994. Jun; 43 (2): 201-7.

Veress G, Csiky-Meszaros T, Konya J, Czegledy J, Gergely L.

Follow-up of human papillomavirus (HPV) DNA and local anti-HPV antibodies in cytologically normal pregnant women.

Med Microbiol Immunol (Berl). 1996. Nov; 185 (3): 139-44.

Veress G, Murvai M, Szarka K, Juhasz A, Konya J, Gergely L.

Transcriptional activity of human papillomavirus type 16 variants having deletions in the long control region.

Eur J Cancer. 2001. Oct; 37 (15): 1946-52.

Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N.

Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide.

J Pathol. 1999. Sep; 189 (1): 12-9.

Wallin KL, Wiklund F, Angstrom T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, Hallmans G, Dillner J.

Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer.

N Engl J Med. 1999. Nov 25; 341 (22): 1633-8.

Wang Z, Konya J, Avall-Lundkvist E, Sapp M, Dillner J, Dillner L.

Human papillomavirus antibody responses among patients with incident cervical carcinoma.

J Med Virol. 1997. Aug; 52 (4): 436-40.

Watanabe S, Kanda T, Yoshiike K.

Human papillomavirus type 16 transformation of primary human embryonic fibroblasts requires expression of open reading frames E6 and E7.

J Virol. 1989. Feb; 63 (2): 965-9.

Woodman CB, Collins S, Rollason TP, Winter H, Bailey A, Yates M, Young LS.

Human papillomavirus type 18 and rapidly progressing cervical intraepithelial neoplasia.

Lancet. 2003. Jan 4; 361 (9351): 40-3.

Wright TC, Kurman RJ, Ferenczy A,

Precancerous lesions of the cervix. In: Kurman RJ, ed. Blaustein's pathology of the female genital tract. New York: Springer-Verlag, 1994.: 229-277.

Yang L, Mohr I, Fouts E, Lim DA, Nohaile M, Botchan M.

The E1 protein of bovine papilloma virus 1 is an ATP-dependent DNA helicase.

Proc Natl Acad Sci U S A. 1993. Jun 1; 90 (11): 5086-90.

zur Hausen H.

Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types.

Curr Top Microbiol Immunol. 1994.; 186: 131-56. Review.

## KÖZLEMÉNYEK

### Az értekezésben felhasznált közlemények:

**Krisztina Szőke**<sup>1</sup>, Tamás Sáy<sup>2</sup>, Zoárd Krasznai<sup>2</sup>, Zoltán Hernádi<sup>2</sup>, Györgyi Szládek<sup>1</sup>, György Veress<sup>1</sup>, Joakim Dillner<sup>4</sup>, Lajos Gergely<sup>1,3</sup> and József Kónya<sup>1\*</sup>

Moderate variation of the oncogenic potential among high-risk human papillomavirus types in gynecologic patients with cervical abnormalities. *Journal of Medical Virology*

2003. Dec; 71 (4): 585-92. (IF: 2,629)

**Krisztina Szőke**<sup>1</sup> Anita Szalmás<sup>1</sup> Györgyi Szládek<sup>2</sup> György Veress<sup>1</sup> Lajos Gergely<sup>1,2</sup> Ferenc D. Tóth<sup>1</sup> and József Kónya<sup>1\*</sup>

Interleukin-10 promoter nt-1082A/G polymorphism and human papillomavirus infection in cytologic abnormalities of the uterine cervix. *Journal of Interferon & Cytokine Research* (in press) (IF: 1,885)

### Egyéb közlemények:

**Krisztina Szőke**, Györgyi Szládek, Krisztina Szarka, Attila Juhász, György Veress, Lajos Gergely, József Kónya

Human cytomegalovirus load in the peripheral blood determined by quantitative competitive polymerase chain reaction. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*

2001.; 48 (3-4): 313-21.

Györgyi Szládek, Attila Juhász, László Asztalos, **Krisztina Szőke**, Melinda Murvai, Krisztina Szarka, György Veress, Lajos Gergely, József Kónya

Persisting TT virus (TTV) genogroup 1 variants in renal transplant recipients. *Arch. Virol.*

2003. May; 148 (5): 841-51. (IF: 1,967)

## FONTOSABB ELŐADÁSOK, POSZTEREK

**Szőke K.**, Kónya J., Szarka K., Veress Gy., Juhász A., Gergely L.: Humán cytomegalovírus DNS mennyiségi meghatározása polimeráz láncreakcióval

First Joint Meeting of the Slovenian Society for Microbiology and the Hungarian Society for Microbiology, 2000. augusztus 24-26., Keszthely (poszter)

**Szóke K.**, Szládek Gy., Hernádi Z., Gergely L., Kónya J.: Humán papillomavírus (HPV) kimutatás cervicalis intraepithelialis neoplasia (CIN) műtéti eltávolítása után  
Magyar Mikrobiológiai Társaság Jubileumi Nagygyűlése, 2001. október 10-12., Balatonfüred (előadás)

Kónya J., **Szóke K.**, Szládek Gy., Hernádi Z., Gergely L.: A virológiai státusz epidemiológiai és diagnosztikai jelentősége onkogén humán papillomavírus (HPV) fertőzésben  
Magyar Mikrobiológiai Társaság Jubileumi Nagygyűlése, 2001. október 10-12., Balatonfüred (előadás)

**Szóke K.**, Szládek Gy., Gergely L., Kónya J.: Distribution of high-risk HPV types by grading of cytologic atypia and development of high grade CIN  
20th International Papillomavirus Conference, October 4-9., 2002., Paris (poszter)

Kónya J., Sáy T., **Szóke K.**, Szládek Gy., Hernádi Z., Gergely L.: Predictive value of human papilloma virus (HPV) testing for incident and recurrent cervical intraepithelial neoplasia (CIN)  
20th International Papillomavirus Conference, October 4-9., 2002., Paris (poszter)

**Szóke K.**, Szládek Gy., Gergely L., Kónya J.: Role of interleukine-10 (IL-10) promoter polymorphism in premalignant lesions of the uterine cervix  
14th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, October 9-11., 2003., Balatonfüred (poszter)