

EGYETEMI DOKTORI (Ph. D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A HUMÁN PAPILLOMAVÍRUS INFEKCIÓK
EPIDEMIOLÓGIÁJA ÉS PROGNOZTIKAI JELENTŐSÉGE**

Dr. Sály Tamás



Témavezető: Dr. Hernádi Zoltán

Debreceni Egyetem
Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika
Nőgyógyászati Onkológiai Tanszék
2007.

BEVEZETÉS

A méhnyakrák az egyik leggyakoribb nőgyógyászati daganat. A nőknél felfedezett malignomák 15%-a *cervix carcinoma*, amely az emlőrák után incidenciájában és mortalitásában a második leggyakoribb női malignus tumor.

Magyarországon a „hagyományos” méhnyakrákszűrés a *portio vaginalis cervicis uteri* kolposzkópos megtekintését és az onnan exfoliált sejtek mikroszkópos értékelését (citológiai vizsgálat) foglalja magába, a hazai nőgyógyászat kialakulása szempontjából meghatározó jelentőségű „német iskola” hagyományai szerint. Annak ellenére, hogy gyakorlatilag 100%-ban szűrhető malignomáról van szó, a megbízható szűrőmódszer birtokában, továbbá, hogy a rákmegelőző állapotok (CIN: *cervicalis intraepithelialis neoplasia*) kialakulásához, majd a malignus transzformációhoz legtöbbször egy évtized szükséges, még napjainkban is évente kb. 2600 új hazai méhnyakrákos esetet regisztrálunk. Világszerte a méhnyakrák incidenciája 500.000 új eset/év. További kedvezőtlen adat, hogy míg a '70-es években a betegségben szenvedők átlagéletkora 54 év volt, addig ez a kor a '90-es évek végére 10 évvel korábbra tolódott, és a 35 év alatti populációban megkétszereződött a morbiditás.

Az etiológiai tényezők szerepét tanulmányozva, a korábban ismert faktorok (korai életkorban elkezdett nemi élet, promiszkuitás, multiparitás, rossz szocio-ekonomiai helyzet, dohányzás, orális antikoncipiens szedés, immunszupprimált állapot, antioxidánsok hiánya) mellett új rizikófaktorok szerepére terelődött a kutatók figyelmé. Az ez irányban végzett megfigyelések irányították az érdeklődést a szexuálisan átvihető vírusok onkogén szerepére. Kezdetben a HSV-II (*Herpes simplex vírus, 2-es típus*), majd mind inkább a *humán papillomavírus (HPV)* került a kutatások fókuszába.

Mai ismereteink szerint a HPV fertőzés, valamint a fent említett etiológiai faktorok, mint kofaktorok együttesen felelősek a *cervix carcinoma* kialakulásáért.

1956-ban Koss és Durfee írta le a *koilocytosist*, mint a HPV-re patognomikus citológiai elváltozást, és 1977-ben Meisels és zur Hausen egyidőben vetette fel, hogy a méhnyakrák és rákmegelőző állapotainak kialakulása HPV infekció következménye lehet. Azóta számos közlés jelent meg a papillomavírusoknak a méhnyakrák kialakulását indukáló hatása és a vírusnak a betegség progressziójában játszott szerepe vonatkozásában.

A humán papillomavírusok elsősorban szexuális érintkezéssel terjednek. Becslések szerint a szexuálisan aktív nők 30-70%-a életük során HPV fertőzésen esik át.

A HPV-nek napjainkban több mint száz genotípusa ismert, amelyek közül mintegy harminc a női genitális régióban is kimutatható.

Kóroktani szempontból, azaz azt vizsgálva, hogy a vírusfertőzés jelenlétével párhuzamosan milyen valószínűséggel számíthatunk *cervix carcinoma* kialakulására, két csoportot különböztetünk meg: 1., *Alacsony kockázatú* (6-, 11-, 42-, 43-, 44-es) és 2., *Magas kockázatú* (16-, 18-, 31-, 33-, 35-, 39-, 45-, 51-, 52-, 56-, 58-, 59-, és 68-as) *HPV típusokat*. Az alacsony kockázatú HPV-k jellemzően *condyloma acuminatum*-ban fordulnak elő, a magas kockázatú HPV-k a méhnyakrákmegelőző állapotokban (CIN I, II, III, CIS) és még gyakrabban méhnyakrákban (ICC) mutathatók ki. Az utóbbiban a vizsgálóeljárás érzékenységtől bizonyos mértékben függően, de gyakorlatilag 100%-ban.

A HPV fertőzések prevalenciája a földrajzi hely és az életkor vonatkozásában változatos eloszlást mutat. Ugyanakkor meghatározóan fontos a HPV geográfiai, etnikai és kor szerinti megoszlásának ismerete az optimális és hatékony prevenció stratégiák kidolgozásához, akár szűrés, akár vakcináció céljából. A magyarországi HPV prevalenciáról még napjainkban is csak kevés tanulmányból tájékozódhatunk, viszont számos adat szerint a HPV okozta infekció, mint a leggyakoribb STD veendő számításba hazánkban is. Mivel a fertőzés gyakori, ugyanakkor a *cervix carcinoma* előfordulása relatíve ritkább, felvetődik annak a kérdése, hogy mikor indokolt pozitív HPV lelet esetén az ún. magas

kockázatú populációba sorolás, és mindez mennyiben emeli majd a szűrés hatékonyságát és a kiszűrt esetekben, mennyiben segíti a terápiás terv felállítását. Számos szerző szükségesnek és költség-hatékonynak tartja a HPV vizsgálatok beillesztését nemcsak a szekunder, de a primer szűrés gyakorlatába is.

Amennyiben indokolt a HPV tipizálás beépítése a szűrés gyakorlatába – amit egyre több adat támaszt alá-, annak mindenképpen meg kell felelnie a szűrő módszerekkel szemben támasztott kritériumoknak. Miután a klasszikus méhnyakrák szűrési módszerek kiegészítésre kerülnek a HPV meghatározás, majd -tipizálás révén (szekunder prevenció), reális lehetőség vetődik fel a másik prevenció alternatíva (primer prevenció), a vakcináció racionális tervezésére, a rendelkezésre álló epidemiológiai adatokra alapozva.

Nagyszámú tanulmány értékeli továbbá az igazolt és kezelt méhnyakrákban a HPV prognosztikai szerepét. Nincsenek ugyanakkor egyértelmű adatok a primer tumor HPV típusa és a nyirokcsomók HPV státusza, mint prognosztikai faktorok tekintetében.

CÉLKITŰZÉSEK

- Korábbi pozitív kolposzkópos és/vagy citológiai szűrési eredményű páciensek körében megállapítani az alacsony- és a magas kockázatú HPV prevalenciát.
- A különböző korcsoportokban milyen HPV előfordulási különbségek regisztrálhatók?
- A kor előrehaladtával milyen prevalencia változások észlelhetők?
- Tanulmányoztuk, hogy különböző korcsoportú pácienseknél észlelhetők-e eltérések a HPV clearance adatokban.

- Operábilis méhnyakrák miatt Wertheim-műtétre került betegek primer tumor és nyirokcsomó mintáiból HPV meghatározást végezve, arra kerestük a választ, hogy van-e prognosztikai jelentősége a szövettanilag negatív, de HPV-pozitív nyirokcsomóknak.

- A *Hybrid Capture* teszt (HCT) HPV típus-specifitását PCR-RFLP módszerrel értékelve, azt vizsgáltuk, hogy a HCT, mint HPV diagnosztikai módszer megfelel-e a szűrési módszerek kritériumrendszerének?

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Betegcsoportok

I. A Debreceni Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján 1997. január és 2002. december között 3480 betegnél (medián: 32.00 év, átlag: 34.00 év, SD: 10.56) a rutin kolposzkópos és citológiai *cervix carcinoma* szűrést HPV meghatározással egészítettük ki. Ezen pácienseknél a korábbi vizsgálatok során pozitív kolposzkópos leletet (Római klasszifikáció, 1990.: II-es csoport) és/vagy pozitív citológiai eredményt (The Bethesda System, 1991.: Atypical Squamous Cell of Unknown Significance, ASCUS; Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion, LGSIL; High Grade Squamous Intraepithelial Lesion, HGSIL, esetleg invazív méhnyakrák gyanúja) regisztráltunk.

Az onkocitológiai mintavétel után közvetlenül végeztük el a natív cervikális mintavételt a Digene Hybrid Capture® (HCT) mintavevő kittjével, a 3%-os ecetsav használatát igénylő kolposzkópia előtt. A minta gyűjtése – a gyártó ajánlása szerint – a cervix nyakcsatornájából, a *squamocolumnaris junctio* területéből és az *ectocervix* esetleges gyanús elváltozásából történt.

A vírus-tipizálások a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Mikrobiológiai Intézetének Vírus Laboratóriumában történtek.

II. A másik betegcsoportot a méhnyakrákos betegek kórlefolyásának követése során az a 1992. és 1993-ban *hysterectomy radicalis*-ra (Wertheim-műtétre) került 47 beteg képezte, akiknél a rutin hisztológiai értékelés (formalin fixáció és haematoxylin-eosin festés) mellett HPV típus meghatározás is történt a primer tumorból és a környéki nyirokcsomókból. A méhnyak tumorból és nyirokcsomókból származó biopsziák szárazjégben kerültek az Orvosi Mikrobiológiai Intézetbe, ahol annak Vírus Laborjában történtek a HPV meghatározások.

Az akkori szakmai ajánlásnak megfelelően a műtétet követően csonkbiztosító *intracavitalis* (400, 1700 és 1700 reu dózissal) és külső mezőből végzett telekobalt sugárkezelést (20x2 Gy) alkalmaztunk, standard feltételek mellett. A kombinált kezelést követően a betegeket 3 havonta rendszeres kontroll vizsgálatokra rendeltük vissza.

III. A harmadik betegcsoportban a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán korábban kolposzkópos és/vagy citológiai eltérés miatt szekunder szűrésen megjelent 570 betegnél a HCT mintavevő kittjével a *squamocolumnaris junctio*-ból exfoliált sejteket gyűjtöttünk. A mintákat -20 °C-on tároltuk. A vírus-meghatározások az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben történtek.

HPV genotipizálás

I. A 3480 beteget érintő tanulmányban használt *Digene Hybrid Capture® Tube Test* [HCT I] (Digene Diagnostics, Inc., Beltsville, MD USA) olyan HPV-DNS folyadék hibridizációs módszer, amely szignál amplifikációs, kemilumineszcens detektálási módszert használ fel. A HPV-DNS-t tartalmazó cervicalis minták hibridizálódnak a specifikus HPV-RNS-t tartalmazó koktéllal. Az így létrejött DNS-RNS hibridek egy olyan kémcső falához kötődnek, amely anti-DNS-RNS monoklonális ellenanyaggal van bevonva. Ezután a preparátumhoz specifikus alkalikus foszfatázt tartalmazó ellenanyagot, mint konjugátumot adunk. Ezen alkalikus foszfatáz enzim szubsztrátja jelamplifikációs kemilumineszcens mérésre alkalmas. A szubsztrát lehasításával keletkező fényemisszió relatív fényegységben (relative light unit, RLU) – 10 pg/ml HPV-16 DNS pozitív kontrollhoz viszonyítva (RLU/PC) – luminométerben mérhető. A fényemisszió mértéke a mintában lévő vagy hiányzó HPV-DNS-t jelzi. A „cut off” értéknél alacsonyabb érték a HPV-DNS hiányára, míg a „cut off” értékkel megegyező vagy magasabb fényegység a HPV-DNS jelenlétének intenzitására utal. Ezen módszerrel (HCT I) az anogenitális régió 14 HPV típusát lehet tipizálni. [A legújabb típus (HC

II) már 18 HPV típus kimutatására alkalmas.] A vizsgálatok során két kombináns RNS próba került alkalmazásra. Az „A” próbában az RNS az alacsony onkogenitású törzsek HPV 6/11/42/43/44 genomjával, míg a közepes és magas onkogenitású törzsek HPV 16/18/31/33/35/45/51/52/56 genomjával a „B” próba hibridizálódik.

Az összes tanulmányba került betegnél a „B” próbával elvégeztük a HR-HPV kimutatást, de az „A” próbával történő LR-HPV tesztet csak 2315 esetben volt módunkban kivitelezni.

A kemilumineszcens meghatározások során kapott RLU/PC érték alapján a HPV-DNS fertőzöttség intenzitását is mérni lehet.

II. Második tanulmányunkban a primer tumorból és regionális nyirokcsomókból a HPV státusz meghatározását a Polymerase Chain Reaction (PCR) módszerével végeztük. A nőgyógyászati műtőből érkező szárazjéggel gyorsfagyasztott mintákból a DNS izolálás a nemzetközi standardnak megfelelően történt (DN-áz és proteináz emésztés, fenol-kloroform extrakció és etanol precipitáció). Béta-globin génspecifikus PCR-rel igazoltuk a minta humán DNS tartalmát. Az első lépésben a minden mintán (a biopsziákból izolált DNS 1 µg-ját) alkalmazott „consensus primer” (csoportspecifikus) PCR amplifikálta a HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 52 és 58 típusok L1 ORF (open reading frame) mintegy 250 bázispár (bp) régióját, azt 40 ciklusban, automata „thermal cycler” segítségével végezve. Az egyes ciklusok jellemzői: 1,5 perc 95 °C, 1,5 perc 48 °C és 2 perc 70 °C. Az amplifikált produktum tipizálására Dde I, Hae III és Pst I, illetve szükség szerint Rsa I és Xba I restrikciós enzimek kerültek felhasználásra. A „consensus primer” által nem amplifikálódott minták esetén típus-specifikus primerekkel végeztünk amplifikációt. A primerek tervezése a HPV-16 és -18 típusok E7 ORF-jei 200 és 310 bp-t tartalmazó régióknak megfelelő volt. Az alkalmazott 30 ciklus hőmérsékleti és időtartam jellemzői: 1 perc 95 °C, 1,5 perc 55 °C és 1,5 perc 72

°C. Minden PCR amplifikáció kontrollja megtörtént humán DNS, mint negatív és pozitív kontroll felhasználásával.

A nyirokcsomókban a HPV-18 E6 mRNS transzkripteket reverz transzkripciót követő PCR-rel (RT-PCR) mutattuk ki.

III. Harmadik tanulmányunkban a cervikális mintákat első lépésben HCT-vel teszteltük. A hibridizációs módszerrel pozitív esetekben PCR amplifikáció történt. A gyorsfagyasztott minták felolvasztását követően a DNS izolálását végeztük el, majd pCO3 és pCO4 primereket használva Béta-globin génspecifikus PCR-t alkalmaztunk. 16 esetben az amplifikáció nem sikerült, ezeket kizártuk a további tanulmányból. Az amplifikációt MY09 és MY11 consensus primerekkel végeztük el, 40 ciklusban. A PCR elegy láthatóvá tételét PolyAcrylamid (5%; acrylamid/bisacrylamid arány 50:1) Gél Elektroforézist (PAGE) követően ezüstfestéssel kiviteleztük. Ezt követően a PCR termékek tipizálására Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) módszert használtunk. AluI, BamHI, DdeI, HaeIII, HinfI és PstI restrikciós enzimek kerültek felhasználásra. Az egyszerű PCR restrikciós fragmentumainak elektroforézisét 2%-os agaróz gélen végeztük és a többszörös fertőzést PAGE-val igazoltuk.

Eredmények interpretálása, statisztikai analízis

I. Az epidemiológiai tanulmányban résztvevő betegeket hat korcsoportba (<25 éves, 26-34 éves, 35-44 éves, 45-54 éves, 55-64 éves és >64 éves) soroltuk, majd a HR- és LR-HPV fertőzötteket külön-külön táblázatban feltüntetve, a HPV frekvenciát %-ban ábrázoltuk. A frekvenciákat összevetve esélyhányadost és 95%-os konfidencia intervallumot számoltunk. A statisztikai analízist az SPSS szoftverrel végeztük.

Azokat a HR-HPV pozitív betegeket (n=433), akinél nem történt szövettani vizsgálat vagy nem veszték el a nyomonkövetésből, hathavonta kontrolláltuk és ismételt HPV tipizálásokat végeztünk, *HPV clearance* meghatározása céljából. A

clearance időt úgy kalkuláltuk, hogy figyelembe vettük a tanulmányba kerülés idejét és az első negatív HPV teszt idejét. Ún. „havi HPV clearance arány”-t számoltunk, melynek során az utolsó vizit HPV-negatív esetszámának (betegeknek) és az összes nyomon követett nő-hónapnak hányadosát vettük, és százalékban ábrázoltuk. A *clearance* eredményeket korcsoportok szerint és a kiindulási citológiai eredményeknek megfelelően ábrázoltuk.

II. A 47 Wertheim-műtéten átesett beteg közül kiragadott 4 beteg adatait külön táblázatban nem ábrázoltuk. Körtörténeti adataikat a szövegben ismertetjük.

III. A HCT eredmények kontrollja PCR-RFLP tanulmányunkban a gyors RFLP értékeléshez szerkesztettünk egy 1-2-4 kódokat használó két oszlopos pontrendszert. Az 1-2-4-értékelő rendszer szükségtelessé tette a restriktációs fragmentek hosszának pontos meghatározását. A kódolás alapjául az szolgált, hogy a MY09-MY11 fragmentum hasadt-e a különböző restriktációs enzimek hatására vagy sem. (Például: a HPV-33 hasadt a DdeI, HinfI és PstI hatására, de nem hasadt az AluI, BamHI vagy HaeIII esetén. Tehát a pontszám: $0x1_{(AluI)} + 0x2_{(BamHI)} + 1x4_{(DdeI)} = 4$, illetve $0x1_{(HaeIII)} + 1x2_{(HinfI)} + 1x4_{(PstI)} = 6$). Ezáltal a legtöbb HPV típusnak egyéni pontszáma lett, de az azonos pontszámú típusok között az alapján tettünk különbséget, hogy melyik enzim hatására alakult ki a legnagyobb különbség a fragmentumok hosszában. (Például: A HPV-18 és -45 is 64 pontot kapott, de megkülönböztethetjük őket a DdeI fragmentumaik alapján.)

Ezt követően a HCT és PCR-RFLP eredményeinek összevetését ábrázoltuk. A kettős pozitív minták RFLP és HCT jel eredményei közötti korrelációt úgy jelenítettük meg, hogy a hibridizációs minta relatív lumineszcenciája és három pozitív kontroll replikátum átlag relatív lumineszcenciájának hányadosát vettük, majd az első helyen a HR-, a másodikokon az LR-próba elegyeket szerepeltettük.

EREDMÉNYEK

I. HPV prevalecia pozitív kolposzkópos és/vagy citológia eredményű pácienseknél

A kolposzkópos és/vagy citológiai eltérés miatt vizsgált 3480 páciensnél 1222 esetben (35,1%) észleltünk HPV fertőzést a *Hybrid Capture* módszerrel. Ezen belül az alacsony kockázatú fertőzés szinguláris előfordulását 91 esetben (2,6%), a magas kockázatú infekciót 1072 esetben (30,8%), míg a kétféle fertőzés együttes előfordulását 59 esetben (1,7%) regisztráltuk.

Az egyidejűleg több HPV típus által okozott fertőzésben szenvedők kvantitatív mutatók alapján végzett csoportosítását és ezek megoszlását tanulmányozva azt észleltük, hogy összesen 150 esetben alacsony kockázatú HPV infekciót sikerült igazolnunk (12,3%). Az ennek a fertőzésnek megfelelő klinikai eltérést, a *condyloma acuminatum*-ot csak 38 esetben (25,3%) regisztráltuk, tehát az esetek háromnegyed részében a fertőzés látenszen zajlott a vizsgált időpontban. Magas kockázatú humán papillomavírus fertőzést összesen 1131 esetben (32,5%) észleltünk.

A tanulmányba került páciensek életkorát tanulmányozva, azt találtuk, hogy a legfiatalabb 16, a legidősebb 72 éves volt (medián: 32,00 év, átlag: 34,00 év, SD: 10,56), és több mint 90%-uk a 20 és 50 év közötti korosztályból került ki. A HR-HPV fertőzöttek medián életkora 29,00 év volt (átlag: 31,36 év, SD: 9,21); többségük (68%) 20 és 35 év közötti, tehát fertilis korú.

A LR-HPV infekciót hordozók 74%-a a 35 év alatti korosztályból került ki. A median életkor 26,50 év (átlag: 29,97 év, SD: 10,06), amely adat a HR-HPV fertőzötteknél fiatalabb korosztályt jelent.

Nem meglepő a 35 év alattiak magas részaránya mindkét HPV típusú fertőzésben, hiszen egy szexuális kontaktus útján terjedő vírusfertőzésről van szó, és a szexualitás szempontjából ez a korosztály a legaktívabb.

A két fertőzött csoport közötti előfordulási valószínűséget figyelembe véve a magas kockázatú HPV infekció nagyobb valószínűséggel fordult elő, mint az alacsony kockázatú ($p < 0,001$), függetlenül az életkortól.

A tanulmányban résztvevő betegeket hat korcsoportba (>25, 25-34, 35-44, 45-54, 55-64, 64<) sorolva és a HR- és LR-HPV fertőzötteket külön-külön vizsgálva, azt találtuk, hogy mindkét HPV típusú infekció esetén a kor előrehaladtával a HPV prevalencia csökken.

A magas kockázatú vírust hordozók esetén statisztikailag szignifikáns prevalencia csökkenés volt észlelhető 34 és 44 év felett ($p < 0,001$), míg az idősebb korcsoportokban ez a különbség nem volt szignifikáns. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy az idősebb korosztálynál is jelentős számban észleltünk HPV fertőzést (19 %, illetve 8 %), mely incidencia és prevalencia eseteket is jelenthet.

Bár az alacsony kockázatú HPV infekció esetén is prevalencia csökkenést észleltünk a magasabb életkorral, de ez az esés hamarabb; a 25. és a 34. év után következett be. Ez a korai prevalencia esés azt eredményezte, hogy az idősebb életkorban a perzisztáló HPV fertőzés elenyésző számban regisztrálható.

A 433 HR-HPV pozitív páciens nyomonkövetési és *HPV clearance* adatait tanulmányozva azt találtuk, hogy az idősebb korcsoportokban a *vírus clearance* ritkábban volt észlelhető, bár ez a "havi clearance arány" különbség a mellékelt citológiai eredmények és életkor viszonylatában nem volt szignifikáns. A HG-SIL esetén a *clearance* arány nem volt számolható, hiszen ezek a betegek – a szakma szabályai szerint - műtétes kezelésre kerültek.

II. A HPV-pozitív nyirokcsomók prognosztikai szerepe

Az operábilis *cervix carcinoma*-s betegek átlagéletkora 41,4 (21-59) év volt. Érdekes koreloszlás különbséget figyeltünk meg a különböző leggyakoribb HPV típusok között: a HPV-18 betegcsoportban, - összevetve a HPV-16 fertőzöttekkel, ami 43,7 (27-59) volt -jóval alacsonyabb, 33,5 (21-56) átlagos életkort regisztráltunk.

A 47 beteg közül négy esetében – mindannyian HPV-18 pozitívak voltak - igen korai recidívát és rövid túlélést észleltünk. Ennek a négy fulmináns kimenetelű betegnek a prediszpozíciós anamnesztikus adatait tanulmányozva azt észleltük, hogy mindannyian az ún. magas kockázatú csoportba tartoztak, melynek jellemzői voltak: korai életkorban elkezdett nemi élet, promiszkuitás, gyakori hüvelygyulladások, kérdéses higiéné, nőgyógyászati rákszűréstől távolmaradás, ugyanakkor egyikük sem dohányzott.

A négy méhnyakrákos betegből három a fiatal korosztályhoz tartozott (21, 33 és 35 évesek), egyikük menopausában lévő 56 éves volt. A posztoperatív hisztológiai stádium megerősítette a preoperatívot: 2 esetben FIGO Ib (a 35 és 56 éves), két esetben IIa stádiumot (a 21 és 33 éves) állapított meg. A műtéti preparátum szövettani lelete a három fiatal esetében alacsonyan differenciált (G 3) *carcinoma planocellulare*, míg az idősebb beteg esetében közepesen differenciált (G 2) *adenocarcinoma* volt, mind a négy primer tumor mérete 1 és 2 cm közötti. A nyirokcsomó preparátumokban szövettani metasztázist csak az *adenocarcinoma*-s esetben észleltek, ugyanakkor mind a négy betegnél - a primer tumoron kívül – a nyirokcsomókban kimutatható volt a HPV-18 jelenléte! A 21, 33, 35 és 56 éves betegnél igen korai recidívát (7, 7, 17 és 22 hónappal a műtétet követően, a retroperitoneumban a fiatal pácienseknél, illetve egy esetben a hüvelycsomokban) és gyors progressziót, majd *exitus letalis*-t észleltünk. A regisztrált túlélés 9, 10, 21 és 24 hónap voltak.

III. A HCT teszt klinikai alkalmazhatóságának vizsgálata HPV-infekcióban

Az 570 cervikális mintából 145 volt pozitív a HCT teszttel, ebből 15 LR-HPV pozitív („A” próba), 102 HR-HPV pozitív („B” próba) és 12 esetben kettős (LR+HR-HPV pozitív) fertőzést mutattunk ki. (16 esetet kizártunk a tanulmányból, mert ezek a későbbiekben nem amplifikálódtak a Béta-globin primerekkel. A PCR detektálási módszerünk két feltételnek felelt meg: 1.) Nem módosította a HCT eredményét, mivel a PCR-hez szükséges DNS-t csak a

hibridizációs módszert követően nyertük ki. 2.) A hibridizációt és a polimeráz láncreakciót ugyanazon mintán végeztük el, így a módszerek összehasonlíthatóak. A nem-denaturálódó PAGE használatával a közel azonos hosszúságú PCR termékek (449-458 bp) elektroforetikus mobilitása is nagymértékben eltér, a különböző nukleotid-szekvencia miatt így a kevert fertőzések ugyanolyan jól vizsgálhatóak, mint a szingulárisok.

A PCR termékek tipizálására az RFLP módszert választottuk. Az 1-2-4-értékelő rendszer szükségtelessé tette a restriktions fragmentek hosszának pontos meghatározását, a nem-denaturáló PAGE-val való kombináció pedig lehetővé tette, hogy a többszörös fertőzésekben az összes koinfekciós HPV-t kimutassuk. Ezzel a módszerrel tripla-infekciót is igazolni tudtunk, amelyet egy hónappal később ugyanazon beteg másik mintájából megerősítettünk.

A HCT teszt eredmények – amelyek csak az alacsony kockázatú- („A”) vagy csak a magas kockázatú („B”) próbákkal reagáltak – teljesen megegyeztek a PCR-RFLP módszer eredményeivel.

A 102 HCT HR-HPV pozitív mintából 13 esetben többszörös fertőzést igazoltunk, de az összes koinfekciós HPV a magas kockázatú csoportba tartozott.

További egyéb magas kockázatú papillomavírus típusokat mutattunk ki, melyeknek megfelelő próbaelegendet a HCT nem tartalmazott. Így igazoltunk szinguláris HPV-53 (két esetben), HPV-58 (két esetben), HPV-66 (három esetben), HPV-MM4 és HPV-CP8304 típusú infekciókat is. Ezek a típusok valószínűleg kereszt-hibridizálódtak néhány HR próbával. Ezek között az új típusok között szerepelt a HPV-58, aminek megfelelő típus-specifikus próbát már tartalmaz az új generációs Hybrid Capture teszt (HC II). Ugyan nem tudjuk a hibridizációs módszer detektálási érzékenységét ezen új típusokra, de az ezek által okozott fertőzés valószínűleg kimutatásra került az első generációs teszttel is. [Peyton és mtsai (1998) tanulmányunk idején számoltak be a HC II új HPV típusokat (HPV-53, -66, -67, -73, -CP6108 és -CP8061) kimutató eredményeiről. Ezen típusok

közül a HPV-53-mal és -66-tal a HCT I magas kockázatú próbái is hibridizálódnak.]

A 12 HCT dupla-pozitív („A és B”) mintából a PCR-RFLP csak két esetben igazolta a LR- és HR-HPV együttes jelenlétét, és a többi többszörösen fertőzött mintában – egy kivételével – csak magas kockázatú HPV-t igazolt.

A LR- és HR-HPV-k szimultán kimutatásának hiánya ezekben a mintákban nem a módszerünk rovására írható fel, hiszen az érzékeny ezüstfestés könnyen kimutatja a többszörös PCR sávokat is, még akkor is, ha százszoros különbség van az illető target szekvenciák kópiaszámában.

Miután megállapítottuk, hogy a PCR-RFLP tipizáló módszer megbízható, újraszerteltük a mintákat a HCT teszttel, amivel lehetséges a fals-pozitív HCT minták kizárása. A 13 mintából 12 ismét hibridizálódott mind az alacsony-, mind a magas kockázatú próbákkal.

Ezt követően megvizsgáltuk a hibridizációs jel erősségének jelentőségét (szignifikanciáját), amit a minta lumineszcenciája és három pozitív kontroll átlag lumineszcenciájának aránya fejez ki minden teszt sorozatban. Ahol a HR-jel („B”) erősebb volt, mint a LR-jel („A”), ott dominálón magas kockázatú fertőzés volt jelen, ellenben abban a három esetben, ahol az LR-HPV is kimutatásra került, ott minden esetben a LR-jel („A”) erősebb volt, mint a HR- („B”). Érdekes módon, egy új típus, a HPV-62 is jelen volt egy dominálón LR pozitív mintában.

Az új HPV típusok (HPV-53, -58, -62, -66, -CP8304 és -MM4) RFLP tipizált eredményeit szekvenálással igazoltuk. A MY09-MY11 amplimereket klónoztuk, szekvenáltuk és a megfelelő referencia HPV típusokhoz igazítottuk. Az első négy klón szekvenálása két irányba történt. Mivel a szekvenciák nagy része a kétirányú módszernél átfedést mutatott, ezért a többi klónon egyirányú szekvenálást hajtottunk végre. A homológia mértéke a referencia szekvenciákhoz képest 96-100% volt. Az amplifikáció a Taq polimerázzal történt, a néhány nukleotidnyi különbség észlelhető volt a klónok és a referencia szekvenciák között,

amplifikációs hibából adódóan. Ez azonban nem befolyásolta a PCR-RFLP tipizálás eredményeinek igazolását.

MEGBESZÉLÉS

Tanulmányunk első részében Észak-kelet Magyarország régióban, nagy populációs anyagon, pozitív kolposzkópos és/vagy citológiai eredmény mellett mértük fel HPV infekció prevalenciáját. A klinikai epidemiológiai munkánk során észlelt 35,1%-os HPV fertőzés frekvencia az európai régióból közölt adatokkal közel megegyező. Természetesen ezek a magas fertőzöttséget mutató adatok egy „primer” szűrésen kolposzkópos és citológiai vizsgálat során pozitívnak ítélt szubpopuláció mutatói. Hasonló HPV frekvenciákat csak a magas kockázatú populációk, így egyetemisták, elzárt közösségek és legmagasabb mutatókat a prostituáltak körében észleltek.

A HR-HPV infekció nagyobb valószínűséggel fordult elő, mint a LR-HPV fertőzés ($p < 0,001$). Megerősítettük a magyar és nemzetközi irodalomban közölt azon megfigyelést, miszerint a HPV prevalencia a kor előrehaladtával lineárisan csökken. A HPV infekciónak mind az alacsony, mind pedig a magas kockázatú csoportban megfigyelhető 20-35 év közötti halmozódása indirekt bizonyítéknak tekinthető abban a vonatkozásban, hogy valóban szexuális úton terjedő infekcióval (STD) állunk szemben, ugyanis a szexualitás szempontjából ez a korosztály a legaktívabb.

Saját tanulmányunkban a prevalencia csökkenés a HR-HPV esetén a 35. és a 45. év után szignifikánsnak bizonyult. Megjegyzendő ugyanakkor, hogy a lineáris frekvencia csökkenés ellenére, az idősebb korcsoportok esetén is relatíve magas fertőzöttség észlelhető (17% és 8%), bizonyítva a HPV-DNS perzisztálásra való hajlamát.

A LR-HPV esetén hamarabb következett be a szignifikáns prevalencia csökkenés (a 25. és 35. év után), és ezt követően csak elenyésző százalékban fordul elő.

Összegezve tanulmányunk végső megfigyelését, azt mondhatjuk, hogy nagy számú beteganyag különböző szintű *cervicalis epithelialis* elváltozása esetén a HR-HPV fertőzés esetén a vírus-perzisztálás esélye nagyobb, mint a LR-HPV esetén. Ennek a víruscsoportnak ez a fontos tulajdonsága lehet az egyik felelős az onkogenitásukért.

A korábbi irodalmi megfigyeléseken túlmutató, a gyakorlatban felhasználható következtetés, hogy az idősebb életkorban perzisztáló HPV infekciót hordozókat magas kockázatú populációnak kell tekintenünk az esetleg későbbiekben kialakuló méhnyakrák szempontjából. Ezzel szemben az a megfigyelés, hogy a HPV fertőzés előfordulási gyakorisága az életkorral fordított arányban változik, azt jelzi, hogy a fiatal életkorban észlelhető HPV infekciók igen nagy része tranziens fertőzés, így onkológiai jelentősége kisebb.

Célszerűnek látszik ezért az elsődleges szűrési módszerek (kolposzkópia és citológia) pozitivitása esetén, a második lépcsőben a HPV státusz meghatározása. Csak így állítható fel individuális kezelési vagy nyomonkövetési terv. Negatív primer szűrési eredmények esetén is felvetődik a szükségessége bizonyos időközönként a HPV tipizálásnak. Ezzel a kiegészítő vizsgálattal is fokozható a szűrés effektivitása. A citológiai vizsgálatot követő másodlagos HPV szűréssel is igazolták, hogy magas szenzitivitással azonosíthatók a potenciális kockázattal bíró páciensek. Felvetődött, hogy nem ismert a negatív citológiai eredmény és HPV teszt későbbiekre vonatkozó „védettséget” biztosító hatása. Az USA-ban folytatott gyakorlat szerint, – utalva a negatív HPV eredmény jelentőségére - negatív HPV teszt és sorozat negatív citológiai (2-3x) eredmény esetén, 5-10 éven belül nem alakulhat ki CIN III vagy ICC, amennyiben a nő szexuális partnert nem vált. Vélelmezik egyúttal, hogy negatív citológia, de perzisztáló pozitív HR-HPV lelet esetén hamarosan számíthatunk pozitív onkocitológiai eredményre, így ezt tartják a bizonyos magas kockázatú populációnak.

A méhnyakrák kórlefolyásának prognózisa tekintetében talán a legfontosabb tényező a nyirokcsomó-metasztázisok jelenléte. Ezt a témakört tanulmányozandó, terjesztettük ki vizsgálatainkat a cervix carcinomás betegek műtét során eltávolított nyirokcsomóinak HPV státusz meghatározására. 47 operált páciens adatait feldolgozva azt észleltük, hogy a szövettanilag metasztázis-mentes, de a predilekciós nyirokcsomókban HPV-DNS-t hordozó (a primer tumorra megegyező HPV státuszú) betegek kórlefolyása hasonlóan fulminánsnak bizonyult, mint a hisztológiailag már tumoros nyirokcsomójú betegek esetében. Négy páciensnél -, akik mind a primer tumor, mind a nyirokcsomók vonatkozásában HPV-18 pozitívak voltak, bár hármójuknál tumormentes nyirokcsomót észleltünk – korai recidívát és a korai stádiumnak nem megfelelő kedvezőtlen prognózist, rövid túlélést regisztráltunk.

A fentiek alapján fölmerül annak a lehetősége, hogy a HPV specifikus nukleinsavak a metasztázis szenzitív indikátorai. Vizsgálataink során észleltük továbbá, hogy a HPV-18 típus konzekvensen a kedvezőtlenebb prognosztikai csoportban fordult elő, ezért azt gondoljuk, hogy ez a típusú HPV infekció jelenléte is rossz prognosztikai jelnek tekintendő a már kialakult méhnyakrák esetén. Számos nemzetközi szerző is azon az állásponton van, hogy a nyirokcsomók HPV státuszának igenis jelentősége van a betegség kimenetelében. Hangsúlyozzák, hogy predilekciós nyirokcsomók HPV-pozitivitása ugyanolyan független prognosztikai paraméternek tekinthető a betegek túlélésében és a mortalitási kockázat vonatkozásában, mint a primer tumor mérete és a FIGO stádium. Mindezeket figyelembe véve, arra a konklúzióra jutottak, hogy a HPV-DNS jelenléte a kismencedei nyirokcsomókban a metasztázis korai jelének tekintendő, és ezt a prognosztikai faktort a kezelési terv felállítása során maximálisan figyelembe kell venni.

Ugyanakkor más munkacsoportok nem találtak korrelációt a kismencedei nyirokcsomók HPV státusza és a tumormetasztázis-képzés között. Felvetve annak

a lehetőségét, hogy a különböző HPV típusok prognosztikai potenciálja nem azonos méhnyakrákban, holland munkacsoport HPV-16 infekció esetén vonta le fenti megállapításait. Tovább erősítve a HPV-16 infekció HPV-18-tól eltérő viselkedését, kínai tanulmányban a primer tumorban mérhető virális terheltséggel („viral load”) egyenes arányban észleltek HPV-DNS-t a környéki nyirokcsomókban és éppen ezért nem tekintik prognosztikai tényezőnek.

A HPV-18 fertőzés rossz prognózisának magyarázatát nem ismerjük méhnyakrákban. Több molekuláris teória született: (a) nagyobb integrációs potenciál; (b) fokozott E7 foszforilációs képesség. A HPV-18 társult tumorokban rövidebb pre-klinikai kimutathatósági szakaszt igazoltak, és gyorsabb progressziót a különböző súlyosságú CIN-ek között, majd az ICC-ba. Újabban egyes szerzők azon megfigyelésüket közölték, hogy az ilyen esetekben észlehető rövidebb rákmegelőző stádiumok nem a HPV-18 fertőzés agresszívebb hatásának tudható be, hanem az általuk okozott kevésbé súlyos citológiai eltérésnek köszönhető.

A fenti, sokszor egymásnak ellentmondó adatokból is látható, hogy a tumormentes nyirokcsomókban kimutatható HPV-DNS prognosztikai szerepe nem egyértelmű. Ugyanakkor mégiscsak azt a következtetést kell levonnunk, hogy korai stádiumú méhnyakrákban, különösen HPV-18 fertőzéssel társulva, a HPV genom jelenlétét a hisztopatológiai vizsgálattal negatív kismencedei nyirokcsomókban igenis a metasztázis korai jelének kell tekinteni, és ezek a betegek ennek megfelelően kezelendők.

Számos megfigyelés igazolta azt a feltételezést, hogy a rutin nőgyógyászati szűrésen kiemelt páciensek szekunder szűrésében/nyomonkövetésében a hagyományos méhnyakrákszűrés során alkalmazott kolposzkópos és citológiai vizsgálatot indokolt kiegészíteni HPV vizsgálattal. A *cervicalis intraepithelialis neoplasia*-k szűrésére és diagnosztikájára alkalmazott metodikák nem alkalmazhatók a HPV diagnosztika során, ezért egy olyan a HPV-DNS kimutatására alkalmas teszt iránti igény vetődött fel, mely

megfelelő találati biztonságot nyújt, ugyanakkor gazdaságos és rutinvizsgálatok során egyszerűen alkalmazható. Mindezek szellemében vizsgáltuk a HCT teljesítőképességét, különös tekintettel a határesetekre. A magas szenzitivitású és specificitású HCT (I) teszttel 14 HPV típust lehet meghatározni (a HC II-vel 18-at) és ez a módszer egyértelműen megkülönbözteti a leggyakrabban előforduló alacsony- és magas kockázatú típusokat. Az újonnan azonosított HPV típusok egyre növekvő száma felveti annak a lehetőségét, hogy a HCT teszt ezen új típusokkal keresztreakciót ad, zavarva az eredmények interpretálását.

A PCR-RFLP és szekvenálás módszerekkel megerősítve megállapíthatjuk, hogy a HCT teszt megfelelő diagnosztikus módszert biztosít az alacsony és magas kockázatú HPV típusok egyértelmű megkülönböztetésére, ezáltal a méhnyakrák kialakulása szempontjából alacsony és magas kockázatú populáció elkülönítésére. A kettős pozitív (LR és HR) esetek vizsgálatunk szerint a magas onkogenitású csoportba sorolandóak és természetesen klinikailag is az ezzel a csoporttal azonos megítélést igényelnek. Jelen tanulmányunk is megerősítette a szoros korrelációt a pozitív kolposzkópos lelet és SIL citológiai eredmény, illetve a magas kockázatú HPV fertőzés között, függetlenül attól, hogy éppen kettős infekcióról van szó, tehát alacsony kockázatú vírustípus is jelen van. Ezt a megfigyelésünket nemzetközi irodalmi adatok is megerősítik..

Mindezen megállapításainkat alátámasztottuk a PCR-RFLP módszerrel, melynek során csak egyetlen esetben találtunk olyan ellentmondó eredményt, amikor egy a HCT alapján dupla-pozitív mintából nem tudtuk a HR-HPV-t kimutatni. Vizsgálataink alapján így a HCT típus-specificitása 128/129, tehát 99,2%-nak bizonyult.

Megfigyeléseinket összefoglalva megállapítható, hogy a HCT teszt egy a szekunder szűrési program gyakorlatában könnyen és megbízhatóan alkalmazható módszer a magas kockázatú populáció kiemelésére.

ÖSSZEFOGLALÁS

Pozitív kolposzkópos és/vagy citológiai eredményű betegeknél vizsgáltuk az alacsony- és magas kockázatú HPV fertőzés prevalenciáját, prospektív klinikai epidemiológiai tanulmányban. A 3480 páciensnél 1222 esetben (35,1%) észleltünk HPV-fertőzést a Hybrid Capture módszerrel. Ezen belül a LR-fertőzés szinguláris előfordulását 91 esetben (2,6%), a HR-infekciót 1072 esetben (30,8%), míg a kétféle fertőzés együttes előfordulását 59 esetben (1,7%) regisztráltuk. A HR-HPV fertőzöttek medián életkora 29,00 év, a LR-HPV infekciót hordozóké 26,50 év volt. A magas kockázatú HPV infekció nagyobb valószínűséggel fordult elő, mint az alacsony kockázatú ($p < 0,001$), függetlenül az életkortól. Megerősítettük azt az irodalomban is közölt tényt, hogy mind a HR-, mind a LR-HPV prevalencia a kor előrehaladtával csökken. A HR-HPV fertőzés esetén statisztikailag szignifikáns prevalencia csökkenés volt észlelhető 34 és 44 év felett ($p < 0,001$). Ugyanakkor az idősebb korosztálynál is jelentős számban észleltünk HPV fertőzést (19 %, illetve 8 %). A LR-HPV infekció esetén a prevalencia csökkenés hamarabb következett be (25 és 34 év után), de az idősebb életkorban a perzisztáló HPV fertőzés csak elenyésző számban regisztrálható. 433 HR-HPV pozitív páciens nyomonkövetési és HPV clearance adatait elemezve, kiderült, hogy az idősebb korcsoportokban a vírus-clearance ritkábban volt észlelhető, de ez a “havi clearance arány” különbség a citológiai eredmények és életkor viszonylatában nem volt szignifikáns.

A HPV prognosztikai szerepét tanulmányozva méhnyakrákban, 47 operábilis cervix carcinomás betegnél (átlagéletkor: 41,4 [21-59] év) a radikális méheltávolítás során PCR-rel HPV tipizálást végeztünk a primer tumorból és a kismedencei nyirokcsomókból. A betegek további kórtörténeti adatait tanulmányozva négy esetben igen korai recidívát és rövid túlélést észleltünk. A nyirokcsomó preparátumokban, mind a négy esetben a primer tumorral megegyező HPV-18 jelenlétét mutattuk ki, ugyanakkor szövettani metasztázist csak egyetlen betegnél állapítottunk meg. A fentiek alapján fölmerül annak a lehetősége, hogy a HPV specifikus nukleinsavak a metasztatizáció szenzitív indikátorai.

A klinikai gyakorlatban elterjedt HCT I. HPV típus-specifitását értékeltük 570 cervikális mintából PCR (MY09-My11)-RFLP módszerével. A kontroll módszer megerősítette a HCT eredményeit szinguláris fertőzés esetén (15 minta LR-HPV pozitív, 102 minta HR-HPV pozitív), ugyanakkor a HCT-vel dupla-pozitív mintákból PCR-RFLP-vel csak egyetlen esetben nem tudtuk a HR-HPV-t kimutatni. Vizsgálataink alapján így a HCT típus-specifitása 99,2%-nak bizonyult. Megfigyeléseinket összefoglalva megállapítható, hogy a HCT teszt egy a szekunder szűrési program gyakorlatában könnyen és megbízhatóan alkalmazható módszer a magas kockázatú populáció kiemelésére.

KÖZLEMÉNYEK

Az értekezésben felhasznált közlemények

Sápy T, Póka R, Szarka K, Kónya J, Huga S, Hernádi Z. Age-specific prevalence of high-risk human papilloma virus infection in a Hungarian female population with positive cytology. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2007; (in press)

IF: 1,273 (JCR 2006.)

Sápy T, Hernádi Z, Kónya J, Lukácskó L. Poor clinical outcome in early stage cervical cancer with human papillomavirus-18 positive lymph nodes. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000; 90(1): 93-95.

IF: 0,703 (JCR 2000.) CIT: 5

Kónya J, Veress G, Juhász A, Szarka K, **Sápy T**, Hernádi 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; 38(1): 408-411.

IF: 3,503 (JCR 2000.) CIT: 7

Sápy T, Szikszay Á, Kónya J, Borsos A, Hernádi Z. Human Papillomavírus infekció prevalenciája közel 5 éves anyagunkban. *Orv Hetil.* 2001; 142(24): 1265-1268.

Sápy T, Hernádi Z, Kónya J, Veress Gy, Czeglédy J. Korai recidíva és fulmináns kórlefolyás HPV 18-pozitív cervixcarcinómában. *Magy Nőorv L.* 1997; 60(3): 233-235.

Sápy T, Hernádi Z, Lukácskó L, Borsos A. The role of high risk HPV lymph node positivity in the surgical staging of cancer of the uterine cervix. *Acta Chir Hung.* 1997; 36(1-4): 313-315.

A kutatási területhez kapcsolódó egyéb közlemények

Hernádi Z, **Sápy T**, Kónya J, Veress G, Czeglédy J. Magas kockázatú Humán Papillomavírus (HPV)- pozitív méhnyakrákos betegek kórlefolyásának követése. *Orv Hetil.* 1997; 138(20): 1249-1253.

Lukácskó L, Hernádi Z, **Sápy T**, Borsos A. The prognostic value of CA-125 in epithelial ovarian cancer patients during and after chemotherapy. *Acta Chir Hung.* 1997; 36(1-4): 213-214.

Hernádi Z, **Sápy T**, Lukácskó L, Borsos A. Second-look surgery (SLO) in the management of carcinoma of the ovary. *Acta Chir Hung.* 1997; 36(1-4): 128-129.

Hernádi Z, Lukácskó L, **Sápy T**, Borsos A. Petefészekrákos betegek cyclophosphamid és cisplatin (CP) kombinált kemoterápiája Amifostine (WR-1065) védelemben. *Magy Nőorv L.* 1998; 61: 489-496.

Szarka K, Veress G, Juhász A, Kónya J, **Sápy T**, Soós G, Hernádi Z, Gergely L. Integration status of virus DNA and p53 codon 72 polymorphism in human papillomavirus type 16 positive cervical cancers. *Anticancer Res.* 2000; 20(3B): 2161-2167.

IF: 1,331 (JCR 2000.) CIT: 11

Hernádi Z, Huga S, Lukácskó L, Krasznai Z, **Sápy T**, Borsos A. Second-line Taxol treatment of ovarian cancer patients refractory to first line platinum-based chemotherapy. *Dzem Gin.* 2000; 2: 29-32.

Sápy T, Lampé L. Terhességgel szövődött méhnyakrák érdekes esete. *Magy Nőorv L.* 2001; 64: 421-423.

Hernádi Z, Huga S, Lukácskó L, Krasznai Z, **Sápy T**. Rezisztencia a petefészekrákos betegek platina-bázisú kemoterápiája során – a paclitaxel, mint kezelési lehetőség. *Magy Nőorv L.* 2001; 64: 249-254.

Szöke K, **Sápy T**, Krasznai Z, Hernádi Z, Szládek G, Veress G, Dillner J, Gergely L, Konya J. Moderate variation of the oncogenic potential among high-risk human papillomavirus types in gynecologic patients with cervical abnormalities. *J Med Virol.* 2003; 71(4): 585-592.

IF: 2,371 (JCR 2003.) CIT: 1

Hernádi Z, Szarka K, **Sápy T**, Krasznai Z, Veress G, Póka R. The prognostic significance of HPV-16 genome status of the lymph nodes, the integration status

and p53 genotype in HPV-16 positive cervical cancer: a long term follow up. BJOG. 2003; 110(2): 205-209.

IF: 1,191 (JCR 2003.) CIT: 3

Hernádi Z, **Sápy T**, Krasznai Z. The prevalence of the HPV 16 genome, integrated viral status and p53 genotype in cervical cancer population of north-eastern Hungary, the correlation with the established markers of tumour progression. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004; 113(1): 83-86.

IF: 0,955 (JCR 2004.) CIT: 1

Hernádi Z, Szőke K, **Sápy T**, Krasznai Z, Soós G, Veress G, Gergely L, Kónya J. Role of human papillomavirus (HPV) testing in the follow-up of patients after treatment for cervical precancerous lesions. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005; 118(2): 229-234.

IF: 1,141 (JCR 2005.) CIT: 3

Hernádi Z, Gazdag L, Szőke K, **Sápy T**, Krasznai Z, Kónya J. Duration of HPV-associated risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2006; 125(1):114-119.

IF: 1,273 (JCR 2006.)

Összesített impakt faktor: 13,741

Független citációk: 31

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó folyóiratban megjelent kongresszusi előadások

Hernádi Z, **Sápy T**, Czeglédy J. HPV-infekció mint prognosztikai tényező. Magyar Onkol. 1995; 115. Suppl.

Hernádi Z, **Sápy T**, Veress Gy, Kónya J, Czeglédy J. Follow-up results of cervical cancer patients with high-risk HPV-positive status. C Eur Assoc Gynec Obstet. 1997; 110. Suppl.

ELŐADÁSOK, POSZTEREK

Sápy T., Hernádi Z., Czeglédy J.: Méhnyakrákos betegek kórlefordása különböző HPV típusú infekciók esetén. Fiatal Szülész és Nőgyógyász Orvosok Tudományos Ülése, Miskolc, 1995. szeptember 29-30.

Hernádi Z., **Sápy T.**, Czeglédy J.: HPV infekció mint prognosztikai tényező. Magyar Onkológusok Társasága XXI. Nemzeti Kongresszus, Pécs, 1995. november 9-11.

Sápy T.: A HPV infekció prognosztikai szerepe méhnyakrákban. DOTE PhD és TDK Tudományos Diáktalálkozója, Debrecen, 1996. március 21-23.

Sápy T.: Sikeres terhesség korai stádiumú méhnyakrák konzervatív terápiaját követően. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekciója XII. Tudományos Ülése, Debrecen, 1996. április 26-27.

Sápy T.: Méhnyakrákos betegek hisztológiaiilag negatív, de Human Papillomavírus-18 pozitív nyirokcsomói rossz prognózisra utalnak. DOTE PhD és TDK Tudományos Diáktalálkozója, Debrecen, 1997. március 6-8.

Sápy T.: Videokolposzkópia., Újabb ismeretek a szülészet-nőgyógyászatban – Továbbképző tanfolyam. Debrecen, 1997. március 12.

Sápy T.: A méhnyakrákos betegek hisztológiaiilag negatív, de Human Papillomavírus-18 pozitív nyirokcsomói rossz prognózisra utalnak. **(I. helyezés)** Korányi Frigyes Tudományos Fórum, Budapest, 1997. április 24.

Sápy T., Hernádi Z., Lukácskó L., Borsos A.: The role of high risk HPV lymph node positivity in the surgical staging of cancer of the uterine cervix. XVI. Kísérletes Sebészeti Kongresszus, Debrecen, 1997. szeptember 25-27.

Sápy T., Hernádi Z., Kónya J., Gergely L.: Human Papillomavírus fertőzés kimutatása nukleinsav hibridizációs technikával. Magyar Nőorvos Társaság Északkelet-magyarországi Szakcsoportjának Tudományos Ülése, Berettyóújfalu, 1999. október 15.

Sápy T.: Human Papillomavírus fertőzés kimutatása nukleinsav hibridizációs technikával. Magyar Nőgyógyász Onkológusok Társasága II. Kongresszusa, Budapest, 1999. december 10-11.

Sápy T., Hernádi Z., Kónya J.: Human papillomavírus kimutatása cervikális kenetektől nukleinsav hibridizációs módszerrel. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekciójának XV. Kongresszusa, Hajdúszoboszló, 2000. június 15-17.

Sápy T.: A méhnyakrák szűrésének újabb szempontjai – a HPV diagnosztika jelentősége. Nőgyógyászati malignómák korszerű diagnosztikája és terápiája, Szakreferátum, Debrecen, 2000. december 15.

Sápy T., Kónya J., Hernádi Z.: Onkogén HPV típusok előfordulása Klinikánk járóbeteg körében, MOT Nőgyógyászati Szekciója Továbbképző Ülése, Budapest, 2001. október 5.

Sápy T., Kónya J., Hernádi Z.: Humán papillomavírus infectio praevalenciája öt éves anyagunkban. Magyar Nőorvos Társaság XXVII. Nagygyűlése, Budapest, 2002. augusztus 28-31.

Sápy T.: A méhnyakrák szűrésének újabb szempontjai, a HPV diagnosztika szerepe. V. Zempléni Őszi Orvosnapok, Sátoraljajújhely, 2002. október 4.

Kónya J., **Sápy T.**, Szőke 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, Paris, 2002. október 4-9.

Sápy T.: Terhességgel szövődött méhnyakrák érdekes esete. Magyar Nőorvos Társaság Északkelet-magyarországi Szakcsoportjának Kongresszusa, Mátészalka, 2002. október 10-12.

Sápy T.: A méhnyakrák szűrésének újabb szempontjai, a HPV diagnosztika szerepe. Szülészeti-Nőgyógyászati Prevenációs Tudományos Társaság Továbbképző, Debrecen, 2003. január 17.

Sápy T.: A méhnyakrákszűrés továbbfejlesztése, hatékonyságának növelése – HPV vizsgálatok preventív értéke, Nőgyógyászati Onkológia – Képzés és továbbképzés, a szakterület szerepe a daganatos halálozás csökkentésében, rákszűrés, tudományos ülés, Debrecen, 2003. február 14.

Sápy T.: Nőgyógyászati daganatok szűrése, korszerű méhnyakrák szűrés, ÁNTSZ háziorvosi szakmai nap, Debrecen, 2004. október 18.

Sápy T.: Genitális HPV infekciók. Cervicalis rákmegelőző állapotok diagnosztikája c. továbbképző tanfolyam, Debrecen, 2004. november 8-11.

Sápy T., Kónya J., Hernádi Z.: A HPV infekciók epidemiológiája – Hospital based epidemiology. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekció XVI. Tudományos Ülés, Hajdúszoboszló, 2005. október 14-15.

Hernádi Z., **Sápy T.,** Krasznai Z., Kónya J.: A HPV genom azonosítása és annak prognosztikai jelentősége a méhnyakrák kialakulása és progressziója különböző stádiumaiban. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekció XVI. Tudományos Ülés, Hajdúszoboszló, 2005. október 14-15.

Huga S., **Sápy T.,** Krasznai Z., Óvári L., Hernádi Z.: Az előrehaladott stádiumú méhnyakrák különböző protokollok szerint végzett radio-kemoterápiájának tapasztalatai. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekció XVI. Tudományos Ülés, Hajdúszoboszló, 2005. október 14-15.

Sápy T.: Genitális HPV infekciók. Cervicalis rákmegelőző állapotok diagnosztikája c. továbbképző tanfolyam, Debrecen, 2005. november 28-December 1.

Sápy T.: Az onkológia családorvosi vonatkozásai. Családorvosképzés, Debrecen, 2006.

Sápy T.: Genitális HPV infekciók. Cervicalis Rák megelőző Állapotok Diagnosztikája c. Tanfolyam, Debrecen, 2006. november 27-30.

Gazdag L., **Sápy T.**, Hernádi Z.: HPV-pozitív betegek biopsziás mintáinak elemzése. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekció XVII. Tudományos Ülés, Hajdúszoboszló, 2007. március 23-24.

Krasznai Z., Gazdag L., Szőke K., **Sápy T.**, Kónya J., Hernádi Z.: A HPV asszociált kockázat időtartama a magas fokú CIN kialakulására. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekció XVII. Tudományos Ülés, Hajdúszoboszló, 2007. március 23-24.

Hernádi Z.: Krasznai Z., Gazdag L., Szőke K., **Sápy T.**, Kónya J.: A HPV típus-specifikus meghatározásának jelentősége a CIN sebészeti kezelését követően. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekció XVII. Tudományos Ülés, Hajdúszoboszló, 2007. március 23-24.

Sápy T., Hernádi Z.: A magas kockázatú HPV-infekció és a méhnyakrák kapcsolatát alátámasztó epidemiológiai adatok régióinkban. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekció XVII. Tudományos Ülés, Hajdúszoboszló, 2007. március 23-24.