

A humán papillomavírus fertőzés meghatározásának jelentősége a méhnyakrák szűrési stratégiájában és a rákmegelőző állapotok nyomon követési eljárásában

Doktori (PhD)-Értekezés Tézisei

dr. Koiss Róbert Sándor

Doktori Iskola Vezetője: Prof.dr. Komoly Sámuel

Programvezető: Prof. dr. Szabó István

Témavezető: Prof. dr. Gócze Péter

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Pécs



2012.

Bevezetés

A daganatos megbetegedések a szűrővizsgálatok fejlődésének és szélesebb körben való elterjedésének köszönhetően egyre gyakrabban kerülnek korai stádiumban felfedezésre, mégis a világon a második helyen állnak a mortalitás tekintetében.

1.Célkitűzések

Kutatásunknak egyik célja, hogy igazoljuk a méhnyak sejtnyugtalanág súlyossági fokának változásával párhuzamosan a HPV fertőzés törzsspecifikusan szelektálódik.

Kutatásunk másik célja, hogy bebizonyítsuk, a HPV-DNS meghatározás csökkenti a rekonizáció számát a pozitív sebési szélű konizációs esetekben.

Mind a két kutatásunkban igazolni szeretnénk a HPV DNS tesztnek, mint prediktív faktornak a jelentőségét a rákmegeelőző állapotok prognózisának megítélésében.

2. Beteganyag és módszer

2.1 Beteganyag és módszer 1.

Az első kutatásunk egy multicentrikus, retrospektív klinikai vizsgálat, amelynek célja, hogy megvizsgáljuk a HPV törzsek megoszlási arányát a rákmegeelőző állapotok és az invazív méhnyakrák között Európában. (HERACLES-SCALE vizsgálat) A vizsgálat során 6265 súlyos fokú rákmegeelőző állapot vagy invazív méhnyakrák miatt operált beteg szövettani mintáját dolgoztuk fel. A különböző országokból begyűjtött mintákat egy központi szövettani laborban újraértékeltek, és egységesített HPV-DNS meghatározást végeztünk. A minták 17 országból érkeztek, az előzetesen formálisan fixált, beagyazott szövetmintákat használtunk. A szövettani minták 2001-2008 között műtetre került betegetől származtak. A statisztikai elemzésre metaanalitikus módszert alkalmaztunk.

3103 beteg esetében súlyos fokú rákmegeelőző állapotot (HG-CIN), míg 3162 nő esetében invazív méhnyakrákot (ICC) igazoltunk. Az átlag életkorok HG-CIN esetében 34 év, míg ICC esetében 49 év volt. A legtöbb mintát szolgáltató országban működik szervezett méhnyakrák szűrő program, így a beküldött és elfogadott minták jól reprezentálták az adott országot.

A beküldött minták értékelése és feldolgozása egységesítetten történt. Minden országból 290 HG-CIN, és 290 ICC értékelhető mintát fogadtunk el és válogattunk be. Ha egy szövettani mintában többfajta rákmegeelőző állapot is jelen volt, akkor a legsúlyosabb állapotú területet dolgoztuk fel. Az invazív

daganatos minták közül kizárásra kerültek az előzetes kemo- és/ vagy sugárkezelésen részt vett betegek mintái. Kötelező volt a beteg életkorának, a szövettani mintavétel időpontjának és a diagnózisnak a megadása. Mindezek alapján a mintákat 2 csoportba válogattuk szét. A teljes beválogatott csoportba (*Total enrolled cohort*) tartoztak azok a minták, ahol a beküldött minta mérete (≤ 2 cm az átmérő és ≥ 2 mm a vastagság), valamint beágyazása megfelelő volt. A szövettanilag elfogadott csoportba (*Histologically-eligible cohort*) soroltuk azokat a mintákat, amelyeknél a szövettan által súlyossági fokot, a sejtek DNS elemzése is igazolta. Ha az elutasított minták száma elérte az 5 %-ot, újabb mintákat kértünk az adott országtól. Amennyiben a szövettani diagnózis megerősítést nyert, a mintát HPV DNS analízisnek vetettük alá és a HPV DNS pozitív eseteket (HPV+) a HPV + csoportba soroltuk.

A HPV DNS elemzéshez SPF₁₀-DEIA/LiPA₂₅-PCR system (SPF₁₀-LiPA₂₅) (version 1, Labo Biomedical Products, Rijswijk, Netherlands, based on licensed Innogenetics technology) eljárást alkalmaztuk, amely lényege, hogy a sejtnyugtalanúságot hordozó szövetrészből törzsspecifikus (type-assignment) HPV DNS meghatározást tudunk végezni. Az eljárás alkalmas arra, hogy 14 magas kockázatú (HR-HPV) (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68/73) és 11 alacsony kockázatú (LR) (6/11/34/40/42/43/44/53/54/70/74) törzset megkülönböztessünk egymástól.

Statisztikai elemzés

Az elemzést a HPV+ csoportnál kezdtük és a HPV törzs specifikus megoszlásának kiszámításában a különböző szövettani minták és országok esetében a 95 % CIs (Clopper-Pearson method) analízist alkalmaztuk. Az egyedi HPV törzs meghatározásnál a Cochran Q tesztet alkalmaztuk, ahol a nullhipotézisként az adott országon belül a HPV prevalenciát homológoknak (max. 5 %-os eltérés) tekintettük.

Az életkori felosztásban a CIN3-ICC és az AIS-ADC csoportokat összehasonlítva a különböző HPV törzseket vizsgálva a "két-utas" ANOVA analízist alkalmaztuk, ahol inputként a szövettani diagnózist, a HPV törzset és az interakció idejét tápláltuk be. Minden statisztikai elemzéshez a SAS szoftvert használtuk (version 9.1).

2.2 Beteganyag és módszer 2.

Második klinikai vizsgálatunkban arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a HPV DNS meghatározás befolyásolhatja-e a méhnyakon végzett műtéti beavatkozások számát.

A retrospektív vizsgálatunkban 2008 márciustól 2010 augusztusig elvégzett 438 konizációs minták feldolgozását végeztük. A legtöbb esetben citológiai eltérés miatt történt a méhnyak hurokkimetszése. A kúpkimetszést minden esetben nagyfrekvenciás rádióhullámú eszközzel (LLETZ) végeztük.

A műtét helyi érzéstelenítésben, egynapos sebészeti beavatkozásként történt, amely során az egyszeri kimetszés során nyert szövettani mintát 10%-os formalin oldatba fixáltuk. A kimetszés előtt HPV mintavétel történt mind a nyakcsatornából, mind a portio felszínéről. HPV mintavevő szettként a Spectrum HPV Detection Kit-et használtuk, amely nemzetközileg elfogadott. A nyert mintákat a PreservCyt mediumban szállítottuk HPV DNS elemzésre. A HPV DNS meghatározás PCR eljárással történt, amely során 14 magas kockázatú (HR-HPV) és 2 alacsony kockázatú (LR-HPV) HPV törzs kimutatására nyílt lehetőség. A szövettani feldolgozás ezzel párhuzamosan, de egymástól függetlenül történt. A formalinban fixált mintákat felszeletelték és paraffinba ágyazva haematoxillin-eosinnal megfestették. Ezt követően kerültek szövettani feldolgozásra. A betegeket kódszámokkal láttuk el és a vizsgálat végén párosítottuk a HPV DNS és konizáció szövettani eredményét.

Célunk, hogy elemezzük a rekonizáció során levett HPV DNS és a rekonizáció során kapott szövettani eredmény közötti kapcsolatot, az életkori felosztást is figyelembe véve. A rekonizáció indikációja megfelelt a magyar és nemzetközi protokolloknak, azaz minden CIN2/3 esetén, ahol a sebészi szél pozitívnak lett értékelve a szövettani feldolgozás során. Enyhe fokú szövettani eltérés (CIN1) esetén mindenkor konzervatív megoldást választottunk, függetlenül a sebészi széltől. A második konizáció előtt minden esetben HPV DNS meghatározásra mintavétel történt a műtéti területről.

Az adatok statisztikai elemzését Chi-square teszt szerint végeztük, ahol a szignifikanciát P érték <0.05 értékben határoztuk meg.

3. Eredmények

3.1 Eredmények 1.

A szövettanilag elfogadott (*Histologically-eligible cohorts*) csoportba 6265 mintából 3103 minta a HG-CIN és 3162 minta az ICC csoportba került. A HG-CIN csoportban a különböző súlyosságú eltérések megoszlása a következőképpen alakult: CIN3, CIN2, CIN2/3, AIS és "egyéb eltérés" -73.6%, 15.3%, 9.4%, 0.7% és 0.9% -ban fordult elő. Az ICC csoportban ez az eloszlás így nézett ki: SCC, ADC és "egyéb eltérés"- 77.7%, 13.4% és 8.9%-ban fordult elő.(1. Táblázat)

1. Táblázat HERACLES (HG-CIN) és a SCALE (ICC) csoportok demográfiai megoszlásában.

Csoport		Minden ország		A HERACLES és SCALE vizsgálatához egyaránt kapcsolódó országok	
		HERACLES (HG-CIN)	SCALE (ICC)	HERACLES (HG-CIN)	SCALE (ICC)
Teljes beválogatott csoport	N	3979	3626	1923	2140
	Átlag életkor (határok) a mintavétel időpontjában (évek)	35 (18–86)	48 (18–99)	35 (18–86)	50 (20–99)
Szövettanilag elfogadott csoport	N	3103	3162	1923	2138
	Átlag életkor (határok) a mintavétel időpontjában (évek)	34 (18–86)	49 (19–99)	35 (18–86)	50 (20–99)
	Fő diagnózis % (HPV pozitív arány %)				
	CIN2	15.3 (95.0)		16.0 (94.1)	
	CIN3	73.6 (99.3)		72.0 (99.1)	
	CIN2/3	9.4 (99.3)		10.0 (99.0)	
	AIS	0.7 (100)		0.9 (100)	
SCC		77.7 (94.2)		78.3 (94.3)	
ADC		13.4 (81.3)		13.4 (81.9)	
Egyéb	0.9 (89.3)	8.9 (86.9)	1.1 (90.0)	8.3 (86.4)	
HPV+ csoport	N	3057	2903	1889	1966
	Átlag életkor (határok) a mintavétel időpontjában (évek)	34 (18–86)	48 (19–99)	35 (18–86)	49 (20–99)
	Egytörzshöz HPV fertőzés %	80.0	93.5	80.4	93.5
	Többes HPV fertőzés %	17.4	4.8	16.9	4.5
	Ismeretlen HPV törzs %	2.6	1.7	2.7	2.0

A nők életkori megoszlása a két csoportban jól tükrözte a már ismert tény, hogy a HG-CIN csoportban az életkor főleg 26-30 év, és az életkor előrehaladtával csökkent az rákmegelőző állapotok esetszáma. Ezzel ellentétben az ICC csoportban az életkor növekedésével az invazív betegség esetszáma emelkedett. A HG-CIN csoportban az átlagéletkor 34 év (18-86 év), amely súlyossági fok szerinti bontásban: 34 év (18-86) CIN3-ban, 33 év (19-84) a CIN2-ben, 36 év (19-77) a CIN2/3-ban és 35 év (22-55) az AIS-ban. Az ICC csoportban az átlagéletkort magasabbnak találtuk, azaz 49 év volt (19-99 év), szövettani bontásban pedig: 50 év (19-99) SCC-ban és 45 év (22-90) az ADC-ban (1. Táblázat).

A HPV fertőzést vizsgálva mintáinkban a HG-CIN csoport 1.5 %-ában, az ICC csoport 8.1 %-ában HPV fertőzést nem találtunk. A HPV negatív (HPV-) ICC minták az idősebb életkorú nőkből származtak, 61 év feletti aránya 45.6 %-ot tett ki. Többes HPV fertőzést találtunk a HG-CIN esetek 17.1 %-ában, az ICC esetek 4.4 %-ában. A többes HPV fertőzés az életkor előrehaladtával csökkent.

A HPV+ csoportban 3057 (98.5%) minta a HG-CIN csoportba és 2903 (91.8%) minta az ICC csoportba tartozott. Az egytörzshöz kötött HPV fertőzést a HG-CIN csoportban 2445 (80%) esetben, míg az ICC csoportban 2715 (93.5%) esetben találtunk.

A HPV törzsspecifikus megoszlása a HG-CIN csoportban: HPV16 (59.9%), HPV33 (10.5%), HPV31 (9.0%), HPV52 (3.9%) és HPV18 (3.6%).

Az ICC csoportban az egytörzshöz kötött HPV fertőzés esetén a következő HPV megoszlást találtuk: HPV16 (63.3%), HPV18 (15.2%), HPV45 (5.3%), HPV33 (4.6%) és HPV31 (3.7%).

Az alacsony kockázatú HPV (LR-HPV) törzsek is kimutathatóak voltak mind a HG-CIN, mind az ICC mintákban, azonban egyik esetben sem érték el az 1 %-ot. (HG-CIN esetében 0.65 %, az ICC csoportban 0.73 %)

Minden országban a HPV 16 bizonyult a leggyakoribb vírustörzsnek, akár a HG-CIN, akár a ICC csoportot vizsgáltuk az egytörzshöz kötött HPV fertőzések esetén. Az országonkénti HPV 16 prevalencia különbözött, és széles határok között mozgott. Míg Norvégiában 47.1 %, addig Észtországban 71.9 %-ban találtunk HPV 16 fertőzést a HG-CIN-ben. Az ICC csoportban Norvégiában találtuk a legalacsonyabb prevalenciát 54.4 %-ban, míg Lengyelországban volt a legmagasabb a HPV 16 előfordulási arány, 72.8 %-kal. Ha életkor szerinti felosztásban vizsgáltuk meg a HPV + mintákat, kiderült, hogy a HPV16/ 31/33 törzsek életkor előrehaladtával - egyben a sejtnyugalanság súlyosbodásával –a prevalenciájuk emelkedik. Ezzel ellentétben a HPV 18 + HG-CIN (31-35 év között a prevalencia: 24.4%) és az ICC (51-60 év között a prevalencia 19.3%) mintákban nem volt jelentős különbség az előfordulásban, amely bizonyítja, hogy a HPV 18 által indukált sejteltérések lefolyása gyors, szemben a HPV16/31/33-hoz kapcsolt folyamatoknál. A HPV 18 + esetekhez hasonló megállapításra jutottunk a HPV 45 + minták esetében. (26-30 év (22.2%) a HG-CIN esetekben ; 51-60 év (20.4%) az ICC esetekben)

A HG-CIN csoportban 534 minta esetében többes HPV fertőzést igazoltunk, amely törzs szerinti megoszlása a következő volt: HPV16 (59.9% [55.6-64.1]), HPV31 (26.0% [22.4-30.0]), HPV52 (23.4% [19.9-27.2]), HPV33 (18.0% [14.8-21.5]), HPV51 (15.0% [12.1-18.3]) és HPV18 (14.2% [11.4-17.5]).

Az ICC csoportban 138 mintában igazoltunk daganathoz köthető többes HPV fertőzést, ahol szemben a HG-CIN csoporttal a következő gyakorisági sorrendet tudtuk felállítani: HPV16 (52.9% [44.4-61.4]), HPV18 (26.8% [19.6-35.0]), HPV52 (21.0% [14.5-28.8]), HPV31 (19.6% [13.3-27.2]), HPV45 (18.8% [12.7-26.4]) és HPV33 (17.4% [11.5-24.8]).

Azon 8 ország elemzése során, amely mind a HERACLES, mind a SCALE vizsgálathoz tudott mintát szolgáltatni, a HPV+ sejteltérések törzsspecifikus progressiójáról kaptunk képet. A szövettanilag elfogadott csoportban 1923 HG-CIN esetet és 2138 ICC mintát dolgoztunk fel. A demográfia és a klinikai karakter is megegyezett az egész minta adataival. Ebben a válogatott populációban is HPV előfordulási arány megegyezett az egész mintáéval, akár a HG-CIN, akár az ICC csoportot vizsgáltuk. Az egytörzshöz kötött HPV fertőzések esetén az ICC/HG-CIN esetekben a HPV fertőzések prevalenciája változó képet mutatott. HPV39/18/45 fertőzések 4.8/3.5/2.5-szer gyakrabban fordultak elő az ICC esetekben, mint a HG-CIN mintákban. A HPV16 előfordulási arány megegyezett a két csoportban, míg a HPV31/33/35/52 infekciók 0.4/0.4/0.5/0.5-ször ritkábban fordultak elő az ICC, mint a HG-CIN csoportban.

Az életkori megoszlás tekintetében hasonló eredményt kaptunk a korábbiakban már említettekhez. A CIN3 diagnózist fiatalabb életkorban találtunk, ha HPV16 (34év), HPV31 (33év) és HPV33 (35év) fertőzést igazoltunk, szemben a HPV 18 (38év) és HPV 45 (42év)-höz köthető fertőzések esetén. Ezzel szemben laphámrákot fiatalabb életkorban diagnosztizáltunk a HPV16 (49év), HPV18 (47év), vagy HPV45 (43év) fertőzött mintákban a HPV31, HPV33 vagy "egyéb" HPV törzshöz köthető mintákhoz képest.

Az életkori különbség a CIN3 az ICC között statisztikailag kisebb volt a HPV 18 (9 év) és HPV 45 (1év) pozitív esetekben, szemben a HPV31 (23év), HPV33 (20év) és az "egyéb" (17év) (p-values of <0.001, 0.001 és 0.011) HPV törzsköz köthető fertőzéshez képest. Az AIS és ADC közötti életkori különbség a HPV 18 (6 év) pozitív mintákban kevesebb volt, mint a HPV 16 (13 év) pozitív mintákban, de ez statisztikailag nem volt szignifikáns. (p = 0.162)

3.2 Eredmények 2.

A második klinikai során a következő eredményeket kaptuk.

Rekonizáció történt 119 (119/468, azaz 27,2 %) esetben.

A rekonizáció indikációját minden esetben a pozitív sebészi szél képezte. Az ismételt kimetszést 8 héttel az első hurokkimetszés után végeztük. A betegek átlagéletkora 34.7 év (22 év-65 év) volt. Az

átlagéletkornak megfelelően a pácienseket 35 év alatti (43.7%) és feletti (56.3%) életkori csoportokba soroltuk.

A feldolgozás során 90 esetben (90/119, azaz 75.6%) nem igazolt a szövettan visszamaradt sejtnyugtalanságot a korábbi pozitív sebészi szél ellenére sem.

Ebben a csoportban 77 esetben HPV negatív (HPV-) lett a DNS elemzés eredménye. A fennmaradt 13 esetben HPV pozitivitást igazolt a minta, de mindössze 3 esetben igazoltuk ugyanazt a vírustörzset, mint amit az első konizáció során nyertünk.

Tehát a 13 minta döntő többségében (10/13) eltérő vírustörzset mutatott ki a rekonizáció során nyert minta HPV DNS analízise az első konizáció során nyert mintában igazolthoz képest, bizonyítván a korábban kimutatott HPV törzs által indukált tartós fertőzés megszűnését.

Tanulmányunkban 29 betegnél (29/119, azaz 25,4 %), ahol igazoltuk a reziduális szövettani eltérést a rekonizáció során, a HPV DNS 100 %-ban pozitívnak bizonyult.

Ahol a szövettan fennmaradt HG-CIN állapotot (62%-ban) igazolt, ott a konizációk során levett HPV DNS teszt azonos HPV törzset igazolt.

Ahol a rekonizáció szövettani mintája enyhe fokú méhnyak eltérést (38%-ban) igazolt, ott a rekonizáció során nyert HPV DNS minta új HPV törzset mutatott ki.

Az elemzés során a HPV16/31/33 törzsek gyakori előfordulási arányát tapasztaltuk a rákmegelőző állapotokban.

Az életkori elemzés során azt tapasztaltuk, hogy az életkor nem prognosztikai faktor a visszamaradt sejteltérés megítélésében.

4. Összefoglalás

HPV pozitív volt a minta 98.5 %-ban a HG-CIN, és 91.8 %-ban az ICC esetekben. A leggyakoribb HPV törzsek sorrend szerint a következőképpen fordultak elő a HG-CIN esetekben: HPV16/33/31 (59.9%/10.5%/9.0%), és az ICC esetekben: HPV16/18/48 (63.3%/15.2%/5.3%). Jelentős különbséget találtunk a HPV törzsek megoszlásában a laphámrák és az adenocarcinomák között. Az első esetben a HPV16/18/33 (66.2%/10.8%/5.3%), addig a mirigyhám rákok esetében HPV16/18/45 (54.2%/40.4%/8.3%).

Arra is rávilágítottunk, hogy a HPV16/18/45 (1.1/3.5/2.5-ször) magasabb arányban volt kimutatható az ICC esetekben, mint a HG-CIN igazolt eseteiben.

Európában a HPV16 fertőzés dominál mind a HG-CIN, mind az ICC esetekben. A HPV18/45 fertőzéshez kapcsolt ICC esetek fiatalabb életkorban fordultak elő, mint más HR-HPV-hez köthető ICC esetek. A HPV18/45 infekcióhoz kapcsolt ICC esetek nagyobb frekvenciával fordultak elő, mint az ugyanezen vírustörzsekhez kapcsolt HG-CIN esetek, és az életkori különbség jelentősebb alacsonyabb volt a két csoport esetei között, mint más HR-HPV fertőzéshez köthető betegségek esetén. A HPV18/45-höz köthető adenocarcinomák száma magasabb volt, mint az ugyanezen vírustörzsekhez köthető laphámrákoké, amely arra hívja fel a figyelmet, hogy a HPV16-hoz köthető fertőzésekhez képest más a célsejt.

A pozitív sebészi szél eddig egyértelműen újbóli kúpkimetszést indokolt a súlyos fokú rákmegelőző állapotok esetén.

Vizsgálatunkban azonban igazoltuk, hogy az újbóli HPV DNS meghatározás jelentős befolyásolhatja a terápiás döntésünket. Amennyiben a második HPV teszt HR-HPV fertőzést nem igazolt, a rekonizáció elvégzése nem javasolt, mert a visszamaradt súlyosfokú szöveti eltérés valószínűsége minimális. Amennyiben az ismételt HPV DNS teszt ugyanazt a vírustörzset igazolta, akkor az újbóli kúpkimetszés indokolt, mert a visszamaradt szöveti eltérés súlyos fokát találtuk. A törzsspecifikus HPV meghatározás ebben a vizsgálatban is nagy jelentőséggel bír. Amennyiben a pozitív sebészi szél mellett a második HPV teszt során kimutatott HR-HPV törzs nem volt azonos az első konizáció előtt levett HR-HPV törzssel, akkor az ismételt kúpkimetszés elvégzése megkérdőjelezhető, mert ha maradt is vissza kóros szövet, annak foka enyhébb volt, mint amit az első hurokkimetszés során nyertünk.

A két klinikai vizsgálatunk során nyert megfigyeléseink alapján fontosnak tartjuk a HPV DNS törzsspecifikus meghatározását és a méhnyakszűrési programba való beillesztését, mert mind a terápia, mind a nyomon követés szempontjából jelentős prognosztikai képességgel bír.

5.Következtetések

A klinikai vizsgálatunk célja az volt, hogy készítsünk egy európai térképet a HPV fertőzés előfordulásáról a súlyos fokú rákmegelőző állapotokban és az invazív méhnyakrákban. A 17 ország, több mint 6000 szövettani mintáinak egy egységesített és validált feldolgozása újdonságnak tekinthető Európában. A HPV törzsspecifikus meghatározásához meta analitikus módszert alkalmazva kontrolláltuk az országok közötti heterogenitást. Újdonságot hozott a korábbi vizsgálatokhoz képest az életkori felosztásban történt HPV törzsspecifikus elemzés a különböző csoportokban.

Más klinikai vizsgálatokhoz hasonlóan, mi is a HPV 16 törzset találtuk a leggyakoribb vírustörzsnek akár a HG-CIN, akár az ICC csoportot elemeztük, bármely ország mintáinak feldolgozásakor. Az országok közötti HPV16 előfordulási eltérés az átszűrtség és a szűrési eljárások közötti különbségben keresendők. A HPV 16 mellett Európában a HPV 18/45/39/59/68 törzseket gyakrabban

diagnosztizáltuk az ICC csoportban, míg a HPV31/33/35/51/52/58/66 törzsek a HG-CIN csoportban kerültek gyakrabban kimutatásra.

Ez a felfedezés korrelált azokkal a klinikai tanulmányokkal, ahol a HPV fertőzéshez köthető méhnyakrák törzsspecifikus elemzését végezték.

Vizsgálatunk céljaként tűztük ki, hogy a meghatározzuk törzsspecifikusan a HPV megoszlást a HG-CIN és az ICC csoportban és összehasonlítsuk egymással a két csoportot. Az egytörzshöz kötött HPV fertőzések esetén az előfordulási arány a HPV18/45/39 törzsek esetében nagyobb volt, mint 1 az ICC:HG-CIN összehasonlításban. Ez a megfigyelés felhívja a figyelmet a fent említett vírustörzseknek fokozott daganatkeltő képességére, főleg az adenocarcinomák eseteiben, ahol a hagyományos sejtkenet mintavétel szenzitivitása alacsony, valamint a mirigyhámrák rákmegelőző állapotának kimutatása nehéz. Ezzel szemben a HPV31/33/35/52 törzsek előfordulási aránya kevesebb, mint 1 az ICC:HG-CIN összehasonlításban, amely rávilágított e törzsek daganatképződésben betöltött szerepére.

Azon felül, hogy elemeztük a HPV törzsek megoszlását a HG-CIN és ICC csoport között, életkori felosztásban is vizsgáltuk a HPV előfordulást a két csoportban. Ez az elemzés új eredményeket mutatott ki az európai populáció vizsgálatában. Rávilágított a HPV16/18/45 vírusfertőzéshez kapcsolt méhnyak eltérések fiatalabb életkorban való megjelenésére, valamint a rákmegelőző állapot invazív folyamatba való átmenetének gyorsabb progressziójára. Az eredményekből kiderült, hogy szemben más HPV törzsekkel a HPV 18/45 pozitív esetekben az életkori különbség a HG-CIN és az ICC csoportban nagyon alacsony volt, bizonyítván, hogy a folyamat progressziója gyors. Ezzel kapcsolatban egy érdekes megfigyelésre tettünk szert, mégpedig hogy HPV45-höz kapcsolt adenocarcinoma in situ esetet nem detektáltunk, annak ellenére, hogy HPV45 pozitív adenocarcinomat több esetben is igazoltunk. Ez a megfigyelés alátámasztja a más tanulmányokban megfigyelt tényt, hogy a HPV18/45 törzs által okozott fertőzés, más HPV törzshöz kötött fertőzéshez képest, magasabb fokú kromoszóma instabilitást eredményez .

Megfigyelésünk szerint a HPV megoszlásban életkori felosztás szerint jelentős különbségek vannak.

A HPV18/45/39 vírustörzsek eltérő "viselkedéssel", carcinogenetikus képességgel rendelkeznek, más, akár a HPV16, akár egyéb HPV törzssel összehasonlítva. A HPV18/45/39 törzsek okozta HG-CIN esetek későbbi életkorban mutathatók ki, mint más HPV törzshöz köthető rákmegelőző állapotban. A HPV18/45/39 fertőzéshez köthető ICC esetekben az életkor nagyon közel volt az ugyanezen törzsekhez kapcsolt HG-CIN csoportban.

Összehasonlítva a HPV31/33 vírustörzshöz kapcsolt HG-CIN és ICC esetekkel, ahol az életkor jelentős eltérést mutatott, és a prevalencia a betegség súlyosbodásával csökkent.

A kutatásunk unikumának hoznám fel, hogy egy olyan nagy beteganyagot feldolgozó, egységesített szempont szerint elemző, egész Európát felölelő klinikai vizsgálat, amely útmutatóként szolgálhat a

méhnyak eltérések korszerűbb kiszűrésében és a betegség nyomon követésében. Annak ellenére egységesíteni tudtuk a szövettani minták HPV meghatározását, hogy a különböző országokban más a méhnyakszűrési program. A klinikai vizsgálatunkban nem szerepel kontroll csoportként a normál citológiájú populáció, de a nagy esetszámnak köszönhetően pontos adatokat kaptunk a HPV törzsek dysplasia szerinti megoszlásáról, és az életkori felosztás lehetőséget teremtett, hogy törzsspecifikusan kimutassuk a méhnyak betegség időbeli progresszióját. A vizsgálatunk gyenge pontjának tekinthető, hogy a ritka HPV törzshez köthető sejtnyugtalanságról, a kevés esetszám miatt, csak limitált eredményt tudunk szolgáltatni széles konfidencia intervallumon belül. A betegség progressziós időtartamának pontos megítélése miatt a szövettanilag egységesen CIN1 –nek véleményezett eseteket kihagytuk a vizsgálatból. Mint ahogy a másik klinikai vizsgálatunkból is a szövettanilag CIN1-nek diagnosztizált eseteknél is a nyomon követést választottuk a sebészi szél állapotától függetlenül. Az elmúlt években több tanulmány is foglalkozott a rák megelőző állapotok kialakulásának kockázati tényezőivel. Kapcsolatot találtunk a pozitív sebészi szél, a kezelési utáni pozitív HPV DNS és a visszamaradt szövettani eltérés között.

Klinikai vizsgálatunkban a pozitív sebészi szél esetén rekonizációra küldött betegeknek a második konizáció előtt levett HPV DNS állapot jó prediktív faktornak bizonyult a lehetségesen visszamaradt rák megelőző állapot megítélésben. A mi klinikai vizsgálatunkban azon felül, hogy igazoltuk HPV DNS pozitív esetén a visszamaradt szövettani eltérést, azt is sikerült kimutatni, hogy a törzsspecifikus HPV meghatározás a szövettani eltérés súlyossági fokának kimutatására is alkalmas.

Ez a megfigyelés jól korrelál az európai, nagy epidemiológiai vizsgálatunkkal, ahol a törzsspecifikus HPV által okozott rák megelőző állapot progresszióját tudtuk nyomon követni. Azt is igazolni tudtuk a második vizsgálatunkban, hogy az ismételt HPV teszt negativitás esetén nem találtunk visszamaradt súlyos fokú szövettani eltérést. Ez a megfigyelés jelentős előrelépést jelenthet a pozitív sebészi szélű kúpkimetszésen átesett betegek tovább kezelési stratégiájának megválasztásában. Az újbóli kúpkimetszések jelentős kockázattal bírnak a vetélés és a koraszülés tekintetében.

Tanulmányunkban igazoltuk, hogy a második (pre-rekonizációs) HPV teszt érzékenysége a súlyos fokú visszamaradt sejtelérés megítélésében 94%-nak bizonyult. A második HPV teszt negatív prediktív értéke a visszamaradt súlyos fokú szöveti eltérés jóslásában pedig 100%-nak bizonyult. Az életkori felosztás tekintetében, ellentétben más szerzőkkel, nem tudtunk különbséget tenni a 35 év alatti vagy feletti nők között. Mi nem találtuk az idősebb életkort kórjelző faktornak a visszamaradt sejtnyugtalanság megítélésben.

Következtetésképpen azt mondhatjuk, hogy minden olyan esetben, ahol a kúpkimetszés során nyert szövettani minta pozitív sebészi széllel bírt, a konizáció előtt és a konizáció után levett HPV DNS teszt eredmények összehasonlítása döntően befolyásolja egy újabb kúpkimetszés indikációját. Csak azokban az esetekben javasoljuk az ismételt konizáció elvégzését, ahol fennmaradt magas kockázatú HPV fertőzést igazolunk a második HPV teszt során. Egyértelműen bizonyítást nyert, hogy ha a

második HPV teszt során vírust nem tudtunk kimutatni, ott nem javasolt a rekonizáció elvégzése, mert visszamaradt súlyos fokú méhnyak eltérés nem igazolódott.

A megfigyelésünk során nyert tapasztalatok alapján, amelyek segítségére lehetnek minden gyakorló nőgyógyásznak, fontos megjegyezni, hogy a súlyos fokú sejteltérés miatt kezelt betegeket 10 éven keresztül rendszeresen nyomon kell követni, mert egy brit tanulmányból kiderült, hogy a kezelést követő 8 év alatt ötször magasabb a méhnyakrák kialakulási kockázat, mint a normál populációban. A klinikai vizsgálatainkban igazoltuk, hogy a rákmegelőző állapotok (CIN2/3) a fogamzóképes korban kerülnek felfedezésre, ezért döntő fontosságúnak érezzük, hogy a konizáció és az esetleges rekonizációk indikációja szigorú kritériumok által legyenek meghatározva.

6. Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet kifejezni dr. Szabó István Emeritus Professor Úrnak, aki lehetőséget teremtett PhD munkámhoz. Köszönettel tartozom dr. Gócze Péter Professor Úrnak, témavezetőmnek, aki végig segítette és támogatta a PhD munkámat. Szívből köszönöm osztályvezetőmnek dr. Med. Habil. Siklós Pálnak, aki mindvégig bátorított és baráti tanácsokkal látott el munkám alatt. Hálás vagyok Prof.,dr. Bósze Péternek, dr. Babarcsi Editnek, dr. Hazlinszky Péternek, dr. Jeney Csabának a közös kutatásokban nyújtott szakmai segítségért. Köszönettel tartozom az osztályon dolgozó orvos kollégáknak és szakdolgozóknak a munkámban nyújtott segítségükért. Köszönöm Zsigmond Krisztinának és dr. Kovács Józsefnek, hogy a HPV kutatásomban baráti és szakmai segítséget nyújtottak.

Végül, de nem utolsó sorban, nagyon hálás vagyok feleségemnek és gyermekeimnek, hogy mindig és minden nehézségben mellettem álltak.

7. Saját irodalom és közlések:

1. Csermely Gy., **Koiss R.**, Ungár L., Marcsek Z.,: Az onkogén humán papillomavírus (HPV)-törzsek kimutatásának klinikai jelentősége HPV fertőzöttséget igazoló citológiai leletek esetén. Magyar Nőorvosok Lapja 61,305-310(1998)
2. **Koiss R.**: Gólyaeltérítés. Recept nélkül c., III évfolyam 10. szám 6-7.(1998)
3. **Koiss R.**: A Közép-Kelet Európai Rákgenetikai Kongresszus Összefoglalója. Nőgyógyászati Onkológia 2000; 5:177-180

4. Ésik O., **Koiss R.**, Kneffel P., et al.: Műtét előtti, kizárólagos üregi sugárkezelés méhnyak-és méhtestrákos kórképekben: bizonyítékok és nemzetközi szakértői vélemények .Nőgyógyászati Onkológia 2005;10:168-172
5. **Koiss R.:** Méhnyakrák elleni védőoltás. Praxis, 2006. 15 évf.6.szám: 65-67
6. **Koiss R.:** A méhnyakrák megelőzésének új lehetősége vakcinációval. Infektológia és Klinikai Mikrobiológia XIII. évf 1.suppl. 2006. október
7. **Koiss R.:** HPV és a méhnyakrák kapcsolata. Hippocrates. 2007;9:47-50.
8. **Koiss R.:** A méhnyakrák elleni védőoltással kapcsolatos gyakorlati kérdések MAGYAR BELORVOSI ARCHÍVUM Supplementum 2008/2. 45-47.
9. **Koiss R.:** A méhnyakrák és a száj-,garatrákok gyakorisága a HPV-fertőzés tükrében.Nőgyógyászati Onkológia 2008;13:135-137
10. Patyánik M.,Nemeskéri C, Póti Z, Sinkó D, Pesznyák C, Király R, **Koiss R.**, Mayer A.:Concomitant radiochemotherapy of cervical cancer: is it justified to reduce the dosage of cisplatin? Strahlenther Onkol. 2009 Sep;185(9):582-7. Epub 2009 Sep 12 **IF: 3.776**
Hivatkozás: 5
11. **Koiss R.**, Siklós P.: A HPV és a méhnyakrák kapcsolata. LAM, 2010;20(2):96-102
12. Horányi D.,**Koiss R.**,Babarczi E.,Siklós P.:Az őrszemnyirokcsomó eltávolításával szerzett tapasztalataink a szeméremtest rosszindulatú daganatainak kezelése során. Magyar Nőorvosok Lapja 2011;74 (2) pp. 34-37
13. Horányi D.,**Koiss R.**, Babarczi E.,Siklós P.: A petefészek ivarléc-stroma eredetű daganatinak kezelésével szerzett tapasztalataink. Nőgyógyászati Onkológia 2011;16:40-42
14. **Koiss R.:** Méhnyakrák prevenció a XXI.században: védőoltás és/vagy szűrés? Medicus Universalis 44: (4)pp. 163-165, 2011.
15. **Koiss R.:** A HPV-teszt fordulópontot jelent a méhnyakrákszűrésében. Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle, 13:(5) pp. 199-201, 2011.
16. Gőcze P., **Koiss R.**, A méhnyakrákszűrés és a HPV-védőoltás helyzete Magyarországon. Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle 13:(5) pp. 204-207. 2011
17. **R. Koiss**, E. Babarczi , Cs.Jenei, P. Gőcze, D.Horányi, P. Siklós,: Repeat conisation or HPV test? What should be done if histology of the primary conisation requires second conisation ? Eur. J.Gynaecol. Oncol. 2012;33(2):134-7 **IF:0.633**

18. Tjalma WA, Fiander A, Reich O, Powell N, Nowakowski AM, Kirschner B, **Koiss R**, O'Leary J, Joura EA, Rosenlund M, Colau B, Schledermann D, Kukk K, Damaskou V, Repanti M, Vladareanu R, Kolomiets L, Savicheva A, Shipitsyna E, Ordi J, Molijn A, Quint W, Raillard A, Rosillon D, De Souza SC, Jenkins D, Holl K; for the HERACLES/SCALE Study Group. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe. *Int J Cancer*. 2012 Jul 3. doi: 10.1002/ijc.27713. **IF: 5.444**

Közlemények-Abstraktok:

1. Marek E., Gócze P., Bózsza Sz., Molnár G., Stefanovits Á., Benczik M., **Koiss R.**, Gócze K., Survey of knowledge about the HPV infection and cervical cancer among students and parents in Hungary, Poster in Bridges in Life Sciences US –CEE Regional Networking Meeting IV April 4, 2009 Debrecen, Hungary
2. Marek E., Gócze P, Bózsza Sz, Molnár G., Stefanovits Á, Benczik M, **Koiss R.**, Gócze K: Survey of knowledge about HPV infection in Hungary. Poster The 25th International Papillomavirus Conference, May 8-14 2009, Malmö, Sweden.
3. C.Jeney;C.Józsza;N.Varga;A.Kovács;J.Mózes;**R.Koiss:** „Evalutaion of a new screening biomarker panel”- Poster The 25th International Papillomavirus Conference May 8-14, 2009, Malmö, Sweden
4. C.Jeney;C.Józsza;N.Varga; M.Benczik J.Mózes; **R.Koiss:** „Detection and evaluation of a new screening biomarker panel” Poster, The 26 th IPV Conference, July 05-08, 2010 Montreal, Canada
5. **R.Koiss** T.Wiebren; A.Fiander; O. Reich; B. Kirschner; „ Human papillomavirus type distribution in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europa” Poster, The 13th biennial meeting of the IGCS, okt. 23-27, 2010 Prague, Czech Republic
6. **Koiss R.**, Babarcsi E, Jeney C, Gócze P, Horányi L, Siklós P: Reconisation or repeated HPV test? P6-21 EUROGIN 2011 Lisbon Portugal, 8-11., May, 2011

Könyvfejezet:

Robert Koiss (2012). Screening Methods in Prevention of Cervical Cancer, Human Papillomavirus and Related Diseases - From Bench to Bedside - A Clinical Perspective, Davy Vanden Broeck (Ed.), ISBN:978-953-307-860-1, InTech, Available from:

<http://www.intechopen.com/articles/show/title/screening-methods-in-prevention-of-cervical-cancer>

Előadásaim:

Angol nyelven tartott előadásaim:

R.Koiss: “Is there any importance of the detection of “high-risk” HPV types in a gynecology cervical screening program ?” Congress of Hungarian Society for Microbiology 08. 2000.Hungary

R.Koiss: “Prevention of ovarian cancer.”.EAGC and III. Congress of Hungarian Association of Gynecologic Oncology, 11. 2001 Hungary

R Koiss: “ Occurance of “ high-risk” HPV types in the specimens of the conisation of patient suffering CIN”. XI. Congress of EAGO, 09.2001. Hungary

R Koiss: “What should we do, if the result of the histology indicates reconisation?” X.International Workshop on lower genital pathology and HPV disease 2010.05.07. Viareggio, Italy

R.Koiss, Babarczai E, Jeney Cs, Góczy P, Horányi D, Siklós P.: „Reconisation or repeated HPV test? What should we do if the histology of the primary conisation requires reconisation? „ 1st EAGC-ESO Congress, 16.May 2010. Hungary

Magyar nyelven tartott előadásaim ebben a témában:

Koiss R.: „A HPV kimutatás jelentősége napjainkban.” Magyar Kolposzkópos és Méhnyakkórtani Társaság Első Nagygyűlése (2004.11.26. Budapest)

Koiss R.: „ A méhnyakrák megelőzése védőoltással.” Szegedi Tudományegyetem ÁOK Családorvosi Tanszék Kötelező Szintentartó Tanfolyam (2006.09.23. Szeged)

Koiss R.: „Amire a természet nem volt képes, avagy hogyan véd a HPV elleni védőoltás.” VIII. Antibiotikum Továbbképző Szimpózium (2007.05.10-11 Miskolc)

Koiss R.: „Mit tehetünk a vírusfertőzések megelőzése érdekében, különös tekintettel a HPV infekcióra?” SZTE ÁOK 27. Consilium trimestre (2007.09.28. Szeged)

Koiss R.: „A méhnyakrák megelőzésének új generációja, avagy HPV elleni vakcináció.” Magyar Nőorvos Társaság Dél-Magyarországi és Közép-Magyarországi Szekciójának közös Kongresszusa (2007.10.12-13. Kecskemét)

Koiss R.: „Cervarix: hosszútávú védettség a méhnyakrák ellen.” XI.Budapesti Gyermekgyógyászati Továbbképző Tanfolyam (2008.03.07-08. Budapest)

Koiss R.: „A HPV elleni vakcináció gyakorlati kérdései.” Magyar Nőorvos Társaság Gyermeknőgyógyász Szekció XXVIII.Kongresszusa (2008.04.18-19 Debrecen)

Koiss R.: „Cervarix: Hosszútávú, biztos védettség a méhnyakrák ellen.” Magyar Gyermekorvos Társaság 52. Nagygyűlése (2008.04.24-26 Szeged)

Koiss R.: „ Hogyan biztosíthatunk hosszútávú, biztos védettséget a méhnyakrák ellen?” Házi Gyermekorvosok Egyesülete X. Tudományos Konferencia (2008.05.23-25 Siófok)

Koiss R.: „Kérdések és válaszok a Cervarix, méhnyakrák elleni vakcinával kapcsolatban.” Magyar Gyermekorvosok Társasága Északnyugat-Magyarországi 59. Tudományos Ülése (2008.06.06-07. Tata)

Koiss R.: „ A rák megelőzése védőoltással:méhnyakrák.” III. Belgyógyászati Kötelező Szinttartó Tanfolyam (2008.10.01-04. Budapest)

Koiss R.: „Kérdések és válaszok a méhnyakrák megelőzéssel kapcsolatban.” Magyar Nőorvos Társaság Délkelet-Magyarországi Szekciójának XXIX.Kongresszusa (2008.10.10-12. Orosháza)

Koiss R.: „ Fogamzásgátlás tinédzserkorban” Hitek és Tévhitek IX. Továbbképző Tanfolyam (2008.11.20-22. Tapolca)

Koiss R.: „ A szisztémás és lokális ellenanyagok szerepe a HPV elleni hosszútávú védettség kialakításában.” Magyar STD Társaság XIII.Nagygyűlése és a II. Venerológiai Továbbképző Tanfolyam (2008.11.20-22. Budapest)

Koiss R.: „Az immunitás jelentősége a védőoltás hatékonyságában.” Magyar Méhnyakkórtani és Kolposzkópos Társaság II. Nagygyűlése (2009.03.13. Budapest)

Koiss R.: „Cervarix: biztonságos és hatékony védelem a méhnyakrák ellen.” XII. Budapesti Gyermekgyógyászati Továbbképző Tanfolyam (2009.03.20-21. Budapest)

Koiss R.: „ Méhnyakrák elleni vakcináció a szexuálisan aktív kamaszokban.” XV. Országos Védőoltási Továbbképző Tanfolyam (2009.05.24-25. Eger)

Koiss R.: „A méhnyakrák elleni vakcináció legfrissebb kutatási eredményei.” Házi Gyermekorvosok Egyesülete XI. Tudományos Konferencia (2009.05.22-24. Siófok)

Koiss R.: „ HPV, méhnyakrák, idősebb életkor.” Magyar Menopausa Társaság VIII.Országos Kongresszus (2009.06.12-13. Balatonalmádi)

Koiss R.: „ A sikeres méhnyakrák elleni oltás titka.” Hitek és Tévhitek X. Továbbképző Tanfolyam (2009.11.12-14. Velence)

Koiss R. Babarczy E. Jenei Cs. Gőcze P. Siklós N. Siklós P.: „ A HPV törzsek megoszlása a cervicalis dysplasiák súlyossága szempontjából.” Magyar Nőorvos Társaság XXIX. Nagygyűlése (2010.05.20-22. Debrecen)

Koiss R., Babarczai E. Jenei Cs. Gőcze P. Horányi D. Siklós P.: „Hurokkimetszés-vagy HPV teszt ? Mit tegyünk, ha a hurokkimetszés szövettani értékelése újabb műtétet kívánna?” Magyar Nőorvos Társaság XXIX. Nagygyűlése (2010.05.20-22. Debrecen)

Koiss R.: „Tapasztalatok a méhnyakrák elleni vakcinációval kapcsolatban.” Magyar Nőorvos Társaság XXIX. Nagygyűlése (2010.05.20-22. Debrecen),

Koiss R.: „ A HPV, mint elsődleges szűrővizsgálat eljárás a méhnyakrák szűrésben.” Magyar Nőgyógyász Onkológus Társaság VIII. Kongresszusa (2011.11.11. Debrecen)

Koiss R.: „ A HPV-DNS, mint elsődleges szűrővizsgálat eljárás a méhnyakrák szűrésben.” Magyar Méhnyakkórtani és Kolposzkópos Társaság III. Nagygyűlése (2012.10.12. Salgótarján)

Összesített impakt faktor: 9.853