

Human papilloma vírus (HPV) tipizálás és újonnan kifejlesztett HPV kimutatási eljárások, illetve a HPV triage-ban új potenciálisan alkalmazható biomarkerek vizsgálata a méhnyaki elváltozások diagnosztikájában

Doktori tézisek

Dr. Benczik Márta Judit

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Sobel Gábor, Ph.D., egyetemi adjunktus

Hivatalos bírálók: Dr. Szánthó András, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Tóth Erika, Ph.D., főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Vásárhelyi Barna, D.Sc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Györffy Balázs, D.Sc., tud. főmunkatárs
Dr. Folyovich András, Ph.D., oszt. vez. főorvos

Budapest
2018

Bevezetés

A human papilloma vírus (HPV) kóroki szerepe a méhnyakrák etiológiájában már több évtizede bizonyított. Az eset-kontroll és prevalencia tanulmányok adatai szerint a HPV örökítő anyaga a carcinoma planocellulare (laphámsejtes carcinoma, SCC, squamosus cell carcinoma) 96,6%-ában és az adenocarcinoma (mirigyhámsejtes carcinoma, AC) és a kevert típusú carcinomák (SCC+AC) 91,9%-ában kimutatható.

A HPV fertőzés jelentős százalékban átmeneti jellegű és tünetmentesen elmúlik, azonban kis százalékban tartós maradhat, melynek talaján az évek során méhnyakrák alakulhat ki. Bizonyítottan a méhnyakrák kialakulásának feltétele és rizikó tényezője a tartós, perzisztáló, a rák kialakulása szempontjából magas kockázati csoportba sorolt genotípusú, úgynevezett magas kockázatú (hr, high risk) HPV fertőzés. Az hrHPV tesztek többsége a következő 14 hHPV genotípust vizsgálja: HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 és 68.

A hrHPV tesztet széles körben alkalmazzák a citológia alapú szűrésben a bizonytalan citológia diagnózisok triage tesztjeként, illetve a kezelés utáni surveillance módszereként. A hrHPV genotípusok egyedi meghatározása, a genotipizálás egyben lehetőséget ad a HPV pozitív betegek típusspecifikus követésére, rizikóbecslésére, illetve a HPV oltás során a már szexuális életet megkezdett nők körében az oltási típusokkal való fertőzöttség meghatározására.

Különböző klinikai vizsgálatok eredményei azt igazolták, hogy a HPV teszt a citológiához képest tovább javítja az elsődleges szűrés hatékonyságát. A legújabb európai és amerikai ajánlások a HPV tesztet önállóan, mint elsődleges méhnyakszűrő tesztet alkalmazzák. A nagy befogadóképességű HPV kimutatási technológiák kifejlesztése fontos a fent említett klinikai igények kielégítésére.

A hrHPV pozitív nők további vizsgálata (HPV triage) szükséges a hrHPV alapú szűrés specificitásának növelése érdekében, ugyanis az egyszeri HPV teszt nem ad információt arról, hogy elindult-e sejtek

transzformációja, vagy csak átmeneti fertőzésről van szó. HPV triage-ra javasolt protokollok különbözőek a világban, és jelenleg is zajló vizsgálatok tárgya. A HPV triage-ban alkalmazott citológia mellett a biomarkerek potenciális jelöltek, melyek a HPV fertőzés talaján kialakuló elváltozások progressziójának hátterében álló biológiai folyamatok azonosítására alkalmasak, specifikus, objektív molekuláris technológiákat alkalmazva.

Célkitűzések

A méhnyakrák és premalignus elváltozásainak vizsgálatát tűztük ki célul, amelyet a molekuláris diagnosztikai módszerek fejlesztésével, a klinikai adatok tükrében vizsgáltunk.

A következő kérdéseket foglalmaztuk meg:

1. A HPV fertőzések epidemiológiai kérdéseinek tanulmányozása a HPV tipizálási eredmények tükrében, a Genoid laboratóriumba magyarországi beküldő intézményektől érkezett mintákon [1], illetve a női szexmunkások magas rizikójú csoportjában gyűjtött cervikális garat és anális mintákon [2].
2. Újonnan kifejlesztett real-time PCR alapú HPV teszt klinikai teljesítőképességének meghatározása klinikailag validált HPV teszttel végzett összehasonlító vizsgálattal [3] [4].
3. Új potenciális biomarkerek klinikai teljesítőképességének meghatározása a Claudin1 és p16^{INK4a} fehérje immunkémia festésével [5].
4. További új molekuláris technológiájú biomarker kutatása a méhnyakrákokban megfigyelhető micro-RNS expressziós mintázat változás cervikális patológiában betöltött szerepének feltérképezésére [6].

Módszerek és betegek/páciensek

Célkitűzés 1: A GenoID Molekuláris Diagnosztikai Laboratóriumban 2005/2006-ban **6447 HPV genotipizálást** végeztünk a laboratóriumba HPV vizsgálatra érkezett cervix, urethra, ondó, anus, condyloma, hámkaparék, hüvelyváladék mintákból (összes vizsgált mintaszám: n=12345). A HPV DNS kimutatását a laboratórium által fejlesztetett Full Spectrum HPV Amplifikációs és Detektáló teszttel végeztük, majd a hrHPV (high risk, magas kockázatú) pozitív minták PCR termékeit egyedileg genotipizáltuk. A GenoID HPV detektáló és genotipizáló rendszerére Full Spectrum L1F/L1R-HPV tesztként (Genoid, Hungary, Budapest) hivatkozom a dolgozatomban. A **Full Spectrum L1F/L1R-HPV teszt egyedileg genotipizálja a 14 hrHPV típust: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 és 68;** csoportban detektálja a következőket: (1) az **5 lrHPV** (low-risk, alacsony kockázatú) genotípust: 6, 11, 42, 43, 44; (2) a **29 NA-HPV** (NA, kockázati csoportba nem sorolt) genotípust: 2a, 3, 7, 10, 13, 26, 27, 28, 29, 30, 34, 40, 53, 54, 57, 61, 67, 70, 72, 73, 74, 81, 82, 83, 84, 85, 89, 90 és 91.

A **női szex munkások** („female sex workers”, FSW) illetve kontroll csoport összehasonlító vizsgálatában tanulmányoztuk a **szexuális szokások és a cervikális, anális, és pharyngeális HPV fertőzés előfordulásának gyakorisága közötti összefüggéseket.** A Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karán történt a minták gyűjtése. A FSW (n=34) és kontroll csoport (n= 52) minden vizsgálati alanyának mindhárom testtájáról mintát gyűjtöttek, és szexuális és egyéb szokásaikról kérdőívet töltettek ki. A HPV genotipizálást a Genoid Laboratóriumban a Full Spectrum L1F/L1R-HPV tesztel végeztük, értékeltük.

Célkitűzés 2: A dolgozat második célkitűzése a megnövekedett HPV diagnosztikai kapacitás igényeknek kielégítésére alkalmas, **nagy áteresztőképességű HPV kimutatási eljárás kifejlesztése, klinikai validálása.** A dolgozatomban a Genoid laboratórium által két újonnan kifejlesztett multiplex, egylépéses, HPV típusspecifikus „molecular

beacon” próbákat alkalmazó real-time-PCR alapú HPV tesztet vizsgáltunk: (1) MBRT-HPV (Genoid, Hungary, Budapest), és a (2) MBRT-HPV-ABI (Genoid, Hungary, Budapest) az ABI7900 platformra adaptált verzióját, egy klinikailag validált HPV tesztel végzett összehasonlításban. A **MBRT-HPV teszt a 14+1 hrHPV típust csoportban mutatja ki** (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 és a feltételezetten magas kockázatú HPV26) és **csoportban detektálja az 5 lrHPV típust** (6, 11, 42, 43, 44). A **MBRT-HPV-ABI teszt 3 csoportban detektál:** (1) **HPV16/18** csoport (HPV16, 18); (2) **egyéb 12hrHPV** csoport; (HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68); (3) **lrHPV csoport (HPV6, 11).**

A vizsgálatok során a Genoid laboratóriumba Full Spectrum L1F/L1R-HPV vizsgálatra érkezett maradék mintákat (n=161) a MBRT-HPV tesztel, illetve egy írországi laboratóriummal együttműködésben a CERVIVA study (Irish Cervical Screening Research Consortium) keretén belül citológiai elváltozással kolposzkópiára utalt betegektől levett maradék LBC (liquid based cytology) cervix mintákat (n=241) a MBRT-HPV-ABI tesztel vizsgáltunk. **A MBRT-HPV teszt összehasonlító vizsgálatában a Full Spectrum L1F/L1R-HPV teszthez, míg a MBRT-HPV-ABI teszt esetében a HC2 (Qiagen, Hilden, Germany), és a Full Spectrum L1F/L1R-HPV (Genoid, Hungary, Budapest) tesztekhez képest vizsgáltuk az új HPV teszt teljesítményét,** az eltéréseket e CERVIVA study minták esetében Linear Array-HPV (Roche, Mannheim, Germany) tesztel tovább vizsgáltuk, genotipizáltuk. Az eredményeket, ahol lehetséges volt a klinikai végpontok (citológia, hisztológia) függvényében is elemeztük.

Célkitűzés 3: A dolgozat harmadik célkitűzéseként a **citológia- illetve HPV triage-ban alkalmazott immunkémiai biomarkereket** vizsgáltam. A szerzőtársaimmal együtt **a már publikált biomarker, a p16^{INK4a} és egy új biomarker, a claudin1 (CLDN1) immunhisztokémiai/immuncitokémiai tesztek adatait értékeltem** a gold standard szövettanhoz képest, egy eset-kontroll tanulmányban hagyományos kenetcitológia és LBC citológia mintákon (n=502). Az immunfestések értékelése bizonyos esetekben a morfológia figyelembe

vételével történt, az immunfestések citológia és HPV triage elrendezésben való alkalmazásával. A Full Spectrum L1F/L1R-HPV vizsgálatokat a Genoid laboratóriumban én értékeltem, a rutin citológia. hisztológia értékelést szerzőtársaim végezték. Az immunfestéseket szerzőtársaim értékelték a közösen kialakított szempontok szerint.

Célkitűzés 4.: A dolgozat negyedik célkitűzéseként egy kisebb mintaszámú vizsgálatban vettem részt, melyben molekuláris biomarker vizsgálatokat végeztünk retrospektív módon a Pécsi Tudományegyetem archív méhnyakrákos mintáin. Elsődleges célunk az volt, hogy feltérképezzük **micro-RNS (miR) expressziós mintázat változásainak cervikális patológiában betöltött szerepét**, illetve másodlagos célként a **különböző típusú rákos szövetminták HPV fertőzöttségével mutatott korrelációit** is tanulmányoztuk. A humán méhnyakrák formalin-fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetmintáit (AC: n=22, SCC: n=25) a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Patológiai Intézetének archívumából véletlenszerűen választották ki elemzésre, a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán 2007-2010 között diagnosztizált betegek mintái közül. A méhnyakrákok miR expressziós profiljainak vizsgálatát Pécsi Tudományegyetemen végezték, a Full Spectrum L1F/L1R-HPV vizsgálatokat a Genoid laboratóriumban végeztük.

Eredmények

Célkitűzés 1: A GenoID laboratóriumba a két év alatt 12354 minta érkezett, melyből **6447 HPV genotipizálást végeztünk**. 2006-ban a vizsgált minták többsége cervikális minta volt (n=8033) melynek 41%-a adott HPV-DNS pozitív eredményt. Az egyéb típusú minták száma jelentősen alacsonyabb volt (n = 475) és a pozitivitási arányuk széles skálán mozgott. A HPV pozitivitási ráta a kondilóma/szövet (73-74%) és az anális (67%) mintákban volt a legmagasabb, míg az ondó (10%) esetében a legalacsonyabb. A HPV-DNS-pozitív minták kockázati típusok szerinti eloszlása alapján a **HPV fertőzések legtöbbször magas**

kockázatú (67%) típusok voltak, míg az alacsony kockázatúak 8,6%-ban voltak kimutathatók. A kockázati csoportba nem sorolt rizikójú típusok 14,3 %-kal a második leggyakoribb csoportot képezték a pozitív mintákban. A 2005/2006-ban a hrHPV tipizálási eredményeket genotípusonkénti csoportosításban összesítve mindkét évben, a **legmagasabb százalékban a 16-os típus** mutattuk ki (15,9%, 20,5%). Ezt követően 2006-ban a **leggyakoribb HPV típusok a 31, 51, 66, 56, 58, 33, 39 és a 18 voltak**. Mindkét évben a **monovalens fertőzések aránya magas volt (75%), a bivalens fertőzések képezték a minták 18-20%-át és 5% körüli a volt a kettőnél több típus a mintákban**.

A másik epidemiológia tanulmányunkban HPV fertőzés magas prevalenciáját mutattuk ki a fertőzés kockázatának kitett szexmunkások cervikális, garat és anális mintáiban. A FSW-ek mintái közül legalább egy HPV DNS pozitív volt az esetek nagy többségében (82,4%), míg a kontroll nők mintáinak kevesebb, mint a fele (46,2%) volt HPV fertőzött. A FSW-ek közel fele (44%) míg a kontrollok kevesebb, mint tíz százaléka egynél több régióban volt HPV pozitív. Nem mutattunk ki statisztikailag szignifikáns összefüggést a szexuális partnerek száma és az együttes HPV fertőzések száma között. **Szignifikáns összefüggés volt megfigyelhető a FSW-ek promiszkuitás mértéke és a teljes HPV (hrHPV + lrHPV + NA-HPV), a hrHPV illetve többszörös HPV fertőzés magasabb prevalenciája között**. A FSW méhnyaki és anális mintái szignifikánsan magasabb arányban mutattak HPV fertőzöttséget, mint a kontroll csoport (64,7% vs. 34,6% $p < 0,05$ és 50,0% vs. 15,4%, $p < 0,05$). A FSW-ek garatmintáiban kimutatható magasabb HPV prevalencia (20,6% vs. 7,7%, $p = 0,10$) nem mutatott szignifikáns összefüggést az orális szex gyakoriságával. A hrHPV prevalencia szintén szignifikánsan magasabb volt az FSW-ek (55,9% vs. 25,0%, $P < 0,05$) mintáiban. **A hrHPV pozitív mintákban a HPV31 volt a leggyakoribb (19,3%) - különösen a FWS mintákban -, ezt követték az alábbi típusok 16, 66, 18, 51, 58 és 56 (14%, 10,5%, 8,8%, 8,8%, 8,8%, 7,0%)**. A HPV31, 16, 18, 58, 66 és 33 főleg a FSW mintáiban volt pozitív, míg a HPV 51 elősorban a kontroll csoportban fordult elő, bár a két csoportban a genotípusok eloszlásában megfigyelt

különbségek statisztikailag nem voltak szignifikánsak. A FSW-ek szignifikánsan nagyobb hányadának volt genitális szemölcsse életében (26,5% vs. 3,8%, $p < 0,05$).

Célkitűzés 2.: A Genoid laboratóriumban végzett klinikai vizsgálatokban a Full Spectrum L1F/L1R-HPV és a MBRT-HPV tesztet összehasonlítva az **egyezés 89,44%-os** volt a hrHPV fertőzések kimutatására. Az összehasonlító vizsgálat alapján a **MBRT-HPV teszt becsült szenzitivitása 95,45% (63/66) a becsült specificitása 91,57% (87/95)**. Az MBRT-HPV teszt hrHPV eredménye néhány lrHPV típusal keresztreakciót adott. Az ír laborban végzett MBRT-HPV-ABI teszt összehasonlító vizsgálatában a három HPV DNS teszt hrHPV prevalenciája az alábbi értékeket mutatta: 78,8 (186/236) Full Spectrum L1F/L1R-HPV, 83,3% (195/234) HC2, 78,8% (166/211) MBRT-HPV-ABI. A tesztek egyezése a HC2 teszthez képest az alábbi volt: Full Spectrum L1F/L1R-HPV 94,6% ($\kappa = 0,792$), MBRT-HPV-ABI 87,4% ($\kappa = 0,532$). **Nem volt szignifikáns különbség a Full Spectrum L1F/L1R-HPV és a HC2 teszt között a hrHPV detektálásában.** A MBRT-HPV-ABI és a HC2 teszt között szignifikáns különbség volt (McNemar's Test, $p = 0,0164$). A három HPV teszt hrHPV prevalenciáit a citológiai kategóriákon belüli vizsgálva megállapítható, hogy a Full Spectrum L1F/L1R-HPV és a HC2 mindenütt hasonlóan jó eredményt mutatott, míg a MBRT-HPV-ABI HPV kimutatási rátája alacsonyabb mindegyik citológiai kategóriában. **A HC2, Full Spectrum L1F/L1R-HPV és a MBRT-HPV-ABI teszt szenzitivitásai 98,3%, 97,4% és 93,9% voltak, míg a PPV a HC2, Full Spectrum L1F/L1R-HPV és MBRT-HPV-ABI teszt esetében 94,1%, 94,1% és 97,3% értékeket mutatott a CIN2+ hisztológiai diagnózisra vonatkozóan.** A HPV genotípusok LA-HPV teszttel végzett meghatározását használtuk a három vizsgált HPV-DNS teszt eltérő hrHPV eredményeinek a feloldására. A leggyakoribb álnegatív típusok a HPV16 (9/16) és a HPV51 (4/16) voltak a MBRT-HPV-ABI- teszt esetében. Az álpozitív minták lrHPV genotípusokat tartalmaztak (53, 73, 42, 54)

Céltűzés 3.: A citológia (ASCUS+), a hrHPV és az immunkémia (immuncitokémia – IC és immunhisztokémia - IH) tesztek teljesítményének összehasonlításában specifikusabbak voltak a biomarkerek (CLDN1 és p16^{INK4a}, különösen a MASM (morphological reading adjusted scoring method, morfológiát figyelembe vevő értékelési módszer) értékeléssel, amely felülmúlta a citológia, vagy a HPV teszt specificitását [77,0% (69,6-83,6) a IC-CLDN1, 85,1% (78-90,8) az IC-p16^{INK4a}, 69,3% (63,6-74,8) IH-CLDN1, 91,2% (86,4-94,4) IH-p16^{INK4a} vs. 66,5% (61,1-71,2) citológia és 61,4% (57,4-63,6) HPV]. Mind az IC mind az IH vizsgálatok kombinációi nagyobb érzékenységet mutattak együtt, mérsékelt specificitás csökkenés mellett. A triage tesztként alkalmazott IC-p16^{INK4a} specificitása magasabb (81-86% intervallumban az értékelési és triage algoritmustól függően), de szenzitivitása alacsonyabb (58-76%) volt, mint az IC-CLDN1. IC tesztek kombinációját megvizsgáltuk citológiai és HPV triage felállásban MASM értékelés szerint. A kombinált értékelés hatására a specificitásuk jelentősen emelkedett gyenge szenzitivitásbeli csökkenés mellett. Elsősorban a citológia triage-ban alkalmazott IC-CLDN1-p16^{INK4a} kombináció adta a legmagasabb értékeket: szenzitivitás 70,5% (62,4-76,9), specificitás 72,7% (57,7-84,7).

Céltűzés 4.: Elemzésünk szerint a célzott miRNS vizsgálatok a **miR21, miR-27a, miR-34a, miR-155, miR-196a, miR-203 és miR-221** expressziós profilokban lényeges eltérést mutatott a két vizsgált szövettani típusú méhnyakrák (SCC, AC). A HPV pozitív SCC, AC mintákban a miR-21, miR-27a, miR-34a, miR-196a és miR-221 expresszióban szintén szignifikáns eltérést mutatunk ki, **azonban a miR-155 és a miR-203 esetében ezt nem sikerült igazolnunk.** A Szülészet és Nőgyógyászat Nemzetközi Szövetség (FIGO) **méhnyakrák stádiumai között statisztikailag szignifikáns különbséget tudtak kimutatni szerzőtársaim bizonyos miR expressziók esetében.**

Következtetések

Célkitűzés 1: Az általunk végzett HPV genotipizálás eredményei **epidemiológiai információt szolgáltatnak a HPV genotípusok eloszlásáról a hazai populációkban 2005 és 2006 években.** Ezalatt a két év alatt években a Full Spectrum L1F/L1R-HPV teszttel egy hazai viszonylatban jelentős mintaszámú, **6447 HPV genotipizálás** vizsgálaton alapuló elemzést végeztünk a HPV genotípusok előfordulási gyakoriságáról, és a multivalens fertőzések gyakoriságát is meghatároztuk. A tipizálási eredményeket genotípusonkénti csoportosításban összesítve mindkét évben a legmagasabb százalékban a **HPV16 fordult elő a legnagyobb százalékban a HPV-DNS-pozitív mintákban.** Ezt követően 2006-ban a leggyakoribb HPV típusok a **HPV31, 51, 66, 56, 58, 33, 39 és a 18 voltak.** A kettő és négy komponensű HPV preventív vakcinálással megelőzhető HPV16 és HPV18 genotípusok együttesen 25,2%-ban fordultak elő a HPV-DNS-pozitív mintákban.

A HPV fertőzés magas prevalenciáját mutattuk ki a szexmunkások cervikális, garat és anális mintáiban és kontroll csoport mintákhoz képest. Ez megerősíti, hogy a **promiscuális szexuális viselkedés a genitális HPV fertőzés megszerzésének domináns rizikó faktora.** Eredményeink alátámasztják a promiszkuitás szerepét a megnövekedett oropharyngeális HPV fertőzés gyakoriságában. Magasabb HPV prevalencia volt kimutatható a FSW-ek és a kontroll csoport végbél mintáiban mind az anális szexet nem gyakorlóknál, mind az anális szexet gyakorlóknál. **Eredményeink arra utalnak, hogy nincs összefüggés az anális szex gyakorlása és a végbél nyálkahártya HPV fertőződése között.** Jelen tanulmány eredményei **Magyarországon elsőként nyújtanak betekintést a szexmunkások HPV prevalencia adataiba,** mely megállapítások hasznosak lehetnek a közép- és kelet-európai szexmunkások nagyobb, átfogóbb elemzését célzó további vizsgálatok tervezése számára.

Célkitűzés 2: Az európai ajánlások szerint az új HPV tesztek klinikai teljesítőképességét a HC2 teszthez, vagy klinikailag validált teszthez képest ajánlott értékelni. A Genoid laboratórium újonnan fejlesztett MBRT-HPV tesztet a Full Spectrum L1F/L1R-HPV teszttel hasonítottuk össze, melyről ismert volt, hogy HC2 teszttel hasonló teljesítményt mutat. A MBRT-HPV teszt ABI7900 platformra továbbfejlesztett változatát (MBRT-HPV-ABI) és a Full Spectrum L1F/L1R-HPV tesztet a HC2 teszttel hasonlítottuk össze egy ír laboratóriummal együttműködésben. A HC2 teszttel összehasonlítva a Full Spectrum L1F/L1R-HPV és a MBRT-HPV-ABI tesztek hrHPV genotípusokra vonatkozó eredményeit, a Full Spectrum L1F/L1R-HPV és a HC2 teszt nagyobb konkordanciát mutatott, mint a MBRT-HPV-ABI és a HC2 teszt, és nem volt statisztikai különbség a HC2 és a Full Spectrum L1F/L1R-HPV tesztek között. **Összességében a MBRT-HPV-ABI teszt valamivel kevésbé volt érzékeny, mint akár a HC2 vagy a Full Spectrum L1F/L1R-HPV teszt.** A MBRT-HPV és MBRT-HPV-ABI tesztek korlátja, hogy **keresztreakció**t adott néhány alacsony kockázatú típus a magas kockázatú csatornában, illetve a vizsgált teszteknel **gyengébb szenzitivitást mutatott a HPV16 típus kimutatására.** Ezért a **MBRT-HPV teszt további fejlesztése szükséges lehet.**

Célkitűzés 3: Új potenciális biomarker klinikai teljesítőképességének meghatározása történt CLDN1 immunreakcióval, összevetve a már korábban ajánlott p16^{INK4a} reakcióval. A **CLDN1 hasonló teljesítményt mutatott, mint a p16^{INK4a},** azonban annál **kevesbé specifikus eredményt** adott. A citológia triage IC-CLDN1-p16^{INK4a} MASM értékeléssel hasonló teljesítményt mutatott, mint a HPV triage IC-p16^{INK4a} értékeléssel. Ez kiemeli a cervikális kenet immunkémiai morfológiai értékelés szerepét és arra hívja fel a figyelmet, hogy a **citológia teljesítményét javítani** lehet annak érdekében, hogy a HPV alapú szűrés technológiákkal versenyképes maradjon. Bár azt találtuk, hogy bizonyos előnyöket nyújt a morfológia kombinációja immuncitokémiával, sem a morfológia, sem a biomarkerek egyedül vagy kombinációkban nem voltak képesek arra, hogy kiemelkedően jó teszt

teljesítményt nyújtsanak. A biomarkerek további kutatásai a cervikális carcinogenesis folyamatának jobb megértéséhez vezethetnek és végső soron a méhnyaki diagnosztikai tesztek jobb diagnosztikai teljesítményét eredményezhetik.

Célkitűzés 4: Vizsgálatunkban kimutattuk, hogy a **miRNS profilok segítségével meg lehet különböztetni a méhnyakrák két leggyakoribb szövettani típusát** (SCC, ACC). Szignifikáns különbséget igazoltunk a HPV pozitív két szövettani típus között a miR-21, miR-27a, miR-34a, miR-196a és miR-221 expressziójában. A miR-146a expressziója is méhnyakrák-specifikus, de bebizonyosodott, hogy független a rák szövettípusától vagy a HPV fertőzéstől.

A tézisekben tárgyalt saját publikációk

1. Benczik M. (2008) [HPV genotypes detected by GenoID laboratory in Hungary at 2005/2006] HPV-genotípusok Magyarországon a Genoid laboratórium 2005/2006-ban végzett 12000 vizsgálata alapján STD és Genitális Infektológia, 2: 10-16.
2. Marek E, Dergez T, D'Cruz G, Bozsa S, Cseh A, Szilard I, Benczik M, Kiss I, Varszegi D, Vilagi S, Ember I, Gocze P. (2013) Human papillomavirus infections among Hungarian female sex workers. Eur J Cancer Care (Engl), 23: 65-75. (IF:1,564)
3. Takacs T, Jeney C, Kovacs L, Mozes J, Benczik M, Sebe A. (2008) Molecular beacon-based real-time PCR method for detection of 15 high-risk and 5 low-risk HPV types. J Virol Methods, 149: 153-162. (IF:2,077)
4. Keegan H, Pilkington L, McInerney J, Jeney C, Benczik M, Cleary S, von Bunau G, Turner M, D'Arcy T, S OT, Pal-Szenthe B, Kaltenecker B, Mozes J, Kovacs A, Solt A, Bolger N, O'Leary J, Martin C. (2014) Human papillomavirus detection and genotyping, by HC2, full-spectrum HPV and molecular beacon real-time HPV assay in an Irish colposcopy clinic. J Virol Methods, 201: 93-100. (IF:1,781)
5. Benczik M, Galamb A, Koiss R, Kovacs A, Jaray B, Szekely T, Szekerczes T, Schaff Z, Sobel G, Jeney C. (2016) Claudin-1 as a Biomarker of Cervical Cytology and Histology. Pathol Oncol Res, 22: 179-188. (IF: 1,736)
6. Gocze K, Gombos K, Juhasz K, Kovacs K, Kajtar B, Benczik M, Gocze P, Patczai B, Arany I, Ember I. (2013) Unique microRNA expression profiles in cervical cancer. Anticancer Res, 33: 2561-2567. (IF: 1,872)

A tézisekben nem tárgyalt saját publikációk

1. Szekerczes T, Galamb A, Kocsis A, Benczik M, Takacs T, Martonos A, Jaray B, Kiss A, Jeney C, Nyiri M, Schaff Z, Sobel G. (2017) Dual-Stained Cervical Cytology and Histology with Claudin-1 and Ki67. *Pathol Oncol Res.* (IF:1,736)
2. Kocsis A, Takacs T, Jeney C, Schaff Z, Koiss R, Jaray B, Sobel G, Pap K, Szekely I, Ferenci T, Lai HC, Nyiri M, Benczik M. (2017) Performance of a new HPV and biomarker assay in the management of hrHPV positive women: Subanalysis of the ongoing multicenter TRACE clinical trial (n > 6,000) to evaluate POU4F3 methylation as a potential biomarker of cervical precancer and cancer. *Int J Cancer*, 140: 1119-1133. (IF:6,513)
3. Varga N, Mozes J, Keegan H, White C, Kelly L, Pilkington L, Benczik M, Zsuzsanna S, Sobel G, Koiss R, Babarcsi E, Nyiri M, Kovacs L, Attila S, Kaltenecker B, Geresi A, Kocsis A, O'Leary J, Martin CM, Jeney C. (2017) The Value of a Novel Panel of Cervical Cancer Biomarkers for Triage of HPV Positive Patients and for Detecting Disease Progression. *Pathol Oncol Res*, 23: 295-305. (IF:1,736)
4. Toth J, Urban E, Osztie H, Benczik M, Indra A, Nagy E, Allerberger F. (2016) Distribution of PCR ribotypes among recent *Clostridium difficile* isolates collected in two districts of Hungary using capillary gel electrophoresis and review of changes in the circulating ribotypes over time. *J Med Microbiol*, 65: 1158-1163. (IF:2,159)
5. Galamb A, Benczik M, Zinner B, Vigh E, Baghy K, Jeney C, Kiss A, Lendvai G, Sobel G. (2015) Dysregulation of microRNA expression in human cervical preneoplastic and neoplastic lesions. *Pathol Oncol Res*, 21: 503-508.
6. Lindemann MJ, Hu Z, Benczik M, Liu KD, Gaffen SL. (2008) Differential regulation of the IL-17 receptor by gammac cytokines: inhibitory signaling by the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Biol Chem*, 283: 14100-14108. (IF:5,520)
7. Younes SA, Csire M, Palyi B, Mikala G, Valyi-Nagy I, Cseh I, Benczik M, Jeney C, Takacs T, Simon E, Fulop V, Berencsi G, Fekete G, Visy M. (2007) Endotoxins do not influence transplacental transmission of lymphotropic human herpesviruses and human papillomaviruses into amniotic fluid taken from healthy mothers before parturition in Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 54: 279-303.
8. Benczik M, Gaffen SL. (2004) The interleukin (IL)-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes. *Immunol Invest*, 33: 109-142.
9. Lindemann MJ, Benczik M, Gaffen SL. (2003) Anti-apoptotic signaling by the interleukin-2 receptor reveals a function for cytoplasmic tyrosine residues within the common gamma (gamma c) receptor subunit. *J Biol Chem*, 278: 10239-10249. (IF:6,482)

