

Cervixtumorok és preblasztomák kialakulását, prognózisát befolyásoló allélpolimorfizmusok vizsgálata

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Cseh József

Programvezető: Prof. Dr. Ember István

Témavezető: Dr. Kiss István

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Pécs, 2012

TARTALOMJEGYZÉK

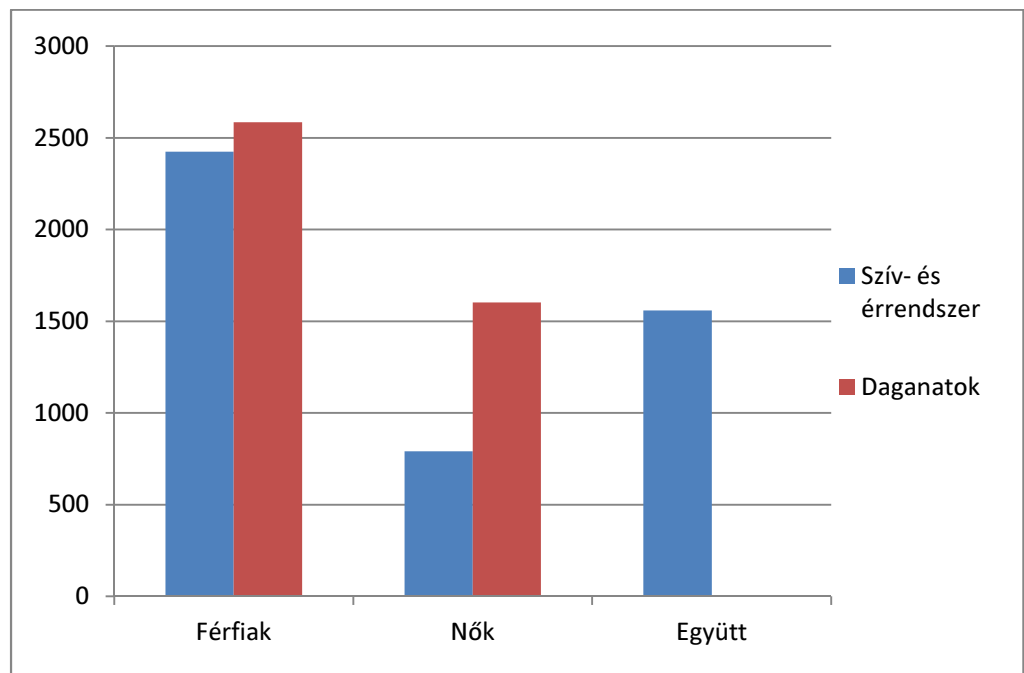
I.	BEVEZETÉS.....	4
	I.1. A daganatos megbetegedések jelentősége.....	4
	I.2. A méhnyakrák epidemiológiája.....	7
	I.3. A méhnyakrák szűrése.....	12
	I.4. A méhnyakrák főbb kockázati tényezői.....	13
	I.4.1. Humán papillomavírus.....	13
	I.4.2. További kockázati tényezők.....	17
	I.5. Személyiség, mint kockázati tényező.....	21
	I.5.1. Dopaminerg rendszerek, dopamin receptorok	21
	I.5.1.1. Dopamin receptor D2 (DRD2) <i>Taq1A</i> polimorfizmus..	22
	I.6. Metabolizáló enzimek.....	25
	I.6.1. Glutation-S-transzferáz (GST) enzim-szupercsalád.....	26
	I.6.1.1. Glutation-S-transzferáz M1 (GSTM1).....	30
	I.6.1.2. Glutation-S-transzferáz T1 (GSTT1).....	30
	I.6.2. GSTM1 GSTT1 0 genotípus és a daganatkialakulás kockázata ..	31
II.	CÉLKITŰZÉSEK.....	34

III.	ANYAG ÉS MÓDSZER.....	35
	III.1. HPV-vizsgálat.....	37
	III.2. Allélpolimorfizmusok vizsgálata.....	38
	III.2.1. GSTM1 és GSTT1 genotipizálás.....	38
	III.2.2. DRD2/ANKK1 genotipizálás.....	39
	III.3. Statisztikai módszerek.....	40
IV.	EREDMÉNYEK.....	41
	IV.1. DRD2/ANKK1 polimorfizmus hatásának vizsgálata. A diszplázia kialakulásának kockázatára gyakorolt hatás.....	41
	IV.2. A DRD2/ANKK1 polimorfizmus hatása a prognózisra.....	43
	IV.3. A GSTM1 és a GSTT1 allélpolimorfizmusok hatása a cervix-diszplázia kialakulására.....	45
V.	MEGBESZÉLÉS.....	48
VI.	SAJÁT EREDMÉNYEK.....	59
VII.	RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	61
VIII.	IRODALOM.....	62
IX.	SAJÁT PUBLIKÁCIÓK.....	79
X.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	87

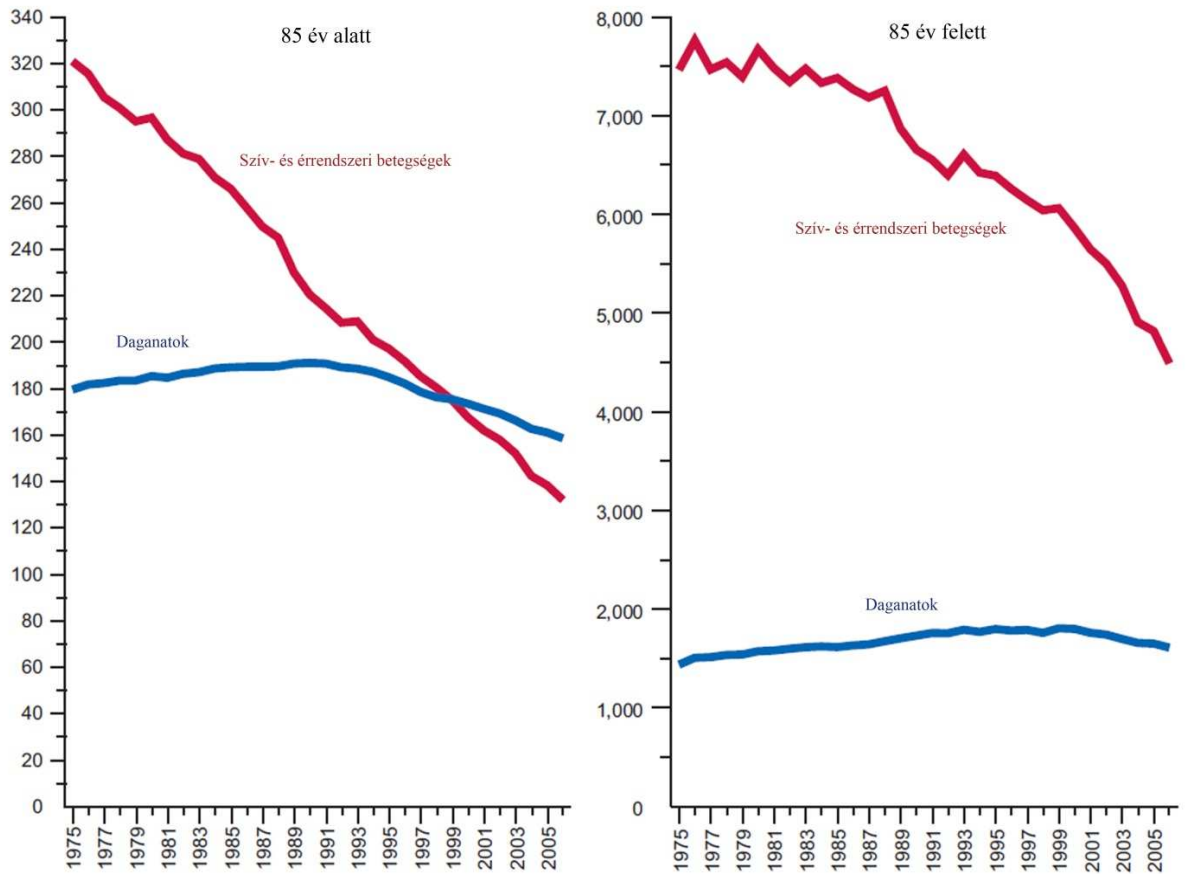
I. BEVEZETÉS

I.1. A daganatos megbetegedések jelentősége

A daganatok okozta halálozások a fejlett országokban a második helyen állnak a szív- és érrendszeri megbetegedések után. Ezzel szemben, ha azt is figyelembe vesszük, hogy a halálozás milyen életkorban következett be, akkor a potenciálisan elvesztett életévek tekintetében a daganatok képezik a legfontosabb halálokot (1. ábra). Ugyancsak aláhúzza a daganatos megbetegedések jelentőségét, hogy a kardiovaszkuláris betegségekkel ellentétben a daganatos mortalitási ráták még a fejlett országokban sem csökkentek jelentősen az utóbbi évtizedek során (2. ábra).

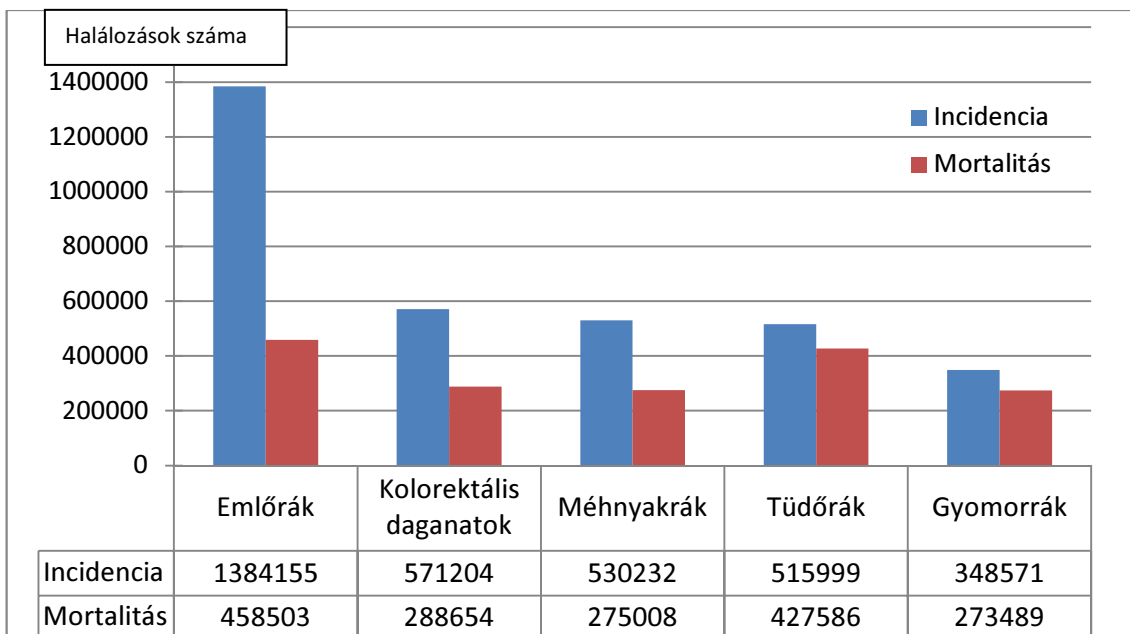


1.ábra: Potenciálisan elvesztett életévek, Magyarország, 2009, KSH

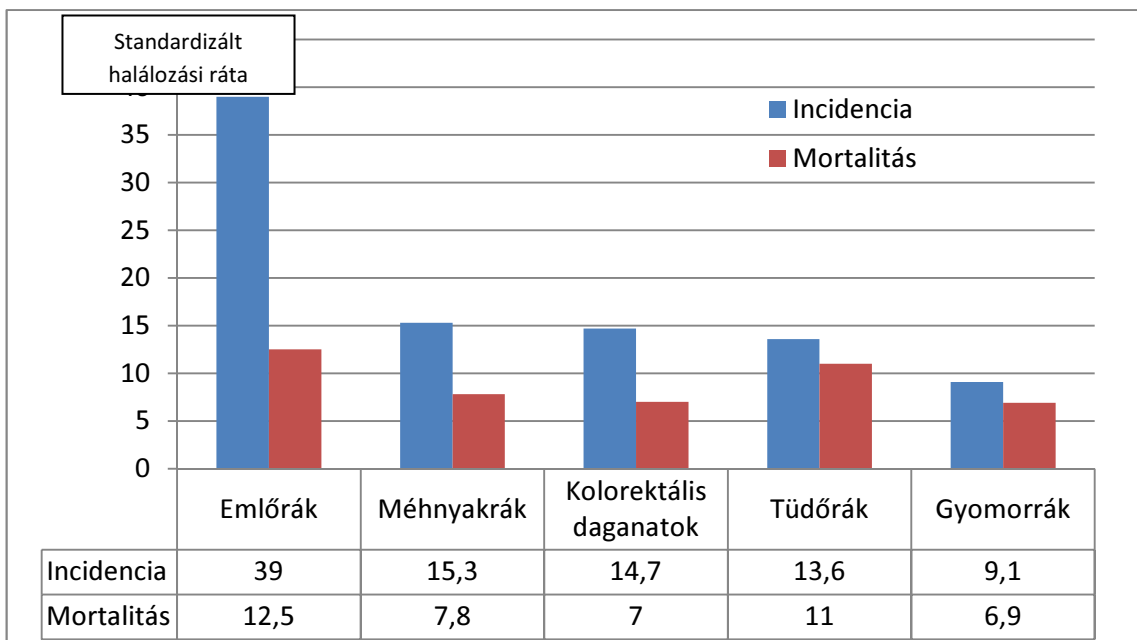


2. ábra: A szív és érrendszeri- illetve a daganatos halálozások száma (100.000 főre vonatkoztatva) az elmúlt 40 évben az USA-ban (Jemal, 2010).

A nők daganatos megbetegedéseit tekintve a világon a legtöbb nő emlőrákban betegszik meg. A második helyet a kolorektális daganatok, a harmadikat pedig a méhnyakrák foglalja el. Ha a nyers számok helyett a világ népességére életkor szerint standardizált rátákat számítunk, akkor a méhnyakrák a harmadik helyről előlép a második legfontosabb női daganatos halálókká (3-4. ábra).



3 ábra: Az 5 legfontosabb női daganatos halálok, világ, 2008. (Globocan, 2008)

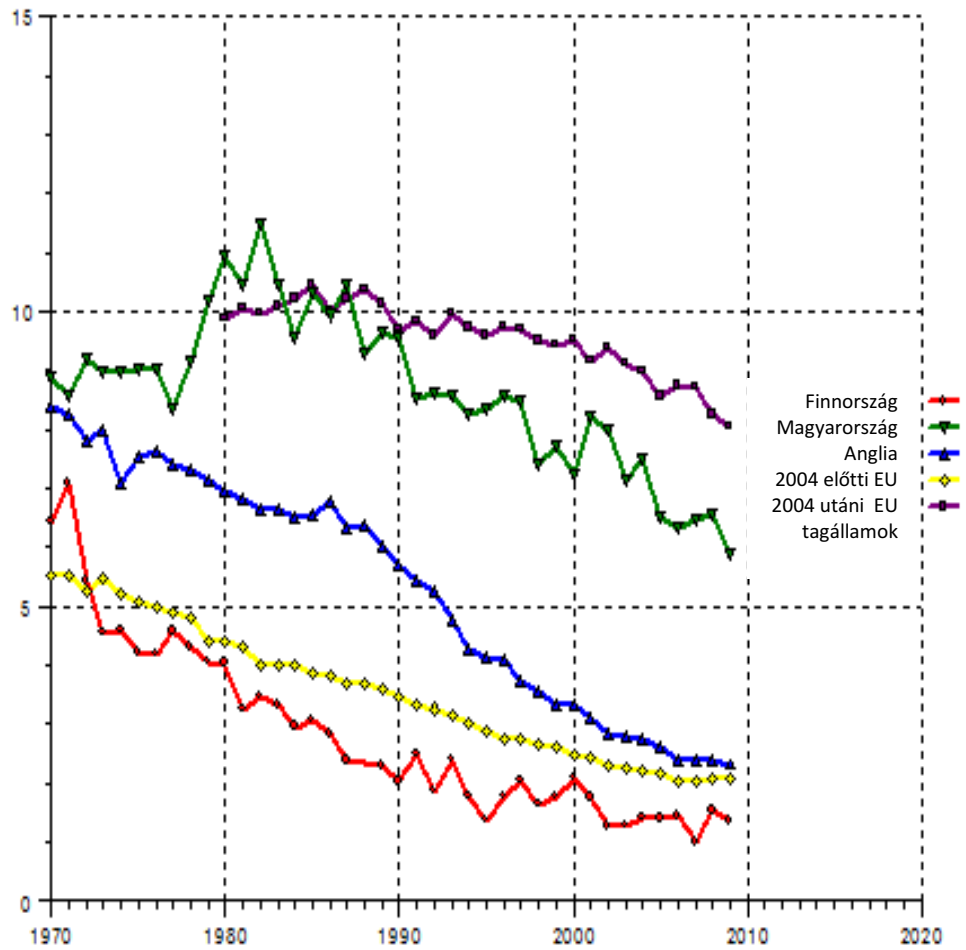


4. ábra: A világ népességére standardizált korszpecifikus incidencia és mortalitási mutatók, nők, 2008. (<http://globocan.iarc.fr/>)

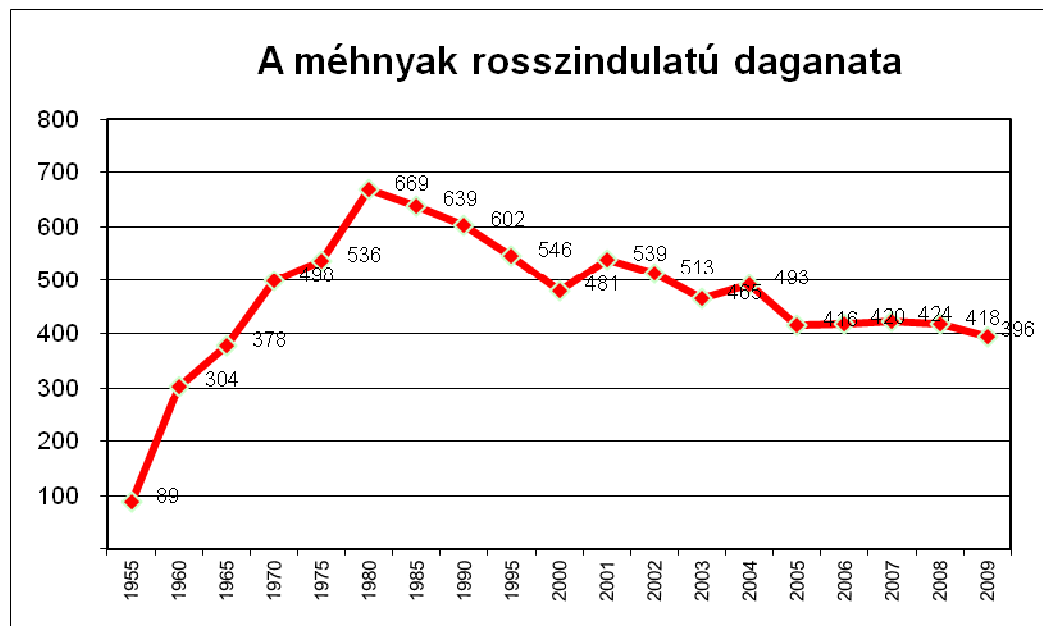
I.2. Méhnyakrák epidemiológiája

2008-ban majdnem háromszázezer nő halálát okozta a méhnyakrák a világon. Az új megbetegedések száma félmillió volt, annak ellenére, hogy az elmúlt évtizedekben jelentős javulás történt a betegség morbiditásában. Az esetek kétharmada Afrika, Ázsia, és a Csendes-óceáni szigetvilág országaiból kerül ki. A National Cancer Institute adatai szerint a méhnyakrákkal diagnosztizált nők átlagos életkora 48 év, és átlagosan 9 év telik el, míg bekövetkezik a halál. A prognózis függ az életkortól, az etnikai hovatartozástól és természetesen a stádiumtól. Az 5-éves túlélés lokalizált tumor esetén akár 90% is lehet, de az esetek nagy része már távoli metasztázisokkal kerül diagnosztizálásra, ekkor az 5-éves túlélés 20% alá csökken. A betegség valamivel gyakrabban manifesztálódik afrikai amerikaiakban, és sajnos ezen rasszba tartozó nők átlagos túlélési valószínűsége 60% alatti, míg a fehér nőké körülbelül 70% (<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/cervix.html>).

Azokban az országokban, ahol bevezetésre került az egészséges nők méhnyakrákszűrése, ott a halálozások száma fokozatosan csökkenő tendenciát mutat (5. ábra). Magyarországon 1980-tól kezdett csökkenni a méhnyakrákos halálozás, de 2010-ben az újonnan megbetegedettek száma még így is elérte az 1000 főt, a halálesetek száma pedig majdnem 400 (6. ábra) volt.

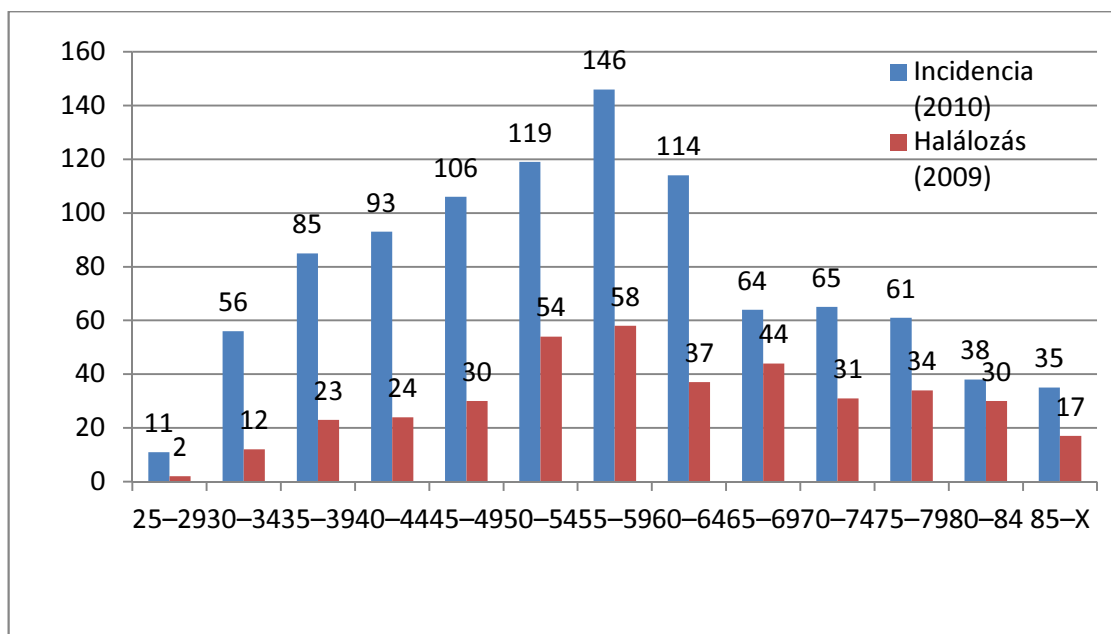


5. ábra: Standardizált halálozási ráta alakulása európai országokban 1970-2009 (100.000 főre)

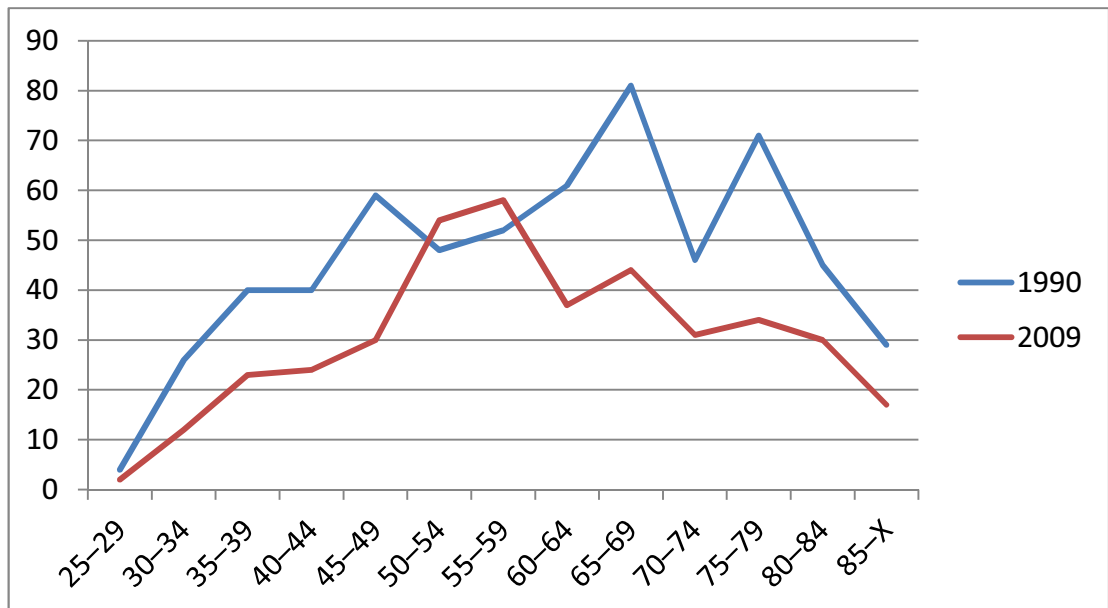


6. ábra: A méhnyakrák okozta halálozások, Magyarország (KSH)

Magyarországon a méhnyakrák a 9. leggyakoribb női daganat. A megbetegedett nők legtöbbször a 45-64 éves korcsoportból kerül ki (7. ábra), de sajnos egyre nagyobb százalékban jelenik meg a betegség 35-40 éves nőkben is (8. ábra), (KSH, 2010, Daganatregiszter, 2010). Igen komoly problémát jelent, hogy a betegség egyre fiatalabb nőkben manifesztálódik. Míg 1990-ben a megbetegedett nők átlagéletkora 54 év volt, 2010-ben az invazív méhnyakrákos betegek átlagos életkora 45-52 év (Levi, 2000).



7. ábra: Méhnyakrákos megbetegedések és halálozások, korcsoportok szerint, Magyarország, 2010. (KSH, Demográfiai évkönyv, Daganatregiszter)



8. ábra: A méhnyakrák okozta halálozások, korcsoport szerint, 1990-ben és 2009-ben, Magyarország

Méhnyakrák:

A méhnyak a méh alsó elkeskenyedő része, ami a hüvelybe torkollik. Elsődleges funkciója a méhüreg védelme, de fontos szerepe van a spermiumok petesejthez jutásának segítésében is. Belső felületét mirigyhám, a külső méhszájat laphám borítja. A méhnyakrák kialakulását legtöbbször cervikális intraepiteliális neopláziák (CIN) kialakulása előzi meg. A cervikális intraepiteliális léziók különböző expozíciós tényezők hatására keletkeznek, majd jellemzően a két, laphám és hengerhámfelület találkozásánál a bazális sejtsorban az úgynevezett átmeneti zónában, szabálytalan alakú és méretű, atipikus sejtek jönnek létre. A méhnyakrákot

megelőző stádiumok esetén a kóros sejtburjánzás kizárólag a méhnyak hámjára lokalizálódik, a bazális membránt nem töri át és a kötőszövetbe nem terjed.

A CIN I stádium az enyhe diszpláziát (avagy a citológiai diagnózis szerint: low-grade squamous intraepithelial lesion), a CIN II a közepes, a CIN III pedig a súlyos diszplázia (azaz high-grade squamous intraepithelial lesion) létrejöttét jelzi. A hámrétegben történt változások nem okoznak jellegzetes panaszokat, így gyakran észrevétlenek maradnak. Figyelemfelkeltő tünet lehet például a hüvelyi folyás, vérzési rendellenesség vagy közösülés utáni vérzés, fájdalom, de sajnos sok nő a tüneteit szégyelli, vagy pedig természetesnek véli, ezért nem fordul szakemberhez, pedig a rákmegelőző elváltozások még konzervatív kezeléssel gyógyíthatók. A diagnosztizálatlan diszpláziák az évek során progrediálnak. Amikor a preblasztómák atipikus sejtjei a kötőszövetbe terjednek, invazív karcinómáról beszélünk.

Szövettanilag a méhnyak daganatainak 90%-a laphámrák, amikor a daganat a méhnyak felszínét borító laphámsejtekből alakul ki. Az esetek kevesebb, mint 10%-ában a kóros folyamatok a mirigyes állományból indulnak el, ekkor adenokarcinómáról beszélünk. Ritkán mindkét sejtípus megtalálható, és találkozhatunk differenciálatlan formával is.

I.3. A méhnyakrák szűrése

A cervix rosszindulatú daganata igen nagy népegészségügyi problémát jelentett az elmúlt évtizedekben világszerte, mígnem sikerült egy igen hatékony prevenció lépést kifejleszteni a betegség preinvazív és a korai invazív stádiumában történő felismerésére. George Papanicolaou volt az első, aki méhnyakrákos nők vaginalis váladékában daganatsejteket fedezett fel, majd 1943-as publikációjának köszönhetően világszerte elterjedt a hüvelykenetből történő méhnyakrák- ill. preblasztoma-diagnózis (Traut és Papanicolaou, 1943)

A Papanicolaouról elnevezett szűrőprogramnak köszönhetően a betegség mortalitása viszonylag rövid idő alatt 40-50%-kal csökkent (Quinn, 1999), de még 2009-ben is a harmadik leggyakoribb női daganatos halálok volt.

Magyarországon 2003-ban vezették be az államilag finanszírozott méhnyakrákszűrő programot, amely a 25-49 éves korosztály háromévenkénti, az 50-65 éves nők ötévenkénti szűrését célozza meg. A protokoll szerint minden nőgyógyászati vizit alkalmával el kell végezni a méhnyak szűrését is, amennyiben az az elmúlt 1 éven belül nem történt meg. A komplett rákszűrést a kolposzkópos és a citológiai vizsgálat együttesen adja. A kolposzkópos vizsgálattal a hám papilláris szerkezetét és erezettségét, citológiával pedig a levált exfoliált sejteket vizsgálják. A világszerte használt Pap-teszt szenzitivitása 47-62%, a specifitása pedig közel 100%-os, tehát hatékony módja a közepes és súlyos neopláziák kiszűrésének (Quinn, 1999; Nanda, 2000).

A bevezetett szűrésnek köszönhetően Magyarországon is jelentősen csökkent az invazív cervixrák incidenciája, de az átszűrtség igen alacsony, nem éri el a 35%-ot sem (Boncz, 2006). Ebből kifolyólag a morbiditás még ma is igen magas.

I.4. A méhnyakrák főbb kockázati tényezői:

I.4.1. Humán papillomavírus

A betegség legjelentősebb kockázati tényezője a Humán papillomavírus (HPV), melynek jelenléte a méhnyakrákok és genitális karcinómák 90%-ban kimutatható (Bosch, 1995; Franco 1999; Bosch, 2002, Munoz, 2000). A humán papillomavírus a leggyakoribb szexuális úton átvitt fertőző ágens (Koutsky, 1997, Burd, 2003). A vírus kettős szálú, cirkuláris DNS-t tartalmaz, amely szerkezetileg két kódoló (E és L) illetve egy nem kódoló régióból áll. A vírus genomjának mintegy felét kitevő E régió nyolc darab stop kodon nélküli „open reading frame”részből áll, melyek hat, a vírusfertőzés korai szakaszában átíródó fehérjét (E1, E2, E4, E5, E6, E7) és 2 a késői szakaszban átíródó fehérjét (L1, L2) kódolnak (Jo, 2005). A vírus a szexuális együttlét során keletkező mikro- illetve makrosérülések révén kerül a méhnyak bazális epitéliumába, ahol az igen sérülékeny éretlen laphámsejteket támadja meg. Ezután a méhnyak nyálkahártyáján megtapadva akár évekig is nyugalmi állapotban él a gazdaszervezeten élősködve. A HPV fertőzések 70%-a rejtett marad, ugyanis az egészséges immunrendszer általában egy éven belül képes

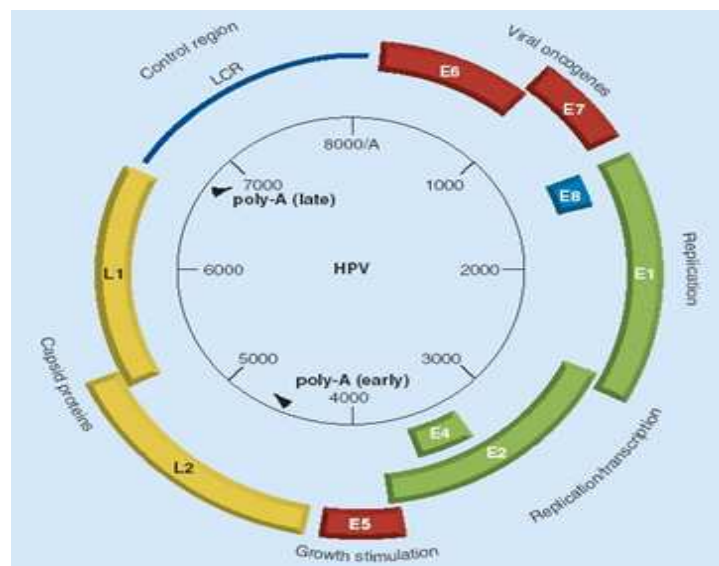
eliminálni a vírust a szervezetből még mielőtt az károsítaná a méhnyak nyálkahártyáját (Ho, 1998).

Perzisztáló fertőzés esetén a vírus nem eliminálódik a szervezetből. Ekkor a vírus cirkuláris genomja az E1-E2 régió határán felnyílik, majd beépül a humán genomba, ezáltal az E6 és E7 onkoproteinek szuppressziójáért felelős E2 gén inaktiválódik (Choo, 1987). A méhnyak kóros transzformációjában az E6 és E7 proteinek szerepe kulcsfontosságú. A virális genom integrációja során az E6 és E7 onkoproteinek transzkripciója fokozódik. Az E6 és az E7 gének által átíródó fehérjék a gazdaszervezet sejt szabályozásában fontos gének aktivitását módosítják. Az E6 onkoprotein a celluláris ubiquitin ligáz (E6AP) segítségével komplexet képez a p53 fehérjével és a p53 gyors proteolitikus degradációját okozza (Verness, 1990, Hubbert, 1992), illetve a p53 tumor szuppresszor gén kofaktora, a CBP/p300 segítségével csökkenti a p53 gén aktivitását (Zimmermann, 1999). A p53 tumorszuppresszor gén inaktiválásával a sejt elveszíti a szabályozott sejtciklus feletti kontrollt, és a hibás transzkripciót nem követi apoptózis. Ezen kívül az E6 onkoprotein telomeráz aktiváló és stabilizáló tulajdonsággal is rendelkezik, ezáltal elősegítve az immortalizációt (Crook, 1991; Fernandes Brenna, 2003; McDougall, 1994).

A retinoblasztóma proteinek családjába tartozó E7 onkoprotein egy másik tumorszuppresszor gén, a retinoblasztóma (Rb) foszforilált proteinjét (pRb) köti és szeparálja az E2F/DP1 komplextől, majd egy ubiquitin-proteozóma útvonal során degradálja az Rb fehérjét (Scheffner, 1993; Chellappan, 1992). Az E7 onkoprotein számos más celluláris fehérjét is megköt, köztük például a ciklin-dependens kináz

inhibitor p21-et, amely szintén a sejtciklus szabályozásának kontrolljának elvesztéséhez vezet (9. ábra), (Funk, 1997, Lie, 2008).

Az évekig fennálló perzisztens fertőzés esetén a két onkoprotein által okozott változások a méhnyak különböző súlyosságú intraepiteliális diszpláziák kialakulását eredményezik. Kezelés hiányában ezen rákmegelőző állapotok évek hosszú sora alatt végül méhnyakrák kialakulását okozzák (Bosch, 2002). A méhnyakdaganatok több, mint 95%-ában, a CIN II/III stádiumok 75-95%-ában, a CIN I stádiumok 25-40%-ában a HPV fertőzés kimutatható (Cuzik, 1999).



9. ábra: HPV 16 genomjának szerkezete

A humán papillomavírusok több, mint 100 típusa ismert, melyek egy része a bőrt, más része a nyálkahártyát támadja meg. Kockázat szempontjából megkülönböztetünk magas kockázatú (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 53, 56, 58, 59,

66, 67, 68, 70), átmeneti kockázatú (40, 42, 43, 51, 54, 61, 62, 69, 71, 72, 73, 77, 82, 83, 84, 86, 87), és alacsony kockázatú (6, 11, 44, 55, 74) HPV típusokat (Bosch, 2001; Munoz, 2003) típusokat. A magas kockázatú HPV típusokra (16, 17, 18, 19) jellemző, hogy bőr és a nyálkahártya osztódó keratinocitáin telepsznek meg, de szaporodni csak a már differenciált epitéliumban képesek. Így tehát a vírus fennmaradása érdekében a gazdaszervezet sejtproliferációját indukálja és annak squamous intraepithéliális lézióját (SIL) okozza (Stubenrauch, 1999; Schiffman, 2003).

Az International Agency for Research on Cancer (IARC) becslése szerint a HPV prevalenciája országonként változó, és nagymértékben függ a detektálás módjától és az életkortól; a legalacsonyabb Ausztráliában, a legmagasabb Tanzániában (IARC, 1995). Az Egyesült Államokban a szexuálisan aktív nők 19-46%-ában a HPV kimutatható, ez az arány körülbelül megfelel a magyarországi átfertőzöttségi arányoknak is (Moscicki, 2001). A genitális HPV infekciók a fiatal, szexuálisan aktív 25 év alatti nőkben a legmagasabbak, de ebben az életkorban ritkán alakul ki perzisztens fertőzés. 35 év feletti nőknél jelentősen csökken a vírus prevalenciája, de gyakoribbak a látens fertőzések (Schiffman, 1995; Nayar, 2003).

A méhnyak malignus elváltozásainak igen nagy százalékában a humán papillomavírus jelenléte kimutatható, de még a perzisztáló HPV fertőzötteknek is csak kisebb részében alakul ki daganat vagy preblasztóma (Castle, 2005). Ebből arra következtethetünk, hogy a HPV jelenléte szükséges, de nem elégséges kockázati tényezője a méhnyakrák kialakulásának. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy a fertőzés után még hosszú inkubációs idő szükséges a betegség megjelenéséig. A méhnyakrákok 5 százalékában pedig a HPV jelenléte egyáltalán nem mutatható ki

(zur Hausen, 1991). A méhnyak low-grade vagy high-grade squamous intraepithelial lézióinak illetve a méhnyakrák kialakulásának számos további kockázati tényezője ismert.

I.4.2. További kockázati tényezők:

A betegség kialakulását a HPV-fertőzésen kívül további kofaktorok befolyásolják. Az egyik legjelentősebb kockázati tényező a kihordott terhességek száma. Mind HPV pozitív, mind HPV negatív nőknél a szülések számával egyenes arányban emelkedik az in situ és az invazív cervixkarcinómák (squamous cell carcinoma) kialakulásának kockázata. Ez a kockázatnövekedés egy vagy két gyermeket szülő nő esetén 1.8-szoros, három gyermek esetén 2.6-2.8-szoros, négy gyermek esetén pedig közel négyszeres is lehet (Brinton, 1989, Munoz, 2002). Valószínűleg az endo- és exocervix határán levő transzformációs zóna kóros metapláziája játszik fontos szerepet a HPV fertőzés és más kofaktorok expozíciója által okozott elváltozások kialakulásában. A megszakított, avagy a nem kihordott terhességek száma valószínűleg kisebb mértékben befolyásolja a betegség kockázatát. A nemi élet kezdetének életkora szintén fontos kockázati tényező. A minél fiatalabb korban történt első kihordott terhesség szintén szignifikánsan fokozza a méhnyak daganatainak kialakulását. Nulliparákhoz viszonyítva a 16 éves korban vagy az előtt történő szülés esetén 4.4-szeres, 20 éves korban történő szülés esetén még mindig 2.2-szer magasabb a méhnyakrák kialakulás kockázata (Munoz, 2002). Kivételt képeznek a kizárólag császármetszéssel szült nők, ebben az esetben nem mutatható ki kockázatemelkedés a világra hozott gyermekek számával. A minél

fiatalabb életkorban elkezdett nemi élet azért is jelentős befolyásoló tényező a méhnyak rosszindulatú elváltozásai szempontjából, mert a minél hosszabb ideig tartó szexuális aktivitás összefüggésbe hozható két további kockázati tényezővel, a fogamzásgátló tabletták szedésével és a szexuális partnerek számával.

A fogamzásgátló tabletták szedése 5 év után már majdnem háromszorosára, 10 év után pedig négyszeresére növeli a daganat kialakulás kockázatát. (Moreno, 2002). Ha az orális fogamzásgátló tabletták és a szülések számát együttesen vizsgáljuk, akkor a nullipara és orális fogamzásgátló tablettát soha nem szedő nőkhez viszonyítva az egy vagy két gyermeket szült édesanyák 1.8-szorosára emelkedett méhnyakrákos kockázattal kell, hogy számoljanak, ha soha nem szedtek fogamzásgátló tablettát. Amennyiben hosszabb ideig, 5 évnél tovább ezúton védekeztek, akkor kétgyermekes anyáknál a kockázat 4.9-szeresére, három-négy gyermek esetén akár hatszorosára is emelkedhet (Skegg, 2002).

A promiszkuitás nagyobb esélyt enged a HPV fertőzés bekövetkezésére, illetve más szexuális úton átvihető betegségek kialakulására. A kórtörténetben szereplő korábbi nemi betegség egyébként szintén ismert kockázati tényező.

Ezen tényezők mellett még ismertek további kofaktorok, mint például a dohányzás (Kjellberg, 2000). A dohányzás során keletkező karcinogén anyagok, mint például a dimetil-benzantracén, metil-kolantrén, benzpirén és számos aromás szénhidrogén, mint az N-nitrozaminok a méhnyak nyálkahártyáját illetve az epiteliális sejteket károsítják (Prokopczyk, 2001), mutációkat illetve kóros sejtburjánzást, hiper- és metapláziát vagy akár kromoszómaaberrációkat is indukálnak (Huang, 2005; Olaharski, 2006).

Bár Schmale és Iker már majdnem 50 évvel ezelőtt feltételezte, hogy a cervixkarcinómák kialakulásának pszichés háttere is lehet (Schmale, 1966), az irodalomban mégis kevés ilyen hivatkozást találunk. Napjainkban még mindig nagy figyelem összpontosul a pszichés tényezők szerepére a betegségek genezisében, és többen feltételezik, hogy a személyiségjegyek valamint a stressz illetve a stresszkezelés befolyásolja a daganatok, köztük talán a méhnyakrák kialakulását (Reiche, 2004; Paskett, 2010). Feltételezhetően azok a genetikai tényezők melyeknek szerepe van a szervezetet ért stressz feldolgozásában, szintén fontos hatásmódosító szereppel bírhatnak. A méhnyakrák kialakulását befolyásoló tényezőket a 10. ábrán foglaltuk össze.

- Humán papillomavírus fertőzés
 - Életkor
 - Rasz
 - Szülések száma
 - Abortuszok száma
- Fiatal életkorban történő első szülés
- Orális fogamzásgátlók szedése
 - Szexuális partnerek száma
 - Dohányzás
- Immunszuppresszált állapot
 - Chlamydia infekció
 - Elhízás
- Méhnyakrák előfordulás a családban
- Alacsony gazdasági-szociális státusz
- Táplálkozási tényezők (pl. alacsony zöldség- és gyümölcsfogyasztás)

10. ábra: A méhnyakrák kockázatát befolyásoló tényezők

I.5. Személyiség, mint kockázati tényező

A betegségek kialakulásában, illetve a betegség megélésében jelentős szerepe van a személyiségnek. Az utóbbi évtizedekben számos betegség esetében bizonyosodott be, hogy a környezeti stressz illetve a pszichés tényezők befolyásolják a betegség kialakulásának kockázatát. A veleszületett személyiségjegyek kialakulásáért részben az agyban lévő dopaminpályák felelősek, ezek a jegyek bizonyos mértékig módosulnak az életünk során szerzett tapasztalatok által.

I.5.1. Dopaminerg rendszerek, dopamin receptorok

A központi idegrendszerben illetve a mellékvesében termelődő dopamin fontos neurotranszmitter (Carlsson, orvosi Nobel díj, 2000). A dopamin multifunkcionális szerepét jelzi, hogy receptorai mind pre-, mind posztszinaptikus neuronokon megtalálhatók. A humán dopaminerg rendszer négy pályarendszerből áll. A nigrostriális pálya a mozgáskordinációért, a tuberoinfundibuláris pálya a prolaktinszekréciót és egyes nemi funkciókat, például a szexuális készletet szabályozza. A mezokortikális pályának a kognitív működésekben (tanulás, memória) van szerepe, de az érzelmek kialakításában is részt vesz, míg a mezolimbikus pályának pedig az ösztönös magatartás, a kellemes érzetek, a jutalmazás és a megerősítés, és az addikció kialakulásában van fontos szerepe.

A dopamin receptorok a G-proteinek családjába tartoznak, szabályozzák a sejt ciklikus adenosinmonofoszfát (cAMP) szintjét, hatással vannak a foszfolipáz C és a proteinkináz C szignáltranszdukciós folyamataira is. A dopaminreceptorok

biokémiai és farmakológiai hatása alapján megkülönböztetünk cAMP szintet fokozó D1-típust (ide tartoznak a D1 és D5 receptorok), ezen receptorok kizárólag poszt-szinaptikus pozícióban találhatók meg (Civelli, 1991). Ezzel ellentétben a D2-típusba tartozó D2, D3, és D4 dopamin receptorok gátolják az intracelluláris cAMP szint emelkedését, és preszinaptikus neuronokban is megtalálhatók (Sibley, 1992; Missale, 1998). Az utóbbi években az addikcióval összefüggésbe hozható viselkedések kapcsán a legnagyobb figyelem a D2 dopamin receptorra (DRD2) irányult.

I.5.1.1. Dopamin receptor D2 (DRD2) *TaqIA* polimorfizmus:

A 11-es kromoszóma q22-23 lókuszán található dopamin receptor D2 (DRD2) gén, a pszichés folyamatok kapcsán napjaink egyik legintenzívebben vizsgált génje. 1988-ban izolálták először (Bunzow, 1988), majd 1990-ben írták le a 3' nem kódoló régióban lokalizálódó *TaqIA* polimorfizmusát (Blum, 1990). A restrikciós endonukleázzal történő emésztéssel két allélt különböztetünk meg, az A1 és A2 alléleket. Néhány évvel később kiderült, hogy e polimorfizmus valójában nem is DRD2-polimorfizmus, hanem a DRD2 közvetlen szomszédságában lévő ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (ANKK1) gén kódoló régiójára esik (Neville, 2004). Annak ellenére, hogy a polimorfizmus valójában az ANKK1 génhez tartozik, számos szerző kifejezetten a dopamin-receptorral kapcsolatos összefüggéseket talált vele kapcsolatban. Így például az A1/A1 vagy A1/A2 genotípussal rendelkezők (A1 allél-hordozók) kevesebb agyi dopamin-receptorral rendelkeznek, ami egy hipodopaminerg állapot kialakulásához vezet (Thompson, 1997). Az irodalomban

még ma is számos közlemény egyszerűen csak DRD2 *Taq1A* polimorfizmusról beszél, bár a publikációk többsége a „DRD2/ANKK1 polimorfizmus” nomenklatúrát használja. A magyarázatot egyrészt az adja, hogy a DRD2 *Taq1A* polimorfizmus kapcsolatosan öröklődik más DRD2 polimorfizmusokkal, tehát valóban DRD2 szerkezeti és funkcionális változásokhoz kapcsolható. Másrészt pedig feltételezik, hogy az ANKK1 gén terméke (egy fehérjekináz, amely a RIP-kinázok /receptor interacting protein/ közé tartozik, és szignáltranszdukciós folyamatokban vehet részt) nem véletlenül helyezkedik el szorosan a DRD2 gén mellett, hanem vele kölcsönhatásban szerepe van neurotranszmitter átviteli utak működésében (Ponce, 2008).

A dohányzással a szervezetbe került nikotin, az etanol, az amfetamin, az opioidok, a kokain, a szexuális együttlét és akár az evés is képes stimulálni a mezokortiko-limbikus rendszert, melynek szerepe már régóta ismert az agyi jutalmazó rendszer működésében (Noble, 2000). A stimuláció következtében a dopamin-receptor expresszió fokozódik, majd a nucleus accumbensben és a ventralis caudalis putamenben, azaz az agy örömközpontjában kialakul az örömet és a kényelmet (Brody, 2004). Ezek az érzések arra ösztönzik a szervezetet, hogy újra és újra stimulálja a mezokortiko-limbikus rendszert, így lassan kialakul az addikció. A DRD2 *Taq1A* polimorfizmus, mint hatásmódosító tényező szerepét először Blum és munkatársai mutatták ki alkohol-dependens személyeknél (Blum, 1990; Pato, 1993; Gorwood, 2000), de nikotin- (Noble, 1994; Comings, 1996; Batra, 2000; Hamajima, 2002) és opioid dependencia (Noble, 2003) esetén is bizonyított szerepe.

A DRD2 *Taq1A* polimorfizmus szerepét nem csupán addiktív folyamatokban igazolták. Mivel a DRD2 gén kulcsszerepet játszik a stressz-kezelés és a motiváció

kialakításában is ezért A1/A2 polimorfizmusát vizsgálták számos neuropszichiátriai betegség, mentális megbetegedés (Coming, 2000; Eisenberg, 2006) vagy környezeti stressz okozta hatások esetén is (Noble, 2003).

Mivel a DRD2 gén hatással van a szexuális aktivitásra, a korai menarche kialakulására, befolyásolja a dohányzásra szokásaink alakulását, az alkohol illetve a drogok iránti vágyat is, ezért emlőrák, kolorektális daganat és tüdőrák esetén is vizsgálták, és szignifikáns összefüggést mutattak ki a DRD2 A1 allél hordozók fokozott kockázatát illetően (Comings, 2003; Gemignani, 2005; Campa, 2007). Ezzel ellentétben mások publikáltak olyan közleményeket is melyek nem erősítik meg az A1 allélhordozók prediszpozícióját (Bierut,2000; Johnstone, 2004).

Mivel a DRD2 gén számos olyan tényezőre hatással van, mely a méhnyakrák kialakulásának kockázatát befolyásolja ezért célszerűnek láttuk az általunk vizsgált populációban is felmérni a dopamin receptor D2 gén allélgyakoriságát.

Az eddig említett rizikófaktorok egy része kémiai karcinogén anyag, vagy hatását kémiai karcinogéneken keresztül fejtí ki. Ezek a molekulák a szervezetben különböző metabolikus és detoxikálási útvonalak során számos átalakuláson mennek keresztül. E folyamatokat jórészt az úgynevezett metabolizáló enzimek irányítják, amelyek ezáltal a karcinogenezis folyamatában jelentős szereppel bírnak.

I.6. Metabolizáló enzimek

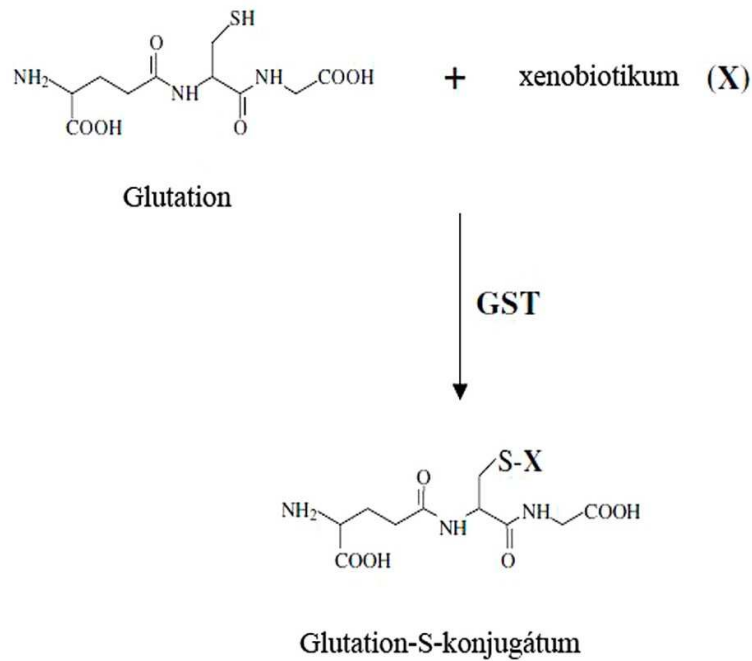
A betegségek kialakulásának kockázatát a külső környezeti tényezők mellett belső, genetikai tényezők is befolyásolják. Az ún. magas penetranciájú genetikai tényezők nagy részét már jól ismerjük, hiszen ezen gének hordozása esetén, a betegség nagy valószínűséggel manifesztálódik (örökletes betegségek). Ezzel ellentétben az alacsony penetranciájú genetikai tényezők kevésbé ismertek, inkább, mint hatásmódosító, hajlamosító tényezők szerepelnek egy betegség kialakulásában. Az alacsony penetranciájú genetikai tényezők egyik legjelentősebb és legismertebb csoportját a metabolizáló enzimek alkotják.

A környezeti expozíció során szervezetünkbe számos prokarcinogén vegyület kerül. Ezek a vegyületek a szervezetben metabolikus átalakuláson mennek keresztül, amelyben a metabolizáló enzimeknek fontos szerepe van. A potenciális karcinogéneket az I-es fázisú metabolizáló enzimek aktiválják, azaz elektrofil, reaktív metabolitokká alakítják át. Ezek a reaktív termékek már definitív karcinogének, DNS-adduktokat képeznek, mutációkat okozhatnak. A II-es fázisú metabolizáló enzimek ezen köztes termékeket valamilyen kis molekulával konjugálják, ezáltal inaktívvá, vízoldhatóvá, könnyen eliminálhatóvá teszik azokat. A metabolizáló enzimek aktivitása függhet az életkortól, nemtől, stressztől, terheltségtől, napszaktól, vagy bizonyos gyógyszerek szedésétől is. Kiemelkedő fontosságú azonban ezen enzimek genotípusa is, ugyanis a metabolizáló enzimek többsége genetikailag polimorf, azaz többféle allélvariánsuk létezik. Ezek a gyakran csak 1 bázisnyi eltérések is elegendőek lehetnek ahhoz, hogy valamelyest módosítsák a génről átíródó fehérje funkcióját, aktivitását. A metabolizáló enzimek funkciójának és mechanizmusának

megértése után igen reálisnak tűnik az a feltételezés, hogy a polimorfizmusaik számos betegség kialakulásának kockázatát befolyásolják (Nerbert, 1991, Tanningher, 1999; Ueda, 2005; Palma, 2010).

I.6.1. Glutation-S-Transzferáz (GST) enzim-szuperfamilia

A II-es fázisú metabolizáló enzimek csoportjába tartozó glutation-S-transzferázok pro- és eukariótákban egyaránt megtalálhatók. Széleskörű elterjedésük fundamentális szerepüket erősíti, mely szerint kulcsszerepet játszanak a szervezetet ért endogén és exogén toxikus kémiai komponensek káros hatásainak kivédésében (Sheehan, 2001; Hayes, 2005). A nagyrészt a citoszolban található glutation-S-transzferáz enzim-szuperfamilia fő funkciója az elektrofil szubsztátok glutationnal történő konjugációja (11. ábra), (Mannervik, 1988). Számos további funkciója is ismert, peroxidáz és izomeráz aktivitással rendelkeznek, számos ligand nem katalitikus kötésére képesek. A humán glutation-S-transzferázok klasszifikációja jól meghatározott tulajdonságok, mint például aminosav/nukleotid sorrend, szubsztát/inhibitor specificitás, harmadlagos és negyedleges fehérje térszerkezetbeli hasonlóságok és az immunológiai identitásuk alapján történt.

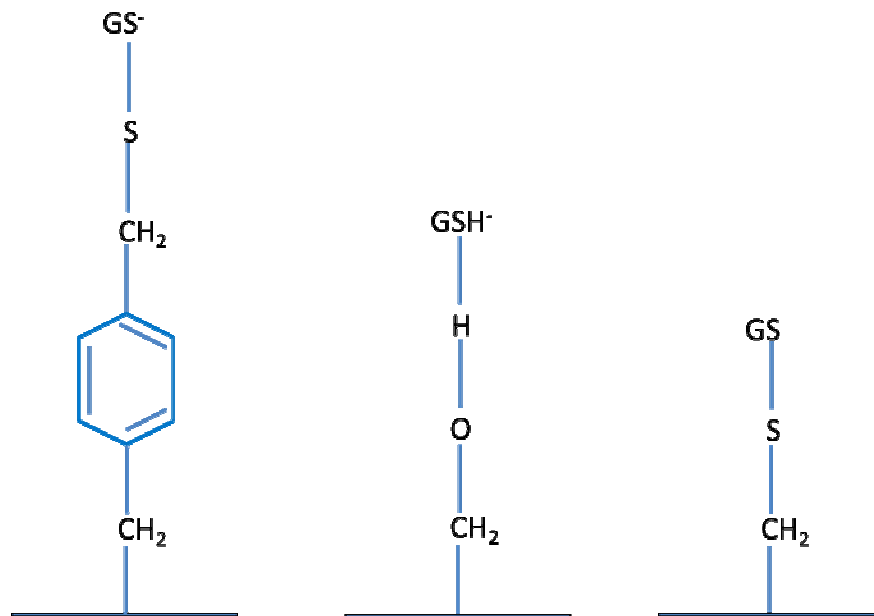


11. ábra: Glutation-konjugáció, (Townsend és Tew, 2003)

Jelenlegi ismereteink szerint az igen számos GST enzimek az alfa (GSTA), a kapa (GSTK), a mú (GSTM), a pi (GSTP), a théta (GSTT), a zéta (GSTZ) és az omega (GSTO) géncsalád valamelyikébe tartoznak (Mannervik, 1992; Hayes, 1995; Sheehan, 2001), de feltételezhetően még nem fedték fel a GST szuperenzimcsalád összes tagját.

A különböző géncsaládokban egyaránt az N-terminus bázissorrendje tartalmazza az enzim aktív kötőhelyét. Ez a konzervatív régió a katalitikus reakciókhoz esszenciális tirozint, szerint vagy ciszteint tartalmaz, amely majd a glutation tiol csoportjához kötődik, így csökkentve a kötés disszociációs állandóját

(12. ábra). Ez pedig a detoxifikáló folyamatok meghatározó lépése (Dirr, 1994; Liu, 1992).



12. ábra: A legtöbb GST-családban tirozinon keresztül történik a glutation-kötés (bal oldal), a théta és valószínűleg a zéta családban e helyütt szerin aminosav van (középen), az omega és béta családban pedig diszulfid-kötés (jobb oldal) (Sheehan, 2010)

A glutation-S-transzferázok ligandkötő képessége széleskörű, ami dimér szerkezetüknek köszönhető (Listowsky, 1988, Ketley, 1976; Barycky, 1997). Az ételek elkészítése, sütése, grillezése, füstölése során policiklikus aromás szénhidrogének keletkeznek, melyek igen jelentős táplálkozási eredetű karcinogén expozíciót jelentenek. Ugyancsak táplálkozási eredetű az az akrilamid expozíció is, amely az I-es fázisú metabolizáló enzimek hatására epoxiddá alakul át, majd DNS adduktot képez. A környezeti karcinogén expozíció igen jelentős része származik a

dohányzás során keletkező több száz xenobiotikum belégzése során. Ezek közül a legmarkánsabb, és a karcinogenezis iniciációs folyamataiban alapvető szerepet játszó karcinogének a 4-(metilnitrozamino)-1-(3-piridil)-1-butanon és a policiklikus aromás szénhidrogének közé tartozó dimetil-benzantracén, metil-kolantrén, benzpirén. A közlekedés, az ipari szennyezők pedig különböző aldehidek, az etilén-oxid, 4-aminobiphenyl, és 1,3 butadién szervezetbe jutásáért felelősek. Ezek a fent említett elektrofil, reaktív metabolitok a GST enzim-szupercsalád mu (GSTM) és théta (GSTT) géncsaládjába tartozó enzimek szubsztrátjai, így ezen enzimeknek kiemelkedő szerepe van a szervezet védelmi funkciójának kialakításában (Ketterer, 1988; Ketterer 1992; Vos, 1990; Ketterer, 1998; Forsberg, 2001). Továbbá számos gyomirtót, rovarölő szert, mikrobiális antibiotikumot és a daganatok kemoterápiája során használt kémiai ágenst is képesek katalitikus folyamatokban neutralizálni (Dixon, 1998; Ranson, 1997; Arca, 1997; Tew, 1994; McLellan, 1999).

A környezeti eredetű karcinogén anyagok illetve az oxidatív stressz által keletkezett reakciótermékek intracelluláris szintje meghatározó lehet számos betegség, köztük a daganatok kialakulásának folyamatában is. A reaktív metabolitok konjugálását több metabolizáló enzim együttesen végzi, vagyis a különböző glutation S-transzferáz enzimek a szubsztrátok tekintetében átfedik egymást. Egy funkcióvesztő mutáció esetén a kieső detoxifikáló kapacitást egy másik enzim részben pótolja, és a káros komponenseket eliminálja a sejtéből. Természetesen, ha több metabolizáló enzim működésképtelensége esetén a detoxifikáló kapacitás csökkenése jelentősebb lesz.

I.6.1.1. Glutation-S-Transzferáz M1 (GSTM1) enzim

Az 1p13.3 régióban elhelyezkedő GST mű családba tartozó öt gén közül a legismertebb a GSTM1, amely számos szövetben expresszálódik, például a májban, gyomorban, agyban (Strange, 1984). A GSTM1 enzim genetikailag polimorf, 4 allélvariánsa ismert, legjelentősebb az úgynevezett 0/+ (vagy Ins/Del) polimorfizmus. A + genotípus jelzi a működőképes fehérjét, míg ellenkező esetben a génből egy szakasz deletált, a génről átíródó fehérje funkcióképtelen, nem képes a konjugációra. Homozigóta deléció esetén (ezt null genotípusnak nevezzük) tehát az egyén nem rendelkezik funkcióképes, az aktív karcinogén metabolitok biotranszformációjában és eliminálásában részt vevő GSTM1 enzimmel. A null genotípus előfordulási gyakorisága nagy eltérést mutat különböző földrajzi régiókban. A GSTM1 null genotípus prevalenciája Afrikában 22%, kaukázusi fehér populációkban körülbelül 50%, Ázsiában pedig 62% (Rebbeck, 1997; Dong, 2008). A teljes humán populációra vonatkozó prevalencia becslések 50%-ra teszik a GSTM1 null genotípus gyakoriságát (Nakajima, 1995; Rebbeck, 1997; Strange, 2000; Dong, 2008).

I.6.1.2. Glutation-S-Transzferáz T1 (GSTT1) enzim:

A theta családba tartozó glutation S-transzferázok négy génjét azonosították ezidáig. A 22-es kromoszómán található GSTT1 gén a GSTM1 enzimhez hasonlóan

aktívan részt vesz számos karcinogén anyag, mint például peszticidek, ipari oldószerek, metilálószerke konjugálásában (Ketterer, 1988; Coggan, 1998). A GSTT1 génnek szintén egy inzerció/deléción allépolimorfizmusa ismert, ahol a GSTT1 null genotípus esetén az enzim ez esetben sem képes glutationnal konjugálni a reakcióképes metabolitokat. A GSTT1 null genotípus prevalenciája afrikai és ázsiai régiókban hasonló nagyságú, mint a GSTM1-é, de a kaukázusi populációban lényegesen alacsonyabb, alig éri el a 20%-ot (Rebbeck, 1997).

I.6.2. GSTM1 GSTT1 null genotípus és a daganatkialakulás kockázata:

A GSTM1 és GSTT1 gén allépolimorfizmusainak szerepét számos daganatos megbetegedés etiológiájában vizsgálták. A tüdőrák és a hólyagrák vonatkozásában például elmondható, hogy a GSTM1 null genotípus szignifikánsan fokozza a betegség kialakulásának kockázatát (Rebbeck, 1997). Ezt erősíti meg egy 2008-as meta-analízis, mely szerint a GSTM1 vagy a GSTT1 null genotípus esetén akár 20-50%-kal magasabb kockázat is kialakulhat. Dong 2008-as publikációjában a hólyagrák, a kolorektális daganatok, a gyomorrák, a fej-nyaki daganatok, a leukémiák és a tüdőrák esetén is szignifikáns kockázati tényezőként írja le a null genotípus hordozását (Dong, 2008). Elemezve a GSTM1 null genotípus hatását, a kolorektális daganatok vonatkozásában egy 2010-ben publikált meta-analízis szintén szignifikáns kockázatnövelőnek találta a GSTM1 hordozását kaukázusi populációban (Economopoulos, 2010).

Feltételezhetően a méhnyakrák illetve annak rák megelőző állapotainak kialakulásában is fontos befolyásoló szerepe lehet a metabolizáló enzimek polimorfizmusából következő különbségeknek. A méhnyak bazális sejtrétege igen érzékeny a környezeti karcinogén expozíciókra. Ez történhet a dohányzás, helytelen táplálkozás vagy bármilyen káros foglalkozási- ill. környezeti expozíció hatására is.

Egy japán népességen végzett epidemiológiai vizsgálat szerint a GSTM1 illetve a GSTT1 null allél szignifikánsan gyakrabban fordult elő high-grade squamosus intracelluláris lézióval diagnosztizált vagy méhnyakrákos nők között, mint a low-grade squamosus intracelluláris lézió stádiumában avagy a kontrollcsoportban (Ueda, 2003; Ueda, 2005). Ugyancsak szignifikáns összefüggést találtak észak-indiai méhnyakrákos nők körében történt genetikai vizsgálatok. A betegek között a GSTM1 null genotípus 1,5-ször, a GSTT1 null genotípus pedig 2,4-szer gyakoribb volt, mint az egészséges kontroll csoportban. (Singh, 2008). Ezzel ellentétben Kirán és munkatársai nem tudtak szignifikáns összefüggést kimutatni a GSTM1 és GSTT1 null genotípus és az invazív méhnyak karcinóma között (Kirán, 2010).

Az utóbbi évtizedekben számos vizsgálat történt különböző daganatok vonatkozásában, de többször a publikációk egymásnak ellentmondó eredményeket közölnek. Ennek egy lehetséges oka lehet a környezeti és a genetikai eredetű zavaró tényezők egyenlőtlen megoszlása a különböző vizsgált népességekben (Katoh, 1996; Zhong, 1993; Gronau, 2000; Rebbeck, 1997).

A detoxifikáló és az oxidatív stressz okozta károk elleni védelmen túl a glutation-S-transzferázok szerepét feltételezik számos más folyamatban is, mint például az öregedés, a magas hőmérséklet és szárazság által okozott nyugalmi állapot kialakulása, adaptáció (Oakley, 2005; Hayes, 2005; Frova, 2006).

II. CÉLKITŰZÉSEK

- Különbözik-e a DRD2/ANKK1 A1/A2 allélek megoszlása high-grade cervikális diszpláziát mutató, illetve egészséges vagy low-grade diszpláziás nőkben, perzisztens HPV 16 vagy 18 fertőzés fennállása esetén (azaz befolyásolja-e a DRD2/ANKK1 A1/A2 allélpolimorfizmus a high-grade cervikális diszplázia kialakulását)?
- Különbözik-e a DRD2/ANKK1 A1/A2 allélek megoszlása rossz, illetve jó prognózisú méhnyakrákos vagy preblaszomás betegek között (azaz befolyásolja-e a DRD2/ANKK1 A1/A2 allélpolimorfizmus a cervixrák illetve preblasztoma prognózisát)?
- Különbözik-e a GSTM1 és GSTT1 0/+ genotípusok megoszlása high-grade cervikális diszpláziát mutató, illetve egészséges vagy low-grade diszpláziás nőkben, perzisztens HPV 16 vagy 18 fertőzés fennállása esetén (azaz befolyásolja-e a GSTM1 és/vagy GSTT1 0/+ polimorfizmus a cervix-diszplázia kialakulását)?
- Mutat-e (és ha igen, milyen mértékben) kölcsönhatást a feltételezett high-risk GSTM1 és GSTT1 genotípusok együttes jelenléte a cervix preblasztoma kialakulására?

III. ANYAG ÉS MÓDSZER

A cervikális diszplázia kialakulásának kockázatára vonatkozó vizsgálatunk DRD2 polimorfizmusra vonatkozó részében 214, a GST polimorfizmusok analízisének pedig 253 nő vett részt, akik a Fejér megyei Szent György Kórház vagy a Diósgyőri Kórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztályának páciensei voltak, vagy itt vettek részt nőgyógyászati szűrésen. A résztvevők a vizsgálatról adott tájékoztatás után a részvételt önként vállalták, annak tudatában, hogy ebből a betegségük kapcsán esetlegesen szükségessé váló kezelés során sem előnyük, sem hátrányuk nem származik. A beválasztás kritériuma volt a 16-os vagy 18-as típusú high-risk HPV fertőzés jelenléte. A HPV fertőzés igazolása, archív biopsziás anyagból, illetve cervikális kenethez vett mintából történt, a vizsgálatban részt vevők egy részénél retrospektív módon. További kritérium volt a legalább 2 alkalommal talált azonos típusú HPV pozitívitás, a fertőzés perzisztáló jellegének igazolása végett. A vizsgált személyek releváns demográfiai paramétereit (életkor, életkor a menarche idején, életkor a nemi élet megkezdésekor, gyermekek száma, abortuszok száma) a kórtörténetből, illetve szükség esetén személyes interjú során rögzítettük. A diagnózisokra, betegek kezelésére illetve a betegség kimenetelére vonatkozó adatokat a kórházi kórtörténeti adatok feldolgozásából nyertük.

A HPV fertőzés bizonyítottóságának időpontjától számított legalább 7 évi periódusra vonatkozóan regisztráltuk a cervikális diszpláziák vagy karcinomák kialakulását a résztvevők nőgyógyászati vizsgálata, illetve méhnyakrák-szűrésük eredményei alapján. Azokat a nőket, akikben a citológiai vizsgálat eredményeként

HSIL, illetve a biopszia során CIN II vagy CIN III került megállapításra, tekintettük „pozitívnak” („high-grade diszplázia” csoport), míg a kontroll csoportot pedig a cervikális elváltozást nem mutatók, illetve legfeljebb LSIL vagy CIN I diagnózist kapók képezték. Az archív vizsgálati anyagot használtuk fel a résztvevők genotipizálására is, a GSTM1 és GSTT1 metabolizáló enzimeket, valamint a dopamin receptor D2 fehérjét kódoló génekre vonatkozóan. Azért, hogy megállapítsuk, befolyásolják-e az egyes GST- illetve DRD2 allélek a high-grade cervikális diszplázia kialakulását, összevetettük az allélgyakoriságokat a high-grade diszplázia csoport és az ilyen elváltozást nem mutató kontroll csoport között.

A DRD2 allélpolimorfizmust illetően nemcsak a diszplázia kialakulásának kockázatát befolyásoló hatást vizsgáltuk, hanem a polimorfizmus prognosztikus markerként való alkalmazhatóságát is. Itt a résztvevők száma 239 volt, CIN III vagy I-es stádiumú cervixrák diagnózissal. A 16-os vagy 18-as típusú HPV fertőzést ugyancsak igazoltuk. A betegek a daganat- illetve daganatmegelőző állapot által indokolt kezelést kapták, jelen vizsgálatától teljesen függetlenül. Minden résztvevőt a diagnózis felállításától számított 5 éves periódus végén az alábbi csoportok egyikébe soroltunk: 1. Progresszió, esetleges elhalálozás, reziduum jelenléte vagy kezelés szükségessége a megfigyelési periódus végén. 2. Daganatmentes állapot, reziduumra, daganatkiújulásra vagy áttétre vonatkozó jelek nélkül. A DRD2 genotipizálás után az allélgyakoriságokat összevetettük a jó illetve a rossz prognózist mutató betegek csoportjai között.

III.1. HPV-vizsgálat

Az esetek egy részében a kórházi kórtörténetből a HPV fertőzöttségre és típusra vonatkozó adatok rendelkezésre álltak. A többi résztvevőnél az alábbiak szerint végeztük a HPV-fertőzöttség igazolását. A HPV 16-os és 18-as típusának kimutatása beágyazott („nested”) PCR segítségével történt (Nawa, 1993). Külső

primerek: Forward: ACCGAAAACGGTTGAACCGAAAACGGT, reverse:
AATAATGTCTATATTCACTAATT

Belső, típus-specifikus primerek: HPV16 forward:
ATGTITCAGGACCCACAGGA, reverse: CCTCACGTCGCAGTAACTGT, HPV18 forward:
ATGGCGCGCTITGAGGATCC, reverse: GCATGCGGTATACTGTCTCT. (124 bp ill. 188 bp fragmentumok). A PCR mix 15 µl össztérfogatban az alábbi komponenseket tartalmazta: 1,5 mM MgCl₂, 200 pM dNTP, 1 pM primer, 0,5 U Taq DNS polimeráz (Go Taq, Promega), 1X puffer (Promega). A külső amplifikáció során 0,5 µg DNS templátot használtunk, majd a második amplifikációhoz az első mixből vettünk 0,3 µl-t. Mind a külső, mind a belső amplifikáció 40 cikusból állt. A külső amplifikáció paraméterei: 90 másodperc 94 C°-on, 90 másodperc 40 C°-on és 120 másodperc 60 C°-on. Az ezt követő belső amplifikáció paraméterei az alábbiak voltak: 30 másodperc 94 C°-on, 30 másodperc 55 C°-on és 120 másodperc 70 C°-on, majd a ciklusok végétével egy 10 perces végső elongáció 70 C°-on.

Minőségi kontrollként minden mintánál amplifikációt végeztünk a β-globin gén egy szakaszára, az alábbi primerekkel: Forward: GAAGAGCCAAGGACAGGTAC, reverse: CAACTTCATCCACGTTCCACC.

III.2. Allélpolimorfizmusok vizsgálata

III.2.1. GSTM1 és GSTT1 genotipizálás

A fenol-kloroformos módszerrel történt DNS izolálás (Blin, 1976) után a GSTM1 és a GSTT1 genotipizálás polimeráz láncreakció (PCR) segítségével szimultán történt (Pool-Zobel, 1998). Az amplifikációt minden esetben belső kontroll jelenlétében végeztük (a β -globin gén 268 bp hosszú fragmentuma). A reakcióelegy 15 μ l ösztérfogban tartalmazott 0.5 U Taq DNS polimerázt (Go Taq, Promega), 1X puffert (Promega), 2 μ l DNS templátot, 200 μ M dNTP-t és 1.5 mM MgCl₂-ot, 30-30 pmol GSTT1-F és GSTT1-R primereket, 50-50 pmol GSTM1-F és GSTM1-R primereket, 20-20 pmol β -globin-F és β -globin-R primereket. A primerek szekvenciája a következő volt:

GSTM1-F: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC,

GSTM1-R: GTTGGGCTCAAATATACGGTGG,

GSTT1-F: TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC,

GSTT1-R: TCACCGGATCATGGCCAGCA,

β -globin-F: CAACTTCATCCACGTTCCACC,

β -globin-R: GAAGAGCCAAGGACAGGTAC.

Az amplifikáció 94 °C-on 7 percig tartó denaturáció után, 35 PCR ciklus során történt, a ciklusok a következő szegmensekből álltak: 60 másodperc 94 °C, 60

másodperc 60 °C, 60 másodperc 72 °C, és a ciklusok lefutása után 5 perces végső elongáció következett 72 °C-on. Az amplifikáció végeztével a mintát 2%-os, ethidium-bromidot tartalmazó agaróz gélen elektroforizáltuk. Az amplifikáció eredményeként UV fényben a kontroll mellett két fragmentum volt látható: egy 215 bp hosszúságú sáv a GSTM1 + genotípus esetén és egy 480 bp hosszúságú sáv a GSTT1 + genotípus esetén. Azon személyek mintái esetén, akik a GSTM1 illetve GSTT1 null genotípussal rendelkeznek, az agaróz gélben a minta vonalában sáv nem látható, mert ebben az esetben a homozigóta deléciónak a PCR reakció során amplifikáció nem történik.

III.2.2. DRD2/ANKK1 genotipizálás:

A PCR reakcióelegy 15 µl ösztérfogatban tartalmazott 0,5-0,5 µM primert (5'CACGGCTGGCCAAGTTGTCTA3', 5'CACCTTCCTGAGTGTCATCAA3'), 0,5 U Taq DNS polimerázt (Go Taq, Promega), 1X puffert (Promega), 2 µl DNS templátot, 200 µM dNTP és 2,5 mM MgCl₂-ot. A PCR amplifikáció az alábbiak szerint zajlott: 5 perc denaturáció 95°C-on, majd 40 ciklus a következők szerint: 30 másodperc 94 °C-on, 30 másodperc 55 °C-on és 1 perc 72 °C-on, és ezt követte a végső extenzió 7 percig 72°C-on (Eisenberg, 2008). Az amplifikáció után a PCR-terméket TaqI restrikciós endonukleázzal emésztettük, majd a DNS fragmentek szétválasztása elektroforézis segítségével 1.4%-os agaróz gélen történt. Az A1 allél esetén egyetlen, 300 bp nagyságú fragmentum jelezte az emésztés hiányát, míg az A2 allél jelenléte esetén egy 125 és egy 175 bp nagyságú fragmentum volt látható az ethidium-bromidos agaróz gélben.

III.3. Statisztikai módszerek

A csoportok demográfiai paramétereinek összehasonlítása folyamatos változók esetén Student-féle t-próba, gyakoriságoknál pedig a Pearson-féle khi négyzet próba segítségével történt.

A genotípusok megoszlásának (mind a DRD2, mind a GST gének) esetében a csoportok összehasonlítása mind a rizikó-analízis, mind a túlélésre gyakorolt hatás vizsgálata során logisztikus regresszióanalízissel történt. A DRD2 polimorfizmus elemzésénél az A1 homozigóta genotípus ritka előfordulása miatt az A1/A1 és az A1/A2 genotípusokat közös csoportként kezeltük. A logisztikus regressziószámítás során a genotípus hatását a demográfiai változókra (életkor, menstruáció kezdetének éve, első szexuális aktus életkora, szülések száma és abortuszok száma) kontrollálva vizsgáltuk. Az első három változót folyamatos változóként használtuk, a gyermekek és az abortuszok száma tekintetében pedig két kategóriát képeztünk (0-1 vagy ≥ 2). Az eredmények táblázatos közlésénél az esélyhányadost (OR) és a 95%-os megbízhatósági tartományát, valamint a p-értéket adtuk meg. A dolgozatban szereplő összes statisztikai elemzés az IBM SPSS 19-es verziójú szoftver segítségével (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) történt. Statisztikailag szignifikánsnak azt az eredményt tekintettük, ahol a p 0.05-nél alacsonyabb értéket vett fel. Mivel a kórlefolyásra vonatkozóan nem minden résztvevőnél sikerült részletes és teljes adatokat beszerezni, ezért a prognosztikus érték vizsgálatánál az elemszám maximálása érdekében a Kaplan-Meier görbék és log-rank teszt helyett a betegek diagnózistól számított öt év utáni státuszát (a már leírt két kategóriába sorolva) használtuk kimeneti változóként.

IV. EREDMÉNYEK

IV.1. A DRD2/ANKK1 polimorfizmus hatásának vizsgálata. A diszplázia kialakulásának kockázatára gyakorolt hatás.

A résztvevő 214 nő közül a vizsgált időtartam alatt 102-ben alakult ki HSIL, illetve CIN II vagy III, míg 112 nő nem mutatott ilyen elváltozást. Az egyes csoportok demográfiai jellemzői az I-es táblázatban láthatók. A high-grade diszpláziát mutató ill. nem mutató nők között a demográfiai paraméterek tekintetében statisztikailag szignifikáns különbség nem volt. A DRD2/ANKK1 *TaqI*A allélek megoszlása az alábbi volt: A HSIL/CIN II/CIN III csoportban 7 (6,9%) A1 homozigóta, 39 (38,2%) heterozigóta és 56 (54,9%) A2 homozigóta. A kontroll csoportban az előfordulások a következők voltak: 4 (3,6%) A1 homozigóta, 30 (26,8%) heterozigóta és 78 (69,6%) A2 homozigóta. A genotípusok megoszlását illetve a statisztikai értékelés eredményét a II. táblázat mutatja. Az A1 allél előfordulása (közös csoportként kezelve az A1 homozigótákat és a heterozigótákat) statisztikailag szignifikánsan gyakoribb volt a HSIL csoportban, mint a kontrollok között (OR: 1,87, 95% CI: 1,05-3,33; $p=0,034$). Az eredmények szerint tehát a HPV-fertőzött nők körében a DRD2 A1 allél valamelyest fokozza a high-grade diszplázia kialakulását.

	HSIL, CIN II/III stádium	Kontroll
Életkor: a követéses vizsgálat kezdetekor, (SD)	40,05 (13,71)	41,16 (13,05)
az első menstruációkor, (SD)	13,21 (1,06)	13,10 (1,00)
az első szexuális együttlétkor, (SD)	17,86 (1,67)	17,66 (1,83)
Kihordott terhességek száma:		
0, 1	66 (64,6%)	68 (60,7%)
2 vagy több	36 (35,3%)	44 (39,3%)
Abortuszok száma:		
0, 1	91 (89,2%)	99 (88,4%)
2 vagy több	11 (10,8%)	13 (11,6%)

I. táblázat: A DRD2/ANKK1 rizikó-analízisben részt vevők főbb demográfiai jellemzői

	HSIL, CIN II/III stádium	Kontroll	OR (95% CI)	p-érték
A2/A2	56 (54,9%)	78 (69,6%)	1,00 (referencia)	-
A1/A2	39 (38,2%)	30 (26,8%)	1,87 (1,05-3,33)	p=0,034
A1/A1	7 (6,9%)	4 (3,6%)		
Összesen	102 (100,0%)	112 (100,0%)		

II. Táblázat: DRD2 TaqI allélgyakoriságok a HPV-fertőzött nők különböző csoportjaiban

IV.2. A DRD2/ANKK1 polimorfizmus hatása a prognózisra.

A vizsgálatban részt vevők közül az ötéves időtartam alatt 25 beteg meghalt, további 32 progressziót mutatott, kezelésre szorult, illetve a megfigyelési periódus végén nem volt tumormentes. 182 résztvevő teljesen tumormentes volt a megfigyelési periódus végén, metasztázisra illetve recidivára utaló jelek nélkül. E két csoport demográfiai adatai láthatók a III. táblázatban. A demográfiai paraméterek között statisztikailag szignifikáns különbség nem volt. A rosszabb prognózisú csoportban az A1 homozigóták száma 5 (8.8%), a heterozigóták száma 25 (43.8%), az A2 homozigóták száma pedig 27 (47.4%) volt (IV. táblázat). A jó prognózisú csoportban az alábbi megoszlást találtuk: A1 homozigóták: 9 (5.0%), heterozigóták: 55 (30.2%), A2 homozigóták: 118 (64.8%). A rossz prognózisú csoportban statisztikailag szignifikánsan gyakoribb volt az A1 allél előfordulása (OR: 2,00, 95% CI: 1,07-3,74; p=0,030). Az eredmények azt mutatták, hogy azokban a betegekben akikben legalább 1 kópiában jelen volt az A1 allél, nagyobb volt a rosszabb prognózis valószínűsége.

Mivel a túlélési idők között talált különbségeket az is okozhatta volna, hogy a vizsgálat kezdetén a DRD2 A1 allélt hordozók között eleve magasabb volt a cervixrák/preblasztoma arány, ezt is teszteltük, és nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a kiindulási állapotot illetően.

	Roszbabb prognózis	Jobb prognózis
Életkor:	42,18 (12,92)	42,92 (12,53)
a követéses vizsgálat kezdetekor, (SD)		
az első menstruációkor, (SD)	13,04 (1,03)	13,17 (1,15)
az első szexuális együttlétkor, (SD)	17,37 (1,70)	17,77 (1,89)
Kihordott terhességek száma:	29 (50,9%)	101 (55,5%)
0, 1		
2 vagy több	28 (49,1%)	81 (44,5%)
Abortuszok száma:	52 (91,2%)	158 (86,8%)
0, 1		
2 vagy több	5 (8,8%)	24 (13,2%)

III. Táblázat: A DRD2/ANKK1 prognosztikus vizsgálatban részt vevők főbb demográfiai jellemzői

	Roszzabb prognózis	Jobb prognózis	OR (95% CI)	p-érték
A2/A2	27 (47,4%)	118 (64,8%)	1,00 (referencia)	-
A1/A2	25 (43,8%)	55 (30,2%)	2,00 (1,07-3,74)	p=0,030
A1/A1	5 (8,8%)	9 (5,0%)		
Összesen	57 (100%)	182 (100%)		

IV.Táblázat: DRD2 *TaqI* allélgyakoriságok a jó és a rossz prognózisúknak bizonyult cervix preblasztomás ill. cervixrákos betegeknél.

IV.3. A GSTM1 és GSTT1 allélpolimorfizmusok hatása a cervix-diszplázia kialakulására.

A megfigyelési idő alatt 117 személyben high-grade cervikális diszplázia (HSIL, CIN II/III) alakult ki, míg 136 személyben nem találtunk ilyen elváltozást (kontroll = egészséges, illetve LSIL). A vizsgált személyek legfontosabb jellemzőit az V. táblázat tartalmazza. A főbb demográfiai tényezők szempontjából a high-grade diszpláziát mutató nők és a kontroll csoport között statisztikailag szignifikáns eltérés nem volt. A HSIL-t mutató nők csoportjában szignifikánsan gyakrabban fordult elő a GSTM1 (OR: 1,78, 95% CI: 1,06-2,97; p=0,028) és a GSTT1 (OR=1,89, 95% CI=1,10-3,26; p=0,022) 0 genotípus is, mint az egészséges nők között (VI. táblázat). Az összefüggés sokkal erősebb volt azon személyek esetén, akik mindkét GST enzim

esetén null genotípussal rendelkeztek (OR=2.35, 95% CI=1.17-4.73; $p=0.017$). A GSTM1 és a GSTT1 genotípus-vizsgálat eredményei igazolták, hogy a null genotípusú személyek fokozott kockázattal rendelkeznek a cervix malignus/premalignus elváltozásaira. Az eredmények külön-külön is megerősítik ezt az összefüggést, de ha a két metabolizáló enzim kombinációt vizsgáljuk (duál 0 genotípus), akkor a kockázatnövekedés még erősebb.

	HSIL, CIN II/III stádium	Kontroll
Életkor: a követéses vizsgálat kezdetekor, (SD)	40,56 (13,61)	42,54 (13,21)
az első menstruációkor, (SD)	13,11 (1,05)	13,01 (1,00)
az első szexuális együttlétkor, (SD)	17,88 (1,65)	17,63 (1,80)
Kihordott terhességek száma:		
0, 1	75 (64,1%)	80 (58,8%)
2 vagy több	42 (35,9%)	56 (41,2%)
Abortuszok száma:		
0, 1	106 (90,6%)	121 (89,0%)
2 vagy több	11 (9,4%)	15 11,0%)

V. Táblázat: A GSTM1/T1 allélpolimorfizmus-vizsgálatban résztvevők jellemzői

Genotípus	HSIL, CIN II/III stádium	Kontroll	OR (95% CI)	p-érték
GSTM1 +	54 (46,2%)	83 (61,0%)	1,00 (referencia)	-
0	63 (53,8%)	53 (39,0%)	1,78 (1,06-2,97)	0,028
GSTT1 +	70 (59,8%)	101 (74,3 %)	1,00 (referencia)	-
0	47 (40,2%)	35 (25,7%)	1,89 (1,10-3,26)	0,022
GSTM1 és/vagy GSTT1 +	90 (76,9%)	121 (89,0 %)	1,00 (referencia)	-
Mindkettő 0	27 (23,1%)	15 (11,0%)	2,35 (1,17-4,73)	0,017

VI.táblázat: A *GSTM1* és a *GSTT1* genotípusok megoszlása a perzisztens high-risk HPV fertőzött nők között.

V. MEGBESZÉLÉS

A cervixtumorok fő kockázati tényezője kétségtelenül a humán papillomavírus-fertőzés. Mindazonáltal a vírusfertőzés nem egyedüli tényező a cervixtumorok kialakulásában, amit többféleképpen is igazolhatunk. Egyrészt, bár a cervixtumorok 90-95%-ában (Munoz, 2000) a HPV DNS kimutatható, az esetek fennmaradó része HPV-negatív, azaz valószínűleg méhnyakrák kialakulhat HPV-független mechanizmussal is (bár ez az adatok szerint ritkán következik be). A HPV pozitív személyek aránya természetesen függ a HPV-kimutatósi technikától is. Kezdetben a HPV kimutatására Southern-blot, majd dot blot hibridizációt alkalmaztak, ami bonyolult, drága és időigényes technika. Az in situ hibridizáció vagy az úgynevezett „hybrid capture” technika (amikor is RNS-sel történő hibridizáció után a képződött RND-DNS hibrideket antitestekkel reagáltatjuk és a kötődést kemilumineszcencia segítségével detektáljuk) mellett napjainkban a PCR alapú módszerek a legelterjedtebbek. Gyakran alkalmazzák az úgynevezett konszenzus-primerekkel történő amplifikáció (a vírusgenom olyan szakasza kerül amplifikálásra, ami számos típusnál közös) utáni RFLP-vel történő tipizálást. Saját vizsgálatunkban egy beágyazott („nested”) PCR-módszert alkalmaztunk, amikor is egy nagyobb, külső (több típusban azonos) szakasz amplifikációja után a keletkezett termék rövidebb, belső, típus-specifikus részét amplifikáljuk tovább. Ez a módszer megfelelő szenzitivitással és specifitással bír, és viszonylag rövid idő alatt eredményt ad.

Ismeretes továbbá, hogy a HPV fertőzés nem minden esetben vezet cervixrák vagy preblasztoma kialakulásához. A HPV fertőzést szervezetünk eliminálhatja, fiatal korban ez nagyobb valószínűséggel történik meg, mint idősebbekben. Még akkor is, ha a HPV-től megszabadulni nem tud a szervezet (vagyis perzisztáló fertőzés alakul ki), cervix-diszplázia nem minden esetben alakul ki. Irodalmi adatok szerint a perzisztáló high-risk típusú HPV-fertőzés akár az esetek 40%-ában is high-grade diszplázia kialakulásához vezethet (Schiffman, 2005; Khan, 2005; Castle, 2005), de ez még mindig azt jelenti, hogy a HPV nem minden érintettnél okoz cervixrákot.

A HPV és a cervixrák kapcsolatának egyik kulcstényezője a vírus típusa. A humán papillomavírusokat két kategóriába sorolhatjuk, a high-risk és a low-risk csoportokba (egyes csoportosítások még intermedier-risk csoportot is elkülönítenek). A high-risk típussal történő fertőzés a cervix-diszplázia, majd a cervixrák kialakulásának kockázatát jelentősen fokozza, míg a low-risk típusok ezzel ellentétben nem okoznak méhnyakrákot, hanem elsősorban a nemi szervek szemölcsseiért (condyloma acuminatum) felelősek, esetleg enyhe fokú cervikális elváltozásokhoz vezethetnek. A high-risk csoporton belül a figyelem elsősorban a HPV 16-os és 18-as típusokra irányul, és ma már egyértelmű, hogy karcinogenitásánál és elterjedtségénél fogva a HPV 16-os típust tekintjük a legveszélyesebbnek. Világszerte e két típus okozza a cervixtumороk mintegy 70 %-át (Khan, 2005). A HPV 16 és 18 különös fontosságát számos szerző hangsúlyozza, többek között Khan és mtsai „arra következtettünk, hogy ez a két típus potens karcinogén, és a klinikai gyakorlatban hatékonyabban kellene velük foglalkozni” (Khan, 2005) vagy például Meijer és mtsai „meggyőző bizonyítékok állnak

rendelkezésre arról, hogy a HPV 16 és 18 a legerősebben onkogén típusok, ami külön kimutatásukat is indokolja” (Meijer, 2006). A HPV e két típusának fontosságát mutatja az is, hogy a jelenleg rendelkezésre álló HPV-vakcinák egyike e két típus ellen immunizál, míg a másik, tetraavalens vakcina pedig úgyszintén a 16-os és 18-as típus ellen, illetve két low-risk csoportba tartozó típus (6-os és 11-es) ellen ad – sajnos egyébként nem százszázalékos – védelmet. Az egyes HPV típusok jelentőségét illetve karcinogén tulajdonságait jól mutatja a XXX. táblázat, amely Clifford és mtsai két nagy meta-analízisének adataiból vett adatokat tartalmazza (Clifford, 2003a, Clifford, 2003b). A HPV 16-os és 18-as típusának kiemelkedő szerepét a magyar népességben történt vizsgálatok is megerősítik (Szőke, 2003).

A fenti adatok alapján döntöttünk úgy, hogy vizsgálatunk a HPV 16-os és 18-as típusokra terjed ki. Hernádi és Sáy hazai populáción kapott eredményei szerint még a 31-es típus előfordulása volt viszonylag gyakori (Sáy, 2001 vagy 2008 XXX), de ezt alacsonyabb karcinogenitása, illetve a vizsgálati csoportok viszonylagos homogenitásának megtartása miatt már nem vontuk be a vizsgálatba.

A disszertáció szempontjából döntő kérdés, hogy a cervixrák ill. az ezt megelőző diszplázia kialakulásának kockázatát a HPV típusán kívül milyen további tényezők befolyásolják. Vagyis, perzisztáló HPV fertőzés esetén mi befolyásolja, hogy kinél alakul ki preblasztomatózis, és kinek a méhnyaki hámja marad egészséges? A bevezetésben már említett számos tényezőről beigazolódott, hogy kapcsolatban van a cervixrák/preblasztoma létrejöttének valószínűségével. Ezen tényezők egy része – legalábbis részben egészen biztosan – a HPV-fertőzés kockázatának növelésével fejti ki hatását, vagyis nem tekinthető kockázatmódosító

tényezőnek az általunk feltett kérdés vonatkozásában. Nyilvánvalóan ilyen például a szexuális partnerek száma, különösen óvszer használata nélküli nemi kapcsolatok esetén.

Más kockázati tényezők viszont nem a HPV-fertőzés kockázatán keresztül hatnak, hanem attól független mechanizmusokon keresztül. E tényezők közül klasszikus példaként a dohányzás említhető, mivel a cigarettafüstben található karcinogén anyagok nemcsak a tüdőrák kockázatát fokozzák, hanem számos más szervben is emelik a daganatképződés rizikóját. Száz százalékgig egyébként a dohányzás sem függetleníthető a HPV-fertőzéstől, mivel több vizsgálat szerint is – életkortól függően – a dohányzók és a nemdohányzók szexuális szokásai bizonyos mértékben eltérőek lehetnek. A kihordott terhességek száma vagy a fogamzásgátló-szedés részben ugyancsak HPV-független mechanizmusokkal befolyásolja a kockázatot.

A fentiek értelmében tehát, annak ellenére, hogy a fő kockázati tényezőt ismerjük, fontos a cervixrák kialakulásának további elemeit vizsgálni, hiszen minél több ilyen tényezőt – és minél pontosabban – ismerünk, annál pontosabb kockázatbecslést adhatunk (értelemszerűen HPV-pozitív nőkre vonatkozóan). Ahhoz azonban, hogy az egyes további kockázati tényezőket vizsgálhassuk, HPV szempontjából homogén csoportokat kell képezni. Vizsgálatunkban ezért választottuk beválasztási kritériumként a perzisztens 16-os vagy 18-as HPV fertőzést. Mivel a fertőzés fennállásának időtartama is befolyásolja a betegség kialakulásának kockázatát, ezért döntöttünk úgy, hogy ebből a szempontból is

homogén csoportot képezünk. Ezen alapkövetemények teljesítése után jöhetett szóba a finomabb, rizikómódosító tényezők vizsgálata.

A metabolizáló enzimek daganatkialakulást befolyásoló hatását régóta ismerjük. Logikus, hogy a szervezetbe került karcinogén anyagok metabolizmusa fontos kockázati tényező. Minél kevesebb aktív karcinogén metabolit van jelen szervezetünkben, annál kisebb kockázattal kell számolnunk. Az aktív karcinogének mennyiségét pedig –a karcinogén expozíció túl – az I-es és II-es fázisú metabolizáló enzimek aktivitása határozza meg. A GST szupercsalád a II-es fázisú – detoxikáló – enzimek közé tartozik. Az enzim-szupercsalád általunk vizsgált tagjai (a GSTM1 és GSTT1) inszerciós/deléciós polimorfizmust mutatnak, és ennek megfelelően a homozigóta 0 allélt hordozókban az adott enzimnek funkcióképes formában nincs jelen. Ez a metabolizáló enzimek közötti szubsztrát-átfedések miatt nem okoz nagyon nagy problémát, de a detoxikáló kapacitás bizonyos mértékű csökkenéséhez vezet. A fentieknek megfelelően számos vizsgálat talált összefüggést a 0 genotípus és számos daganat fokozott kockázata között. Egyes vizsgálatok a cervixrák vagy preblasztomák vonatkozásában is kimutattak ilyen összefüggést (Singh 2008; Ueda, 2010), míg mások nem erősítették meg azt (Settheetham-Ishida, 2009; Kirán, 2010). A 0 és a + genotípusok megoszlása eltérést mutat különböző populációkban, főként az ázsiai és a kaukázusi rasszok vonatkozásában (Wang, 2011), ami megnehezíti a különböző vizsgálatok eredményeinek összevetését. Az utóbbi időben két nagy meta-analízist publikáltak a GSTM1/T1 polimorfizmusok és a cervixrák összefüggéséről (Wang, 2011; Economopoulos, 2010). Wang és mtsai arra a következtetésre jutottak, hogy a GSTM1 0 genotípus fokozza a cervixrák kockázatát ázsiai népességben (OR=1,47, 95% CI=1,11-1,94), viszont kaukázusi populációban

nem (OR=0,96, 95% CI=0,73-1,27). Economopoulos és mtsai viszont úgy találták, hogy a GSTM1 0 genotípus a nem kínai populációkban rizikófaktor (OR=1,392, 95% CI=1,003-1,932), kínaiaknál viszont nem az (OR=1,08, 95% CI=0,87-1,34) (25). Nem volt statisztikailag szignifikáns összefüggés a GSTT1 0 genotípus és a cervixrák között, kivéve latinoknál, ahol viszont nagyon erős volt a kockázatemelő hatás (OR=4,58, 95% CI=2,04-10,28). Wang és mtsai továbbá az ázsiai nőknél végzett elemzésben kölcsönhatást találtak a GSTM1 és GSTT1 0 genotípusok között: a duál 0 genotípusúak kockázata magasabb volt, mint azoké, akiknél vagy csak a GSTM1 vagy csak a GSTT1 0 genotípus volt jelen (OR=1,77, 95% CI=1,14-2,75). Természetesen a meta-analízisek számos, az összehasonlítást megnehezítő tényezőt találtak, például a HPV fertőzések kategorizálása, a kimeneti változó (méhnyakrák vagy preblasztoma), illetve további zavaró tényezők. A meta-analízisbe bevont cikkek közül egyesek a méhnyakrákot választották végpontként (Singh, 2008; Settheetham-Ishida, 2009; Kirán, 2010), mások a cervikális diszpláziát vizsgálták (Ueda, 2005; Sierra-Torres, 2006), illetve találkozhattunk kevert végpontokkal (méhnyakrák/diszplázia) is (Nishino, 2008; Palma, 2010). Saját vizsgálatunkban ezen faktorokra is igyekeztünk figyelmet fordítani, és próbáltuk a zavaró tényezőket a lehetőség szerint legjobban kiiktatni. Ezért döntöttünk úgy, hogy egységesen hosszú ideig perzisztáló HPV-fertőzéses eseteket vonunk be a vizsgálatba, mert ekkor a fertőzés időtartamában levő esetleges különbségek nem befolyásolhatják eredményeinket a vizsgált polimorfizmusok hatását illetően. Hasonló okokból döntöttünk a HSIL ill. CIN II/III stádium, mint végpont mellett. Ez a megközelítés egyébként gyakorlati szempontból is releváns, hiszen ezen elváltozások már orvosi beavatkozást indokolnak.

A homogenitás növelése már az esetszám csökkenéséhez vezetett volna, illetve az eredmények általánosíthatóságát csökkentette volna, ezért további lehetséges zavaró tényezőket nem elemeztünk a vizsgálatban. Ezek közül a potenciálisan legérdekesebb a dohányzás lehetett volna, de az ezzel foglalkozó korábbi vizsgálatok döntő többsége nem talált kölcsönhatást a dohányzás és a GST-polimorfizmusok között a cervixrák-kockázat vonatkozásában (Goodman, 2001; Agorastos 2007; Nishino, 2008; Settheetham-Ishida, 2009; Palma, 2010).

Eredményeink szerint a vizsgált nők 46,2 %-ában alakult ki preblasztoma, ami az irodalmi adatokhoz képest meglehetősen magas szám (bár ennél rövidebb idejű nyomon követésnél is beszámoltak már 40 % körüli incidenciáról). Ezt elsősorban a hosszú vizsgálati periódussal magyarázzuk, mivel a perzisztens fertőzés időtartama (figyelembe véve, hogy a kockázat nem az időtartammal egyenes arányban változik (Hernádi, 2006) fokozza a kumulatív kockázatot.

Vizsgálatunk igazolta, hogy a GSTM1 és GSTT1 0 genotípus fokozza a cervix-preblasztomák kialakulásának kockázatát perzisztens HPV-fertőzés esetén. A duál 0 genotípusú nők kockázata további emelkedést mutatott, ami a két tényező közötti kölcsönhatásra utal. Eredményeink szerint a GSTM1 és GSTT1 allélpolimorfizmusok kaukázusi populációban is fokozzák a cervikális diszplázia kialakulásának kockázatát, illetve a köztük fennálló kölcsönhatás sem csak ázsiai népességben mutatható ki.

A méhnyakrák és rákmegelőző állapotok vonatkozásában számos más genetikai polimorfizmus kockázatbefolyásoló hatása is felmerülhet. Sokan vizsgálták például a p53 53-as kodon *Arg/Pro* allélpolimorfizmust, ami egyrészt a p53 gén sejtciklust szabályozó és apoptózisra gyakorolt hatása, másrészt a HPV E6 fehérjével

való specifikus kölcsönhatása miatt érdekes (Klug, 2001; Katiyar, 2003; Min-min, 2006).

Az eddig említettekkel ellentétben egészen másfajta, indirekt kapcsolat állhat fenn a DRD2 gén allélpolimorfizmusai és a cervixrák kockázata között. Az itt szóba jöhető mechanizmusok főként pszichés tényezőkön keresztül érvényesülhetnek, például egyes addiktív kockázatokon keresztül (dohányzás, alkoholizmus illetve drogok), amelyek fokozhatják a kémiai vagy biológiai karcinogén ágensekkel történő expozíciót. Bizonyos DRD2-asszociált viselkedéstípusok (több szexuális partner) fokozhatják a HPV-fertőzés kockázatát is, de ezt a hatást természetesen jelen vizsgálatunkban nem mérhettük, hiszen a résztvevők kizárólag HPV-pozitív nők voltak. Feltételezésünk szerint a DRD2/ANKK1 allélpolimorfizmus mégis főként a stressz-kezelés befolyásolásán keresztül fejtheti ki kockázatbefolyásoló hatását. Régóta vizsgálják a pszichés tényezők daganatos kockázatra kifejtett hatását; pro (Chida, 2008; Pinto, 2011) és kontra (Hansen, 2005; Nakaya, 2010) is jónéhány közlemény született már e témában. A pszichés tényezők tekintetében külső és belső komponenseket kell megkülönböztetnünk. Külső komponens maga a stressz, a környezeti pszichés terhelés. A belső tényezők pedig a külső stresszel kölcsönhatásban vezetnek pszichés illetve szomatikus változásokhoz. A kardiovaszkuláris kockázat elemzésénél bizonyosodott be először, hogy nemcsak – vagy nem főként – a stressznek a „mennyisége”, hanem inkább a személyiségtípus, a stressz kezelése, feldolgozása a fontos a betegség kockázatának szempontjából. Az eddigieket megerősíti az is, hogy relaxációs-meditációs módszerek csökkentették a pszichoszomatikus betegségek kialakulásának gyakoriságát. Egyes emberek tehát hajlamosabbak a stressz hatására történő szomatizálásra, mint mások, és ez a

hajlam személyiségünkől fakad. Személyiségvonásaink alakulását viszont egyes genetikai tényezők befolyásolhatják. Mivel a dopaminerg rendszerek fontos szerepet töltenek be egyes pszichés funkciók ill. folyamatok központi idegrendszeri szabályozásában (motiváció, örömszerző viselkedés), személyiségünk, pszichés karakterünk alakításában tehát szerepe lehet a DRD2 allélpolimorfizmusoknak is. Ezt különböző személyiségvonások tekintetében igazolták is (Smillie 2009, Emanuele 2007). Ugyancsak kapcsolatot találtak addikciók, illetve kifejezett mentális betegségek és a DRD2 allélpolimorfizmusok között is (Noble, 2003; Eisenberg, 2007; Comings, 2000; Batra, 2000; Gorwood, 2000; Pato, 1993).

A DRD2/ANKK1 *TaqI*a allélpolimorfizmus kockázatemelő hatása tehát feltehetően számos indirekt mechanizmus kölcsönhatása következtében jön létre. Már említettük a stressz-kezelő mechanizmusokat, az addikciók emelkedett kockázatát (az alkoholfogyasztás vagy a dohányzás és a daganatok kialakulása közötti kapcsolat jól ismert). Ezek az addiktív magatartások és a mentális betegségek további ismert daganat-rizikófaktorokat befolyásolhatnak. Alkoholisták, egyéb szenvedélybetegek körében a táplálkozási szokások szignifikánsan különbözhetnek az egészséges személyek táplálkozásától. A nem megfelelő táplálkozást pedig a legfontosabb tényezőként tartjuk számon a humán karcinogenezis kapcsán. Ugyancsak megváltozhat (csökkenhet) a fizikai aktivitás alkoholistákban illetve egyes pszichiátriai betegségekben szenvedők körében, ami újabb daganat-rizikófaktor. Erős összefüggés van a jövedelmi viszonyok és számos betegség előfordulása között. Mint ismeretes, az imént felsorolt betegségek és állapotok gyakran vezetnek krónikus keresőképtelenséghez vagy a jövedelem csökkenéséhez, ami újabb rizikótényezőt eredményez a daganatkialakulás

szempontjából. A pszichés tényezők, köztük feltételezésünk szerint a DRD2 allélpolimorfizmus is tehát rendkívül összetett módon, többféle indirekt mechanizmuson – illetve azok kölcsönhatásán – keresztül fejtheti ki hatását. Ezen tényezőket izoláltan mérni igen-igen nehéz feladat, és nem biztos, hogy célravezető megoldás. Az epidemiológiai módszertan szerint is a helyes módszer a köztes változók kihagyása az elemzésből, hanem a kockázati tényezőnek végponttal való kapcsolatát kell elemezni. Ezt a stratégiát követtük jelen vizsgálatunkban is.

Irodalmi adatok szerint mind ez idáig meglehetősen kevesen foglalkoztak a DRD2 allélpolimorfizmusok és a daganatok kockázatának kapcsolatával. Vizsgálták a különböző genotípusok hatását a kolorektális daganatok (Gemignani, 2005), leiomyoma (Hsieh, 2009), emlő- (Comings, 2003; Sangrajrang, 2010), tüdő- (Campa, 2007) és hólyagtumorok (Clague, 2010) kockázatára, de tudomásunk szerint a méhnyakrákkal foglalkozó közlemény nem jelent meg. A hatásmechanizmusok terén a leiomyoma, a tüdőrák és a kolorektális daganatok esetén direkt mechanizmusok is szóba jöhetnek, ugyanis ezekben a szervekben a DRD2 receptor expresszálódik. Az emlő- hólyag- és részlegesen a tüdőrák kockázatát elemző szerzők a DRD2 polimorfizmus és a daganatos kockázat közötti hatást elsősorban ezen polimorfizmus és a rizikómagatartások (alkoholizmus, dohányzás, stb.) közötti kapcsolat alapján magyarázzák.

A DRD2 A1/A2 polimorfizmus prognosztikus hatása a fentiek értelmében ugyancsak magyarázható, sőt bizonyos mértékig még egyszerűbb. A pszichés tényezők szerepe, a beteg magatartása egyértelműen befolyásolja a prognózist számos betegség kapcsán. Sokan foglalkoztak e kérdéssel a daganatos betegségek

vonatkozásában is, és leírták a pszichés tényezők prognózist befolyásoló hatását. Ezt erősíti meg saját megfigyelésünk is, amellyel a DRD2 A1 allélt hordozók rosszabb prognózisát igazoltuk.

VI. SAJÁT EREDMÉNYEK

- A DRD2/ANKK1 A1/A2 allélek megoszlása statisztikailag szignifikánsan különbözött high-grade cervikális diszpláziát mutató, illetve egészséges vagy low-grade diszpláziás nők között (OR: 1,87, 95% CI: 1,05-3,33; $p=0,034$). A DRD2/ANKK1 A1/A2 allélpolimorfizmus tehát befolyásolta a high-grade cervikális diszplázia kialakulását, mégpedig az A1 allél bizonyult kockázati tényezőnek.
- A DRD2/ANKK1 A1/A2 allélek megoszlása statisztikailag szignifikánsan különbözött rossz, illetve jó prognózisú méhnyakrákos vagy preblaszomás betegek között (OR: 2,00, 95% CI: 1,07-3,74; $p=0,030$). A DRD2/ANKK1 A1/A2 allélpolimorfizmus tehát a cervixrák illetve preblasztoma prognózisát befolyásoló tényezőnek bizonyult, az A1 allélt hordozók prognózisa rosszabb volt.
- Mind a GSTM1 (OR: 1,78, 95% CI: 1,06-2,97; $p=0,028$), mind a GSTT1 0 (OR=1,89, 95% CI=1,10-3.26; $p=0,022$) genotípus szignifikánsan gyakoribb volt high-grade cervikális diszpláziát mutató nők körében, mint egészséges vagy low-grade diszpláziás nőkben. A GSTM1 és a GSTT1 0 genotípus tehát fokozta a cervix-diszplázia kialakulásának kockázatát.

- A GSTM1 és GSTT1 0 genotípusok együttes jelenléte a cervix preblasztoma kialakulásának kockázatát nagyobb mértékben emelte (OR=2.35, 95% CI=1.17-4.73; p=0.017), mint a GSTM1 vagy GSTT1 0 genotípus önmagában. Ez a két high-risk genotípus közötti kölcsönhatás jelenlétét erősíti meg.

VII. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

Ankyrin repeat and kinase domain containing 1	(ANKK1)
Cervikális intraepiteliális neoplázia	(CIN)
Ciklikus adenzinmonofoszfát	(cAMP)
Dopamin receptor D2	(DRD2)
E6 onkoprotein celluláris ubiquitin ligáz	(E6AP)
Glutation-S-Transzferáz	(GST)
Glutation-S-Transzferáz M1	(GSTM1)
Glutation-S-Transzferáz T1	(GSTT1)
Humán papillomavírus	(HPV)
International Agency for Research on Cancer	(IARC)
Retinoblasztóma foszforilált protein	(pRb)
Squamous intraepithelial lesion	(SIL)

VIII. IRODALOM

1. Agorastos T, Papadopoulos N, Lambropoulos AF, Chrisafi S, Mikos T, Goulis DG, Constantinidis TC, Kotsis A and Bontis JN: Glutathione-S-transferase M1 and T1 and cytochrome P1A1 genetic polymorphisms and susceptibility to cervical intraepithelial neoplasia in Greek women. *Eur J Cancer Prev* 16(6): 498-504, 2007.
2. Arca P, Hardisson C. and Suarez JE. Purification of a glutathione S-transferase that mediates fosfomicin resistance in bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34, 844-848, 1997.
3. Barycki, JJ. and Colman, RF. Identification of the nonsubstrate steroid binding site of the rat liver glutathione S-transferase, isoenzyme 1-1, by the steroid affinity label, 3b-(iodoacetoxy)dehydroisoandrosterone. *Arch. Biochem. Biophys.* 345,16-31, 1997.
4. Batra A, Gelfort G, Bartels M, Smoltczyk H, Buchkremer G, Riess O, Schöls L. The dopamine D2 receptor (DRD2) gene-a genetic risk factor in heavy smoking? *Addict Biol* 2000;5(4):429-36.
5. Bierut LJ, Rice JP, Edenberg HJ, Goate A, Foroud T, Cloninger CR, Begleiter H, Conneally PM, Crowe RR, Hesselbrock V, Li TK, Nurnberger JI Jr, Porjesz B, Schuckit MA, Reich T. Family-based study of the association of the dopamine D2 receptor gene (DRD2) with habitual smoking. *Am J Med Genet* 2000; 90:299–302.
6. Blum, K., Noble, E. P., Sheridan, P. J., Montgomery, A., Ritchie, T., Jagadeeswaran, P., Nogami, H., Briggs, A. H., & Cohn, J. B. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *The Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 1990; 263, 2055–2060.

7. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:244-65.
8. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:796–802.
9. Brinton LA, Schairer C, Haenszel W, Stolley P, Lehman HF, Levine R, Savitz DA. Cigarette smoking and invasive cervical cancer. *JAMA* 1986; 255:3265–3269.
10. Brody AL, Olmstead RE, London ED, Farahi J, Meyer JH, Grossman P, Lee GS, Huang J, Hahn EL, Mandelkern MA (2004) Smoking-induced ventral striatum dopamine release. *Am J Psychiatry* 161:1211–1218.
11. Bunzow JR, Van Tol HH, Grandy DK, Albert P, Salon J, Christie M, Machida CA, Neve KA, Civelli O. Cloning and expression of a rat D2 dopamine receptor cDNA [see comments]. *Nature* 1988;336:783–7.
12. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:1-17.
13. Campa D, Zienolddiny S, Lind H, Ryberg D, Skaug V, Canzian F, Haugen A. Polymorphisms of dopamine receptor/transporter genes and risk of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2007;56(1):17-23.
14. Castle PE, Solomon D, Schiffman M, Wheeler CM. Human papillomavirus type 16 infections and 2-year absolute risk of cervical precancer in women with equivocal or mild cytologic abnormalities. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1066–71.
15. Chellappan S, Kraus VB, Kroger B et al. Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between the transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4549–4553.

16. Chida Y, Hamer M, Wardle J, Steptoe A. Do stress-related psychosocial factors contribute to cancer incidence and survival? *Nat Clin Pract Oncol*. 2008 Aug;5(8):466-75.
17. Choo KB, Pan CC, Han SH. Integration of human papillomavirus type 16 into cellular DNA of cervical carcinoma: preferential deletion of the E2 gene and invariable retention of the long control region and the E6/E7 open reading frames. *Virology* 1987; 161: 259–261.
18. Civelli O, Bunzow JR, Grandy DK, Zhou QY, Van Tol HH. Molecular biology of the dopamine receptors. *Eur J Pharmacol* 1991;207:277–86.
19. Clague J, Cinciripini P, Blalock J, Wu X, Hudmon KS. The D2 dopamine receptor gene and nicotine dependence among bladder cancer patients and controls. *Behav Genet* 2010 Jan;40(1):49-58.
20. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003; 89(1):101-5.
21. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003; 88(1):63-73.
22. Coggan M, Whitbread L, Whittington A, Board P. Structure and organization of the human theta-class glutathione S-transferase and D-dopachrome tautomerase gene complex. *Biochem J*. 1998 Sep 15;334 (Pt 3):617-23.
23. Comings DE. Genetic factors in drug abuse and dependence. *NIDA Res Monogr*. 1996;159:16-38.
24. Comings DE, Ferry L, Bradshaw-Robinson S, Burchette R, Chiu C, Muhleman D. The dopamine D2 receptor (DRD2) gene: a genetic risk factor in smoking. *Pharmacogenetics*. 1996 Feb;6(1):73-9.
25. Comings DE, Blum K. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. *Prog Brain Res* 2000;126:325-41.

26. Comings DE, Gade-Andavolu R, Cone LA, Muhleman D, MacMurray JP. A multigene test for the risk of sporadic breast carcinoma. *Cancer* 2003;97(9):2160-70.
27. Crook T, Vousden KH, Tidy JA: Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans-activation. *Cell*. Volume 67, Issue 3, 1 November 1991, Pages 547-556
28. Cuzik J, Sasieni P, Davies P et al. a systematic review of the role of human papillomavirus testing within a cervical screening programme. *Health Technol Assess* 1999; 3: 1–11.
29. Magyar Daganatregiszter, 2010. Országos Onkológiai Intézet.
30. Delgado-Rodriguez M, Sillero-Arenas M, Martin-Moreno JM, Galvez-Vargas R. Oral contraceptives and cancer of the cervix uteri: a meta-analysis. *Acta Obstetr Gynecol Scand* 1992; 71: 368–76.
31. Dirr H, Reinemer P, Huber R. X-ray crystal structures of cytosolic glutathione S-transferases. Implications for protein architecture, substrate recognition and catalytic function. *Eur J Biochem*. 1994 Mar 15;220(3):645-61. Review.
32. Dixon, D. P., Cummins, I., Cole, D. J. and Edwards, R. (1998) Glutathione-mediated detoxification systems in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 258±266
33. Dong LM, Potter JD, White E, Ulrich CM, Cardon LR, Peters U. Genetic susceptibility to cancer: the role of polymorphisms in candidate genes. *JAMA*. 2008 May 28;299(20):2423-36. Review.
34. Duensing S, Munger K (2004) Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. *Int J Cancer* 109:157–162
35. Economopoulos KP, Choussein S, Vlahos NF, Sergentanis TN. GSTM1 polymorphism, GSTT1 polymorphism, and cervical cancer risk: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer*. 2010 Dec;20(9):1576-80.

36. Eisenberg DT, Campbell B, Mackillop J, Lum JK, Wilson DS. Season of birth and dopamine receptor gene associations with impulsivity, sensation seeking and reproductive behaviors. *PLoS One* 2007;2(11):e1216.
37. Eisenberg DTA, Campbell B, Gray PB, Sorenson MD: Dopamine receptor genetic polymorphisms and body composition in undernourished pastoralists: An exploration of nutrition indices among nomadic and recently settled Ariaal men of northern Kenya. *DBMC Evol Biol.* 2008; 8: 173.
38. Emanuele E, Brondino N, Pesenti S, Re S, Geroldi D. Genetic loading on human loving styles. *Neuro Endocrinol Lett.* 2007 Dec;28(6):815-21.
39. Fernandes Brenna SM, Syrjänen KJ.: Regulation of cell cycles is of key importance in human papillomavirus (HPV)-associated cervical carcinogenesis. *Sao Paulo Med J.* 121 (3): 128-132, 2003.
40. Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys.* 2001 May 1;389(1):84-93.
41. Franco EL, Rohan TE, Villa LL (1999) Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 91:506–511
42. Frova C: Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives. *Biomol. Eng.* 2006; 23, 149–169.
43. Funk JO, Waga S, Harry JB, Espling E, Stillman B, Galloway DA. Inhibition of CDK activity and PCNA-dependent DNA replication by p21 is blocked by interaction with the HPV-16 E7 oncoprotein. *Genes Dev* 1997;11:2090-100.
44. Gemignani F, Landi S, Moreno V, Gioia-Patricola L, Chabrier A, Guino E, et al. Polymorphisms of the dopamine receptor gene DRD2 and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Jul;14(7):1633-8.
45. Gingrich JA, Caron MG. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annu Rev Neurosci* 1993;16:299–321.

46. Globocan 2008 (<http://globocan.iarc.fr/>)
47. Goodman MT, McDuffie K, Hernandez B, Bertram CC, Wilkens LR, Guo C, Seifried A, Killeen J and Le Marchand L: CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms and the risk of cervical squamous intraepithelial lesions in a multiethnic population. *Gynecol Oncol* 81(2): 263-9, 2001.
48. Gorwood P, Batel P, Gouya L, Courtois F, Feingold J, Adès J. Reappraisal of the association between the DRD2 gene, alcoholism and addiction. *Eur Psychiatry* 2000;15(2):90-6.
49. Gronau S, König-Greger D, Rettinger G, Riechelmann H (2000) GSTM1 gene polymorphism in patients with head and neck tumors. *Laryngorhinootologie* 79:341–344.
50. Hamajima N, Ito H, Matsuo K, Saito T, Tajima K, Ando M, Yoshida K, Takahashi T. Association between smoking habits and dopamine receptor D2 taqI A A2 allele in Japanese males: a confirmatory study. *J Epidemiol.* 2002 Jul;12(4):297-304.
51. Hansen PE, Floderus B, Frederiksen K, Johansen C. Personality traits, health behavior, and risk for cancer: a prospective study of Swedish twin court. *Cancer.* 2005 Mar 1;103(5):1082-91.
52. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1995;30(6):445-600.
53. Hayes JD., Flanagan JU, Jowsey, I.R., 2005. Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45, 51–88.
54. Hernádi Z, Gazdag L, Szóke K, Sápy T, Krasznai ZT, Kónya J. Duration of HPV-associated risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Mar 1;125(1):114-9. Epub 2005 Oct 24.

55. Hernádi Z, Sápy T, Krasznai ZT. 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 Mar 15;113(1):83-6.
56. Hirvonen A., Husgafvel-Pursiainen K., Anttila S., Vainio H.: The GSTM1 null genotype as a potential modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis.* 14: 1479-1481. 1993.
57. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998;338:423-8.
58. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, Altekruse SF, Kosary CL, Ruhl J, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Eisner MP, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA, Edwards BK (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/, based on November 2010 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2011.
59. Howley PM, Lowy DR. Papillomaviruses and their replication, Chapter 65. In: Field's Virology, Volume 2, 4th ed. Knipe DM, Howley PM, editors. Lippincott Williams and Wilkins: Philadelphia; 2001. p. 2197-229.
60. Hsieh YY, Chang CC, Bau DT, Tsai FJ, Tsai CH, Chen CP. The p21 codon 31*C- and DRD2 codon 313*T-related genotypes/alleles, but not XRCC1 codon 399, hOGG1 codon 326, and DRD1-48 polymorphisms, are correlated with the presence of leiomyoma. *Fertil Steril* 2009 Mar;91(3):869-77.
61. Huang FY, Kwok YK, Lau ET, Tang MH, Ng TY, Ngan HY (2005) Genetic abnormalities and HPV status in cervical and vulvar squamous cell carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 157:42-48

62. Hubbert NL, Sedman SA, Schiller JT. Human papillomavirus type 16 E6 increases the degradation rate of p53 in human keratinocytes. *J Virol* 1992;66:6237-41.
63. IARC. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses, Vol. 64, Human Papillomaviruses. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1995.
64. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60(5):277-300.
65. Johnstone EC, Yudkin P, Griffiths SE, Fuller A, Murphy M, Walton R. The dopamine D2 receptor C32806T polymorphism (DRD2 Taq1A RFLP) exhibits no association with smoking behaviour in a healthy UK population. *Addict Biol.* 2004 Sep-Dec;9(3-4):221-6.
66. Katiyar S, Thelma BK, Murthy NS, Hedau S, Jain N, Gopalkrishna V, Husain SA, Das BC: Polymorphism of the p53 codon 72 Arg/Pro and the risk of HPV type 16/18-associated cervical and oral cancer in India. *Mol Cell Biochem* 2003;252(1-2):117-24.
67. Kato S, Bowman ED, Harrington AM, Blomeke B, Shields PG (1995) Human lung carcinogen-DNA adduct levels mediated by genetic polymorphisms in vivo. *J Natl Cancer Inst* 87:902–907.
68. Kato T, Nagata N, Kuroda Y, Itoh H, Kawahara A, Kuroki N, Ookuma R, Bell DA (1996) Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) genetic polymorphism and susceptibility to gastric and colorectal adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 17:1855–1859.
69. Ketley, J. N., Habig, W. H. and Jakoby, W. B. (1976) Binding of nonsubstrate ligands to the glutathione S-transferases. *J. Biol. Chem.* 250, 8670±8673
70. Ketterer B (1988) Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res* 202:343–361

71. Ketterer B, Harris JM, Talaska G, Meyer DJ, Pemble SE, Taylor JB, Lang NP, Kadlubar FF. The human glutathione S-transferase supergene family, its polymorphism, and its effects on susceptibility to lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1992 Nov;98:87-94.
72. Ketterer B. Dietary isothiocyanates as confounding factors in the molecular epidemiology of colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998 Aug;7(8):645-6. Review
73. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1072–79.
74. Kiran B, Karkucak M, Ozan H, Yakut T, Ozerkan K, Sag S, Ture M. GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) polymorphisms in the genetic susceptibility of Turkish patients to cervical cancer. *J Gynecol Oncol.* 2010 Sep;21(3):169-73.
75. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, Angstrom T, Dillner J (2000) Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer* 82:1332–1338.
76. Klug SJ, Wilmotte R, Santos C, Almonte M, Herrero R, Guerrero I, Caceres E, Peixoto-Guimaraes D, Lenoir G, Hainaut P, Walboomers JM, Muñoz N. TP53 polymorphism, HPV infection, and risk of cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(9):1009-12.
77. Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med* 2002;347:1645-51.
78. Koutsky LA. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 102(5A): 3-8, 1997.
79. Központi Statisztikai Hivatal (KSH), Demográfiai évkönyv

80. Levi F, Lucchini F, Negri E, Franceschi S, la Vecchia C.: Cervical cancer mortality in young women in Europe: patterns and trends *European J of Cancer* 2000; 36(17):2266-2271.
81. Lie AK and Kristensen G. Human Papillomavirus E6/E7 mRNA Testing as a Predictive Marker for Cervical Carcinoma. *Expert Rev Mol Diagn.* 2008;8(4):405-415.
82. Listowsky, I., Abramovitz, M., Homma, H. and Niitsu, Y. (1988) Intracellular binding and transport of hormones and xenobiotics by glutathione S-transferase. *Drug Metab. Rev.* 19, 305±318
83. Mannervik B, Danielson UH. Glutathione transferases--structure and catalytic activity. *CRC Crit Rev Biochem.* 1988;23(3):283-337. Review.
84. Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, Hayes JD, Di Ilio C, Ketterer B, Listowsky I, Morgenstern R, Muramatsu M, Pearson WR, et al. Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem J.* 1992 Feb 15;282 (Pt 1):305-6
85. McDougall JK.: Immortalization and transformation of human cells by human papillomavirus. *Curr. Top Microbiol Immunol.* 186: 101-119, 1994
86. McLellan, L. I. and Wolf, C. R. (1999) Glutathione and glutathione-dependent enzymes in cancer drug resistance. *Drug Resist. Update* 2, 153±164
87. Miller WB, Pasta DJ, MacMurray J, Chiu C, Wu H, Comings DE. Dopamine receptor genes are associated with age at first intercourse. *J Biosocial Sci.* 1999; 31: 43–54.
88. Min-min H, Ming-rong X, Ze-yi C, Kai-xuan Y, Zhi-lin S. Analysis of p53 codon 72 polymorphism and its association with human papillomavirus 16 and 18 E6 in Chinese cervical lesions. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16(6):2004-8.
89. Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 1998;78:189–225.
90. Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV, Walboomers JM, Herrero R, Franceschi S; International Agency for Research on Cancer. Multicentric

Cervical Cancer Study Group. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002 Mar 30;359(9312):1085-92.

91. Munoz N. Human papillomavirus and cancer: The epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2000;19:1-5.
92. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348: 518–27.
93. Munoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 2006;24:S1–10.
94. Nakajima, T., Elovaara, E., Anttila, S., Hirvonen, A., Camus, A. M., Hayes, J. D., Ketterer, B. and Vainio, H. (1995) Expression and polymorphism of glutathione S-transferase in human lungs - risk factors in smoking-related lung cancer. *Carcinogenesis* 16, 707±711
95. Nakaya N, Bidstrup PE, Saito-Nakaya K, Frederiksen K, Koskenvuo M, Pukkala E, Kaprio J, Floderus B, Uchitomi Y, Johansen C. Personality traits and cancer risk and survival based on Finnish and Swedish registry data. *Am J Epidemiol*. 2010 Aug 15;172(4):377-85. Epub 2010 Jul 16.
96. Nanda K, McCrory DC, Myers ER, et al. (2000). Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 132: 810-819.
97. Nawa A, Nishiyama Y, Kikkawa F, Kawai M, Mano H, Goto S, Suganuma N, Tomoda Y, Nakashima N. Detection of human papillomaviruses from histologically normal lymph nodes of Japanese cervical cancer patients by nested polymerase chain-reaction assay. *Int J Cancer*. 1993 Apr 1;53(6):932-7.
98. Nebert DW. Role of genetics and drug metabolism in human cancer risk. *Mutat Res* 1991;247:267-81

99. Neville, M. J., Johnstone, E. C., & Walton, R. T. (2004). Identification and characterization of ANKK1: A novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Human Mutations*, 6, 540–545.
100. Nishino K, Sekine M, Kodama S, Sudo N, Aoki Y, Seki N and Tanaka K: Cigarette smoking and glutathione S-transferase M1 polymorphism associated with risk for uterine cervical cancer. *J Obstet Gynaecol Res* 34(6): 994-1001, 2008.
101. Noble EP. Polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene and alcoholism and other substance use disorders. *Alcohol Alcohol Suppl.* 1994;2:35-43. Review.
102. Noble EP, Syndulko K, Fitch RJ, Ritchie T, Bohlman MC, Guth P, Sheridan PJ, Montgomery A, Heinzmann C, Sparkes RS, et al. D2 dopamine receptor TaqI A alleles in medically ill alcoholic and nonalcoholic patients. *Alcohol Alcohol.* 1994 Nov;29(6):729-44.
103. Noble EP. Addiction and its reward process through polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene: a review. *Eur Psychiatry.* 2000 Mar;15(2):79-89. Review.
104. Noble EP. The DRD2 gene in psychiatric and neurological disorders and its phenotypes. *Pharmacogenomics.* 2000 Aug;1(3):309-33. Review.
105. Noble EP, Zhang X, Ritchie TL, Sparkes RS. Haplotypes at the DRD2 locus and severe alcoholism. *Am J Med Genet.* 2000 Oct 9;96(5):622-31.
106. Noble EP. D2 dopamine receptor gene in psychiatric and neurologic disorders and its phenotypes. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)* 2003;116B:103–125.
107. Oakley, A.J., 2005. Glutathione transferases: new functions. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 15, 716–723.

108. Olaharski AJ, Sotelo R, Solorza-Luna G, Gonsebatt ME, Guzman P, Mohar A, Eastmond DA (2006) Tetraploidy and chromosomal instability are early events during cervical carcinogenesis. *Carcinogenesis* 27:337–343.
109. Palma S, Novelli F, Padua L, Venuti A, Prignano G, Mariani L, Cozzi R, Tirindelli D, Testa A. Interaction between glutathione-S-transferase polymorphisms, smoking habit, and HPV infection in cervical cancer risk. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136(7):1101-9.
110. Paskett ED, McLaughlin JM, Reiter PL, Lehman AM, Rhoda DA, et al. Psychosocial predictors of adherence to risk-appropriate cervical cancer screening guidelines: a cross sectional study of women in Ohio Appalachia participating in the Community Awareness Resources and Education (CARE) project. *Prev Med* 2010;50(1-2):74.
111. Pato CN, Macciardi F, Pato MT, Verga M, Kennedy JL. Review of the putative association of dopamine D2 receptor and alcoholism: a meta-analysis. *Am J Med Genet* 1993;48(2):78-82.
112. Pinto BM, Ciccolo JT. Physical activity motivation and cancer survivorship. *Recent Results Cancer Res.* 2011;186:367-87.
113. Ponce G, Hoenicka J, Jimenez-Arriero MA, Rodriguez-Jimenez R, Aragues M, Martin-Sune N, Huertas E, Palomo T. DRD2 and ANKK1 genotype in alcohol-dependent patients with psychopathic traits: association and interaction study. *Br J Psychiatry* 2008. 193:121–125
114. Pool-Zobel BL, Bub A, Liegibel UM, Treptow van Lishaut S, Rechkemmer G: Mechanism by which vegetable consumption reduces genetic damage in humans. *Cancer Epid Biom Prev* 7: 891-899, 1998.
115. Prokopczyk B, Trushin N, Leszczynska J, Waggoner SE, El-Bayoumy K (2001) Human cervical tissue metabolizes the tobacco-specific nitrosamine, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, via alpha-hydroxylation and carbonyl reduction pathways. *Carcinogenesis* 22:107–114.

116. Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E: Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ* VOLUME 318 3 APRIL 1999.
117. Ranson, H., Prapanthadara, L. and Hemingway, J. (1997) Cloning and characterization of two glutathione S-transferases from a DDT-resistant strain of *Anopheles gambiae*. *Biochem. J.* 324, 97±102
118. Rebbeck TR (1997) Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:733–743.
119. Reiche EMV, Nunes SOV, Morimoto HK. Stress, depression, the immune system, and cancer. *Lancet Oncol* 2004;5:617–25.
120. Sangrajrang S, Sato Y, Sakamoto H, Ohnami S, Khuhaprema T, Yoshida T. Genetic polymorphisms in folate and alcohol metabolism and breast cancer risk: a case-control study in Thai women. *Breast Cancer Res Treat* 2010 Oct;123(3):885-93.
121. Sápy T, Póka R, Szarka K, Kónya J, Huga S, Hernádi Z.: Age-specific prevalence of high-risk human papillomavirus infection in a Hungarian female population with positive cytology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008 Jun;138(2):194-8.
122. Sápy T, Szikszay A, Kónya J, Borsos A, Hernádi Z. Prevalence of human papillomavirus infections in our five-year data. *Orv Hetil.* 2001 Jun 17;142(24):1265-8.
123. Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD et al. The HPV16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 1993; 75: 495–505.
124. Schiffman M, Herrero R, Desalle R, et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology* 2005;337: 76–84.

125. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370: 890–907.
126. Schmale A, Iker H. The psychological setting of uterine cervical cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1966;125(3):807-13.
127. Settheetham-Ishida W, Yuenyao P, Kularbkaew C, Settheetham D and Ishida T: Glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) polymorphisms in cervical cancer in Northeastern Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 10(3): 365-8, 2009
128. Sheehan D, Meade G, Foley VM, Dowd CA. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J.* 2001 Nov 15;360(Pt 1):1-16. Review.
129. Sibley DR, Monsma FJ Jr (1992) Molecular biology of dopamine receptors. *Trends Pharmacol Sci* 13:61–69.
130. Sierra-Torres CH, Arboleda-Moreno YY and Orejuela-Aristizabal L: Exposure to wood smoke, HPV infection, and genetic susceptibility for cervical neoplasia among women in Colombia. *Environ Mol Mutagen* 47(7): 553-61, 2006.
131. Singh H, Sachan R, Devi S, Pandey SN, Mittal B. Association of GSTM1, GSTT1, and GSTM3 gene polymorphisms and susceptibility to cervical cancer in a North Indian population. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Mar;198(3):303.e1-6. Epub 2008 Feb 21.
132. Skegg DC. Oral contraceptives, parity, and cervical cancer. *Lancet.* 2002 Mar 30;359(9312):1080-1.
133. Smillie LD, Cooper AJ, Proitsi P, Powell JF, Pickering AD. Variation in DRD2 dopamine gene predicts Extraverted personality. *Neurosci Lett.* 2010 Jan 14;468(3):234-7. Epub 2009 Nov 6.

134. Spanagel R, Weiss F. The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci* 1999;22(11):521-7.
135. Strange RC., Faulder CG., Davis BA., Brown JAH., Hopkinson DA., Cotton W.: The human glutathione S-transferases: studies on the tissue distribution and genetic variation of the GST1, GST2 and GST3 isoenzymes. *Ann. Hum. Genet.* 48: 11-20. 1984.
136. Strange, RC, Jones PW. and Fryer AA. (2000) Glutathione S-transferases :genetics and role in toxicology. *Toxicol. Lett.* 112, 357±363
137. Szőke K, Sápy T, Krasznai Z, Hernádi Z, Szládek G, Veress G, Dillner J, Gergely L, Kónya J. Moderate variation of the oncogenic potential among high-risk human papillomavirus types in gynecologic patients with cervical abnormalities. *J Med Virol.* 2003 Dec;71(4):585-92.
138. Taningher M., Malacarne D., Izzotti A., Ugolini D., Parodi S.: Drug Metabolism polymorphisms as modulators of cancer susceptibility. *Mutat Res*, 436, 227-261, 1999.
139. Tew, KD. (1994) Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. *Cancer Res.* 54, 4313-4320
140. Thompson J, Thomas N, Singleton A, Piggot M, Lloyd S, Perry EK, et al. D2 dopamine receptor gene (DRD2) TaqI A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics* 1997;7(6):479-484.
141. Townsend DM, és Tew KD: The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance *Oncogene* (2003) 22, 7369–7375.
142. Traut HF, Papanicolaou GN. Cancer of the Uterus: The Vaginal Smear in Its Diagnosis. *Cal West Med.* 1943 Aug;59(2):121-2.
143. Ueda M, Hung YC, Terai Y, Saito J, Nunobiki O, Noda S, Ueki M. Glutathione-S-transferase and p53 polymorphisms in cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol.* 2005 Mar;96(3):736-40.

144. Ueda M, Toji E, Nunobiki O, Sato N, Izuma S, Torii K, Okamoto Y, Noda S. Germline polymorphisms of glutathione-S-transferase GSTM1, GSTT1 and p53 codon 72 in cervical carcinogenesis. *Hum Cell*. 2010 Nov;23(4):119-25.
145. Vos RME, Van Bladeren PJ (1990) Glutathione S-transferases in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics. *Chem Biol Interact* 75:241–265.
146. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12–9.
147. Wang D, Wang B, Zhai JX, Liu DW and Sun GG: Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and cervical cancer risk: A meta-analysis. *Neoplasma* 58(4): 352-9, 2011
148. West RR: Cervical cancer: Age at registration and age at death. *Br J Cancer*. 1977 February; 35(2): 236–241.
149. Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990;248:76-9.
150. WHO Global Health Observatory Data Repository (<http://apps.who.int/ghodata/>)
151. Zhong S, Wyllie AH, Barnes D, Wolf CR, Spurr NK (1993) Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. *Carcinogenesis* 14:1821–1824.
152. Zimmermann H, Degenkolbe R, Bernard HU, O'Connor MJ. The human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein can downregulate p53 activity by targeting the transcriptional coactivator CBP/p300. *J Virol* 1999;73:6209-19.
153. zur Hausen H. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer. *Virology* 1991; 184: 9–13.

IX. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

1. J. Cseh, E. Pázsit, Zs. Orsós, E. Marek, A. Huszár, S. Balogh, I. Ember, I. Kiss:
Effect of glutathione-S-transferase M1 and T1 allelic polymorphisms on the HPV-induced cervical precancer formation.
Anticancer Res. 2011 Sep;31(9):3051-5.
imp f.: 1,41
2. F. Budán, T. Varjas, G. Nowrasteh, Zs. Varga, I. Boncz, J. Cseh, I. Prantner, A. Tibold, E. Pázsit, Gy. Góbel, M. Bauer, T. Gracza, P. Perjési, I. Ember, Z. Gyöngyi:
Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by N-methyl-N-nitrosourea
In vivo, 22: 793-798, 2008.
imp. f.: 1,143
3. T. Varjas, G. Nowrasteh, F. Budán, E. Nádasi, G. Horváth, S. Makai, T. Gracza, J. Cseh, I. Ember:
Chemopreventive effect of Panax ginseng
Phytotherapy Research, 23(10):1399-1403, 2009.
imp. f.: 1,746
4. F. Budán, T. Varjas, G. Nowrasteh, I. Prantner, Zs. Varga, Á. Ember, J. Cseh, K. Gombos, E. Pázsit, Gy. Góbel, M. Bauer, T. Gracza, I. Arany, P. Perjési, I. Ember, I. Kiss:
Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by chemical carcinogens (DMBA, MNU)
In Vivo, 23(4):591-598, 2009.
imp. f.: 1,171
5. T. Varjas, G. Nowrasteh, F. Budán, G. Horváth, J. Cseh, Z. Gyöngyi, S. Makai, I. Ember:
The effect of fenugreek on the gene expression of archidonic acid metabolising enzymes
Phytotherapy Research 25(2):221-227, 2011.
imp. f.: 1,746
6. Á. Ember, F. Budán, G. Nowrasteh, T. Varjas, I. Prantner, G. Góbel, ÖP. Horváth, L. Illényi, J. Cseh, P. Perjési, Zs. Orsós, P. Gergely, K. Fehér, I. Ember, I. Kiss:
Application of molecular epidemiological biomarkers by monitoring the effects of treatment in colorectal cancer during follow-up study.
European Journal of Oncology. 16: 99-104; 2011.

7. J. Cseh, Zs. Orsós, E. Pázsit, E. Marek, A. Huszár, I. Ember, I. Kiss: Effect of DRD2/ANKK1 TaqIA allelic polymorphism on the risk and prognosis of cervical precancer and cancer
European Medical, Health and Pharmaceutical Journal. (Közlésre elfogadva).

Magyar nyelvű publikációk:

1. Szentirmay Z, Cseh J, Pulay T, Kásler M.
Humán papillomavírus és méhnyakrák: a tumoros folyamat kialakulásának genetikai háttere.
Orv Hetil. 8;142(27):1429-36. 2001.
2. Budán F., Varjas T., Varga Zs., Cseh J., Polyák É., Perjési P., Gyöngyi Z., Ember I.:
Környezeti metil-nitrozo-urea expozíció lehetséges molekuláris biomarkereinek vizsgálata
Magyar Epidemiológia, V. évf. 1. szám, 55-62, 2008.
3. Budán F., Varjas T., Nowrasteh G., De Blasio A., Prantner I., Gombos K., Varga Zs., Cseh J., Góbel Gy., Polyák É., Perjési P., Ember I., Kiss I.:
Kémiai karcinogének korai hatása a c-myc, Ha-ras és p53 gének expressziójára
Magyar Epidemiológia, V. évf. 3-4 szám: 201-212, 2008.
4. Ember Á., Budán F., Nowrasteh G., Varjas T., Góbel Gy., Horváth Ö. P., Illényi L., Cseh J., Perjési P., Gergely P., Ember I., Kiss I.:
Molekuláris biomarkerek alkalmazása kolorektális karcinómás betegeken, a műtéti hatás monitorozása követéses vizsgálattal
Egészségtudomány, 53(2):50-60, 2009.
5. Budán F., Varjas T., Varga Zs., Cseh J., Polyák É., Perjési P., Gyöngyi Z., Ember I.:
MNU hatása kulcs-onko/szuppresszor gének expressziójára állatkísérletben
Magyar Epidemiológia (Közlésre elfogadva).

Citálható absztrakt:

1. F. Budán, Gy. Góbel, I. Szanyi, M. Bauer, G. Nowrasteh, Zs. Varga, J. Cseh, G. Horváth, I. Prantner, P. Perjési, I. Ember, Z. Gyöngyi:
Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by N-Methyl-N-Nitrosourea
8th International Conference of Anticancer Research
Greece, Kos 17-22 October, 2008.
Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3223: A78
2. J. Cseh, I. Ember, Zs. Orsós, A. Tibold, Zs. Varga, E. Pázsit, I. Kiss:
Effect of an allelic polymorphism in the dopamin receptor D2 gene on the risk of cervical cancer
8th International Conference of Anticancer Research
Greece, Kos 17-22 October, 2008.
Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3248: A129
3. I. Kiss, Zs. Orsós, A. Tibold, Zs. Varga, J. Cseh, A. Csejtej, I. Ember:
Low penetrance genetic susceptibility factors in human carcinogenesis
8th International Conference of Anticancer Research
Greece, Kos 17-22 October, 2008.
Anticancer Research 28:5C, September-October 2008, 3351: A345
4. Cseh J., Szentirmay Z., Kiss I., Pázsit E., Ember I.:
Cervix carcinoma rizikófaktorainak vizsgálata beteganyagunkban
IVth Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology
Pécs, 28-29 November, 2008.
Magyar Epidemiológia, Supplementum V. évfolyam, pp: S.135, 2008.
5. J. Cseh, Zs. Orsós, E. Pázsit, Z. Ozsváth, I. Ember, I. Kiss:
Allelic polymorphisms as risk/prognostic factors in cervical cancer
International Conference of Preventive Medicine and Public Health
Pécs, 19-20 November 2010.
Magyar Epidemiológia VII. évf. 4. szám: S19, 2010.

Nemzetközi előadások:

1. F. Budán, Gy. Góbel, I. Szanyi, M. Bauer, G. Nowrasteh, Zs. Varga, J. Cseh, G. Horváth, I. Prantner, P. Perjési, I. Ember, Z. Gyöngyi:
Early modification of c-myc, Ha-ras and p53 expressions by N-Methyl-N-Nitrosourea
8th International Conference of Anticancer Research
Greece, Kos 17-22 October, 2008.
2. J. Cseh, I. Ember, Zs. Orsós, A. Tibold, Zs. Varga, E. Pázsit, I. Kiss:
Effect of an allelic polymorphism in the dopamin receptor D2 gene on the risk of cervical cancer
8th International Conference of Anticancer Research
Greece, Kos 17-22 October, 2008.
3. I. Kiss, Zs. Orsós, A. Tibold, Zs. Varga, J. Cseh, A. Csejtej, I. Ember:
Low penetrance genetic susceptibility factors in human carcinogenesis
8th International Conference of Anticancer Research
Greece, Kos 17-22 October, 2008.
4. Cseh J., Szentirmay Z., Kiss I., Pázsit E., Ember I.:
Cervix carcinoma rizikófaktorainak vizsgálata beteganyagunkban
IVth Congress of the Society of the Hungarian Molecular and predictive Epidemiology
Pécs, 28-29 November, 2008.
5. J. Cseh, Zs. Orsós, E. Pázsit, Z. Ozsváth, I. Ember, I. Kiss:
Allelic polymorphisms as risk/prognostic factors in cervical cancer
International Conference of Preventive Medicine and Public Health
Pécs, 19-20 November 2010.

Magyar előadások:

Cseh József: A portio carcinoma kialakulásának megelőzése LLETZ műtéttel. A Fejér Megyei Orvosnapok, 1996. október

Cseh József: Nőgyógyászati onkológia: szűrővizsgálatok, gondozás A SOTE, a POTE Családorvosi Tanszékei és a Székesfehérvári Szent György Kórház közös családorvos képző konferenciája. Székesfehérvár, 1999.01.06

Cseh József: A Megyei Onkológiai Centrum helye és szerepe a daganatos betegek ellátásában
Mór, Fejér Megyei Orvosnapok, 1999.05.28-29.

Ceh József: HPV tipizálásban szerzett tapasztalataink
Mór, Fejér Megyei Orvosnapok, 1999.05.28-29.

Cseh József: Tumormarkerek kimutatásának diagnosztikus és prognosztikus értéke emlőrákos betegeinknél. Mór, Fejér Megyei Orvosnapok, 1999.05.28-29

Cseh József: A méhnyak HPV fertőzésének kezelésével szerzett tapasztalataink. Magyar Onkológusok Társasága Dunántúli Szekció VI. Vándorgyűlése, Onkológiai Szakdolgozók V. Kongresszusa. (Győr). 2000. 06.10

Cseh József: Loop conisatio hatása a cervix HPV fertőzésére A Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekciójának XV. Tudományos Kongresszusa (Hajdúszoboszló). 2000. 06.10.

Cseh József: Az onkológia múltja, jelene és jövője Fejér megyében. Fejér Megyei Centenárium Orvosnapok. Székesfehérvár, 2001. 04. 21-23.

Cseh József: Humánpapillómavírus kimutatásának nőgyógyászati indikációi. A Magyar Onkológusok Társasága Dunántúli Szekciójának VII. Tudományos Vándorgyűlése, és az Onkológiai Szakdolgozók VI. Tudományos Kongresszusa. (Veszprém) 2002.05.23-25.

Cseh József: Nőgyógyászati daganatos beteg komplex kezelése Családorvos képzés – nőgyógyászati osztály szervezésében. Székesfehérvár, 2002.04.13.

Cseh József: Szabályozott betegutak, irányított betegellátás, onkológiai team-ek. A Magyar Onkológusok Társasága Dunántúli Szekciója VIII. Tudományos Vándorgyűlése és Onkológiai Szakdolgozók VII. Tudományos Kongresszusa, Szekszárd, 2004.06.10-13.

Cseh József: A colorectalis daganatok kezelése és az Onko-TEAM szerepe a daganatos betegellátásban. Szent Pantaleon Kórház Tudományos Bizottság által szervezett szakmai szimpózium. Dunaújváros, 2005.02. 09.

Cseh József: A colorectalis daganatok korszerű kezelése és a hatékony betegirányítás. Klinikopathológiai Konferencia. 2005. 06.20

Cseh József: A méhnyaki HPV fertőzés megelőzése és kezelése. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpatológiai Szekciója XV. Tudományos Kongresszusa (Hajdúszoboszló, 2005.10.14-15.

Cseh József: Szent György Kórház onkológiai osztályának szakmai fejlődése alapítástól napjainkig. MOT XXVI. Kongresszusa Budapest, 2005.11.10-12.

Cseh József: Az onkológiai gondozás korszerűsítése. MOT XXVI. Kongresszusa Budapest, 2005.11.10-12.

Cseh József: Portió carcinoma praevenciója vaccinációval. Magyar Nőorvos Társaság XXVIII. Nagygyűlése (Szeged), 2006.05.25-27

Cseh József: HPV. Indukált daganatok megelőzése védőoltással, Magyar Onkológusok Társaság Dunántúli Szekciója IX. Tudományos Vándorgyűlése. Kaposvár, 2006.09.22-23

Cseh József: Humán Papillomavirus infekció szemlélete az onkológiai gyakorlatban. Magyar Nőorvos Társaság Cervixpathologiai Szekció XVII. Tudományos Ülése, Hajdúszoboszló, 2007.03.23-24.

Cseh József: Hosszú távú túlélők a HER-2 pozitív IV. stádiumú emlőrákos betegek között. MOT Jubileumi Kongresszusa, Budapest, 2007.11.08-10.

Cseh József: Daganatos betegek ellátása a harmadik évezred elején. Népegészségügyi Tudományos Társaság XVI. Nagygyűlése, Pécs, 2008.04.17-19.

Cseh József: Fejér Megyei Onkológiai Központ működése. Veszprém Megyei Csolnoky Ferenc Kórház (Veszprém). Konferencia, 2008.06.06.

HPV tipizált betegeink utánkövetése. MOT Dunántúli Szekciója X. Tudományos Vándorgyűlése (Visegrád). 2008.08.29-30.

Cseh József: Cervix carcinoma rizikofaktorainak vizsgálata beteganyagunkban, Magyar Epidemiológiai Társaság IV. Nemzetközi Kongresszusa (Pécs, 2008.10.17-22.

Cseh József: HPV indukálta cervix daganatok kialakulását befolyásoló tényezők. Magyar Nőorvostársaság Cervixpatológiai Szekciója XVIII. Tudományos Ülése (Hajdúszoboszló), 2009.05.15-16.

Cseh József: Emlőtumoros betegek korszerű kemoterápiás kezelése. Fejér Megyei Szent György Kórház, Onko-team szakmai ülése. 2009.10.09-10.

Cseh József: Cervix carcinoma progressióját befolyásoló tényezők, Magyar Onkológusok Gyógyszerterápiás Tudományos Társasága Kongresszusa (Székesfehérvár)

Cseh József: Cervix praeblastoma és carcinoma progressióját befolyásoló tényezők. A Magyar Nőorvos Társaság XXIX. Nagygyűlése (Debrecen, 2010.05.20-22)

Cseh J., Orsós Zs., Pázsit E., Ozsváth Z., Ember I., Kiss I.:
Cervix praeblastoma és carcinoma progressióját befolyásoló tényezők
Magyar Onkológusok Gyógyszerterápiás Tudományos Társasága V. Kongresszusa
Székesfehérvár, 2010. május 6-8.

X. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Első köszönet annak a megértő főigazgatónak jár, aki már sajnos nem lehet közöttünk

– Dr. Kuchár Ferencnek. Ő irányította pályámat az onkológia irányába, ugyanakkor megértő volt abban a vonatkozásban is, hogy az alapszakmámhoz hű akartam maradni. Ehhez nagyra becsült volt főnököm, onkológus főorvosom, Dr.Czinkóczy Jenő is minden segítséget megadott.

A második köszönetnyilvánítás Dr. Eckhardt Sándor professzor Urat illeti, akit az onkológiában tanítómesteremnek tekintek. Az Országos Onkológiai Intézetben eltöltött fél esztendő elég volt ahhoz, hogy anyaintézményemnek tekintsem azt, ahonnan mindig segítséget kérhetünk, és ha lehetőségeink korlátozottak voltak, mindig nyitott kapukkal várták betegeinket. Az elmúlt 30 évben erre gyakran került sor. Ezt Dr. Kásler Miklósnak, az Országos Onkológiai Intézet főigazgatójának köszönöm.

Ennek a szoros munkakapcsolatnak köszönhetem Dr. Szentirmay Zoltán professzor Úrral való ismeretségemet is. Színes egyénisége, tudós alkata és az a baráti gesztus, hogy közel engedett ahhoz a kutatáshoz, amivel Ő foglalkozik, indított el engem a molekuláris biológia világa felé. Bevont vizsgálataiba, megismerkedhettem általa a PCR, az in situ hibridizáció, a „hybrid capture”, konszenzus-primerekkel történő amplifikáció és más vizsgálati módszerekkel.

Táplálta bennem az ambíciót, hogy a mindennapi gyógyításon túl, tudományos igényű munkával is foglalkozzam.

Ezzel egy időben óriási léptékű központi tervek születtek az onkológia fejlesztése érdekében. Így szerencsésnek mondhatom magam, hogy lehetőségem nyílt arra, hogy egy jól működő onkológiai gondozóból egy megyei onkológiai központ megteremtését irányíthassam. Az onkológiai gondozóval integráltan egy aktív kemoterápiás osztály született. A vajúdas hosszú és küzdelmes volt. Egymást követően 4 épületet terveztünk át úgy, hogy onkológiai osztálynak alkalmassá váljon. Az utolsó pillanatban az aktuális igazgatás mégis újra és újra más, általunk fontosabbnak ítélt célokra használta fel. De végül mégis megszületett az onkológiai osztály 2001-ben. Kúraszerű kezelésekkel indult, majd először 16 ágyon, később 24-en és végül ma már 30 aktív kemoterápiás ágyon kezeljük a betegeket.

Köszönet illeti a társfőorvosokat, Dr. Solt István belgyógyászt, Dr. Móricz István fül-orr-gégészt, Dr. Hagymásy László nőgyógyászt, Dr. Karaszi Margarita bőrgyógyászt és még számos társfőorvos kollégát, akik belátták, hogy egy önálló onkológiai osztályon történő kezelés magasabb szakmai színvonalon végezhető, mint az alapszakmák keretében. Ezért betegeiket kemoterápiás kezelés céljából hozzánk irányították.

Az onkológiai központban komoly személyi fejlesztések történtek. Ez adta meg azt a lehetőséget, hogy újra átvizsgálhattuk azokat a betegeket, akiket évekkel ezelőtt HPV tipizálás alá vontunk. Ezért köszönöm segítségüket munkatársaimnak Dr. Gyuranecz Miklósnak, Dr. Paál Zoltánnak, Dr. Ütő Évának, Dr. Deáky Zsoltnak, Dr. Somogyi Ágotának, Dr. Ábrahám Lajosnak, akik ma is mellettem állnak, és köszönöm azoknak is, akiket időközben a sors elvezérelt mellőlem, Dr. Nagy Enikőnek, Dr. Heczel Sándornak, Dr. Mihályi Gyulának, Dr. Pády Évának, Dr. Árvay Tündének, Dr. Tóth Évának hogy annak idején segítették munkámat.

Az archívumban őrzött szövettani blokkok újrafeldolgozása céljából a patológiai osztály a rendelkezésünkre bocsátotta azokat. Dr. Szilágyi Anna pathológus főorvos és munkatársai vállalták a plusz munkát, melyet szintén nagyon köszönök.

Köszönöm a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Kara Doktori Tanácsnak, hogy PhD pályázatomat befogadta. Köszönöm a Népegészségügyi Intézetnek, hogy PhD hallgatójuk lehettem és a molekuláris biológiai vizsgálatokat intézetükben elvégezhettem.

Legnagyobb köszönettel programvezetőmnek Dr. Ember István Professor Úrnak és témavezetőmnek Dr. Kiss István docens Úrnak tartozom. Azt a sok konzultációt, tanácsot és kérdésfeltevést, melyekkel engem, egy betegellátással elfoglalt vidéki főorvost visszatereltek abba a tudományos áramlatba, melyet annak idején, mikor ugyan ezen egyetem hallgatója voltam, TDK-sként élvezhettem, külön köszönöm.

A tanszék valamennyi tudományos munkatársa szeretettel fogadott és munkámhoz minden segítséget megadtak. Mégis közülük ki kell emelnem Orsós Zsuzsannát, aki tanácsaival segítséget nyújtott abban, hogy a tudományos eredményeink publikáció formájában testet öltsenek.

Köszönöm Dr. Pázsit Emesének, a Diósgyőri Kórház szülész-nőgyógyászának, hogy betegek adataival kiegészíthettem tudományos munkámat.

Ezek után családom iránti hálám kifejezése következik. Mindenekelőtt megértő feleségemet, Dr. Szöllősy Editet illeti köszönet, aki valaha egyetemi tanár házaspár kislánya volt és gyermekkori otthonát idézték azok a hajnalba nyúló éjszakák, melyeket tudományos adatfeldolgozásokkal -elemzésekkel töltöttünk.

Végül az adminisztrációs munkában nyújtott segítségért mondok köszönetet vezető asszisztensemnek, Habi Józsefnének és a dolgozat legépelésében nyújtott segítségért titkárnőmnek, Schindler Ildikónak.

Köszönet illeti még számos meg nem nevezett munkatársamat, akiknek hálával tartozom segítő közreműködésükért. Közülük mégis megnevezek három rezidens kollégát Dr. Lengyel Dánielt, Dr. Telek Tamást, és Dr. Ozsváth Zoltánt, akik nemcsak segítettek a számítógépes feldolgozásban, adatbevitelben, hanem mint fiatal nőgyógyászok elköteleződtek a HPV indukálta daganatok kutatásában. Ha a jövőben, a tudományos szakirodalomban publikációkat olvasunk tőlük, akkor már ez, önmagában megérte, hogy idős fejjel doktori értekezés (PhD) megírásába kezdtem.