

Hpv-Dna Alt Tiplerinin Smear ve Kolposkopik Biyopsi Sonuçlarının Korelasyonunun Değerlendirilmesi

Evaluation of Correlation With Hpv-Dna Subtypes and Smear - Colposcopy Results

Eren Altun^{1*}, Akın Usta², Çağla Bahar Bülbül², Gülay Turan¹

¹Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

²Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Serviks kanseri tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Serviks kanserinin önlenmesinde ve erken teşhisinde, Human Papilloma Virus (HPV) varlığının ve HPV genotipinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Çalışmamızda bölgemizde en sık rastlanan HPV genotiplerinin tespit edilmesi ve bu tiplerle ilgili olarak konvansiyonel smear, HPV-DNA ve Co-test taramasının birbirlerine olan üstünlüklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza Eylül 2015- Temmuz 2017 tarihleri arasında hastanemize başvuran smear örnekleme ile HPV-DNA test ve kolposkopik biyopsi sonuçları mevcut olan toplam 55 hasta dâhil edilmiştir.

Bulgular: Hastaların 44'ünde yüksek riskli HPV (%80), 4 hastada (%7,2) düşük riskli HPV ve 7 hastada ise (%12,3) HPV testi negatif olarak izlendi. Sitoloji sonuçları açısından değerlendirildiğinde, 24 hasta negatif (İntraepitelyal lezyon veya malignite açısından negatif, ILMAN), 31 hasta ise pozitif (ASCUS ve diğerleri) olarak değerlendirildi. Histopatolojik incelemelerde; 25 hastada negatif, 16 hastada CIN I, 13 hastada CIN II-III ve 1 hastada ise yassı epitel hücreli karsinom tespit edildi. Sitolojik tanı sonuçları ile HPV tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı ($p=0,0119$). HPV-DNA ve Co-testin duyarlılığı, konvansiyonel smear taramasına göre yüksek olmakla birlikte, duyarlılık ve özgüllükleri göz önüne alındığında konvansiyonel smear taraması, HPV DNA ve Co-teste göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tespit edildi ($p = 0,0211$).

Sonuç: Bizim çalışmamızda konvansiyonel smear, HPV DNA ve Co-test'in duyarlılık ve özgüllükleri göz önüne alındığında; her ne kadar Co-test ve HPV DNA testlerinin duyarlılıkları yüksek olsa da özgüllükleri düşük olduğu için konvansiyonel smear testi ile tarama ön plana çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Servikal smear, HPV, Co-test, servikal kanser

ABSTRACT

Introduction: Cervical cancer is a major health problem in the world. In the early diagnosis and prevention of cervical cancer, it is important to identify the Human Papilloma Virus (HPV) infection and HPV types. In our study, we aimed to identify the most common types of HPV and to investigate the superiority of conventional smear, HPV-DNA and Co-test scanning on these types.

Material and Methods: A total of 55 patients, whose HPV-DNA test and colposcopic biopsy and smear results were present, applied to our hospital between September 2015 and July 2017, were included in the study.

Results; High-risk HPV (80%) was observed in 44 of the patients, low-risk HPV in 4 patients (7.2%) and HPV test in 7 patients (12.3%). Twenty-four patients were negative (Intraepithelial lesion or malignancy negative, ILMAN) and 31 patients were positive (ASCUS and others) when cytology results were evaluated. In histopathological examinations; 25 patients were negative, 16 patients were CIN I, 13 patients were CIN II-III, and 1 patient was squamous cell carcinoma. There was a statistically significant correlation between cytological diagnosis results and HPV types ($p = 0,0119$). HPV-DNA and Co-test sensitivities were higher than conventional smear scannings, but when compared with conventional smear scannings, HPV-DNA and Co-test were significantly higher when sensitivity and specificity were considered ($p = 0,0211$).

Conclusions; As a result, considering the sensitivity and specificity of conventional smear, HPV-DNA and Co-test in our study, screening with the conventional smear test is preliminary because Co-test and HPV-DNA tests have low specificity if they are highly sensitive.

Key Words: Cervical smear, HPV, Co-test, cervical cancer

Giriş

Tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olan Human Papilloma Virus (HPV)'ların özellikle belirli tiplerinin servikal kanser gelişme riskini önemli ölçüde

artırdığı bilinmektedir. Servikal kanserin erken teşhisinde ve önlenmesinde kişideki HPV enfeksiyonunun ve etken olan HPV tipinin saptanması önem taşımaktadır (1). Şimdiye kadar 200'ün üzerinde HPV tipi tanımlanmıştır. HPV tipleri

doku tropizmine göre mukozal, dermal, servikal vb. olarak gruplandırılmaktadır (2). HPV tiplerinin bazıları benign lezyonlarla ilişkili (düşük riskli/onkojenik olmayan tipler) iken, bazıları ise insanda premalign/malign lezyona sebep olabilmektedir (yüksek riskli/onkojenik tipler) (3). İnsanda lezyon yapabilen düşük riskli HPV tipleri; tip 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55 ve 62 en sık rastlanan tiplerdir. Bu HPV tipleri genel olarak yerleşim yerlerine göre histolojik farklılıklar göstermekle birlikte benign papillomatöz lezyonlara sebep olmaktadır. İnsan vücudunda lezyon yapabilen başlıca yüksek riskli HPV tipleri; tip 16, 18, 26,31, 33, 35, 39, 45, 51, 53,56, 58, 59, 66, 68, 73 ve 82'dir (4). Bu tipler lezyon yaptıkları dokulardaki epitel hücrelerinde displaziye ve kansere yol açabilir.

Serviks, hem düşük hem de yüksek riskli HPV tiplerinin tespit edildiği dokuların başında gelmektedir. Servikte HPV'nin tropizm gösterdiği hücreler, skuamo-kolumnar bileşkede yer alan ve kadınların hormonal durumlarına göre metaplazik değişikliklere uğramış olan hücrelerdir.

Bir DNA virüsü olan HPV, enfekte ettiği hücrenin DNA'sına entegre olarak replike olmakta ve bu sayede p16'nın kontrolünü ortadan kaldırmak suretiyle hücrede sınırsız bir bölünme döngüsünün oluşmasına ve sonuç olarak da kanserleşmeye neden olmaktadır.

Serviks kanserinin erken tanısında kullanılan Pap Smear testinin amacı; transformasyon bölgesindeki hücrelerde oluşan histomorfolojik değişiklikleri erken tespit etmektir (5). Pap Smear testi fizik muayenede bulgu ve belirtiler ortaya çıkmadan önce servikal premalign lezyonları yakalayabilmektedir. Bu yöntemin kullanılmaya başlanması ile 1950'den bugüne ABD'de serviks kanserinde %75 oranında azalma görülmüştür (6).

Son yıllarda serviks kanserinin taramasında konvansiyonel smear testine alternatif olarak sıvı bazlı sitoloji, HPV DNA ve smear ile HPV DNA testinin beraber kullanılması (Co-test) tartışma konusu olmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda bir testin diğerine üstünlüğü konusunda çelişkili sonuçlar olsa da genel olarak Co-testin serviks kanseri taramasında duyarlılığı konvansiyonel smear ve HPV DNA testine göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir.

HPV ilişkili neoplastik değişiklikler invaziv kanser gelişmeden önce servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) olarak başlar. CIN-I olarak başlamasının ardından CIN-II ve CIN-III'e ilerler. Genel olarak derece ne kadar yüksek ise invaziv kanser gelişme riski o kadar yüksektir. Bu derecelendirme sistemi; CIN-1 için düşük dereceli skuamoz intraepitelyal neoplazi (Low-SIL), CIN-II ve CIN-III için yüksek dereceli intraepitelyal neoplazi (High-SIL) olmak üzere iki grupta sınıflandırılarak klinik ve patolojik açıdan daha

basit bir hale getirilmiştir. Low-SIL için klinik takip önerilirken, High SIL için cerrahi müdahale seçeneği değerlendirilmektedir (7).

Bu çalışmanın amacı, Balıkesir ilinde en sık rastlanan HPV tiplerini belirlemek ve bu tiplerle ilgili olarak konvansiyonel smear, HPV DNA ve Co-test taramasının birbirlerine olan üstünlüklerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Eylül 2015- Temmuz 2017 tarihleri arasında Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı polikliniğine başvuran smear örnekleme yapılan ve aynı zamanda hastanemizde real time PCR yöntemi ile HPV DNA genotip tayini (tip 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73ve 82) (Xpert hpv, Cepheid, Sunnyvale, CA) yapılmış ve kolposkopik biyopsi sonuçları mevcut toplam 55 hasta çalışmaya dâhil edilmiştir.

Patoloji kliniğinde, konvansiyonel yöntemle hazırlanan smear preparatları Bethesda sınıflamasına göre raporlanmıştır. Hastaların smear değerlendirmesi ile birlikte kolposkopi eşliğinde yapılan servikal biyopsi sonuçları da değerlendirilmiştir. Biyopsiler standart doku takip işlemine alındıktan sonra hazırlanan hematoksilin&eozi (H&E) boyalı kesitler patoloji uzmanı tarafından ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

İstatistiksel değerlendirme sırasında verilerin analizinde MedCalc17.2 paket programı (MedCalc Statistical Software, Mariakerke, Belgium) kullanılmıştır.

Bulgular

Bu retrospektif çalışmada, HPV tiplendirme veya sitoloji sonucu pozitifliği nedeniyle kolposkopik biyopsi örnekleme yapılan, yaşları 18 ile 64 arasında (ortalama: 44.3±10.5) toplam 55 hasta HPV, sitoloji ve kesin histopatolojik sonuçları açısından değerlendirildi. Hastaların 44'ünde yüksek riskli HPV (%80), 4 hastada (%7,2) düşük riskli HPV ve 7 hastada (%12,3) HPV testi negatif olarak izlendi. Sitoloji sonuçları açısından değerlendirildiğinde, 24 hasta negatif (İntraepitelyal lezyon veya malignite açısından negatif, ILMAN), 31 hasta ise pozitif (ASCUS ve diğerleri) olarak değerlendirildi. Histopatolojik incelemelerde; 25 hastada negatif, 16 hastada CIN I, 13 hastada CIN II-III ve 1 hastada ise yassı epitel hücreli karsinom tespit edildi.

Yüksek riskli HPV tiplerinden HPV16; 17 hastada, HPV18; 13 hastada, HPV31; 5 hastada mevcut iken 9 hastada diğer yüksek riskli HPV tipleri tespit edildi.

Tablo 1. Sitolojik ve histolojik tanı sonuçları ile HPV tipleri arasında ilişki

	Negatif	Düşü riskli HPV+	Yüksek riskli HPV+	P değeri
Sitoloji				
Negatif	2 (%3,6)	3(%5,5)	12(%21,8)	P = 0,1400
Pozitif	5 (%9,1)	1(%1,8)	32(%58,2)	
Histoloji				
Negatif	5(%9,1)	4(%7,2)	16(%29,2)	P = 0,0168
Pozitif	2(%3,6)	0(%0)	28(%50,9)	

Tablo2. Sitolojik ve histopatolojik tanıları arasındaki ilişki

Sitolojik Tanı	Histopatolojik Tanı				P value
	Negatif	CIN1	CIN2-3	SCC	
Negatif	14(%25,5)	9(%16,5)	1(%1,8)	0(%0)	P = 0,0128
ASCUS	5(%9,1)	5(%9,1)	2(%3,6)	0(%0)	
Low-SIL	2(%3,6)	1(%1,8)	4(%7,3)	0(%0)	
High-SIL	1(%1,8)	0(%0)	5(%9,1)	1(%1,8)	
AGUS	1(%1,8)	1(%1,8)	0(%0)	0(%0)	
ASC-H	2(%3,6)	0(%0)	1(%1,8)	0(%0)	

Düşük riskli HPV tiplerinden HPV6; 2 hastada ve HPV11; 2 hastada mevcuttu.

Smear preparatları Bethesda sistemi ile değerlendirildiğinde 24 hastada ILMAN, 31 hastada epitelyal hücre anomalisi mevcuttu. Bu hastalardan 12 hasta ASCUS, 7 hasta Low-SIL, 7 hasta High SIL, 3 hasta SC-H ve 2 hasta AGUS tanısı aldı, 3 hastada ise diğer sınıfta isimlendirilen, endometrial hücre grubu mevcuttu.

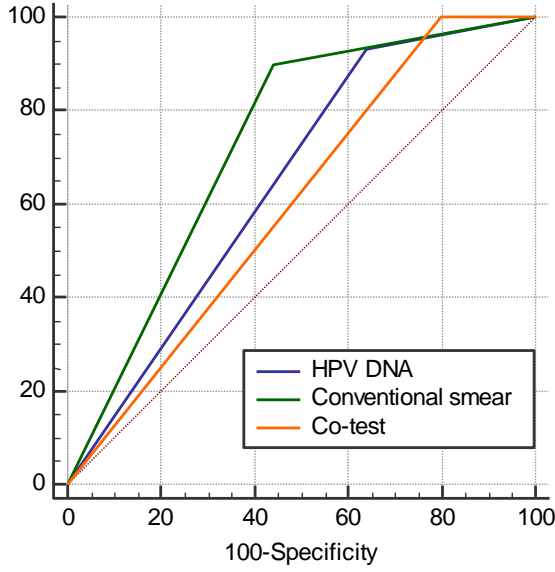
Sitolojik tanı sonuçları ile HPV tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı (p=0,0119) (Tablo 1). Kolposkopik biyopsilerin histopatolojik değerlendirmesinde 36 hastada intraepitelyal neoplazi, 1 hastada malign, 18 hastada inflamasyon ve diğer benign özellikli tanıları konulmuştur. Biyopsi sonuçları ile HPV tipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardı (p=0,0046) (Tablo2). Sitoloji tanısı ASCUS olan hastaların kolposkopik biyopsilerinin histopatolojik sonuçları 5 hastada CIN I, 2 hastada CIN II-III, 5 hastada inflamasyon olarak raporlanmıştır. Dokuda çalışılan negatif ve pozitif HPV sonuçları, sitolojik tanı ile (p=0,02) ve biyopsi sonuçları ile (p>0,02) ilişkili bulunamamıştır.

Konvansiyonel smear, HPV DNA ve Co-test sonuçları karşılaştırıldığında; HPV DNA ve Co-testin duyarlılığı konvansiyonel smear taramasına göre yüksek olmakla birlikte, duyarlılık ve özgüllükler göz önüne alındığında konvansiyonel smear taraması, HPV DNA ve Co-teste göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek tespit edildi (sırayla AUC= 0.730, 0.647, 0.600, p = 0,0211), (Şekil 1).

Tartışma

Serviks kanseri tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Hastalığın erken tanısı ve taramasında PAP Smear testi ve Bethesda sisteminin yaygın kullanımı serviks kanserinin mortalitesini önemli oranda azaltmıştır. HPV enfeksiyonu, servikste invaziv karsinom gelişim sürecinin ilk basamağını oluşturur. Sitoloji tanısı anormal epitelyal değişiklikler olan hastalarda, HPV alt tiplendirmesi ve biyopsi kontrolü önemlidir (8). HPV testinin serviks kanser taramasına dâhil olduğu üç yol vardır; ASC-US sitolojisi, HPV ve sitolojinin birlikte değerlendirildiği Co-test ve HPV'nin tek başına kullanıldığı HPV taramaları. HPV DNA tarama testinin yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (High-SIL) ve üstü lezyonları yakalamada PAP Smear'den daha duyarlı olduğu, PAP Smear testi ve HPV DNA birlikte değerlendirildiğinde ise başarı oranlarının daha da arttığı görülmektedir (9,10). Ayrıca HPV DNA testinin, PAP Smear testine göre kolposkopik biyopsi ile High-SIL tespitinde daha duyarlı bir test olduğu farklı çalışmalarda belirtilmektedir. (11,10).

Dört geniş randomize kohortun izlem analizinden elde edilen veriler; HPV'ye dayalı serviks taramanın, sitoloji tabanlı taramaya kıyasla invaziv kanser tespitinde %60-70 daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarda hedef kitleye HPV tabanlı tarama testinin 30 yaşından itibaren yapılmaya başlanması tavsiye edilmektedir (12). ATHENA Çalışmasında, HPV pozitif kadınların triyajı ile HPV



Şekil 1. Konvansiyonel smear, HPV DNA ve Co-test sonuçlarını gösteren ROC analizi

16/18 taramasının kombinasyonunun kullanmasını desteklemektedir. Bu çalışmada, 25 yaş üstü kadınlarda primer HPV taramasının, mevcut kılavuzlarda desteklenen stratejiler yerine, CIN3 + tespiti için belirgin olarak daha duyarlı olduğu söylenmektedir (13). HPV taramasının sadece sitoloji ile karşılaştırıldığında 25 yaş üstü kadınlarda CIN3 ve üzeri durumları tespit etmede %28 daha başarılı olduğu gösterilmiştir (13). Her ne kadar sadece HPV taraması daha etkili ve ekonomik görülse de potansiyel bir overdiagnoz tehlikesi taşımaktadır. ATHENA Çalışmasında hastaların %10,8 inde HPV pozitif saptanmıştır. Geçici HPV enfeksiyonlarının saptanması gereksiz kolposkopilere ve hastalarda yersiz endişe ve kaygılara neden olmaktadır (14).

Yüksek riskli HPV tipleri göz önüne alındığında bizim çalışmamızda en sık rastlanan tip 16 olmakla birlikte nadir görülen yüksek tipler içerisinde tip 31'e de rastlanmıştır. Yüksek riskli HPV'lerin görülme sıklığının bölgesel farklılıklar gösterdiği daha önceki çalışmalarda da belirtilmektedir (15,16).

Diğer taraftan bizim çalışmamızda konvansiyonel smear, HPV DNA ve Co-test'in duyarlılık ve özgüllükleri göz önüne alındığında; her ne kadar Co-test ve HPV DNA testlerinin duyarlılıkları yüksek olsa da, özgüllükleri düşük olduğu için konvansiyonel smear testi ile tarama ön plana çıkmaktadır. Konvansiyonel smear testini ön plana çıkaran diğer bir etken ise maliyet konusudur. Günümüzde HPV DNA testlerinin birim fiyatlarının hala yüksek olması, yanlış pozitifliklerin fazla olması ve bu nedenle hastaların bir kısmına gereksiz girişim yapılması bu

testlerin önündeki en büyük engel olarak görülmektedir.

Serviks kanser tarama yöntemleri göz önüne alındığında, testlerin duyarlılık ve özgüllüklerini arttıracak yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Ergünay K, Mısırlıoğlu M, Fırat P, Tuncer Z S, Tuncer S, ve ark. Sitolojik olarak anomali saptanan serviks örneklerinde insan papilloma virus DNA ' sının araştırılması ve virusun tiplendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni. 2007; 41: 219-226.
2. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. Virology 2004; 324(1): 17-27.
3. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med 2003; 348(6): 518-527.
4. Gülçin Alp Avcı GB. İnsan Papilloma Virüsü Human Papillomavirus. Kafkas J Med Sci 2013; 3(3): 136-144.
5. Karabulutlu Ö, Pasinlioğlu T. The study of the knowledge levels and awareness of the academicians who are not in the field of health in relation to cervical cancer. Kafkas J Med Sci 2016; 6(3): 175-180.
6. Yeşil C, Önder S, Boynukalın K, Ergül Ö, Fırat P, Kuzey GM. Correlation between cytological and histopathological diagnosis in premalignant lesions of the cervix. Turk Patoloji Derg 2010; 26(1): 38-43.
7. Özgür Çoban, Hüseyin Durukan, Talat Umut Kutlu Dilek Ad, Dilek S. Determination of recurrent/residual CIN-II and CIN-III after leep. Cytology or HPV-DNA? Zeynep Kamil Tıp Bülteni 2016; 47(4): 101-105.
8. Arı M, Döğer FK, Kırdar HY. Cervical Biopsy, Smear Evaluation and Comparison of Human Papilloma Virus Subtypes Result. Meandros Med Dent J 2016; 17(1): 17-21.
9. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. Br J Cancer 2001; 84(12): 1616-1623.
10. Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, Shieh-Ngai J, Kurman RJ, et al. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. JAMA 1999; 281(17): 1605-1610.
11. Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D, et al. Management of

- women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet* 2003; 362(9399): 1871-1876.
12. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn
 13. M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet* 2014; 383(9916): 524-532.
 14. Castle PE, Stoler MH, Wright TC, Sharma A, Wright TL, Behrens CM. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: A subanalysis of the ATHENA study. *Lancet Oncol* 2011; 12(9): 880-890.
 15. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: End of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol* 2015; 136(2): 189-197.
 16. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; 119(5): 1095-1101.
 17. Aslan FG, Us T, Kaşifoğlu N, et al. The positivity for human papillomavirus (HPV) DNA and evaluation of probable risk factors among women in Eskişehir region. *TAF Prev Med Bull* 2015; 14(3): 222-228.