

SERVİKAL ÖRNEKLERDE İNSAN PAPILOMAVİRUS DNA VARLIĞININ HİBRİD YAKALAMA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF HUMAN PAPILOMAVIRUS DNA IN CERVICAL
SPECIMENS BY HYBRID CAPTURE ASSAY

*Süal ÖZTÜRK**, *İlknur KALELİ**, *Babür KALELİ***, *Ferda BİR****

ÖZET: Bu çalışmanın amacı, Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine altı aylık bir süre içinde başvuran ve yaşları 18-62 yıl arasında değişen rastgele seçilmiş kadınların servikal sürüntü örneklerinde insan papillomavirus DNA (HPV-DNA) varlığının araştırılmasıdır. Çalışmaya 206 kadın dahil edilmiştir. Servikal sürüntü örneklerinde HPV-DNA, hibrid yakalama (HY) yöntemiyle (Digene Hybrid Capture System, UK) araştırılmış ve eş zamanlı alınan sitolojik örnekler incelenmiştir. Çalışma sonucunda %4.9 oranında HPV-DNA pozitifliği saptanmıştır. Servikal HPV-DNA pozitifliğinin, 30-39 yaş grubunda (%7.3), eğitim düzeyi düşük olanlarda (%6.9) ve gelir düzeyi düşük olanlarda (%11.8) daha fazla oranda saptandığı izlenmiştir. Ayrıca ilk cinsel ilişkisi daha erken yaşlarda olanlarda (15-19 yaş, %6.3) ve oral kontraseptif kullananlarda (%7.7) daha yüksek oranda bulunmuştur. HPV-DNA pozitiflik oranı, sitolojik incelemesi normal olan kadınlarda %2.1, epitelyal hücre anormallikleri olan kadınlarda ise %42.9 olarak saptanmış ve ikisi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.000$). Serviks kanserine giden evreleri oluşturan serviks epitel hücre anormallikleri ile HPV-DNA pozitifliğinin birarada yüksek oranda bulunması, HPV'nin malignensi ile ilişkisini desteklemektedir. Sonuç olarak, HPV-DNA testinin serviks kanseri önleme programlarında yer almasının uygun olacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar sözcükler: *İnsan papilloma virus, serviks kanseri, hibrid yakalama yöntemi.*

ABSTRACT: The aim of this study was to investigate the presence of human papillomavirus DNA (HPV-DNA) in cervical specimens of those randomly selected women, age between 18-62 years and applied to Gynecology and Obstetric Clinics in a six months period. Two hundred and six women were enrolled during the study. HPV-DNA in the cervical specimens were investigated with Hybrid Capture System (Digene Hybrid Capture System, UK) and also the cytologic specimens were examined simultaneously. HPV-DNA positivity was 4.9% overall. HPV-DNA positivity

* Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Denizli.

*** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Denizli.

was found to be higher among younger population (30-39 age group: 7.3%), women with lower education level (6.9 %) and with lower income level (11.8%). Additionally, HPV-DNA positivity rate was found higher among women who experienced their first sexual intercourse at lower ages (15-19 age group: 6.3%) and who use oral contraceptives (7.7%). HPV-DNA positivity was found to be 2.1% in women with normal cervical cytology and 42.9% in women with epithelial cell abnormalities, and this difference was statistically significant ($p=0.000$). The presence of HPV together with high rates of epithelial cell abnormalities leading to cervical cancer, supported the association between HPV and malignancy. Thus, HPV-DNA testing should be included in the cervical cancer screening programmes.

Key words: Human papillomavirus, cervical cancer, hybrid capture assay.

GİRİŞ

Mevcut veriler, cinsel yönden aktif yetişkinlerin %50'sinden fazlasının bir insan papillomavirus (HPV) tipiyle enfekte olduğunu göstermektedir^{1,2}. Cinsel yolla geçen diğer hastalıklarda olduğu gibi genital HPV enfeksiyonları da en sık 15-25 yaş arasındaki kadınlarda görülür³⁻⁶. HPV'lerin tek başlarına oluşturdukları lezyonlar genellikle lokalize ve benign karakterde olmasına rağmen, bazı onkojen genital HPV tiplerinin serviks karsinomlarının ve onun öncü lezyonlarının en az %90'ında etyolojik ajanlar oldukları gösterilmiştir⁷⁻⁹. Ayrıca tüm serviks karsinomlarında yüksek riskli HPV tiplerinin DNA'sının bulunduğunu bildiren çalışmalar vardır¹⁰. Servikal kanser, bütün dünyada en sık görülen kanserler arasında beşinci sırada yer alırken, kadınlarda ölüme neden olan kanserler arasında ikinci sıradadır¹¹. Tüm dünyada her yıl yaklaşık 200.000 kişi serviks kanserinden ölmektedir¹². Bundan dolayı serviks kanserinin erken tanı ve tedavisi önemlidir.

Bu çalışmada, Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran kadınlar arasından rastgele seçilen 206 kişinin servikal sürüntü örneğinde hibrid yakalama yöntemi ile HPV-DNA varlığının araştırılması ve sonuçların servikal HPV enfeksiyonu için olası risk faktörleri ve sitoloji sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine 1 Aralık 2002 - 30 Mayıs 2003 tarihleri arasında başvuran 18-62 yaş arasındaki rastgele seçilmiş 206 kadın çalışma kapsamına alındı. Çalışma katılımcıları, kendilerine yapılacak işlem ve sonuçları hakkında bilgilendirildi. Hastalardan demografik, sosyoekonomik ve doğurganlık özelliklerini içeren "Hasta Bilgi Formu"nu doldurmaları istendi ve ayrıca her katılımcıdan yazılı olarak çalışmaya katılma onayı alındı. Katılımcılardan eş zamanlı olarak iki örnek alındı ve birisi Pap yayması (Papanicolaou smear) diğeri HPV-DNA testi için kullanıldı. Sitoloji fırçası ile tüm transformasyon bölgesi ve endoservikal kanala sürülerek alınan Pap yayması örneği lam üzerine yayılarak alkol ile tespit edildi ve sitolojik inceleme için Patoloji Bölümüne gönderildi. HPV-DNA testi için örnek alımında üretici firma (Digene, UK) tarafından sağlanan pamuklu eküvyonlar (dacroon swab) kullanıldı. Eküvyonlardan birincisi ile servikal os ve ektoserviks silindi ve bu eküvyon atıldı. Böylece bu bölgedeki mukus fazlası uzaklaştırıldı. İkinci eküvyon

rodoservikal kanala sokularak 5-180 derecelik hareketlerle döndürüldü ve tüm ansformasyon zonu üzerine sürüldü. Eküvyonun vajinal mukozaya temas memesine ve örnek alımı sırasında hastanın kanamasının olmamasına dikkat edildi. retici firma tarafından sağlanan tasıma tınığine verlestirilen örnekler soğuk zincir arekmeksizin laboratuvarımıza ulaştırıldı. Test, toplamayı izleyen bir hafta içinde açılacaksa örnekler 2-8°C'de, daha uzun bir sürede yapılacaksa çalışma anına adar -20°C'de saklandı.

Servikal örneklerde HPV-DNA varlığı hibrid yakalama (HY) yöntemi (Digene ybrid Capture System, Digene, UK) ile araştırıldı ve kombine prob kokteyl sistemi ullanıldı. Bu yöntem, 14 HPV tipinin varlığının sayısal olarak saptanması için emilüminesans mekanizmasına dayanan ve HPV tiplerini servikal neoplazma riski ısından düşük riskli (tip 6, 11, 42, 43, 44) ve orta/yüksek riskli (tip 16, 18, 31, 3, 35, 45, 51, 52, 56) olmak üzere iki grup halinde ayırd edilebilen bir yöntemdir. Y yönteminin esası, servikal örneklerde bulunan HPV-DNA'sının özgül HPV-RNA robları ile hibridize olması ve oluşan RNA-DNA hibridlerinin, yakalama tüpü üzeyindeki anti-RNA-DNA antikoru ile yakalanmasına dayanmaktadır. areketsizleştirilen hibridler, kendilerine özgül alkalen fosfataz ile işaretli antikorlarla uamele edilir ve birleşmenin saptanması için kemilüminesan bir substrat (Lumi-hos TM530) kullanılır. Bu substrat, bağlı alkalen fosfataz ile parçalanır ve lüminometre e rölatif ışık ünitesi (RLU) olarak okunan ışık yayar. Işığın yoğunluğu örnekteki DNA ı yoğunluğuna bağlıdır. Çalışmada, örneklerden elde edilen RLU birimindeki sonuçlar, utoff" değerine bölünerek HPV-DNA düzeyi (RLU/CO) belirlendi⁹.

Pap yayması için alınan örnekler, HPV-DNA sonuçları bilinmeden Patoloji laboratuvarında aynı patolog tarafından 1991 Bethesda sınıflandırması ile eğerlendirildi¹³.

İstatistiksel analizlerde "SPSS 11" paket programında Ki-kare (Pearson) testi ullanıldı. P<0.05 olarak saptandığında fark anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma grubunu oluşturan 206 kadının yaş ortalaması 40.6 ± 9 yıl olup, atılımcıların 95'inin (%46.1) ilk cinsel ilişki yaşı 20-24 yaş aralığındadır. Tüm atılımcılar dikkate alındığında, ilk cinsel ilişki için ortalama yaş 21.9 ± 4 yıl olarak elirlenmiştir. Çalışma grubundaki kadınların 199'u (%96.6) bir kez evlenmiş adınlardan oluşmaktadır ve pozitif saptanan 10 kadının da bu grupta olduğu örülmüştür. Katılımcıların 109'u (%52.9) herhangi bir doğum kontrol yöntemi ullanmadıklarını belirtmiştir. Grubun genelinde en sık saptanan doğum kontrol öntemi %19.4 oranıyla rahim içi araç (RIA) kullanımındır.

Çalışmada HY yöntemi ile 206 katılımcının 10'unda (%4.9) servikal HPV-DNA ı pozitifliği saptanmıştır. HPV-DNA test sonuçları, HPV enfeksiyonu ile işkilendirilebilecek demografik, sosyoekonomik ve doğurganlık özellikleri gibi aktörlerle istatistiksel olarak analiz edildiğinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Ancak HPV-DNA pozitifliği; çalışma grubunun yaş ortalamasına göre daha genç yaş grubunda (30-39 yaş grubu, %7.3), eğitim düzeyi 12 yıldan az olanlarda (%6.9), daha düşük gelir grubunda olanlarda (%11.8), ilk cinsel ilişkisi daha erken yaşlarda

olanlarda (15-19 yaş, %6.3) ve doğum kontrol yöntemi olarak oral kontraseptif (OK) kullananlarda (%7.7) daha fazla saptanmıştır (Tablo I, II, III).

Tablo I: HPV-DNA Pozitifliğinin Demografik ve Sosyoekonomik Faktörlere Göre Dağılımı

Özellik	HPV-DNA Negatif (n: 196) Sayı (%)	HPV-DNA Pozitif (n: 10) Sayı (%)	Toplam (n: 206) Sayı (%)	X ² - P değeri - SD
Yaş (yıl)				
18-29	29 (96.7)	1 (3.3)	30 (14.6)	
30-39	51 (92.7)	4 (7.3)	55 (26.7)	
40-49	81 (95.3)	4 (4.7)	85 (41.2)	
≥50	35 (97.2)	1 (2.8)	36 (17.5)	1.187 - 0.756 - 3
Eğitim düzeyi (yıl)				
≤12	94 (93.1)	7 (6.9)	10 (49.0)	
>12	102 (97.1)	3 (2.9)	105 (51.0)	1.850 - 0.174 - 1
Gelir düzeyi (milyon TL)				
<300	15 (88.2)	2 (11.8)	17 (8.2)	
300-700	88 (98.9)	1 (1.1)	89 (43.2)	
700-1.500	79 (92.9)	6 (7.1)	85 (41.3)	
>1.500	14 (93.3)	1 (6.7)	15 (7.3)	5.441 - 0.142 - 3

Tablo II: HPV-DNA Pozitifliğinin İlk Cinsel İlişki Yaşına Göre Dağılımı

İlk cinsel ilişki yaşı (yıl)	HPV-DNA Negatif (n: 196) Sayı (%)	HPV-DNA Pozitif (n: 10) Sayı (%)	Toplam (n: 206) Sayı (%)	X ² - P değeri - SD
15-19	59 (93.7)	4 (6.3)	63 (30.6)	
20-24	90 (94.7)	5 (5.3)	95 (46.1)	
25-29	34 (97.1)	1 (2.9)	35 (17.0)	
≥30	13 (100)	-	13 (6.3)	1.305 - 0.728 - 3

Tablo III: HPV-DNA Pozitifliğinin Doğum Kontrol Yöntemlerine Göre Dağılımı

Doğum Kontrol Yöntemi	HPV-DNA Negatif (n: 196) Sayı (%)	HPV-DNA Pozitif (n: 10) Sayı (%)	Toplam (n: 206) Sayı (%)	X ² - P değeri - SD
Kullanmıyor	103 (94.5)	6 (5.5)	109 (52.9)	
Oral kontraseptif	12 (92.3)	1 (7.7)	13 (6.3)	
Bariyer yöntemi	39 (97.5)	1 (2.5)	40 (19.4)	
Rahim içi araç	30 (93.8)	2 (6.3)	32 (15.5)	
Diğer	12 (100)	-	12 (49.0)	1.554 - 0.817 - 4

HPV-DNA sonuçları Pap yayma sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, HPV-DNA pozitiflik oranı sitolojik incelemede normal bulunan kadınlarda %2.1, epitelyal hücre anormallikleri olan kadınlarda %42.9 olarak saptanmış ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.000$) (Tablo IV).

Tablo IV: HPV-DNA Pozitifliğinin Sitolojik İnceleme Sonuçlarına Göre Dağılımı

Özellik	HPV-DNA Negatif (n: 196) Sayı (%)	HPV-DNA Pozitif (n: 10) Sayı (%)	Toplam (n: 206) Sayı (%)	X ² - P değeri - SD
Normal	188 (97.9)	4 (2.1)	192 (93.2)	
Anormal*	8 (57.1)	6 (42.9)	14 (6.8)	46.9 – 0.000 – 1
ASCUS	6	3	9	
SIL	2	3	5	
LGSIL	2	2	4	
HGSIL	–	1	1	

* ASCUS: Atipik skuamöz hücre, SIL: Skuamöz intraepitelial lezyon, LGSIL: Low grade SIL, HGSIL: High grade SIL

HPV-DNA pozitiflik değerleri incelendiğinde, normal sitolojiye sahip 4 kadın ile ASCUS tanısı olan 3 kadından ikisinde RLU/CO değeri <1.31, birisinde ise 2.6 olarak bulunmuş ve bu 7 kişinin RLU/CO değeri ortalaması 1.28 olarak belirlenmiştir. Buna karşın, LGSIL tanısı olan iki kadının RLU/CO değerleri sırasıyla 19.0 ve 2.01, HGSIL olan bir kadının RLU/CO değeri ise 16.78 olarak saptanmıştır.

TARTIŞMA

Son yıllarda, insan papillomavirusları (HPV) ile servikal karsinoma arasındaki ilişkinin gösterilmesi, genital HPV enfeksiyonlarının önemini büyük ölçüde artırmıştır. Servikal kanser ve pre-invazif lezyonların %95-100'ünde HPV enfeksiyonu ve/veya HPV-DNA varlığı söz konusudur^{2,4}. Genital HPV enfeksiyonu için en çok sorumlu tutulan ve sorgulanan risk faktörleri yaş ve cinsel eş sayısıdır.

Çalışmamızda, altı aylık bir dönem içinde Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran kişiler arasından rastgele seçilen kadınların servikal örneklerinde HPV-DNA varlığının araştırılması ve risk faktörleriyle ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. Yaş ortalaması 40.6 ± 9 yıl olan katılımcılar arasında, HPV-DNA pozitifliği saptananların (10/206, %4.9) ortalama yaşının 41.3 ± 7.2 yıl olduğu ve bu bulgunun benzer çalışmalarda belirtilenlerden yüksek olduğu gözlenmiştir^{5,13,14}. Çalışmamızda HPV-DNA pozitifliği ile yaş arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.756$). Bu sonuç, Lüdicke ve arkadaşları¹⁵ ile Kaynak ve arkadaşlarının¹⁶ bulguları ile uyumlu, ancak ortalama yaş ile HPV-DNA pozitifliği arasında anlamlı farklılıklar bulan araştırmacılarla uyumsuzdur^{13,17,18}.

Çalışmamızda, HPV-DNA pozitifliği ile cinsel eş sayısı arasındaki ilişkinin araştırılması da amaçlanmıştır. Ancak toplumumuzda cinsel eş sayısını sorgulamak

kolay olmadığından, alınacak cevapların gerçeği yansıtmama olasılığının yüksek olacağı düşünülmüş ve bu nedenle cinsel eş sayısı, evlilik sayısı olarak ifade edilmiştir. Bunun sonunda, katılımcıların 199'unun tek, 5'inin iki ve birinin üç evliliği olduğu belirlenmiş. HPV-DNA pozitif bulunanların hensinin tek evliliği olanlar arasında yer aldığı görülmüştür. Bulgularımız, HPV enfeksiyonu ile evlilik sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını ifade etmektedir ($p=0.946$). Bir çok araştırmacı, artan cinsel eş sayısının her yaş grubunda HPV enfeksiyon oranını artırdığı görüşünde birleşmektedirler^{8,9,14}. Hall ve arkadaşları⁸ eş sayısı ortalaması 6, Cox ve arkadaşları⁹ eş sayısı ortalaması 4.4 ve Wheeler ve arkadaşları⁶ eş sayısı ortalaması 4.6 olan hasta gruplarında HPV-DNA pozitiflik oranlarını sırasıyla %44.3, %35 ve %31 olarak bildirmektedirler.

İlk cinsel ilişki yaşı, HPV enfeksiyonunun görülme sıklığını etkileyen diğer bir faktör olarak sorgulanmaktadır. İlk cinsel ilişkide oluşabilecek minör travmalar virus için giriş yolu oluşturur ve paralel olarak kadın ve erkekte erken yetişkinlikte enfeksiyon pik yapar^{1,4,19}. Çalışmamızda, tüm katılımcılar dahil edildiğinde ilk ilişkiye başlama yaşı ortalaması 21.9 ± 4 yıl, HPV-DNA pozitif kadınlarda ise 21.4 ± 3.6 yıldır. Her iki grup arasında HPV enfeksiyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen ($p=0.728$) HPV pozitifliği en yüksek oranda ilk cinsel ilişki yaşı 15-19 yaş grubu aralığında bulunan kadınlar arasında saptanmıştır (%6.3, Tablo II). Bu grup, ilk cinsel ilişki için en erken yaş grubunu temsil etmekte olup, ilk cinsel ilişki yaşı arttıkça HPV pozitiflik oranında azalma gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, normal sitolojili kadınlardan oluşan ve ilk cinsel ilişki yaşları 15.7, 17.5 ve 17 olan çalışma gruplarında saptanan HPV pozitiflik oranları sırasıyla %35, %31.5, %33.7 olarak bildirilmektedir^{8,9,13}. Ancak literatürde bu konu ile ilgili çelişkili yayınlar mevcuttur^{13,14,16}.

Çalışmamızda, HPV enfeksiyonu ile kullanılan doğum kontrol yöntemlerinin ilişkisi de sorgulanmış ancak istatistiksel olarak bir ilişki bulunmamıştır ($p=0.817$, Tablo III). Bu sonuç bazı araştırmacıların bulgularıyla uyumludur^{5,15,18}. Buna rağmen HPV-DNA pozitif kişilerin ikisi dışında 8 kadının cinsel geçişli hastalıkların bulaşımını önleyebilecek bir yöntem kullanmaması ve en yüksek HPV pozitifliğinin, oral kontraseptif kullanıcıları arasında olması dikkat çekici bulunmuştur. Hildesheim ve arkadaşları¹³, oral kontraseptif kullananların, hiç kullanmayanlarla karşılaştırıldığında daha yüksek HPV prevalansına sahip olduğunu, ancak bu iki grup arasında anlamlı bir istatistiksel fark bulamadıklarını bildirmişlerdir. Wheeler ve arkadaşları⁶ ise, belirgin olmasa da servikal HPV prevalansı ile halen veya geçmişte oral kontraseptif kullanımı arasında negatif ilişki saptadıklarını belirtmektedirler. Oral kontraseptif kullanımı, araştırmacılar tarafından halen itilafli olsa da suçlanmaktadır. HPV lezyonlarında östrojen ve progesteron reseptörlerinin saptanması kadar hamilelik ve oral kontraseptif kullanımı süresince HPV saptanmasındaki hafif düzeydeki artış, HPV enfeksiyonlarında hormonların rolünü tartışılır hale getirmiştir²⁰.

Çalışmamızda ayrıca, katılımcıların servikal sitoloji sonuçlarının HPV-DNA sonuçlarıyla karşılaştırılması da amaçlanmıştır. Çalışmaya alınan kadınların Pap yayması değerlendirilmiş ve %93.2'sinde (192/206) normal sitolojik bulgular, %6.8'inde (14/206) ise epiteliyal hücre anormallikleri saptanmıştır. Epiteliyal hücre anormallikleri saptanan kadınların %64.3'ü (9/14) anlamı bilinmeyen atipik skuamöz

hücreler (ASCUS), %35.7'si (5/14) de skuamöz intraepitelial lezyon (SIL) olarak değerlendirilmiştir. Sitolojik tanıları ile HPV-DNA sonuçları karşılaştırıldığında, sitolojik incelemesi normal olan kadınların %2.1'i, epiteliyal hücre anormalliklerine sahip kadınların ise %42.9'unun HPV-DNA pozitif olduğunu görülmüş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.00$, Tablo IV). Bu bulgumuz, bir çok araştırmacının sonuçlarıyla uyumludur^{8,17,22-25}.

Çalışma grubumuzdan dört kişide, sitolojik incelemenin normal olmasına rağmen HPV-DNA pozitif bulunmuştur. Bunun olası nedenleri arasında; servikal HPV enfeksiyonunun başlangıç safhasında olmasına bağlı olarak sitolojik inceleme sırasında anomalinin görülemediği ya da örneğin yetersiz alınmasına bağlı olarak enfekte hücreleri içermediği düşünülmüştür. Sitolojik incelemede normal bulunan örneklerde HPV-DNA pozitifliği saptayan Schiffman ve arkadaşları da¹⁷, benzer olasılıklar üzerinde durmuş ve HPV virionunun üretim birimlerinin servikal intraepitelial neoplazi (CIN) tanılı hücreler olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda da, bu dört olgunun servikal neoplazi için risk altında oldukları düşünülmüş ve sitolojik inceleme ile yalancı negatif olarak sonuç alınan veya atlanan bu tip olguların daha ileri tetkiklere yönlendirilmesi gerekliliği ortaya konulmuştur. Benzer sonuçların elde edildiği başka bir çalışmada da aynı yargıda bulunulmaktadır¹⁵.

Hem düşük riskli hem de yüksek riskli HPV tipleri, CIN'i olan kadınlarda bulunduğu gibi sitolojisi normal olan kadınlarda da bulunabilir¹⁷. Sitolojik anormalitenin oranı arttıkça hem HPV-DNA saptanma oranı, hem de saptanan DNA'nın oransal miktarı giderek artmaktadır^{10,14,22,23}. Araştırmacılar bu bulgunun, HPV-DNA test sonuçlarının, sitolojik tanının tahmin edilebilirliğinde kullanılıp kullanılmayacağı üzerinde durmaktadırlar. Viral yük olarak ifade edilen DNA miktarı yüksek olan olgular, düşük olanlara göre CIN ve invazif kanser için anlamlı olarak yüksek bir riske sahiptirler^{9,10}. Yüksek viral yükün varlığı, yüksek dereceli CIN için prediktif değere sahip olabilir¹⁷. Bu nedenle, hibrid yakalama (HY) yöntemi kantitatif değer vermesi bakımından önem kazanmaktadır.

Çalışmamızda HPV-DNA, HY yöntemiyle araştırılmış ve elde edilen değerler sitolojik inceleme sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Yapılan değerlendirmede, HPV-DNA pozitif ve sitolojik olarak normal ya da ASCUS tanısı olan toplam yedi kişide RLU/CO değeri ortalaması 1.28 olarak bulunurken, bu değer LGSIL olan iki hastada sırasıyla ortalamadan yaklaşık 15 ve 1.5 kat, HGSIL olan bir hastada ise 13 kat yüksek olduğu izlenmiştir. Bu bulgular, diğer çalışmalarla uyumlu olarak, sitolojik anormalite arttıkça örnekteki HPV-DNA miktarının arttığını göstermektedir^{8,14,22,25}.

HPV testinin temel kullanım alanı, şüpheli yayma sonuçlarına açıklık getirilmesi olabilir^{26,27}. ASCUS, Bethesda sınıflandırılmasında, benign selüler değişiklikler ile skuamöz intraepitelyal lezyon ve karsinom düşündürülen sitolojik değişiklikler arasındaki tanımlanamayan bir grubu belirtmek amacıyla yer almaktadır¹³. ASCUS, abartılı bir reaktif olaya bağlı olabileceği gibi, tedavi gerektiren pre-kanseröz bir lezyonu da ifade edebilir. ASCUS'un tanısal kriterlerinde, gerek gözlemciler arasında gerekse laboratuvarlar arasında ihmal edilemeyecek değişkenlik bulunmaktadır, zira tanı aslında subjektiftir. HPV testi, sitolojik kriterlerin standardize edilmesinde sitopatoloji laboratuvarına pratik bir katkı sağlayabilir²⁸. ASCUS'lu kadınların uygun

tedavi için sınıflandırılması ve tedavisi, "maliyetli, mevcut klinik kaynakların büyük bir yüzdesini tüketen ve çoğu kadın için gereksiz" olarak belirtilmektedir⁹. Bir çok araştırmacı, hafif sitolojik anormallikleri olan hastaların aynı zamanda HGSIL'lerinin de olup olmadığını belirleme çalışmıştır. Örneklerde saptanan HPV-DNA'nın serviks kanseri için riskli tipler olup olmadığını belirten ve DNA düzeyini oransal olarak veren HPV testleri, bu ASCUS tanılı kadınlardan hangilerinde daha agresif işlemler gerektiğini ortaya koyabilir. Böylece hem hastayı rahatsız edecek işlemler, hem de gereksiz harcamalar önlenebilecektir^{8,9,29}.

Sitolojik olarak ASCUS tanısı konulan dokuz olgumuzun üçünde HPV-DNA'nın pozitif bulunması, bu olguların CIN yönünden ileri incelemelere alınması ve tedavileri için bir temel teşkil etmiştir. HPV-DNA negatif olan diğer altı olgu ise reaktif sitolojik değişiklikler yönünde değerlendirilip sadece takibe alınmıştır.

Sitolojik inceleme ile LGSIL tanısı alan dört hastadan ikisinin HPV-DNA'sı negatif bulunmuştur. Bunun nedeni; bu olguların HY yöntemiyle saptanan 14 HPV tipinin dışındaki tipleri taşımaları veya DNA testi için alınan örneğin enfekte hücreleri içermeyecek şekilde yetersiz alınması olabilir. Servikal HPV enfeksiyonunun belirlenmesi, sadece moleküler biyolojik yöntemlerin sonuçları temel alınarak yapılabilir¹⁴. Bir tarama testi olan Pap yaymasının tek başına güvenilirliği ve doğruluğu son derece yetersizdir¹⁷. Bu nedenle, HPV-DNA negatif bulunan ancak sitoloji ile LGSIL olarak saptanan bu iki olgunun tanısı, yalancı pozitiflik olasılığının ortadan kaldırılması için biyopsi ile doğrulanmalıdır. Clavel ve arkadaşları³⁰ benzer olarak, HY yönteminin yalancı pozitif sitolojik sonuçları azalttığını vurgulamaktadırlar. Başka bir çalışmada ise, sitoloji ve HY gibi bir HPV-DNA saptama yönteminin birlikte kullanılmasıyla, HGSIL gibi bir sitolojik anomalinin %100'lük bir duyarlılık ile saptandığı ifade edilmiştir⁸.

Sonuç olarak, patolojik, virolojik ve epidemiyolojik kanıtlar invazif servikal kanser ve öncülerinin etyolojisinde HPV için merkezi bir rol ortaya koymuştur. Genital sistemi enfekte eden 30'dan fazla HPV tipinden yalnızca 10-12 tanesinin, invazif kanserlerin yaklaşık %90'undan sorumlu olduğu açıktır⁸. Servikal kanser tarama programlarının amacı, serviks kanserini ve buna bağlı ölümleri önlemektir. Servikal sitoloji tarama programlarının geniş ölçüde uygulanması, servikal kanser ölümlerinin azalmasında etkili olmuştur. Ancak sitoloji, servikal biyopsilerde HGSIL'yi saptayabilmesine rağmen, bunları normal veya sınırda olarak teşhis etmesi nedeniyle hastalığın şiddetini olduğundan daha az gösterebilmektedir. Aynı zamanda, bazı patoloji laboratuvarlarında %10'a varan ASCUS tanısı, belirsiz statüdeki hastaların çok sayıda olmasına yol açmaktadır^{8,31}. Bu nedenle, sitolojinin atlayacağı olguları yakalama şansı veren HPV-DNA testinin, servikal kanser ve prekürsörlerinin varlığı için kadınların taranmasında ve servikal kanser için riskte olan kadınların erken tanı ve tedavisinde çok önemli bir role sahip olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Touze A, Sanjose S, Coursaget P, et al: Prevalence of anti-human papillomavirus type 16, 18, 31, and 58 virus-like particles in women in the general population and in prostitutes. *J Clin Microbiol* 2001, 39: 4344-4348.
2. Kiviat N: Human papillomavirus, p. 1071-1079. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 1999, 7th ed. ASM Press, Washington DC.

3. Yarkin F: Servikal kanserlerde insan papilloma virusunun tanısı. Mikrobiyol Bült 2000, 35: 487-496.
4. Tuncer S: İnsan papillomavirusları, s: 797-802. Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö (ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1999, 1. baskı. Güneş Kitabevi, Ankara.
5. Altıngül I, Torak M, Özacar T, Özacar AA, Bilgiç A: The prevalences of human papillomavirus DNA in women with mucopurulent endocervicitis. Eur J Gynaecol Oncol 2002, 23: 166-168.
6. Wheeler CM, Parmenter CA, Hunt WC, et al: Determinants of genital human papillomavirus infection among cytologically normal women attending the University of New Mexico student health center. Sex Transm Dis 1993, 20: 286-289.
7. Schiffman MH: New epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. J Natl Cancer Inst 1995, 87: 1345-1347.
8. Hall S, Lorincz A, Shah F, et al: Human papillomavirus DNA detection in cervical specimens by hybrid capture: Correlation with cytologic and histologic diagnoses of squamous intraepithelial lesions of the cervix. Gynecol Oncol 1996, 62: 353-359.
9. Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RJ: Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. Am J Obstet Gynecol 1995, 172: 946-954.
10. Sun CA, Liu JF, Wu DM, Nieh S, Yu CP, Chu TY: Viral load of high risk human papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. Int J Gynaecol Obstet 2002, 76: 41-47.
11. Ustaçelebi Ş: İnsan Papillomavirusları ve Servikal İntraepitelyal Neoplazi. XXIX.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 2000, Antalya. Kongre Kitabı, s: 140-141.
12. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, et al: Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. J Natl Cancer Inst 2000, 92: 464-474.
13. Hildesheim A, Gravitt P, Schiffman MH, et al: Determinants of genital human papillomavirus infection in low-income women in Washington DC. Sex Transm Dis 1993, 20: 279-285.
14. Kornya L, Cseh I, Deak J, Bak M, Fulop V: The diagnostics and prevalence of genital human papilloma virus infection in Hungary. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2002, 100: 231-236.
15. Ludicke F, Stalberg A, Vassilakos P, Major AL, Campana A: High and intermediate risk human papillomavirus infection in sexually active adolescent females. J Pediatr Adolesc Gynecol 2001, 14: 171-174.
16. Kaynak F, Türet S, Kadioğlu İ, Taner Z, Memiş L: Servikal örneklerde karsinojenik HPV tiplerinin hibrid capture yöntemi ile araştırılması ve diğer parametrelerle kıyaslanması. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 2002, Antalya. Kongre Kitabı, s: 306.
17. Schiffman MH, Kiviat NB, Burk RD, et al: Accuracy and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture. J Clin Microbiol 1995, 33: 545-550.
18. Polat H, Yarkin F, Vardar MA, Serin MS, Köksal F: Servikal kanserli kadınlarda insan papillomavirusu (HPV) enfeksiyonları ve diğer risk faktörlerinin saptanması. İnfeksi Derg 1996, 10: 13-19.
19. Bonnes W, Reichman RC: Papillomaviruses, p: 1630-1644. In: Mandel GL, Dolin R, Bennett JE (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases. 2000, 5th ed. Churchill Livingstone, New York.
20. Vittorio CC, Schiffman MH, Weinstock MA: Epidemiology of human papillomaviruses. Dermatol Clin 1995, 13: 561-574.
21. Lacey JV, Brinton LA, Abbas FM, et al: Oral contraceptives as risk factors for cervical adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999, 8: 1079-1085.
22. Farthing A, Masterson P, Mason WP, Vousten KH: Human papillomavirus detection by hybrid capture and its possible clinical use. J Clin Pathol 1994, 47: 649-652.
23. Tuncer S, Ustaçelebi Ş: Servikal biyopsi örneklerinde insan papillomavirüsleri tip 16 ve 18'in polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. Flora 1996, 1: 40-44.

24. Cope JU, Hildesheim A, Schiffman MH, et al: Comparison of the hybrid capture tube test and PCR for detection of human papillomavirus DNA in cervical specimens. *J Clin Microbiol* 1997, 35: 2262-2265.
25. Baöci C, Aksu G, Köse MF, Haberal A: Maliqn ve premaliqn servikal lezyonlarda human papillomavirus infeksiyon sıklığının araştırılması. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 2002, Antalya. Kongre Kitabı, s: 388.
26. Schiffman M, Solomon D, Liaw KL, Sherman M: Why, how, and when the cytological diagnosis of ASCUS should be eliminated. *J Lower Genital Tract Dis* 1998, 2: 165-169.
27. Solomon D, Schiffman M, Tarone R: Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: Baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001, 93: 293-299.
28. Sherman ME, Solomon D, Schiffman M: A comparison of equivocal LSIL and of equivocal HSIL cervical cytology in the ASCUS LSIL triage study. *Am J Clin Pathol* 2001, 116: 386-394.
29. Morin C, Bairati I, Bouchard C, et al: Comparison of the hybrid capture test and polymerase chain reaction in identifying women who have an atypical squamous cell of undetermined significance papanicolaou smear and need colposcopy. *J Lower Genital Tract Dis* 1999, 3: 231-238.
30. Clavel C, Bory JP, Rihet S, et al: Comparative analysis of human papillomavirus detection by hybrid capture assay and routine cytologic screening to detect high-grade cervical lesions. *Int J Cancer* 1998, 75: 525-528.
31. Sherman ME, Schiffman M, Cox JT: Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: Data from the randomized atypical squamous cells of undetermined significance/low-grade squamous intraepithelial lesion triage study. *J Natl Cancer Inst* 2002, 94: 102-107.