

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**SERVİKAL KANSER TARAMA PROGRAMINDA SİTOLOJİK PATOLOJİ
SAPTANAN HASTALARDA HPV DNA TAYİNİ VE TİPLEMESİNİN
KOLPOSKOPİK VE HİSTOPATOLOJİK SONUÇLARLA VE SİTOLOJİ
TEKRARIYLA KARŞILAŞTIRMALI ANALİZİ**

Dr. İŞİL UZUN ÇİLİNGİR

(Tez Danışmanı: Prof. Dr. ERGİN BENGİSU))

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL, 2008

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**SERVİKAL KANSER TARAMA PROGRAMINDA SİTOLOJİK PATOLOJİ
SAPTANAN HASTALARDA HPV DNA TAYİNİ VE TİPLEMESİNİN
KOLPOSKOPİK VE HİSTOPATOLOJİK SONUÇLARLA VE SİTOLOJİ
TEKRARIYLA KARŞILAŞTIRMALI ANALİZİ**

Dr. IŞIL UZUN ÇİLİNGİR

(Tez Danışmanı: Prof. Dr. ERGİN BENGİSU))

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL, 2008

ÖNSÖZ

Tezimin ortaya çıkma ve yazım aşamasında destek ve katkılarından dolayı tez danışmanım sn. Prof .Dr.Ergin Bengisu başta olmak üzere, uzmanlık eğitimi boyunca hiç bir konuda yardım ve desteğini esirgemeyen sn.Prof.Dr.Sinan.Berkman ve tüm hocalarıma,eğitim sürecine olan katkılarından dolayı kliniğimiz baş asistanlarına , bu yorucu süreci dostluklarıyla güzelleştiren ,yoğun iş temposunu birlikte paylaştığım asistan arkadaşlarıma, sonsuz desteklerini hep yanımda hissettiğim aileme ve eşime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

1 ÖZET

2 GİRİŞ VE AMAÇ.....3

3 GENEL BİLGİLER

3.1 HPV.....5.

3.2 HPV VE GENİTAL KANSER EPİDEMİYOLOJİSİ..... 10

2.3 HPV VE SERVİKAL KARSİNOGENEZ.....11

2.4 SERVİKS KANSERİNDE BİYOLOJİK BELİRTEÇLER.....13

2.5 SERVİKS KANSERİNDE TARAMA.....17

2.6 ATİPİK SKUAMÖZ HÜCRE.....19

2.7 KOLPOSKOPİK DEĞERLENDİRME.....26

2.8 HPV-DNA TESTLERİ.....27

3 MATERYAL METOD.....31

4 BULGULAR.....35

5 TARTIŞMA.....51

6 SONUÇ55

7 KISALTMALAR 57

8 KAYNAKLAR58

1. ÖZET

Çalışmamızda servikal smearda patoloji (ASCUS -LGSIL-HGSIL) saptanan 76 hastada ,kolposkopik değerlendirme ve hem PCR hem Microarray tekniği ile HPV DNA ve tip tayini yapılmıştır.Kolposkopik değerlendirmede patoloji saptanan ASCUS ve LGSIL hastalarına ve tüm HGSIL hastalarında histopatolojik değerlendirme yapılmıştır.Ve tüm hastalara tanı ve tedaviden bağımsız 4-6 ay sonra sitolojik değerlendirme tekrarı yapılmıştır.

Çalışmanın amacı ASCUS-LGSIL-HGSIL olgularında HPV DNA tayini,tiplmesi ile servikal smear ,kolposkopi,histopatolojik sonuçlar arasındaki ilişkiyi değerlendirmek,sitoloji tekrarında yeniden patoloji saptanan olgularda HPV DNA ilişkisini ortaya koymaktır.Aynı zamanda HPV tayini için PCR ve microarray teknikleri beraber değerlendirilecektir.

Çalışmamızda servikal smear ile,kolposkopi,histopatolojik bulgular arasında anlamlı ilişki mevcuttur.HGSIL hastalarında anormal kolposkopi %77.8 iken, LGSIL(%40.7) ve ASCUS için bu oran %20dir. Smear sonucu ile tip 16 varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttur Smear sonucu HGSIL olan olgularda tip 16 görülme oranı anlamlı derecede yüksektir.($p<0.005$) .Biyopsi sonucuyla HPV DNA pozitifliği ve herhangi bir HPV tipiyle anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.Kolposkopisi normal 32 ASCUS vakasının 6 tanesinde kontrol smearda patoloji gelmiştir. Bu hastaların 4 (%75)'ü HPV pozitifdir.LGSIL için bu oran yalnızca %25 dir.Microarray ile PCR pozitifliği arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmaktadır.($p<0.001$).Microarray tekniğinde HPV pozitif olguların %61.8 'inde PCR pozitif iken ;HPV (microarray) negatif olguları % 2,4 'ünde PCR pozitifdir.

HPV DNA tayini ve tiplmesi tarama ve patolojik smearlerin takip ve tadavisinde önemli bir modalite olabilir.Daha geniş ve uzun süreli çalışmalara gereksinim vardır.

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Serviks kanseri tüm dünyada kadınlarda görülen en sık ikinci kanserdir.Dünya sağlık örgütünün 2006 yılı verilerine dayanarak tüm dünyada 510 bin yeni serviks kanseri olgusunun tanı aldığı ve 288 000 olgununda serviks kanserinden öldüğü bildirilmektedir.(4).Türkiye’de ise servikal kanser insidansı sağlık bakanlığı 2002 verilerine göre 100.000 de 3.96 dır.(5).

Servikal kanser tarama programlarının amacı invazif kanser ve öncü lezyonların tesbitidir.Sitolojik sonuçlara göre gereken klinik yaklaşımlar uygulanır.Bu yaklaşımlar arasında sitolojik sonuçla değişmekle beraber smear takibi,kolposkopi ve HPV DNA testi bulunmaktadır.Bu klinik ve laboratuvar yaklaşımların herbirinin kendine göre avantaj ve dezavantajları mevcuttur.Örneğin kolposkopi maliyeti arttıran bir uygulama iken,HPV DNA testinin bazı sitolojik patolojilerde bakılmasının anlamı yoktur.(71)

Son yıllarda yapılan çalışmalar serviks kanseri ve öncü lezyonları ile HPV arasındaki ilişkiyi net olarak ortaya koymuştur.Serviks kanseri ve HGSIL lezyonların %90 dan fazlasında HPV nin onkojenik tiplerine rastlanmıştır.(1).ASCUS ve LGSIL gibi smear patolojilerinde HPV tiplemesinin yüksek grade lezyonları ortaya koymada anlamlı olabileceğine dair bir çok çalışma mevcuttur(2,3)

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Tıp fakültesi Kadın hastalıkları ve Doğum polikliniğinde alınan Pap smearları patolojik bulunan ve kliniğimize patolojik smear sonucu ile başvuran hastaların 35 HPV tipini tanımlayabilen microarray tekniği ve PCR ile HPV DNA ve tip tayini ,kolposkopik değerlendirmeleri, gereklilik varlığında kolposkopik biyopsileri ve karşılaştırmalı olarak 4-6 ay sonraki kontrol smearleri değerlendirildi.

Çalışmamızın amacı konvansiyonel PAP smear testinde patoloji saptanan hastalarda öncelikle HPV pozitifliğini ve subtiplerini belirlemek, kolposkopik ve histopatolojik değerlendirme yaparak HPV DNA ve HPV tipleriyle smear patolojilerinin ilişkisini irdelemektir. Yine hastaların 4-6 ay sonraki kontrol smear

sonuçlarına göre smear persistansı ve HPV ilişkisi değerlendirilecektir. HPV DNA pozitif olan hastalarda PCR ve Microarray HPV testlerinin birbiriyle uyumu ve korelasyonuna bakılacaktır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. HPV

HPV ye ait sitolojik değişiklikler ilk olarak 1956'da Koss tarafından tarif edilmiş ve “koilositoz” olarak adlandırılmıştır. Fakat 20 yıl boyunca önemi anlaşılamamıştır. 1970' li yılların ortalarında Hausen tarafından ilk defa HPV' nin genital yol kanserleri gelişiminde rolü olabileceği ifade edilmiştir. 1970' lerin sonlarında Meisel tarafından serviksin kondilomatöz lezyonları ile HPV' nin ilişkisi ortaya konulmuş ve daha önce tanımlanmış olan koilositik hücrelerde intranükleer HPV varlığı ve CIN gelişimi ile ilişkisinden bahsedilmiştir. Sonrasında tüm bu verilere ek olarak HPV nin aynı zamanda serviksde kolposkopik olarak tanınabilen düz beyaz lezyonlar oluşturabildiği ve bunun serviks kanserinin öncü lezyonu olduğu ortaya konulmuştur. İmmunperoksidaz tekniklerinin gelişimi ile lezyonlarda ki HPV gösterilmiş ve hibridizasyon tekniklerinin gelişimiyle HPV DNA sınıflandırılmış ve tiplere ayrılmıştır. Ve sonrasında jinekolojik lezyonlar ve onlarla ilişkili HPV tipleri ortaya konulmuştur.

	Sık HPV tipleri	Nadir görülen HPV tipleri
Kondiloma Akkuminata	6,11	2,16,30,40,41,42,44,45,54,55,61
CIN,VIN,VAIN	16,18,31	6,11,30,34,35,39,40,42,51,52,56,61,62,64,66,67,69
Serviks kanseri	16,18,31,45	6,10,11,26,33,35,39,51,52,55,56,58

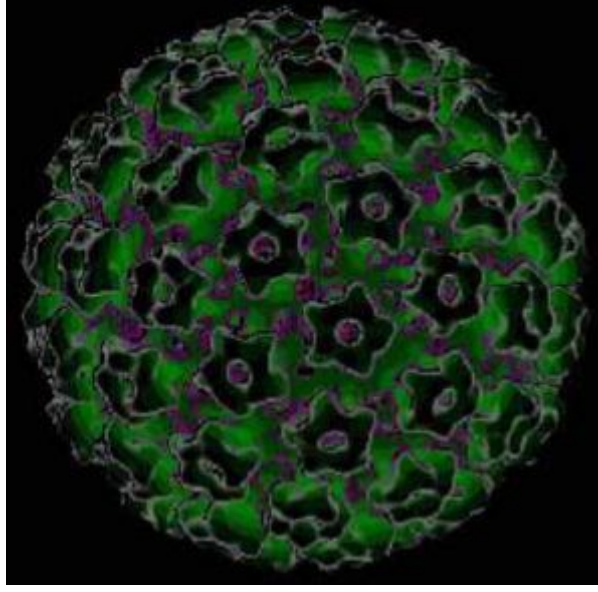
(Evans H, Walker PG: Infection and cervical intraepithelial neoplasia. Cont Clinical Gynecol Obstet. 2:217-27.2002)

Bugün yaklaşık 200 tip HPV tiplendirilmiştir.Yakın zamana kadar HPV nin yeni bir alt tipinin ortaya konulması için daha önce tanımlanmış HPV tiplerinden %50 den az DNA homolojisi içermesi gerekmekte iken günümüzde yeni bir tip tanımlayabilmek için tüm genomun kodlanması ve E6,E7 ve L1 bölgelerindeki nükleotid zincirinin önceki tiplerinkiyle % 90 dan az oranda benzerlik göstermesi gerekmektedir..Sınıflandırma DNA içeriğine dayanarak yapılmaktadır.Yaklaşık 30 -40 tip HPV primer olarak anogenital yolların yassı epitelyumunu infekte etmektedir.Düşük riskli tipler olarak adlandırılan (6,11,42,43,44,53,54,55,62) tipler kondilom gibi iyi huylu lezyonlarla ilişkilidirler ve genellikle maligniteye progrese olmazlar.(6).

Yüksek riskli tipler (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73,82) intraepitelyal ve invaziv kanserlerde saptanırlar.(7).İleri evre CIN ve servikal kanserde en sık görülen tip HPV 16 olup servikal kanserde %50, adenokanserde yaklaşık %30 oranda saptanır.(6).HPV 18 ise CIN olgularında %5 gibi düşük oranda görülürken servikal kanserde 2.sıklıkta görülür.(8).Bu durum,bu tipin çok virulan olup prekürsor lezyonları çok hızlı geçerek hızlıca invazyona ilerlediğini düşündürmektedir.Bu durum HPV 18' i başlı başına kötü prognostik faktör olarak ortaya koymaktadır.

3.1.1. VİROLOJİ

Human Papilloma virüs (HPV) 72 kapsomerdan oluşan zarfsız bir DNA virusudur.İkosahedral (20 yüzlü) bir kapsül içinde çift sarmal DNA içerir.Elli beş nm büyüklüğünde küçük sayılabilecek, ısıya dayanıklı bir virusdür.



(HPV elektron mikroskop görüntüsü)

Papilloma viruslar insan ,sığır gibi doğal konaklarına göre isimlendirilirler.(insan papilloma virus gibi).Alt sınıflama ise nükleotid zincirine göre yapılır.HPV viral genomu başlıca 3 bölgeye ayrılmaktadır.Bunlar;infeksiyöz viral partiküllerin montajında kullanılan yapısal proteinlerin senteziyle ilgili “Late region”(genomun %40’ını oluşturur),viral replikasyon ve onkojenik proteinleri kodlayan “Early region”(genomun %45’i) ve virusun yaşamında regülör fonksiyonları yürüten “URR”(Upstream regulatory region)’ dir.

Tüm papilloma viruslarda Late region’da L1 ve L2 denilen iki ORF mevcuttur.(ORF:Open reading frames; genomun bitiş kodonu olmayan ve transkripsiyonda önemli rol oynayan kısımlarına ORF adı verilmektedir).L1 major kapsül proteininin (kapsülün %95’ i) sentezinden sorumludur.Bu protein tüm papilloma viruslarda bulunur.Anti-kapsül antikörleri, bu proteine karşı hazırlanmaktadır.L2 ise minör kapsül protein sentezinden (%5) sorumlu olup ,HPV tipine özeldir.(9)

Early region’da E1,E2,E4,E6,E7 olmak üzere 5 ORF tanımlanmıştır.E1 ve E2 virus replikasyonunun ilk aşamasında yer alırken,virus maturasyonunun sağlanmasında rol oynayan proteinle E4 bölümü tarafından sentezlenir.Hücre transformasyonunda kilit rol

oyunayan E6 ve E7 bölümleri , HPV 16 ve 18'deki onkogenlerin sentezinden sorumludur.Bu bölümlerin aktif çalışmasıyla HPV' ye bağlı kanserler meydana gelir.(10,11)

Günümüzde saptanmış 200 civarı HPV tipinin yaklaşık 40 tanesi anogenital epitelyumu enfekte etmektedir.Bunlar servikal kanser örneklerinde belirlenme oranlarına göre yüksek ve düşük riskli olarak tanımlanırlar.Genital HPV adı verilen tüm bu viruslar için genital sistemin nemli mukoza ve ve komşu cilt epitelyumu rezervuar olarak rol oynamakla birlikte üst solunum yolu epitelyumu,larenks,orofarenks ve özofagus mukozalarında da virusa rastlanmıştır.(12)

3.1.2. İMMUN YANIT

Vücudun dışarıdan gelen herhangi bir patojene karşı oluşturduğu immün yanıt doğal ve edinsel immünite olarak ikiye ayrılır.İlk savunma sistemi patojenlerin %90'ını etkisizleştiren doğal immünitedir.Fagositler,sitokinler,proteinler,kompleman ve epitel bariyerleri tarafından meydana gelir.Bu tip immünite hafıza oluşturmaz ancak kendi yöntemleriyle patojenleri etkisizleştirir ve hafıza yollarını uyarır.Edinsel immünite ise,humoral ve hücrel immünite olarak ikiye ayrılır.Humoral bağışıklık antijene karşı antikor yanıtında antijeni temizleyip parçalarken hücrel bağışıklık virüsle enfekte hücrelerin temizlenmesi ve hafıza oluşumu ile ilişkilidir.

HPV doku tropizmi gösteren Hepatit B benzeri özellikli bir enfeksiyon ajanıdır.Viral gen ekspresyonu keratinosit yada skuamöz maturasyon potansiyeli olan hücrelerde gerçekleşir.Virus ilk,bazal keratinositleri olasılıkla hedef kök hücreleri enfekte eder.Yüksek miktarda viral proteinlerin çoğalmasında yüzeysel epitelyumda st.spinosum ve st. Granulosum tabakalarında da enfeksiyon olur.İnfeksiyon başlangıcı ile virusun salınımı arasındaki süre yaklaşık 3 hafta iken, klinik lezyonların ortaya çıkması için geçen süre birkaç hafta ile birkaç ay arasında değişmektedir.(13).Yine de aylar yıllar içinde gerçekleşebilir.Enfeksiyon döngüsü intraepitelyal olarak meydana gelir,epitelyumun alt kenarlarında viremi yoktur veya çok azdır.HPV çoğalımı

(replikasyon) sitoliz ya da sitopatik etki yaratmaz. Apoptotik ölümü yaşayan değişmiş keratinositler immün etkinin uzak olduğu üst tabakalarda dökülürler(deskuamasyon). HPV enfeksiyonunda bağışıklık sistemini uyarmak tehlikeli bir sinyal oluşmaz ve inflamasyon meydana gelmez. Ancak HPV'nin oluşturduğu immün yanıt güçlü lokal hücrel immünite ile karakterizedir. Hücrel immünite lezyonların gerilemesini ve serum nötralizan antikor gelişimini sağlar.(14).

Bu antikorlar L1 kapsid proteinine karşı oluşur. Çalışmalar HPV ile enfekte olan hastaların yarısında serolojik yanıt oluştuğunu göstermektedir. HPV intrasellüler bir enfeksiyon olduğundan ve viremi oluşturmadığından antikor yanıtı en tepe noktasında bile oldukça düşüktür. Antijen uyarımı düşük olduğundan B ve T hücrelerinin yüksek oranda aktive olması engellenir. Ancak düşük seropozitivite ile de koruyuculuk sağlanabilir.(13).

İmmün yanıtın önemi bağışıklığı baskılanmış hastalarda, HPV enfeksiyonun seyri ve ilerlemesi bağışıklığın önemini gözler önüne sermektedir. Bu hastalarda CD4 eksikliği neoplastik dönüşümün ana nedeni olarak düşünülmektedir.(15) HPV enfeksiyonundaki hücrel immünitenin kanıtları immunohistokimyasal olarak da ortaya konulmuştur. Gerilemeyen genital siğiller immün hücrelerin yokluğuyla karakterizedir(16). Siğillerin gerilemesi stroma ve epitelde çok miktarda mononükleer hücrenin aktive olmasıyla olur. Bu hücrelerin çoğu CD4 olmakla birlikte, epitelde çok miktarda CD8 hücreleri görülür. İnsanlardaki uzun süreli çalışmalar etik ve diğer nedenlerle mümkün olmadığı için köpeklerde oral papilloma virus incelenmiş ve oral siğilin gerilemesinden yaklaşık bir hafta sonra, önce CD4 sonra CD8 ağırlıklı bir mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmiştir. Stromada bununla ilişkili olarak MHC sınıf 1 ve sınıf 2' nin üretimi artmıştır. Burada hedef viral protein E2 dir. Ve tüm bunlar hücrel immünitenin kuvvetli yanıtını ortaya koyar.(17)

Genital HPV enfeksiyonu cinsel aktif genç kadınlarda çok sıktır (%80) (18). HPV'nin pik insidansı 20-25 yaşları arasında ortaya çıkmakta ve bunların büyük kısmı da spontan regrese olmaktadır. (18). Bu nedenle büyük kısmının bir süre sonra HPV DNA' sını belirlenemez. Viral klirens, yüksek riskli HPV tiplerinde ortalama 8-14 haftadır, düşük riskli tipler için ortalama 5-6 aydır.(13).

3.2. HPV VE GENİTAL KANSER EPİDEMİYOLOJİSİ

Eski Roma devrinde uzakdoğuya giden askerlerin ülkelerine döndüklerinde penislerinde siğillere rastlanmıştır.HPV'nin serviks kanserindeki kilit rolü 1980'den itibaren sayısız yayla ortaya konmuştur.Günümüzün teknikleriyle serviks kanser hücrelerinin %99.7 oranında HPV DNA saptanabilmektedir.(19)

HPV toplumda oldukça sık görülen bir enfeksiyon ajanıdır.Seksüel aktif kadın ve erkeklerin büyük bölümü HPV ile infekte olacaktırlar.Nitekim Amerika Birleşik devletlerinde toplumun %15 inde görülen HPV, en sık cinsel ilişki ile bulaşan hastalıktır ve yaşam boyu bulaşma oranı yaklaşık %75' dir.(20).HPV DNA pozitifliği cinsel ilişki partner sayısı ile artmaktadır.Rutin taramalarda yüksek riskli HPV varlığında patolojik smear oranı % 5-7 iken ,yüksek risk negatifliğinde bu oran %0.5- 1' e düşmüştür.(19). Yaşlara göre dağılım incelendiğinde HPV DNA pozitifliği adölesan dönemde,ilk kez karşılaşılması,immunitenin olmaması,transformasyon zonundaki aktif metaplazi ve serbest seksüel aktivite gibi nedenlerle daha yüksek olduğu saptanmaktadır.(22,23).Çeşitli çalışmalarda HPV DNA testi yapıldığında 25 yaş altı olgularda pozitiflik oranının %32-64 olmasına karşın, 45 yaş ve üzerinde bu değerlerin %2.8-4 olduğu saptanmıştır.(24,25).Kümülatif insidans değerleri dikkate alındığında 12 ayda %14-41,24 ayda %34-39,36 ayda %43-44 ve 5. yıl sonunda %55 pozitiflik saptanmaktadır.(26-27).Bu çalışmalarda insidans oranlarının daha genç olanlarda ,zencilerde,sigara içenlerde,anal ilişkide bulunanlarda ve daha fazla sayıda vaginal ilişkisi olanlarda daha fazla olduğu saptanmıştır.Bu da serviks kanseri için risk faktörü olan tüm bu değişkenlerin asıl etkisini HPV enfeksiyonu üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir.Sitolojik olarak normal kadınlarda HPV pozitiflik oranları büyük bir

varyans göstermektedir.Yunanistan’da %2,5,Barcelona’da %3,Tayland’da %3.9 gibi veriler saptanmış olmakla beraber,ABD verileri incelendiğinde bu oranların % 30’un üzerinde olduğu hatta Jacobson ve ark’nın çalışmasında adenosan kliniğinde %90 olduğu belirtilmiştir.(28,29,30).

Türkiye’de HPV prevalansı ile ilgili net veriler ortaya koyabilmek için çalışmalar yetersizdir.

3.3. HPV VE SERVİKAL KARSİNOGENEZ

Servikal transformasyon zonunda bulunan immatür skuamöz metaplazi, HPV’ nin hedef bölgesidir ve malign dönüşüm için en yüksek risk taşıyan bölgedir.Bu bölge epitelinin maturasyonunun artması malign dönüşüm ihtimalini azaltır.Bu bölgede ki maturasyonun az olduğu fetal dönem,puberte ve gebeliğin erken dönemi transformasyon zonu metaplazisinin en aktif olduğu dönemlerdir.(31)..

HPV enfeksiyonunun başlıca 3 aşaması vardır.

- a)Latent evre
- b)Subklinik evre
- c)Klinik evre

3.3.1. Latent evre:

Virus ilk önce cinsel ilişkiye bağlı mikrotravmaların en çok olduğu stratum germinatumda ki bazal hücreleri infekte eder.Virus genomu kılıfından ayrılır ve hücrenin çekirdeğine girerek konak DNA’ sına girmeden latent olarak kalır.Bu evre ortalama 3 hafta ile 8 ay arasında sürer.Ancak tesbit edilmeden yıllarca da kalabilir.bu dönemde hastalığın morfolojik,sitolojik ve kolposkopik hiçbir bulgusu yoktur.Yalnızca ultrasensitif PCR teknikleri ile saptanabilir.(32)

3.3.2. Subklinik Evre

İmmunolojik kontrolün kaybıyla virus genomu replike olarak büyüme faktörlerinin etkisiyle subklinik evreye geçilir.Bu dönemde epitel proliferasyonu,akantozis,hiperkromazi olur.CIN ve intraepitelyal neoplaziler subklinik evreye örnek teşkil eder.Ölü st. Granulosum hücrelerinden oluşan koilositler de yine bu dönemde görülebilir.Koilositler HPV nin karakteristik bulgusudur ve malign dönüşüm göstermezler.Düşük riskli HPV'lerle birliktelik gösterirler.(9).Subklinik dönemde sitoloji ve kolposkopi pozitif olabilir.

Hücresel boyutta ise HPV bu dönemde konak genomuna entegre olabilir veya olmayabilir.Konak genomuna entegre olmadığında da (epizomal hastalık) anormal PAP testlerine neden olup kolposkopik bulgu verebilir.Ancak konak DNA'sına yalnızca yüksek riskli tipler entegre olur.Yine sitoloji ve kolposkopi pozitifleşebilir.Kanser oluşumunu engellemek için kesinlikle tedavi edilmelidir.

3.3.3. Klinik Evre

Kondilom,lezyon ve kanser gelişimi ile karakterizedir.

Tümör gelişebilmesi için çoğunlukla virus genomunun konak DNA'sına entegre olması gerekmektedir.Bu birleşme E1 ve E2 bölgelerinden olur.E2 bu şekilde inaktifleşerek, E6 ve E7 nin aktifleşmesine neden olur.Bu da tümör baskılayıcı genler olan P53 ve pRB 'nin baskılanmasına ve kontrolsüz çoğalma ve malign dönüşüme neden olur.(10,33).Viral E6 ve E7 onkogenlerinin bazal ve parabazal hücrelerde dengesiz bir şekilde ekspresyonu ile servikal karsinogenez indüklenir. Bu durumda epitelde differansiyon aşamaları bloke olur ve yüksek dereceli displazilerde E6 ve E7 miktarı çok yüksektir (34).

Sonuç olarak enfeksiyonu meydana getirebilmek için HPV'nin bazal ve parabazal hücrelere ulaşması gerekmektedir.Viral genler,epitelyal hücrelerin çoğalmasını

ve faklılaşmasını düzenleyen mekanizmalarla etkileşirler,ve bu yolla kromozal dengesizliklerin ve malign differansiasyonun ortaya çıkmasına neden olurlar.Buradaki mekanizma daha önce de bahsedildiği gibi E6 ve E7 nin aktivasyonuyla tümör baskılayıcı genler olan P53 ve PRB(retinoblastom) geninin inhibisyonuna yol açar.E6 ve E7 ayrıca sentromer fonksiyonlarını da bozarak hücrenin mitotik fonksiyonlarını da bozarlar.Bunun sonucu ise, mitoz sırasında sayısal ve yapısal kromozomal düzensizliklerin meydana gelmesidir.Bu yolla servikal karsinogenez indüklenir.Oluşan kromozomal bozuklukla ilgili kararlı bir veri olmamasına rağmen, invazif kanserli olgularda 3q lokuslarında genetik materyal artışı tesbitiyle ilgili veriler de mevcuttur.İlerleyen yıllarda bunun bir marker olarak kullanılabileceği ile ilgili umutlar mevcuttur.(34)

3.4. SERVİKS KANSERİNDE BİYOLOJİK BELİRTEÇLER

Düzensiz viral gen çoğalmasından oluşan kromozomal bozukluklarda, viral genom konak hücre kromozomu ile birleşir. Konak hücrede özel bir bölgeye bağlandığını gösteren bir bulgu yoktur, yine de genomda ki kırılğan bölgeler ilk planda seçilen yerlerdir [35].İncelenen tüm serviks kanseri örneklerinde E6 ve E7 genlerinin en azından bir kopya olarak konakçı genomunda korunduğu gösterilmiştir (36). Viral genomun entegrasyonu ve ekspresyonunun malign dönüşüme katkısı olduğu, bildiğimiz üzere ileri sürülmüştür. Bu da viral genom entegrasyonunun tanısal açıdan invazif kansere progrese olacak vakaları tanımlamada kullanılabılır mi?’ sorusunu gündeme getirmiştir.Aslında viral genom entegrasyonu in situ hibridizasyon teknikleri ile ortaya konulabilir.(37).Ancak teknik sorunlar bunun tarama testi olarak kullanılmasını engeller.Bu entegre DNA fragmanlarının amplifikasyonu ve m-RNA ürünlerinin araştırılmasına dayanan yöntemlerle bu teknik sorunların yok edilmesi planlanmaktadır.(38)Son m-RNA ürünleri mcm5, cdc6, claudin 1, topoizomerez2, alfa,net1/c4.8, survivin ve diğerleridir [62,63]. Bu moleküllere karşı geliştirilmiş antikorların kullanıldığı m-RNA belirleyen yöntemlerin preinvazif hastalıkta progresyonun belirleyicisi olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Ancak bu genlere karşı tarama testleri henüz anlamlı bir sonuç vermemiştir.(39,40) .

Yine son yıllarda HPV ile enfekte olmuş hücrelerdeki epigenetik değişikliklerin belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür. [58]. DNA daki sitozin gurubuna

guanozin dışında ekstra bir metil gurubu bağlanması olayına DNA metilasyonu denir .DNA metilasyonu 5metilsitozin oluşumuna neden olur.Bu olay genom sağlamlığını arttırarak gen çoğalmasını düzenler. (41)Genlerin promoter bölgesinde yaygın olarak hipometilasyon yada hipermetilasyon oluşması malign olaylarla ilgilidir (42).Ancak serviks kanserinde tarama için kullanılmak için yeterli sensitiviteye sahip değildir.

Normal koşullarda vaginal smearda aktif DNA metabolizması sonucu oluşan proteinlerin yüksek oranda ortaya çıkması beklenmez.Bu nedenle vaginal smearda saptanan proliferasyon gösteren Ki-67,PCNA gibi gen ürünleri belirteç olarak kullanılabilir.(43)

Vaginal epitelde normal olarak ortaya çıkmayan ancak E6-E7 onkogenleri ile ekspresyonunda artış olan genler ilerleme potansiyeli olacak lezyonların ortaya konulmasında bir belirteç olabilir.

Bu genlerden biri cyclindependent kinase inhibitor p16^{ink4a} belirteç olarak kullanılacak adaylardan biridir (44). E7 onkoprotein PRB kompleksini prematür olarak etkisizleştirmesi sonucunda p16^{ink4a}'a eksprese olur. Çünkü PRB p16^{ink4a}'nın transkripsiyonunu engeller (45). P16^{ink4a} hücre büyümesini çok etkili engelleyen bir antijendir. Bu antijeni eksprese eden hücrelerde normal fizyolojik şartlarda hücre farklılaşması durur ve apoptoza gider (46). P16^{INK4a} akciğer, meme, kolon gibi birçok kanserde etkili bir tümör supresörü olarak tanımlanmıştır.(47). PRB'nin etkisizleştirilmesi ile p16^{ink4a} çok fazla artar. Birçok kanserde tümör süprese eden gen olarak çalışır, Displazinin ve servikal kanserin incelendiği büyük serilerde p16^{ink4a} displastik epitellerin proliferen kısımlarında kuvvetli yoğun boyama oluşturduğu gözlenirken, normal epitel ise immünreaktivite göstermez.(48,49).Bu veriler P16^{INK4a} 'nın risk düzeyi artan hücre ve lezyonları ayırt edebilmek için gereken kriterlere sahip olduğu ileri sürülmektedir.Bu na ek olarak , CIN1 lezyonlarda yapılan çalışmalarda P16^{INK4a} 'nın ekspresyonunun yüksek grade'li lezyonlara ilerleme riskinin artmış olduğu ortaya konmuştur.(50) .Bu veriler ışığında likid bazlı sitoloji örneklerinde ve konvansiyonel smearlarda displazik hücrelerin araştırılmasına yönelik bazı protokoller ortaya konulmuştur..Displazik hücrelerde sitokimyasal analizle P16^{INK4a} saptanması CIN 2 ve CIN3 için yüksek pozitif prediktif değere

sahiptir.(51).Bu konudaki çalışmalar yöntemin konvansiyonel sitolojik değerlendirmeden daha duyarlı ve özgül olabileceğini düşündürmektedir.

3.4.1. SERVİKAL İNTRAEPİTELAL NEOPLAZİ GELİŞİMİ

İlk defa 1967 yılında Richard(52) tarafından önerilen servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) deyimini “iyi differansiye intraepitelyal neoplazm olarak başlayıp invaziv karsinomda sonlanan intraepitelyal değişiklikler spektrumu olarak tanımlanmaktadır.(53)

Servikal intraepitelyal neoplazi, grade 1 (CIN1)hafif displazi,CIN2 orta derecede displazi ve CIN3 ise ağır displazi ve karsinoma in situ kombinasyonu anlamında kullanılmaktaydı.Bu tanımlamalar klinisyenlerce benimsenerek dünyada yaygın kullanım alanı bulmuştur.

İlerleyen yıllarda HPV nin servikal neoplazi gelişimindeki rolü ortaya çıktıkça , HPV ye bağlı sitolojik değişiklikler terminolojiyi yetersiz kılmıştır.Bunun üzerine 1991 yılında ASCCP yapılan konsensus sonucu Bethesda sınıflaması kabul görmüştür.(54)

Bethesda sınıflaması ile HPV ye bağlı hücrel değişiklikler koilositoz adı altında CIN 1 ile birlikte LGSIL(Low grade squamous intraepithelial lesion) adı altında toplanmıştır.Ağır displazi ,karsinoma in situ,CIN2 ve CIN 3 ise HGSIL (High grade intraepithelial lesion) adı altına birleştirilmiştir.(55).

HPV enfeksiyonu gelişen bir kadında klinik ya da subklinik enfeksiyon her zaman gelişmez ve virus latent olarak kalabilir.Bu kadınlarda PCR ile HPV-DNA bakıldığında %90 oranında regresyon saptanır.Viral gerileme 4-6 ay ile 1-2 yıl arasında olmaktadır. Sonuç olarak HPV ile enfekte kadınların % 90'ı iki yıl içerisinde regrese olacak,%10'u progrese olarak servikal intraepitelyal neoplazi gelişecek ve yalnızca % 1'i invazif kansere ilerleyecektir.(56).

Servikal intra epitelyal lezyonların progresyon,regresyon ve invazif kansere dönüşme olasılıkları ile ilgili bir çok çalışma mevcuttur.Sitoloji bazlı çalışmaların metaanalizinde CIN1 olgularının %57 spontan regresyona uğradığı ,%31 persiste ettiği,% 11 CIN3 e ve % 1 invazif kansere dönüştüğü saptanmıştır.(57)

	Gerileme(%)	Aynı kalma (%)	CIN3'e ilerleme(%)	İnvazyon (%)
CIN 1	60	30	10	1
CIN 2	40	40	20	5
CIN 3	33			12
ASCUS			7	0.25

Tablo-CIN'in doğal seyri (58)

İleri evre CIN daha çok 25-29 yaşlar arasında ortaya çıktığı ve HPV tipine bağımlı olduğu bildirilmektedir. Sitolojik olarak atipi saptanan kadınlarda 6 yılın sonunda %15-20 oranında bunun 16 gibi bir relatif riske karşılık geldiği, 25 yaşın altında bu riskin 39 olduğu bildirilmiştir. (59).

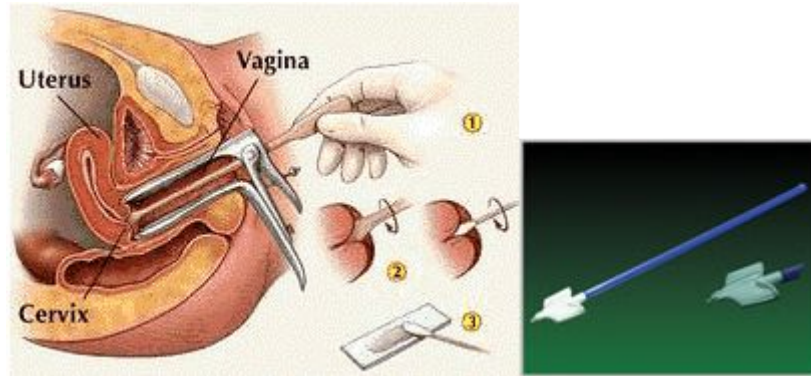
1960'lardan beri ileri evre lezyonların CIN 1, CIN2 ve 3'ün birbirine ilerlemesi sonucu olduğu sanılmıştır. (52). Ancak sonrasında öncül lezyon olmaksızın CIN yada ileri evre lezyonların gelişebileceği kabul görmüştür. Günümüzde ise bu ileri lezyonların de novo olarak HPV etkisiyle direkt oluşabileceği üzerinde durulmaktadır.

Servikal karsinogenezde ana aşamalar, metaplazik transformasyon zonunun bir yada daha fazla onkogenik HPV ile enfeksiyonu, virusun persistansı, persistan enfekte olan epitelin servikal prekanseröz lezyonlara klonal progresyonu ve invazyonudur. En önemli viral özellikler, virusun genotipi ve persistans süresidir. (9)

3.5. SERVİKS KANSERİNDE TARAMA

Servikal kanser için tarama ilk kez 1927 yılında Babas tarafından ortaya atılmış;daha sonra Papanicolaou ve Traut tarafından yaygınlaştırılmıştır.(9). 1950'li yıllarda kullanılmaya başlanılan konvansiyonel yöntemler yerini son 10 yıldır likid (sıvı) aracılıklı sistemlere bıraktı. Konvansiyonel yöntemlerin duyarlılıklarının düşük olması, alınırken ve transport sırasında bir takım kayıpların olması, değerlendirmelerinde patoloğlar tarafından sonuçları farklı yorumlanabilmesi belli başlı olumsuz yönleridir. Servikal displazileri saptamada klasik yöntemlerin duyarlılığı çalışmalarda % 30-87 arasında değişmektedir (60). Metaanalizlerde bu oran ortalama %58 olarak gelmiştir (61). Sitolojik değerlendirmelerde geneldüşünce anormal sonuçları testin olumsuz yönleri nedeniyle tekrar etmek yönündedir

Günümüzde sistematik servikal sitolojik tarama programı ile erken evre lezyonlarda artış görülmesine rağmen serviks kanserine bağlı ölümlerin % 70 azalacağı hesaplanmaktadır.(62)



(resim no:1)

Halihazırda PAP smear değerlendirilmesinde Bethesda 2001 sınıflama sistemi kullanılmaktadır.Epitelial hücre anormallikleri skuamöz hücrelerde ASC-US,ASC-H,LSIL,HSIL ve skuamöz hücreli kanser,glandüler hücrelerde ise AGC,AGC-NOS,AIS ve adenokanser olarak değerlendirilmektedir.Low grade servikal intraepitelial lezyonun (LSIL) histopatolojik karşılığı CIN1,high grade servikal intraepitelial lezyonun histopatolojik karşılığı CIN 2-3 dür.

1. SQUAMÖZ HÜCRELER

Atipik Squamöz Hücreler(ASC)

Önemi belli olmayan(of undetermined significance)(ASCUS)

HSIL' i dışlayamayan hücreler(ASCH)

Düşük dereceli epitelde sınırlı Lezyonlar (LGSIL)

hafif displazi, CIN1, HPV enfeksiyonu

Yüksek dereceli lezyonlar(high grade squamöz intraepithelial lezyonlar)(HGSIL)

orta ve ağır displazi, CIN2CIN3,

karsinoma in situ

squamöz hücre kanseri

2. GLANDULER HÜCRELER

Atipik Glanduler Hücreler(AGC)

Endoservikal ,Endometriyal

Neoplaziyi düşündüren atipik glanduler hücreler

Endoservikal adenokarsinoma in situ(AIS)

Adenokarsinom

Tablo3-Bethesda 2001 sınıflaması

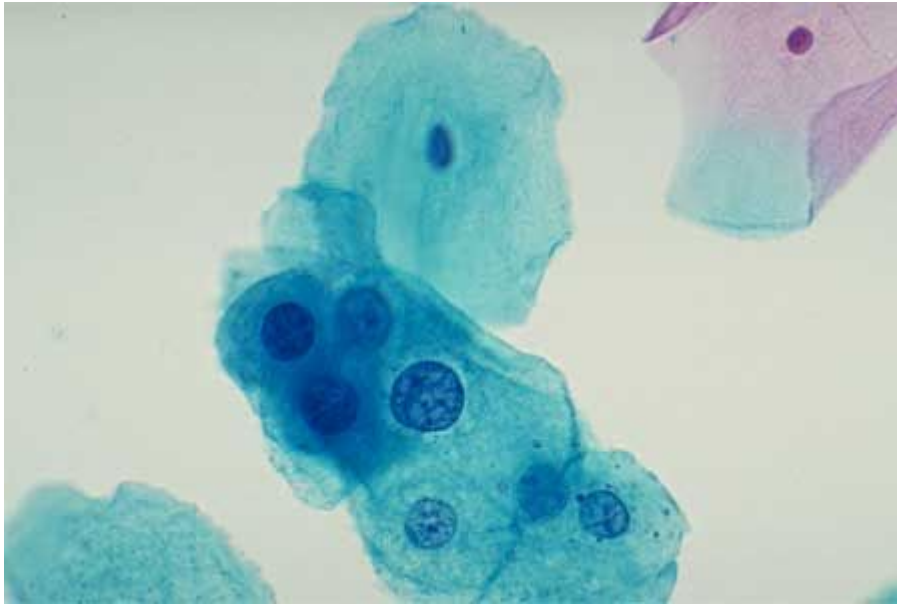
Bethesda sınıflaması ile HPV ye bağlı hücresel değişiklikler koilositoz adı altında CIN 1 ile birlikte LGSIL(Low grade squamous intraepithelial lesion) adı altında toplanmıştır.Ağır displazi ,karsinoma in situ,CIN2 ve CIN 3 ise HGSIL (High grade intraepithelial lesion) adı altına birleştirilmiştir.(55)

Pap smear taraması yapılan kadınların % 5-10 u ASCUS ve LGSIL olarak gelecektir.(63,64) LGSIL insidansı 1996 yılında Amerika'da yapılan çalışmalarda % 1.6 iken, 2003 rakamlarına göre %2.3 olarak artış göstermiştir.Diğer sitolojik anomalilerde saptanmayan bu artış, sıvı bazlı sitolojinin yaygın kullanımına bağlanabilir.(65). Ancak yüksek insidansa rağmen bu sonuçların yönetimi konusunda halen tartışmalar sürmektedir..Yapılan çalışmalar bu lezyonların bir çoğunun tedavisiz gerileyeceğinden ,daha az bir kısmının ise CIN2 ve CIN 3'e progrese olacağını söylemektedir.(64,65).Melnikow tarafından 1998de yayımlanan geniş çalışmada, bir yıl

içerisinde yüksek grade lezyonlara progrese olma oranı ASCUS için %7.3 LGSIL için %21 olarak bulunmuştur.Kansere progresyon ASCUS için %0.25, LGSIL için is %0.15'dir(10).LGSIL hastalarının ilk kolposkopilerinde CIN2-CIN 3 veya kanser saptama prevalansı %12 ile %17 arasındadır.(66,67)

3.6. Atipik skuamöz hücreler

Atipik skuamöz hücreler önemi bilinmeyen atipik skuamöz hücreler (ASC-US) ve HSIL'ın dışlanamadığı ASC-H olarak ikiye ayrılır.Amerika Birleşik devletlerinde alınan smearlerin %4.7 'si ASC-US ,%0,4' ü ASC-H olarak saptanmıştır.(65).Smear sonucu ASC olarak gelen bir hastanın yönetiminde akılda tutulması gereken birkaç özellik mevcuttur.Esas itibariyle smear sonucu ASC olan hastalarda invaziv kanser prevalansı oldukça düşüktür.(yaklaşık %0.1,%0.2) (68).Ve CIN2 ve CIN3 prevalansı ASC-H'da ASC-US' a göre daha yüksektir.ABD' de smear sonucu ASC gelen hastalarda CIN2,3 prevalansı %7-12'lerde iken ,ASC-H'da bu oran %26-68 arasında değişmektedir.(2,69).Yüksek riskli HPV DNA pozitiflik prevalansı aynı şekilde ASC-H 'da ASC-US a göre yüksektir.(2,69)



3.6.1.1. ASCUS ve Klinik Yönetim

Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji derneği (ASCCP9 2006'da anormal servikal smear'e yaklaşım ile ilgili guideline bir yayınlamıştır. Bahsedilen guideline ASCUS için aşağıdaki önerileri getirmektedir.

-Yüksek riskli HPV DNA tayini, kontrol smear alınması veya direkt kolposkopiye gidiş şeklindeki yaklaşımların hepsi ASCUS yönetiminde kabul edilebilir seçeneklerdir.(A1).Sıvı bazlı sitoloji kullanıldığında eş zamanlı HPV DNA testi yapılabilir.

-HPV DNA negatif olgular yıllık sitolojik testlerle takip edilebilir.(B2).

-HPV DNA pozitifliğinde ASCUS LSIL gibi yönetilerek hasta kolposkopiye refere edilmelidir.(A2).

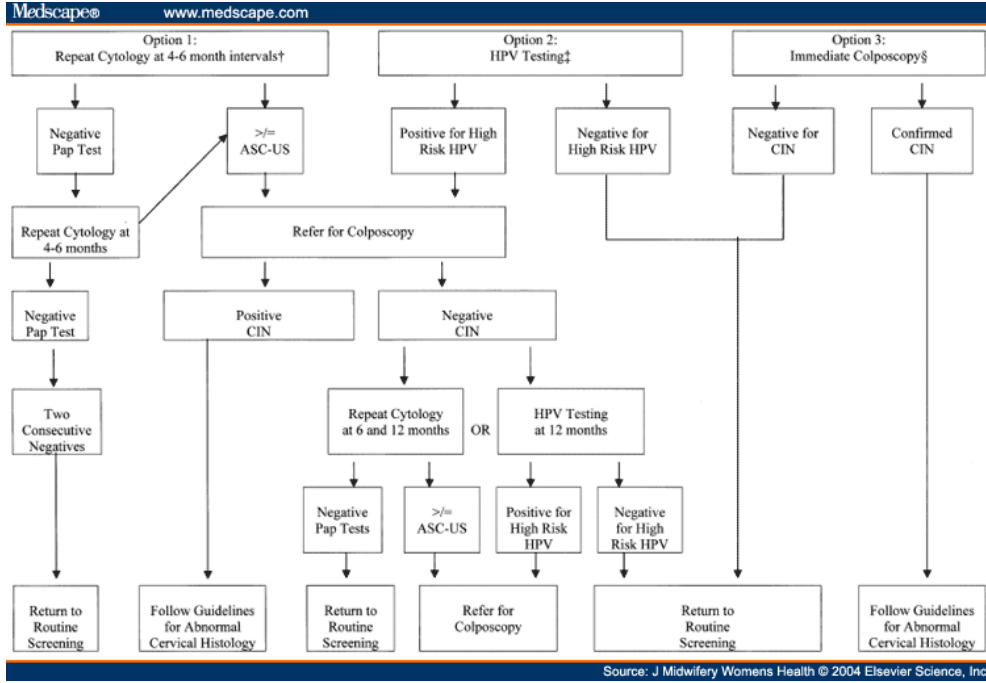
-Yetersiz kolposkopi veya transformasyon zonunda lezyon varlığında endoservikal örnekleme yapılabilir.(A2)

-Kolposkopik olarak negatif HPV DNA pozitif olgularda uygun yaklaşım 6-12 ay ara ile sitolojik takip ve 12 ay sonunda HPV DNA tekrarıdır.(B2).12 ayda daha kısa intervallerle HPV DNA tayini önerilmemektedir.(E3).

-ASCUS'un sitolojik takibi kullanıldığında ise ardarda iki negatif smear alınana kadar 6 ay ara ile smear alınması uygundur(A2).

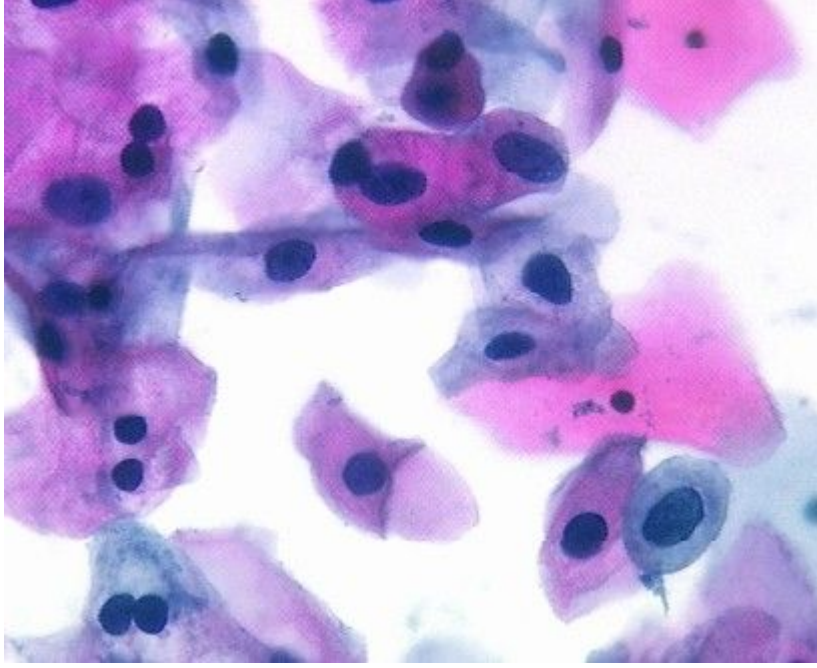
-Takip smearlerine ASCUS veya üzeri bir lezyon varlığında kolposkopi endikedir. (A2).

-Biyopsi ile kanıtlanmış CIN 2 veya CIN 3 olmadığında eksizyonel prosedürler ASCUS için kabul edilemez tedavi modaliteleridir.(71)



3.6.2. Low grade intraepitelyal neoplazi

Bethesda sistemi, eski terimleriyle hafif displazi-CIN 1, HPV etkileri ve koilositozu low grade intraepitelyal lezyon adı altında toplamaktadır.(55). Son dekada LSIL oranı 1996'da %1.3'den 2003'de %2.3'e artış göstermiştir.(65). Aynı artış diğer sitolojik kategorilerde gözlenmemiştir. LGSIL'deki artış sıvı bazlı sitolojik değerlendirmeye olan yaygın geçişe bağlanmaktadır. LSIL aynı zamanda HPV enfeksiyonu için yüksek prediktif değere sahiptir. Yapılan çalışmaları metaanalizinde LSIL için yüksek riskli HPV pozitifliği %76.6 olarak verilmiştir.(70). Ancak bu oran postmenapozal kadınlarda daha düşüktür. LSIL tanısı almış kadınların ilk kolposkopisinde CIN 2,3 oranı %12 ile %17 arasındadır.(66,67).



3.6.2.1. LSIL ve klinik yönetim

Yine ASCCP'nin 2006 da yayınlamış olduğu guideline LGSIL sonucu için aşağıdaki önerilerde bulunmuştur.

-Pap Smear sonucu LGSIL gelen hasta yapılacak ilk şey kolposkopedir.(A2).

-Kolposkopide lezyon izlenmediğinde(B2) ve yetersiz kolposkopi varlığında (A2) endoservikal örnekleme yapılmalıdır.Endoservikal örnekleme lezyon varlığında ve yeterli kolposkopi varlığında da kabul edilebilir bir yöntemdir.(C2).

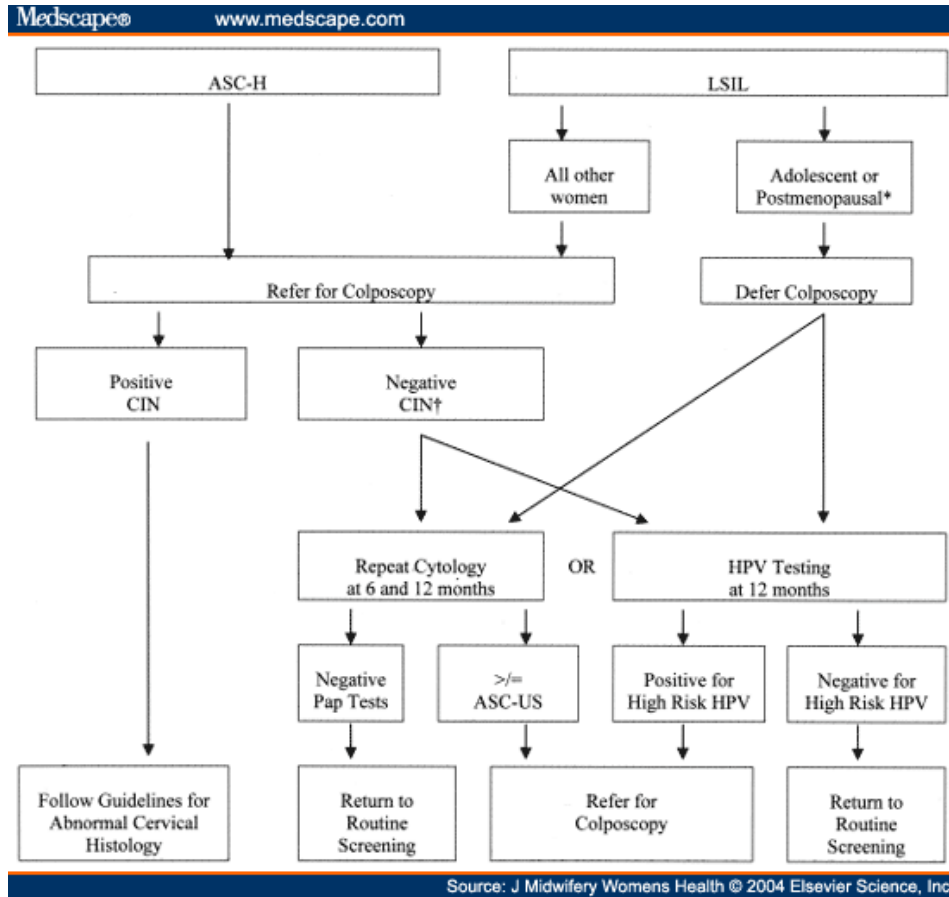
- Yeterli olarak değerlendirilen kolposkopide patolojik olarak biyopsi ile konfirme edilmiş CIN tesbit edilemediğinde 6-12 ay aralarla sitoloji takibi ve 12.ayda HPV-DNA testi yapılması uygundur(B2)

-Ardarda yapılan iki smear lezyon açısından negatif olması ve HPV-DNA negatif saptanması halinde rutin sitolojik taramaya dönülebilir.(A1).

-Takip smearlerinde ASCUS ve daha üstü bir patoloji geldiğinde ve 12.ayda yapılan HPV-DNA testi yüksek risk pozitif ise kolposkopi önerilen yaklaşımdır.(A1).

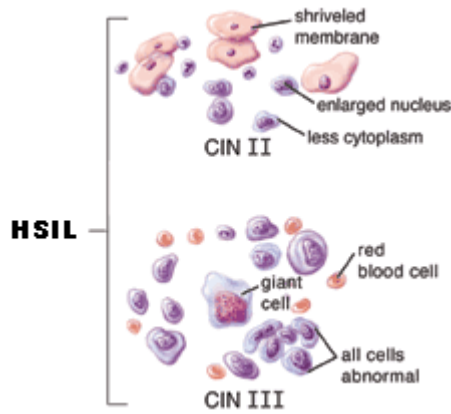
-12.ayda HPV-DNA testi ve yüksek risk pozitifliği varlığında yeniden kolposkopi yapılarak takip edilmeside uygun bir yönetimdir.

-Yetersiz kolposkopi varlığında ise gebe olmayan hastalar için en uygun modalite endoservikal örnekleme dir.(72)Yetersiz kolposkopi varlığı ve histopatolojik olarak CIN tesbit edilemediğinde 6-12 ay aralarla smear takibi yapılmalıdır.Patolojik smear varlığında veya yıllık bakılan HPV-DNA pozitifliğinde yine kolposkopi en uygun yaklaşımdır.(71).



3.6.3. High Grade İntraepitethelial neoplazi

Bethesda sınıflandırmasına göre CIN2 , CIN 3 ve karsinoma in situ HGSIL adı altında toplanır.

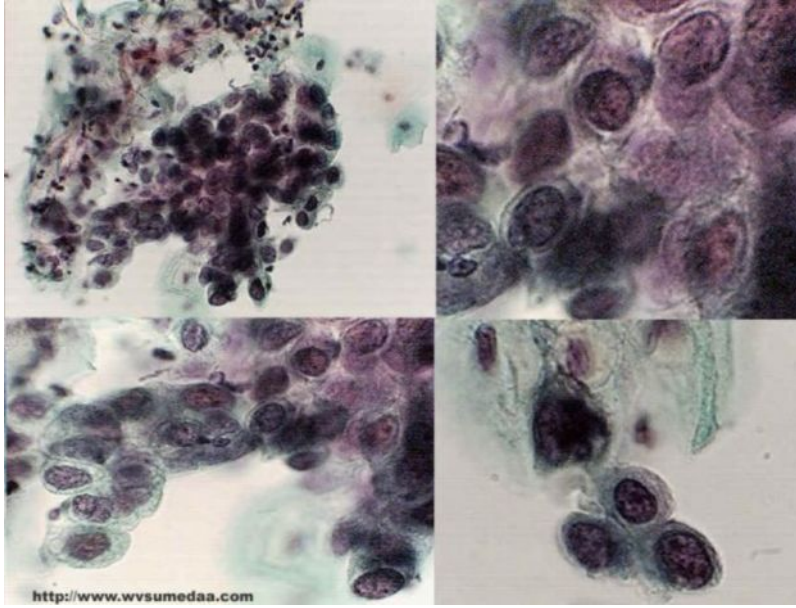


Yaşla değişmekle birlikte Amerika Birleşik Devletlerin’de HGSIL prevalansı %0.7 dir.(65).Smear sonucu olarak HGSIL, ciddi bir servikal patolojiye işaret eder.HGSIL varlığında kolposkopi ile %55-63 hastada biyopsi ile CIN2,3 veya kanser tespit edilirken Leep eksiyon ile bu oran %84-97 dir.(73,74)

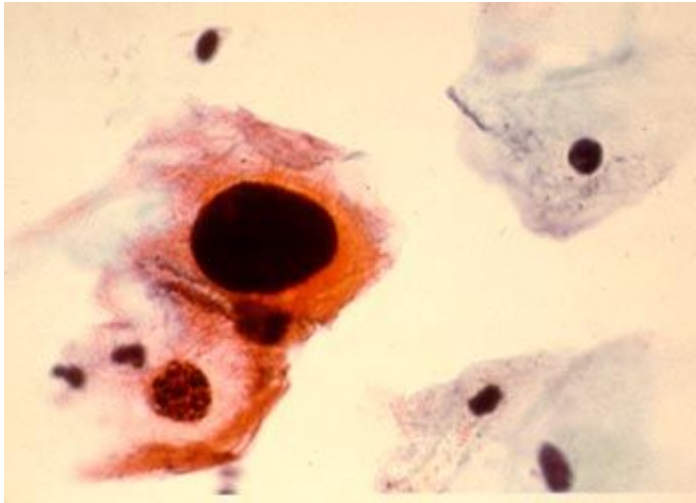
3.6.3.1. HGSIL ve klinik yönetim

HGSIL varlığında yüksek oranda CIN2,3 ve kanser riski,ve yüksek HPV DNA prevalansı akılda tutulmalıdır.Kolposkopide CIN2,3 tespit edilememesi gerçekte CIN2,3 veya okült bir karsinom olmadığı anlamına gelmez.Bu nedenle HGSIL olgularına diagnostik eksizyonel prosedürler uygulanması gerekecektir.Genel olarak önerilen HGSIL tanısı sonrası leep eksizyon sonrası takip ve tedavidir.Aynı zamanda özelliklerde gençlerde HGSIL ‘in spontan regrese olacağı unutulmamalıdır.Loop prosedürlerin ileriki gebelikte preterm doğum,düşük doğum ağırlıklı infant ve prematür

membran rüptürü risklerini arttıracığı unutulmamalı ve çocuk sahibi olmayı planlayan hastalarda tedavi buna göre yönlendirilmelidir.



-Sonuç olarak yine ASCCP 2006 guideline baz alınırsa bazı özel gruplar dışında HGSIL varlığında acil eksizyonel prosedürler veya endoservikal değerlendirmeyle beraber kolposkopi kabul edilebilir tedavi modaliteleridir.(B2).



-Histolojik olarak CIN 2,3 tanısı konulamadığında diagnostik eksizyonel prosedürler veya 6 ay ara ile kolposkopi ve sitoloji takibi kabul edilebilir tedavi modaliteleridir.(B3)

-Eğer sitoloji ve kolposkopi ile takip yapılacaksa yeniden HGSIL ile karşılaşıldığında diagnostik eksizyonel prosedürlerin uygulanması gereklidir.(C3)

-1 yıl sonunda 2 smear sonucu negatif olarak gelirse rutin taramaya geçilebilir.(7

-Gebe hastalar gibi özel populasyonlar dışında yetersiz kolposkopi varlığında diagnostik eksizyonel prosedürler önerilmektedir.(B2)

HGSIL varlığında yalnızca sitoloji veya HPV DNA tayini kabul edilemez modalitelerdir.(E2). (71).

3.7. KOLPOSKOPİK DEĞERLENDİRME

İlk defa 1925 yılında Hinselman tarafından ortaya çıkarılan kolposkop daha sonra teknolojik gelişmelere paralel olarak geliştirilmiştir.Kolposkopi serviks ve vaginanın epiteline bir takım sıvılar sürülüp stereoskopik binoküler mikroskop yoluyla büyütülüp incelenmesidir. Testin amacı transformasyon zonunun, morfolojik olarak farklı bölgelerin, varsa lezyonların, kan damarlarının, iyot tutulumu olan bölgelerin, asetik asit pozitif olan alanların incelenmesidir. Kadın hayatında kolumnar epitelin ektoservikste fizyolojik olarak bulunduğu üç dönemi; fetal hayat, ergenlik dönemi ve ilk gebeliktir (75).Kolposkoplar görüntüyü 6 ila 40 kat arasında büyütürler, ancak genelde 10 büyük büyütmede çalışılır.. Serum fizyolojik ile servikal epitelyum temizlendikten sonra %3 lük asetik asit uygulanır ve serviks lezyonlar ve vasküler paternler açısından incelenir.Ardından lugol sürülerek anormal epitel vizualize edilmeye çalışılır.Şüpheli alanlardan biyopsi alınır.



3.7.1. Şüpheli kolposkopik bulgular

- Asetobeyaz epitel
- Lökoplaki
- Punktuasyon
- Mozaik patern
- Atipik damarlanma

Kolposkopi uygulandığında önce yapılmamışsa sitolojik örnekleme yapılır daha sonra serviks serum fizyolojik ile ve akabinde %3 asetik asit ile mukus ve hücrel artıkları temizlemek için silinir. Kolposkop squamokolumnar junction’ıda (bileşke) değerlendirecek şekilde serviks ve transformasyon zonuna odaklanır ve bu bölge saat yönü takip edilerek incelenir. Hamile olamayan her hastada endoservikal değerlendirme işlemi yapılmalıdır.(76)

3.8. HPV DNA TESTLERİ

Polimeraz chain reaction (PCR) ve hybrid capture II (HCII) günümüzde HPV DNA araştırmasında geçerli iki yöntemdir. Her iki yöntemin kendine göre avantaj ve dezavantajları mevcuttur.(77). PCR ve HC2 yöntemlerinin kullanıldığı klinik olarak kanser olan vakaların incelendiği bir çalışmada (ALTS) sensitivite ve spesifiteleri PCR için %87,4 ve %55,6 HC II yöntemi için %92,5 ile %51,1’dir (79).

PCR biyolojik örneklerde bulunan HPV parçacıklarının arttırılmasını sağlayarak ölçülebilir düzeylere getirilen belirli hedefli bir amplifikasyon yöntemidir. Alınan örneğin alındığı dokunun tipine, DNA ekstaksiyonu? işlemlerine, primer setlerin ve PCR ürününün büyüklüğüne, reaksiyon koşulları ve reaksiyonda kullanılan DNA polimerazın performansına göre PCR bazlı yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü değişebilmektedir. Çoğu laboratuarda korunmuş L1 genine karşı primerlerin kullanımı yeğlenmektedir. Literatürde PCR’ın yüksek grade’li CIN olgularının medyan %82’sinde (%75-95), HPV DNA’sını doğru olarak belirleyebildiği bildirilmiştir.(9). PCR yöntemi fosfatla tampon edilmiş serumlarda saklanan smearler, sitolojik koruma ortamındaki materyallere hatta arşive kaldırılmış smear’lere bile uygulanabilmektedir(78).

HCII ise yarı otomatik,daha basit ve çabuk sonuç veren yaygın kullanılan bir testtir.Bu test sinyal amplifikasyon ilkesine dayanmaktadır.HC II uzun tek sarmallı RNA proboları kullanarak örnek içerisindeki moleküllerin hem yakalanmasına hem ayırt edilmesine olanak sağlar.HPV DNA'sının denatürasyonunu takiben DNA ve RNA 'lar hibridler oluşturarak bu hibridler için oluşturulmuş antikorlarla mikrotabakalar üzerinde yakalanırlar.Daha sonra alkali fosfatazla işaretlenmiş anti-RNA-DNA monoklonal antikorlarının yakalanmış hibridlerle reaksiyona girmesi sağlanır.Hibridlenmemiş nükleik asitler yıkama ile ortamdan uzaklaştırılır.Geride kalan alkali fosfatazın kemilumisent bir substrat ile inkubasyonu sırasında luminometre ile ölçülebilen bir ışık oluşturulur.Değerler bilgisayara aktarılarak analizedilir.(9)

Testte örnekleme için tercih edilen iki yöntem mevcuttur. Bir yöntemde standart sitolojik smear gibi konik naylon fırçanın servikal osun etrafında 3 defa döndürülmesi ve transport ortamına aktarılmasıdır. Bir diğer örneklemede sitolojik örnek sıvı ortamlarda nakil edilir. HC2 testi CIN olgularını saptamada en duyarlı testtir (ortalama %94) (80,81).

Diğer HPV tipleriyle (düşük riskli HPV ve diğerleri..) yanlış pozitif sonuç verebilir. Ortalama %10 kadar hastada görülen bu durum klinik özgüllükte anlamlı bir düşüş yaratmaz. Düşük riskli HPV tipleriyle yanlış pozitif sonuç verebilmesi testin olumsuz yönüdür. Bu durum düşük riskli HPV'nin sık görüldüğü toplumlarda önemli bir problemdir. Test virüsün L1 proteinine karşı antikor oluşumuna dayandığı için bu proteinde delesyon veya mutasyon olması sonuçları değiştirecektir.

Son yıllarda yine üzerinde çok durulan PCR ile düşük yoğunluklu mikroarray teknolojisini birleştiren HPV DNA saptama teknolojisi ile ilgili bir çok çalışmalar mevcuttur.Burada HPV DNA'nin PCR ile amplifikasyonunu takiben, amplifiye edilmiş ürünler düşük-yoğunluk mikroarray temeline dayalı olan yeni bir teknoloji kullanılarak saptanır. Basit çift sarmallı bir DNA dan amplifikasyon ile 30 bölünme sonrası bir milyon kopya oluşturulabilir. PCR da farklı primer genler amplifikasyon için kullanılabilir. En sık kullanılan L1 genidir ve bütün mukozal HPV tipleri tespit edilebilir.Gp5/6, değiştirilen gp5+/6+, my09/11 ve spf gibi primerler kullanılabilir. Kullanılan primer ajana göre testin duyarlılığı değişir.

Bizim çalışmamızda kullanılan bu teknoloji çoklu moleküler markerların eş zamanlı olarak tesbit edilmesine olanak sağlar .Burada HPV'nin 35 tipinin L1 genomik fragment varyantları mevcuttur.Hibridizasyonun algılanması problemlerle yakalanmış amplifiye ürünlerin bulunduğu merkezlerde mikroarray de çözünmez ürünün üretimi temeline dayanmaktadır. PCR prosedürü boyunca amplifiye edilen ürünler biotin ile işaretlenir. Bu etiketlenmiş ürünler mikroarrayde hibridizasyon boyunca spesifik problemlere bağlanır ve immobilize edilir. Bunlar daha sonra streptavidin ve biotin etiket arasındaki reaksiyon yoluyla amplifiye olmuş ürüne bağlanan streptavidin-peroksidaz eşleniği ile inkübe edilir. Daha sonra, 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidin (TMB) varlığında, eşleniğin peroksidaz aktivitesi mikroarrayin hibridizasyon bölgesinde çöken çözünmez ürünün görünmesini indükler.

22 HPV DNA tipini içeren bir çipin kullandığı bir çalışmada bu tekniğin sensitivitesi %96 ,negatif prediktif değeri %9.9 olarak verilmiştir.(82).Başka bir çalışmada tekniğin sensitivitesi %93.7 olarak verilmiş ve Hybrid capture ile sonuçların eşit olduğu gösterilmiştir.(84)

Yine 402 smear üzerinde yapılmış bir microarray çalışmasında smear,HPV DNA ve servikal biyopsi korele edilmiş ve Hybrid capture ile karşılaştırılmış.Sonuç olarak hybrid capture ve Microarray tekniği tüm kategorilerde aşağı yukarı aynı sonuçları vermiş.Hybrid capture sonuçları düşük risk ve yüksek risk olarak vermekte ve özellikle 2 veya daha fazla yüksek riskli HPV DNA pozitifliğini atlamaktadır.(83).

Bu konuda yapılmış en geniş çalışmada 7520 hasta çalışmaya dahil edilmiş.Bu çalışmada test HPV saptamada 'hybrid capture' sistemiyle aşağıyukarı eşit bulunmuş ve oldukça güvenilir multipl lezyonları saptamada başarılı bir test olarak kabul edilmiştir.Anormal sitoloji grubunda en sık rastlanan HPV tipleri 16,18,52,58,33,31 olarak verilmiştir.(85).

3.9. Klinik Kullanım

Günümüzde HPV DNA testleri için kabul edilen endikasyonlar:

- Sitolojide ASCUS’lu olguların yönetimi
- Anormal sitoloji sonrası kolposkopi yapılan olguların takibi
- CIN 2-3 tedavisi sonrası takip
- 30 yaş üzeri kadınlarda sitoloji ile birlikte tarama testi olarak sıralanabilir.

HPV DNA testi günümüzde tedavi sonrası takip ,tam olmayan tedavilerin daha çabuk belirlenmesi ve takip süresinin kısaltılmasına yöneliktir.Primer taramada ise ,sitolojiyle beraber sensitivitenin arttırılması ,yetersiz sonuçların azaltılması ve tarama aralıklarının uzatılması için kullanılabilir.Tek başına ise triajda sitoloji yerine kullanılabilme olasılığı üzerinde durulmaktadır.Ancak bugün için HPV DNA testlerinin invazif serviks kanserinin morbidite ve mortalitesini azalttığına dair bir kanıt yoktur.(86,87).ACOG 2005’de yayınlamış olduğu bültende HPV DNA test ve PAP smear eş zamanlı yapıldığında ve her ikisi negatif çıktığında ,kadına CIN2,3 yada serviks kanseri riskinin 1000’de 1 olduğu söylenebileceği ve bunun kanıt düzeyinin A olduğu ifade edilmiştir.

-

4. MATERYAL METOD

Çalışmaya Aralık 2006 ile Aralık 2007 tarihleri arasında polikliniğimize başvuran hastalardan yapılan servikal sitolojide sonuçları “ASCUS,LGSIL,HGSIL” olan 76 hasta alınmıştır.Çalışmaya alınmada herhangi bir yaş sınırlaması getirilmemiştir.Gebe olmayan ve histerektomi uygulanmamış hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.Pap smear sonuçları ASCUS ,LGSIL,HGSIL olan 76 hastanın tümüne kolposkopi yapılmış ve eş zamanlı olarak HPV DNA testi için servikal swab ile örnek alınmıştır.Hastalardan alınan tüm örnekler için PCR ve Microarray teknikleri ayrı ayrı kullanılarak her iki yöntemle ayrı ayrı HPV testi yapılmıştır.Kolposkopi esnasında anormal kolposkopik bulgu saptanan tüm hastalardan punch biyopsi alınmıştır.Kolposkopide anormal bulgu saptanmayan ASCUS ve LGSIL hastalarına biyopsi yapılmamıştır.Kolposkopide bulgu saptanmayan 2 HGSIL hastasından ise leep ile biyopsi alınmıştır. Biyopsi sonucu CIN 2 ve üstü gelen hastalara leep konizasyon yapılarak tıbbi endikasyona göre takip ve tedavi planlamasına girilmiştir.Yine tüm hastalardan yapılan takip ve tedaviden bağımsız olarak 4-6 ay sonra kontrol smear alınmıştır.

Tüm hastalar öncelikle ASCUS,LGSIL ve HGSIL üç ayrı grup halinde ayrılarak hastaların tümünde kolposkopik inceleme ,HPV DNA tayini ve HPV tiplmesi yapıldı.Bu şekilde smear HPV ilişkisi ve smear ile herhangi bir HPV tipinin sıklığı araştırıldı ve istatiksel analizi yapıldı..Kolposkopi normal –anormal olarak değerlendirildi.Kolposkopi sonuçları HPV DNA tayini ve biyopsi bulgularıyla karşılaştırılarak istatiksel analizi yapıldı.Biyopsi sonuçları pozitif-negatif olarak sınıflandırıldı.Pozitif biyopsi CIN II-CIN III ve Ca olgularını içermekteydi.Biyopsi sonuçları da HPV DNA tayini ve tipleriyle karşılaştırılarak istatistiki analizi yapıldı.Ayrıca HPV DNA saptanmasında PCR (polimeraz chain reaction) ve Microarray tekniği birbiriyle karşılaştırıldı ve istatiksel analizi yapıldı. Tüm hastaların 4-6 ay sonra alınan kontrol smearleri hastalar gruplara ayrılarak değerlendirilmiştir. Biyopsi alınan hastaların kontrol smear leri değerlendirilerek biospsi (+) ve (-) olgularda kontrol smealde patoloji varlığı ile HPV DNA tayini ve tiplmesi karşılaştırılmıştır.Biyopsi alınmayan yani kolposkopisi normal olan olgularda da kontrol

smear sonucuyla HPV DNA tayini ve tipi karşılaştırılmıştır. Burada da ASCUS ve LGSIL olgularında smear persistansı ile HPV pozitifliği arasındaki ilişki varlığı sorgulanmıştır.

Çalışmanın amacı HPV tip dağılımı ile servikal patolojilerin ilişkisini ortaya koymak ve HPV DNA pozitifliği ile kolposkopi ve biyopsi sonuçlarını karşılaştırarak HPV DNA ve tip tayininin klinik önemini irdelemektir.

4.1. Sitolojik Tanı

ITF Kadın hastalıkları ve doğum anabilim dalı Jinekoloji polikliniğine gelen hastaların rutin muayenelerinde spekulum ile serviks görüntülenerek smear fırçası yardımıyla PAP smear alındı (bkz resim 1). Lam örnekleri %90 lık alkolle fikse edilerek değerlendirilmek üzere ITF Patoloji ana bilim dalına gönderildi.

4.2. HPV testi

HPV test ITF Mikrobiyoloji anabilim dalında gerçekleştirildi. HPV test anormal sitolojik bulgu saptanan hastalara kolposkopi ile birlikte uygulandı. Servikal swab yardımıyla servikal kanaldan alınan numuneler 35 HPV tipini tanımlayabilen (6,11,16,18,26,31,33,35,39,40,42,43,44,45,51,52,53,54,56,58,59,61,62,66,70,71,72,73,81,82,83,84,85,89) Clinical arrays HPV test (Microarray-GENOMİCA) ile PCR (polimeraz chain reaction) ile ayrı ayrı değerlendirildi. HPV testi aşağıda anlatıldığı gibi yapılmıştır.

Örnekler swab yardımıyla alındıktan sonra Swab içeren tüpe 1.5 mL tuz çözeltisi ilave edilir (0.9% NaCl) ve vortexle 1 dakika çalkalanır. Süpernatant, 1.5 mL'lik steril tüp içerisine dekante edilir. Numuneler 10 dakika 12 rpm'de santrifüjlenir ve bütün sıvı mikropipet yardımıyla uzaklaştırılır. Çökeleğin taşınmaması için dikkatli olunmalıdır.

Çökelek 180 µl T1 çözeltisinde tekrar çözülür. Yıkam sonrasında sonuçlar okunur. Amplifiye edilmiş ürünler düşük-yoğunluk mikroarray temeline dayalı olan yeni bir teknoloji kullanılarak saptanır. AT (Array tube) platform ependorf tüpün alt kısmında düşük-yoğunluk mikroarray sisteminin kullanılmasına olanak sağlayan basit bir prensibe dayanır (Fig. 1). Klasik mikroarray sistemleri ile karşılaştırıldığında bu sistem,

hibridizasyon ve görüntüleme sürecini oldukça basitleştirmektedir. Bu teknoloji çoklu moleküler markerların eş zamanlı olarak tesbit edilmesine olanak sağlar (Brada HPV'nin 35 tipinin L1 genomik fragment varyantları mevcuttur)

Hibridizasyonun algılanması problemlerle yakalanmış amplifiye ürünlerin bulunduğu merkezlerde mikroarray de çözünmez ürünün üretimi temeline dayanmaktadır. PCR prosedürü boyunca amplifiye edilen ürünler biotin ile işaretlenir. Bu etiketlenmiş ürünler mikroarrayde hibridizasyon boyunca spesifik problemlere bağlanır ve immobilize edilir. Bunlar daha sonra streptavidin ve biotin etiket arasındaki reaksiyon yoluyla amplifiye olmuş ürüne bağlanan streptavidin-peroksidaz eşleşmesi ile inkübe edilir. Daha sonra, 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidin (TMB) varlığında, eşleşmenin peroksidaz aktivitesi mikroarrayin hibridizasyon bölgesinde çöken çözünmez ürünün görünmesini indükler

4.3. Kolposkopik muayene ve punch biyopsi

Smear patolojisi olan tüm hastalara kolposkopi yapıldı ve eş zamanlı olarak HPV DNA test için örnekleme alındı. Anormal kolposkopik bulgu (AWE, mozaik patern vs.) varlığında kolposkopi altında biyopsi alındı. Kolposkopisi normal olan HGSIL hastalarından ise leep biyopsi alındı

4.4. Kontrol smear

Takip veya tedaviden bağımsız 76 hastanın tümünden 4-6 ay sonra kontrol smear alınarak değerlendirilmek üzere ITF Patoloji anabilim dalına gönderildi.

4.5. Bilgi Analizi

Tüm istatistiksel analizler çalışmaya katılmayan bağımsız bir grup tarafından yapıldı. Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı.

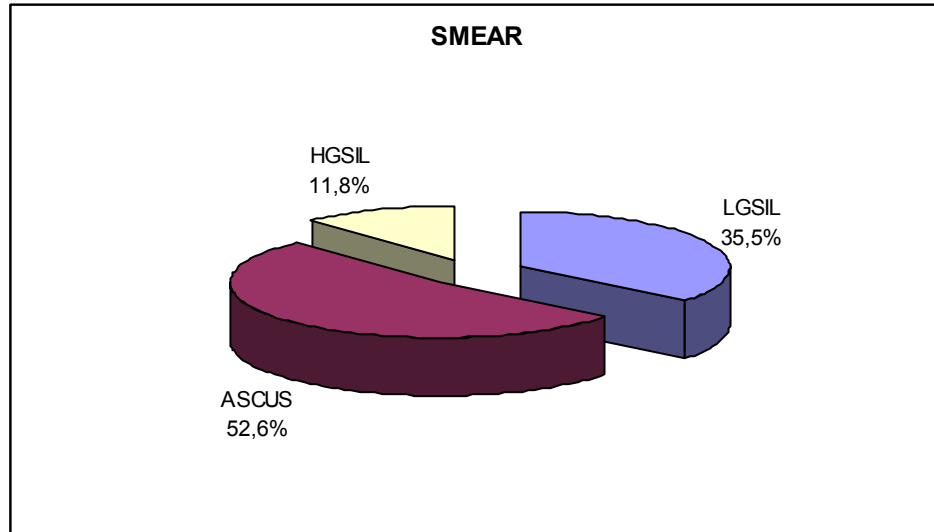
Sitolojik sonuçlar ASCUS ve LGSIL ve HGSIL olarak üç gruba ayrıldı. HPV test pozitif ve negatif olarak ikiye ayrıldı. Ve ayrıca göre tiplere göre dağılımı her parametre

için değerlendirildi. Kolposkopi anormal ve normal olarak ikiye ayrıldı. Kolposkopik biopsi sonuçları ise negatif ve pozitif (CIN2/3, iki hastada karsinom)olarak iki guruba ayrıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (frekans) yanısıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi ve Fisher's Exact Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

5. BULGULAR

Tablo 1: Smear, Kontrol Smear, Punch Biyopsi, Kolposkopi ve Sonuç Dağılımı

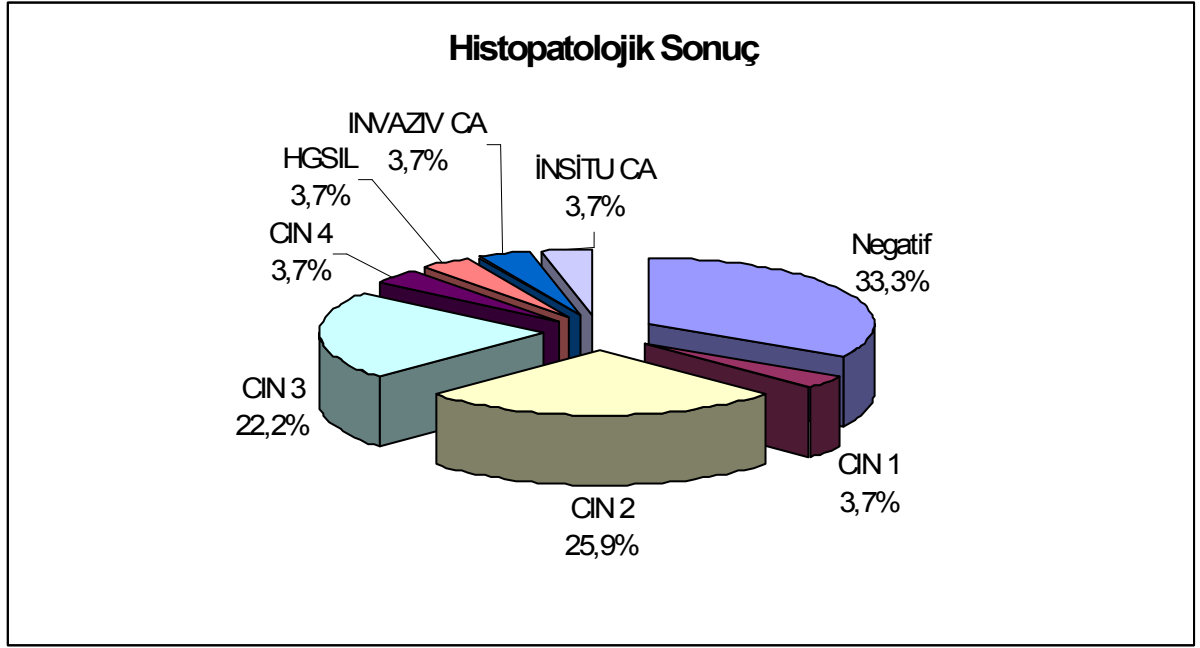
		N	%
SMEAR	ASCUS	40	52,6
	LGSİL	27	35,5
	HGSİL	9	11,8
KOLPOSKOPİ	Anormal kolposkopi	26	34,2
	Normal	50	65,8
BİYOPSİ	VAR	27	35,5
	Yok	49	64,5
PATOLOJİK	Var	19	70,3
BİYOPSİ (cm2-3,ca)	Yok	8	29,6



Şekil 1: Smear Dağılımı

Olguların %73'ünde kontrol Smear sonucu normalken, % 9.5'inde LGSİL, %12.7'sinde ASCUS ve %4.8'inde HGSİL'dir.

Olguların %35.5'ine biyopsi yapılmıştır.



Şekil 4: Biyopsi sonuçlarının dağılımı

Olguların %35.5'inde Smear sonucu LGSIL olurken, %52.6'sında ASCUS ve %11.8'inde HGSIL'dır. Tüm hastalara kolposkopi ve eş zamanlı HPV DNA testi yapılmıştır. 76 hastanın 26 (%35.5) tanesinde anormal kolposkopik bulgu saptanmıştır. Anormal kolposkopik bulgu saptanan 26 hastaya punch biyopsi ve kolposkopisi normal olan iki adet smear sonucu HGSIL olan hastaya kolposkopi eşliğinde leep biyopsi yapılmıştır.

Anormal kolposkopik bulgu 40 ASCUS hastasının 8 (%20) tanesinde izlenirken, 27 LGSIL hastasının 11 (%40.7) 'inde ve 9 HGSIL vakasının 7'sinde (%77.8) saptanmıştır. Anormal kolposkopik bulgu saptanan 26 hastanın 13'ünde (%50) HPV

DNA pozitif iken %50'sinde HPV DNA negatiftir. Alınan 27 biyopsinin 19'unda (%66) biyopside CINII ve üzeri biyopsi ile kanıtlanmış patoloji mevcuttur.

Bu hastaların gruplara göre dağılımı şu şekildedir:

40 ASCUS vakasının anormal kolposkopik bulgu saptanan 8' inin yalnızca 3 (%8.3) tanesinde biyopsi ile kanıtlanmış patoloji mevcuttur. Bu 3 hastanın ikisinin punch biyopsi sonucu CINII bir tanesinde CIN III olarak gelmiştir. 3 hastanında her iki yöntemle bakılan HPV DNA 'sı negatiftir.

27 LGSIL anormal kolposkopik bulgu saptanan 11 olgusunun 8(%29.6) sında biyopsi ile kanıtlanmış patoloji mevcuttur. Bunların 6 tanesi CIN II'dir. CIN II vakalarının üçü HPV negative 3'ü HPV pozitifdir. Dağılım tip6, tip 16 ve tip 31 şeklindedir. Diğer iki CIN III vakasının biri HPV tip 16 diğeri Tip 31 pozitifdir.

Biyopsi alınan 9 HGSIL hastasının 8 (%88,8)'sinde biyopsi ile patoloji saptanmıştır. 1 vakada biyopsi negatiftir. Olgulardan biri in situ diğeri invaziv ca olarak gelmiştir. İn situ ca tip 16 pozitif iken, in vaziv ca saptanan vakanın HPV DNA sı her iki yöntemle de negatif olarak saptanmıştır. Diğer 6 vaka CIN III olarak gelmiştir. 3'ü tip 16 pozitif, 1 tanesi tip 6 pozitif, diğeri de tip 61 ve 84 pozitif olarak gelmiştir.

	Anormal kolposkoik bulgu	Biyopsi (var/yok)	CIN 2	CIN 3	In ca/invaziv ca	situ negatif
ASCUS n:40	8(%20)	8(%20)	2(% 0.5)	1(%0.25)	0 (%0)	5 (%62)
LGSIL n:27	11(%40.7)	11(%40.7)	6(%20)	2 (%0.7)	0(%0)	3(%27)
HGSIL n:9	7 (% 77.8)	9 (%100)	0(%0)	(%66)	2(%22)	1(%11)

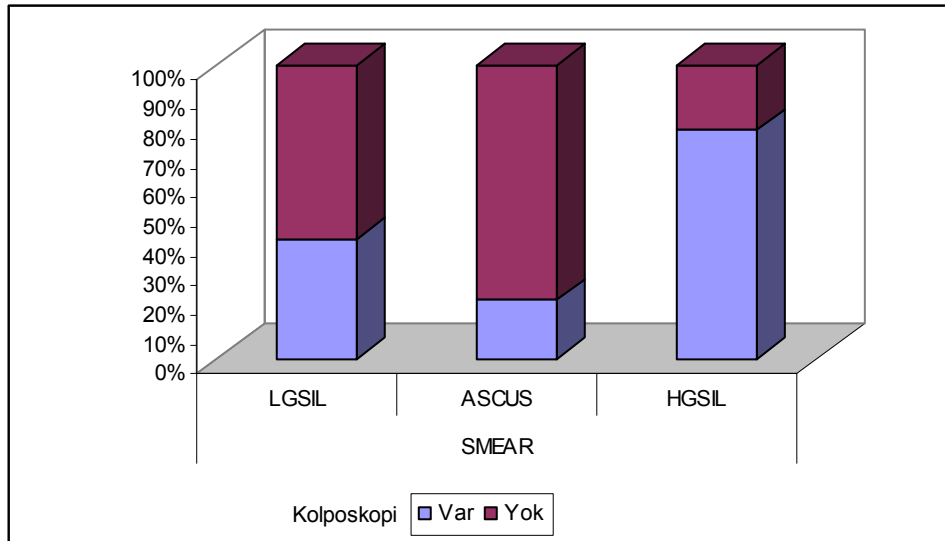
Biyopsi sonucu pozitif olarak gelen 19 hastanın biyopsi sonuçları ve HPV dağılımlarını değerlendirecek

	smear	kolposkopi	HPV	Biyopsi:
1	ASCUS	Mozaik patern	negatif	CIN 2
2	ASCUS	AWE	negatif	CIN 3
3	ASCUS	Mozaik patern	negatif	CIN 2
4	LGSIL	Mozaik patern	negatif	CIN 2
5	LGSIL	Mozaik patern	negatif	CIN2
6	LGSIL	AWE	Tip 6	CIN 2
7	LGSIL	AWE	Tip 31	CIN 2
8	LGSIL	AWE	negatif	CIN 2
9	LGSIL	Mozaik patern	Tip 51	CIN3
10	LGSIL	Mozaik patern	Tip 16	CIN 3
11	LGSIL	AWE	Tip 16	CIN2
12	HGSIL	Mozaik patern	Tip 16	CIN 3
13	HGSIL	Mozaik patern,AWE	Tip 16,18	Cin3
14	HGSIL	AWE	negatif	CIN 3
15	HGSIL	Mozaik patern	Tip 61-84	CIN 3
16	HGSIL	AWE	Tip 6	CIN 3
17	HGSIL	lezyon	negatif	Invaziv ca
18	HGSIL	Mozaik patern	Tip 16	CIN 3
19	HGSIL	NORMAL	TİP 16	İN SİTU CA

Tablo 3: Smear İle Kolposkopi İlişkisi

		SMEAR			P
		LGSIL(n=27)	ASCUS(n=40)	HGSIL(n=9)	
		n (%)	n (%)	n (%)	
Kolposkopi	Patolojik bulgu	11 (%40,7)	8 (%20,0)	7 (%77,8)	0,003**
	Yok	16 (%59,3)	32 (%80,0)	2 (%22,2)	
<i>Ki-Kare Test</i>		** p<0.01			

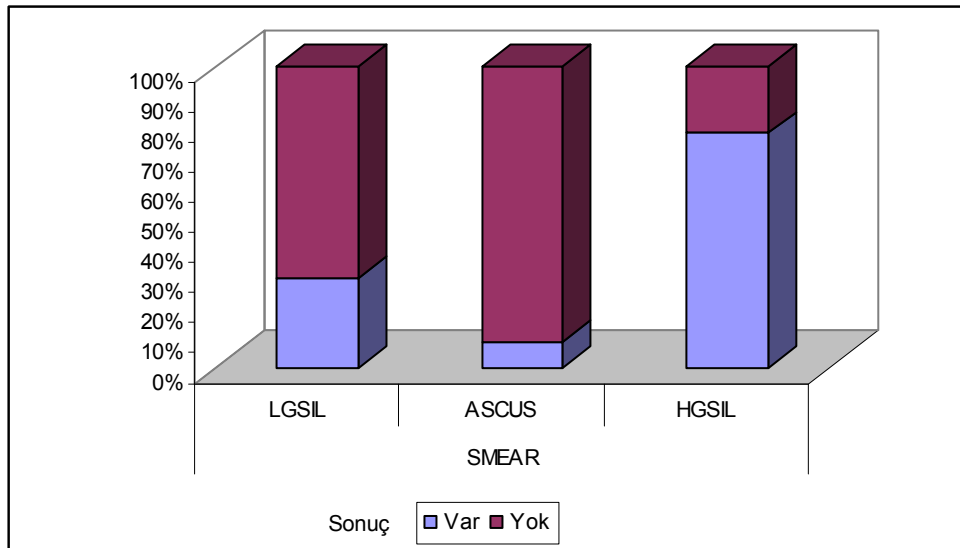
SMEAR sonucu ile kolposkopide patoloji varlığı arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p<0.01$). Smear sonucu HGSIL olan olgularda anormal kolposkopi görülme oranı (%77.8), smear sonucu LGSIL (%40.7) ve ASCUS (%20) olan olgularda anormal kolposkopi görülme oranlarından anlamlı düzeyde yüksektir.

**Şekil 7: Smear'e Göre Anormal Kolposkopi Dağılımı**

Tablo 5: Sonuç İle Smear İlişkisi

		SMEAR			P
		LGSIL(n=27)	ASCUS(n=40)	HGSIL(n=9)	
		n (%)	n (%)	n (%)	
Sonuç	Var(patoloji)	8 (%29,6)	3 (%8,3)	8 (%88,8)	0,001**
	Yok	19 (%70,4)	33 (%91,7)	1 (%11,1)	
Ki-Kare Test		** $p < 0.01$			

SMEAR sonucu ile biyopsi sonucu arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p < 0.01$). Smear sonucu HGSIL olan olgularda sonuç oranı (%88.8), smear sonucu LGSIL (%29.6) ve ASCUS (%8.3) olan olgularda sonuç oranlarından anlamlı düzeyde yüksektir.

**Şekil 10: Smear'e Göre Sonuç Dağılımı**

Tablo 6: Kolposkopi ve HPV İlişkisi

		Kolposkopi		<i>p</i>
		Var	Yok	
		n (%)	n (%)	
HPV	Pozitif	13 (%50,0)	21 (%42,0)	0,506
	Negatif	13 (%50,0)	29 (%58,0)	
<i>Ki-Kare Test</i>		** $p < 0.01$		

Kolposkopi sonucu ile HPV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Tablo 7: Punch Biyopsi ile HPV İlişkisi

		Punch Biyopsi		<i>p</i>
		PAatoloji var	Yok	
		n (%)	n (%)	
HPV	Pozitif	12 (%63,9)	2 (%22,2)	0,354
	Negatif	7 (%36,1)	9 (%77,8)	
<i>Ki-Kare Test</i>				

Punch Biyopsisinde patoloji saptanması ile HPV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0.05$).

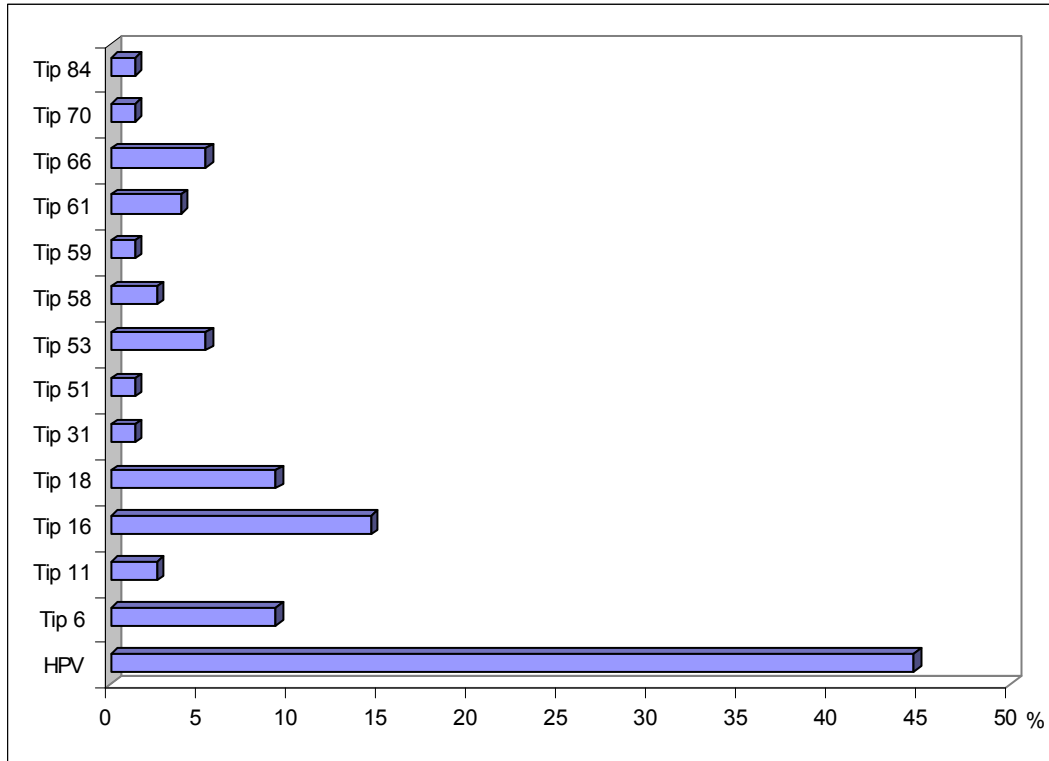
-Olgularımızın hepsine kolposkopiyle eş zamanlı olarak HPV DNA testi yaptık. Microarray teknolojisiyle 35 farklı tipi tanımladık. Sonuçlarımız ve smear sonucuna göre dağılımı aşağıdaki gibiydi.

Tablo 2: HPV Pozitifliği ve HPV Tiplerinin Dağılımı

	N	%
HPV	34	44,7
Tip 6	7	9,2
Tip 11	2	2,6
Tip 16	11	14,5
Tip 18	7	9,2
Tip 31	1	1,3
Tip 51	1	1,3
Tip 53	4	5,3
Tip 58	2	2,6
Tip 59	1	1,3
Tip 61	3	3,9
Tip 66	4	5,3
Tip 70	1	1,3
Tip 84	1	1,3

Olguların %44.7'sinde HPV pozitifdir.

Olguların %9.2'sinde Tip 6, %2.6'sında Tip 11, %14.5'inde Tip 16, %9.2'sinde Tip 18, %1.3'ünde Tip 31, %1.3'ünde Tip 51, %5.3'ünde Tip 53, %2.6'sında Tip 58, %1.3'ünde Tip 59, %3.9'unda Tip 61, %5.3'ünde Tip 66, %1.3'ünde Tip 70 ve %1.3'ünde Tip 84 görülmüştür.



Şekil 6: HPV ve Tiplerinin Dağılımı

Tablo 4: Smear İle HPV ve HPV Tiplerinin İlişkisi

	SMEAR			p
	LGSIL(n=27)	ASCUS(n=40)	HGSIL(n=9)	
	n (%)	n (%)	n (%)	
HPV	14 (%51,9)	14 (%35,0)	7 (%77,7)	0,147
Tip 6	3 (%11,1)	3 (%7,5)	1 (%11,1)	0,863
Tip 11	0 (%0)	2 (%5,0)	0 (%0)	0,397
Tip 16	3 (%11,1)	4 (%10,0)	4 (%44,4)	0,024*
Tip 18	1 (%3,7)	5 (%12,5)	1 (%11,1)	0,464
Tip 31	1 (%3,7)	0 (%0)	0 (%0)	0,399
Tip 51	1 (%3,7)	0 (%0)	0 (%0)	0,399

Tip 53	2 (%7,4)	2 (%5,0)	0 (%0)	0,686
Tip 58	1 (%3,7)	1 (%2,5)	0 (%0)	0,832
Tip 59	1 (%3,7)	0 (%0)	0 (%0)	0,399
Tip 61	0 (%0)	2 (%5,0)	1 (%11,1)	0,295
Tip 66	2 (%7,4)	2 (%5,0)	0 (%0)	0,686
Tip 70	0 (%0)	1 (%2,5)	0 (%0)	0,634
Tip 84	0 (%0)	0 (%0)	1 (%11,1)	0,023*

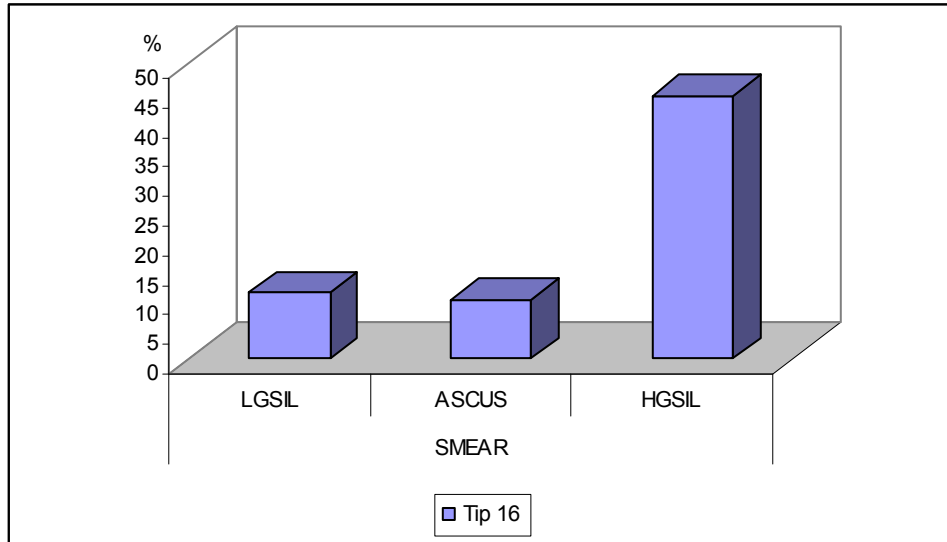
Ki-Kare Test

** p<0.05*

SMEAR sonucuna göre HPV pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

SMEAR sonucuna göre Tip 6,11,18,31,51,53,58,59,61,70,84 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

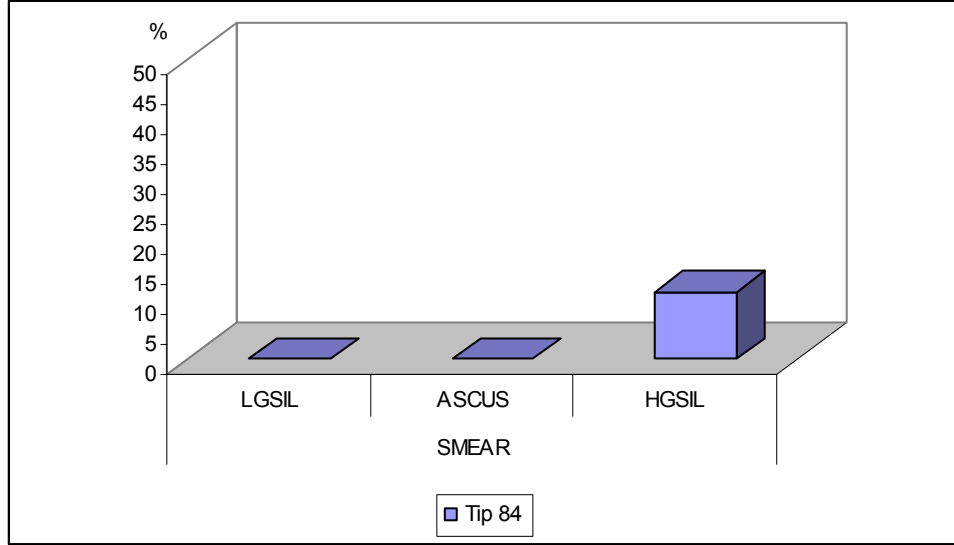
SMEAR sonucu ile Tip 16 varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p<0.05$). Smear sonucu HGSIL olan olgularda Tip 16 görülme oranı (%44.4), smear sonucu LGSIL (%11.1) ve ASCUS (%10) olan olgularda Tip 16 görülme oranlarından anlamlı düzeyde yüksektir.



Şekil 8: Smear'e Göre Tip 16 Dağılımı

SMEAR sonucu ile Tip 84 varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p<0.05$). Smear sonucu HGSIL olan olgularda Tip 84 görülme oranı

(%11.1), smear sonucu LGSİL (%0) ve ASCUS (%0) olan olgularda Tip 84 görülme oranlarından anlamlı düzeyde yüksektir.



Şekil 9: Smear'e Göre Tip 84 Dağılımı

-HPV tiplerini biyopsi sonucuna göre sınıflandırdığımızda is aşağıdaki tabloyu elde ederiz.

Tablo 9: Biyopsi sonucu İle HPV ve HPV Tiplerinin İlişkisi

	SONUÇ		P
	(patoloji)Var	Yok	
	n (%)	n (%)	
⁺⁺HPV	10 (%55,6)	22 (%40,7)	0,273
⁺Tip 6	2 (%11,1)	4 (%7,4)	0,636
⁺Tip 11	0	1 (%1,9)	1,000
⁺⁺Tip 16	5 (%27,8)	6 (%11,1)	0,089
⁺Tip 18	1 (%5,6)	5 (%9,3)	1,000
⁺Tip 31	1 (%5,6)	0	0,250
⁺⁺Tip 51	1 (%5,6)	0	0,081
⁺Tip 53	0	3 (%5,6)	0,568
⁺Tip 58	0	2 (%3,7)	1,000

⁺ Tip 59	0	1 (%1,9)	1,000
⁺ Tip 61	1 (%5,6)	1 (%1,9)	0,440
⁺ Tip 66	0	4 (%7,4)	0,566
⁺ Tip 70	0	1 (%1,9)	1,000
⁺ Tip 84	1 (%5,6)	0	0,250
⁺ <i>Fisher's Exact Test</i>		⁺⁺ <i>Ki-kare Test</i>	

Sonuca göre HPV pozitifliği görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 6 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 11 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuç ile Tip 16 varlığı arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0.05$). Anlamlı bir ilişki bulunmamakla birlikte; sonuç görülen olgularda Tip 16 görülme oranının (%27.8), sonuç görülmeyenlerde Tip 16 görülme oranından (%11.1) daha yüksek oluşu dikkat çekicidir.

Sonuca göre Tip 18 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 31 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuç ile Tip 51 varlığı arasında anlamlılığa yakın olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0.05$). Anlamlı bir ilişki bulunmamakla birlikte; patolojik biyopsi sonucu görülen olgularda Tip 51 görülme oranının (%5.6), sonuç görülmeyenlerde Tip 51 görülme oranından (%0) daha yüksek oluşu dikkat çekicidir.

Sonuca göre Tip 53 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 58 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 59 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 61 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 66 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 70 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Sonuca göre Tip 84 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.005$).

-Sonuç olarak biyopsiyle kanıtlanmış 19 hastanın 2(ca vakaları histerektomiye gitti) tanesi dışında kalan 16 tanesine konizasyon uygulandı. Aşağıda yine bu hastaların tedavi sonrası Kontrol smearleri ve bunların HPV ile ilişkisini görmekteyiz. Konizasyon sonrası 4-6 ay sonraki kontrol smearlerin dağılımı şu şekilde olmuştur.

İLK SMEAR	BİYOPSİ/KONİZASYON	Kontrol smear (konizasyon sonrası)	HPV
ASCUS	CIN 2/NEGATİF	ASCUS	NEGATİF
ASCUS	CIN3/ CIN3	NEGATİF	NEGATİF
ASCUS	CIN2/CIN2	NEGATİF	NEGATİF

-Tüm ASCUS olguları ele alındığında 8 hastada kolposkopide anormal bulgu saptanarak biyoposi alınmıştır. Biyopside patoloji saptanan 3 hastanın kontrol smear ve HPV sonuçları yukarıdaki tabloda özetlenmiştir. Biyopsi sonucu negatif olarak gelen 5 hastanın yalnızca bir tanesinde kontrol smear sonucu ASCUS olarak gelmiştir. Bu olgu HPV negatiftir. Kolposkopisi normal ve biyopsi sonucu olmayan 32 ASCUS vakasının 4-6 ay sonra 6(%18) tanesinde ASCUS ve üzeri patoloji saptanmıştır. 4(%66) tanesi HPV (+) 'dir. (16,18,16,66).

LGSIL	CIN2/CIN 2	NEGATİF	NEGATİF
LGSIL	CIN2 /CIN 2	NEGATİF	TİP 16
LGSIL	CIN3 /CIN 3	NEGATİF	TİP 16
LGSIL	CIN2/CIN2	NEGATİF	NEGATİF
LGSIL	CIN 3/CIN 3	HGSIL	TİP 51
LGSIL	CIN2/CIN2	NEGATİF	NEGATİF
LGSIL	CIN2/CIN 3	NEGATİF	TİP 16
LGSIL	CIN2/CIN 2	NEGATİF	TİP 31

27 LGSIL vakasının 11 tanesinde anormal kolposkopik bulgu saptanmış ve biyopsi alınmıştır.Biyopside patoloji saptanan 8 hastanın kontrol smear ve HPV tiplemesi yukarıda özetlenmiştir.Sadece bir hastada kontrol smear HGSIL olarak gelmiş ve Tip 51 pozitifdir.Kalan 7 hastanın 4 ünde HPV pozitifdir (tip16,16,16,31).Biyopsi sonucu olmayan 16 hastanın 4(%25) tanesinde smear persistansı mevcuttur.Ancak bu vakaların yalnızca 1(%25) tanesi HPV pozitifdir.(tip 58).

Bu durumda biyopsi sonucu olmayan LGSIL vakalarında kontrol smearde patoloji persistansı için HPV pek yol gösterici görünmemektedir.ASCUS da smear persistansı gösteren vakaların %66' sı HPV pozitif iken LGSIL için bu oran yalnızca % 25 dir.

SMEAR	BİYOPSİ/KON	KONT SMEAR	HPV
HGSIL	CIN 3/NEGATİF	NEGATİF	TİP 16
HGSIL	CIN 3/CIN 3	NEGATİF	TİP 61,84
HGSIL	CIN3/CIN 3	NEGATİF	TİP 6
HGSIL	CIN3/CIN 3	HGSIL	TİP 16
HGSIL	Cin 3/CIN 3	HGSIL	Negative
HGSIL	CIN3/CIN 3	NEGATİF	Tip 16,18

9 HGSIL vakasının tümüne kolposkopi yapıldı.İki tanesi kolposkopi normal olarak geldi.Smear –kolposkopi uyumsuzluğu nedeniyle direkt leap bx yapıldı.Biri kr servist diğeri in situ ca olarak geldi.in situ ca olan HPV tip 16 (+) idi.İn situ ca olan hastaya histerektomi yapıldı.Bunun dışında kolposkopide lezyon ve sonucu invaziv ca gelen

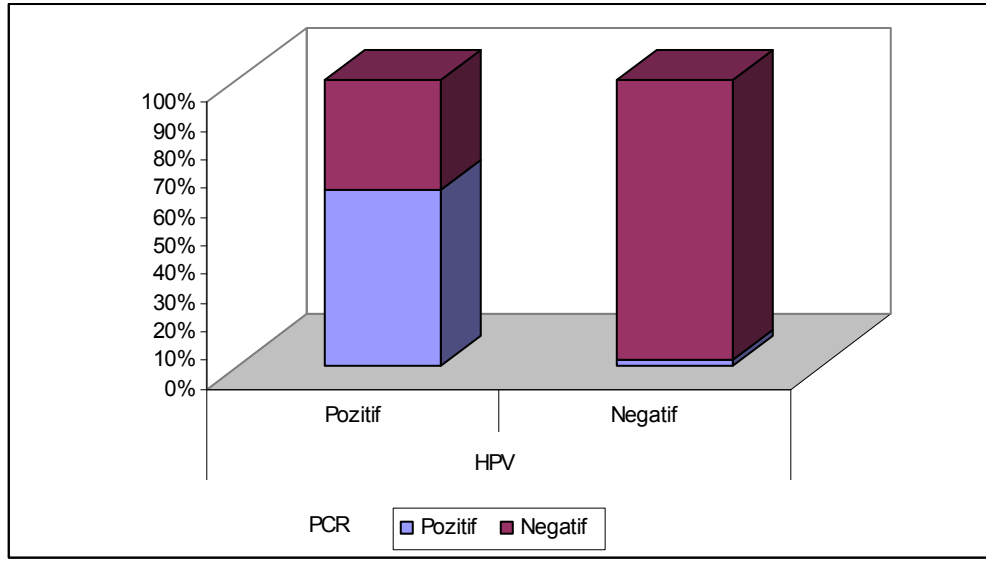
opere edildi. HPV negatifdi. Kalan 6 hastanın kontrol smear ve HPV dökümü yukarıdaki tablodadır. Ancak HGSIL vakalarında HPV DNA pozitifliği çok yüksek oranda olacağından yol gösterici olmaktan uzaktır.

-Tüm vakalarımıza hem microarray tekniği hem PCR ile HPV DNA tayini yaptık. Yapılan geniş çalışmalarda sensitivite ve spesivitesi HC 2 ile eş değer saptanan Microarray tekniğini çalımamız için baz aldık. Ancak bu tekniği PCR ile de karşılaştırarak etkinliğini değerlendirdik.

Tablo 8: HPV ile PCR Pozitifliği İlişkisi

PCR	HPV		<i>p</i>
	Pozitif	Negatif	
	n (%)	N (%)	
Pozitif	21 (%61,8)	1 (%2,4)	0,001**
Negatif	13 (%38,2)	41 (%97,6)	
<i>Ki-Kare Test</i>	** <i>p</i><0.01		

HPV (microarray) pozitifliği ile PCR pozitifliği arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p < 0.01$). Microarray tekniğinde HPV'si pozitif olan olguların %61.8'inde PCR pozitif iken; HPV'si negatif olan olguların %2.4'ünde PCR pozitifdir.



Şekil 12: Microarray ile PCR ilişkisi

6. TARTIŞMA

Servikal kanser taraması dünyada sağlık ve ekonomik açıdan çok ciddi bir sorundur. Serviks kanseri ve HPV tiplmesi HPV aşısının piyasaya sürülmesiyle iyice önem kazanmıştır. Bizim çalışmamızda biz smear sonucu patolojik olarak gelen 76 hastada HPV tiplmesini, kolposkopik bulguları, biyopsi sonucunu değerlendirdik. HPV DNA'nın önemini ve etkinliğini sorguladık.

En son 2006 yılında Munoz tarafından yayınlanan çalışmada HPV tipleri yeniden değerlendirilerek, HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 yüksek riskli olarak, HPV 26, 53, 66 ise olası yüksek risk grubuna sokulmuştur. (88).

Çalışmamızda smear sonuçları ASCUS, LGSIL ve HGSIL olarak üç gruba ayrılmıştır. Çalışmamızda smear sonucuyla HPV pozitifliği arasında istatistiki anlamlı fark bulunmamıştır. LGSIL'de %51.9, HGSIL'de %66.7 ve ASCUS'da %35 HPV pozitifliği saptanmıştır. Smear sonucuna göre HPV tip dağılımıyla ilgili ülkemize ait net veriler hali hazırda bulunmamaktadır.

2004'de yapılan bir metaanalizde 8308 LSIL olgusunda , HPV DNA'sına rastlanma oranı %29 ile %100 arasında bildirilmiştir. (89). Ancak 1000 olgudan fazla üç büyük çalışmada HPV DNA oranları %55, %73 ve %92 olarak verilmiştir. (90). 5910 LGSIL olgusunda en sık görülen HPV 16' dır (%26), HPV 31 %12, HPV 53 %10 , HPV 18 %9, HPV 66 %9, HPV 58 %8 oranlarında izlenmektedir. Yani LGSIL'de HPV heterojenite göstermektedir. Bizim çalışmamızda da sonuç bu verilerle uyumlu ve HPV dağılımı heterojendir. %11.1 oranıyla en sık HPV 16 ve 6 izlenmiştir.

ASCUS'ta HPV tipleri için metaanaliz bulunmamaktadır. Ancak ALTS çalışmasında ASCUS olgularının % 61'inde HPV pozitifdir. HPV 16'nın görülme sıklığı %15, HPV 18'in görülme sıklığı % 5'tir. Bizim çalışmamızda ise sırasıyla 510 ve %12,5 olarak tesbit edilmiştir.

2006 yılında 7000 HGSIL olgusunda yapılan metaanalizde belirlenen HPV tipleri sırasıyla 16, 31, 58, 18, 33, 52, 35, 51, 56, 45, 39 ve 6 dır. İnvazif serviks kanserine benzemekle birlikte prevalans sıralamasında HPV 18 4. sıradayken HPV 45 tesbit edilememiştir. (91). Bizim çalışmamızda ise %44.4 ile literatürle uyumlu olarak HPV 16 ilk sırada yer almaktadır. Burada Tip 16 HGSIL'de LGSIL ve ASCUS' a göre istatistiki

anlamli olarak yuaksektir.Tip 6,18,61 ve 84 diğer rastlanan tiplerdir.Yine burada ilginę olarak risk açısından literatürde henüz sınıflandırması yapılmamış Tip 84 pozitifliğidir.%11.1 ile diğer smear gruplarına göre anlamli olarak yuaksektir.Ancak burada vaka sayısı çok azdır.Ve bu konuda daha net cümleler kurabilmek için daha fazla sayıda vakaya ihtiyaç vardır.

Amerika Birleşik Devletleri'nin rakamlarına göre smear sonucu ASCUS olan hastaların biyopsi %7-12 sinde CIN2-3 gibi patolojiler tesbit edilirken (2,69),smear sonucu HGSIL olanlarda bu oran %84 ile %97 arasında değişmektedir.LGSIL için ise rakamlar %12 ile %17 arasındadır.(67).

Bizim alışmamızda benzer rakamlar mevcuttur ve smear sonucu ile biyopsi sonuçları arasında istatistiki anlamli fark vardır.ASCUS için %8,3, LGSIL için %29.6,HGSIL için %88.8 oranında biyopsi ile patoloji tesbiti mevcuttur.

HPV 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 ve 66'nın karsinojenik potansiyeli ile ilgili yeterli bilimsel kanıt mevcuttur(88,92).İleri evre CIN ve servikal kanserde en sık görülen tip HPV 16 olup skuamöz hücreli kanserde %50,adenokanserde %30 oranında görülür.(6,93).HPV 18 ise tip 16' nın tersine CIN olgularında % 5 gibi düşük oranda invazif kanserde ikinci sırada görülür. Yüksek risk grubundaki diğer HPV tipleri nükleotid zinciri olarak daha çok HPV 16' ya benzemekte ve daha çok serviks ve vaginanın yassı epitel hücreli kanserinde tesbit edilmektedir.Bu tipler invazif kansere (%10) kıyasla daha çok ileri evre CIN'de (%30) saptanmaktadır.(6). Bizim alışmamızda biyopsi sonucunda patoloji (CIN2-3,ca) tesbit edilen vakalar yine HPV tiplerine göre ayrılmış.Ve tip 16 ve Tip 59 istatistiki anlamli olmamakla beraber biyopsi pozitif olgularda yüksek tesbit edilmiş.

Yüksek riskli HPV ile servikal kanser arasındaki net ortaya konmuş ilişki herkese HPV DNA yapılp yapılmamasını gündeme getirmiştir.Ancak yapılan çalışmalarda yalnızca ASCUS 'un takip tedavi ve yönetimi için anlamli gibi görünmektedir(94).İleri evre CIN olgularında HC testinin pozitif prediktif değeri %17-58,duyarlılığı %73-93,özgüllüğü ise %24-67 arasında değişmektedir.Aynı değerler PCR

için sırasıyla %22-93,%28-95 ve %40-95 dir.Bizim çalışmamızda kullandığımız microarray tekniği ile ilgili yapılan çalışmalarda sensitivite ve spesivitesi HC II ile aşağı yukarı aynı olduğu ve multipl lezyonları saptamadaki başarısı üzerinde durulmuştur.(83,84,85) Çalışmamızda biyopsi ile kanıtlanmış vakaların % 61.9'u HPV pozitif saptanmıştır.% 38.1 i HPV negatif olarak değerlendirilmiştir.Ancak patolojik biyopsi sonucu ile HPV pozitifliği açısından istatistiki anlam elde edebilmek için çok daha fazla sayıda olguya ihtiyaç vardır.

ALTS çalışması ASCUS olarak değerlendirilen olgularda CIN 3 veya serviks kanserinin belirlenmesinde HPV testinin en az kolposkopi kadar sensitif olduğu gösterilmiştir.Bu bulgularla HPV DNA testinin serviks kanseri taramasında,CIN tedavisi sonrası izlemde kullanılabileceğini ileri sürmek mantıksız değildir.

HC 'nin tedavi sonrası rekürrens belirlemede sensititesi %67-100,spesifitesi %44-100 arasında değişmektedir.Primer taramada altta yatan HGSIL 'ı belirlemede ki sensitivitesi %89.3,%87.8 dir.(57). Asıl önemli olan bu testlerin klinik kullanımdaki yeridir.Smear sonucu ASCUS gelen hastaların takibinde HC II testinin smear tekrarına üstün olmadığı belirlenmiştir.(2).ASCUS ve LGSIL olgularında ilerde gelişebilecek HGSIL saptamada HC II pap smear tekrarına anlamlı bir üstünlüğü yoktur.Sonuç olarak HPV DNA testeri sitolojiye göre daha sensitif ancak daha az spesifiktir.HPV DNA testleri smear ile birlikte veya smear olmadan serviks kanseri taramasında kullanımı ile ilgili çok geniş çalışmalar yürütülmektedir.Sweedescreen çalışmasının yayınlanan ilk verilerinde CIN 2 ve üzeri lezyonları belirlemede HPV DNA testinin PPD'si %29 olarak hesaplanmıştır.Vaginal smear sonuçları iki kez normal olarak saptana hastalarda bile PPD %10 bulunmuştur.

ASCUS takip stratejisinde,HPV DNA testi,kolposkopi ve smear tekrarı kabul edilebilir metodlardır.Ve bazı çalışmalarda kost etektivite ve CIN2-3 yakalamada ki senitivite açısından diğer metodlardan üstün bulunmuştur.Bir defa sadece kolposkopiyle bazı önemli lezyonların atlanabileceği bildirilmiştir.Bizim çalışmamızda da kolposkopi normal olgulardan biyopsi alınmayarak takibe alınmıştır.Ve tüm hastalardan 4-6 ay sonra kontrol smear alınmıştır.ALTS çalışmasında kolposkopisi normal olan olguların kolposkopi sonrası takibi değerlendirilmiştir.1 yıl sonra yapılan HPV DNA testi ilk

kolposkopide gözden kaçan CIN2-3 vakalarının %92'sini tesbit edebilmiştir. Ve bu hastaların % 55i yeniden kolposkopiye refere edilmiştir.(97)HPV DNA yerine 6 ay ara ile iki kez sitoloji yapılması ise kaçan olguların %88'ini yakalamış ve %64'üne yeniden kolposkopi yapılmasına neden olmuştur. Ancak sitoloji ve HPV DNA testini kombine etmek duyarlılığı arttırmamış özgüllüğü ise azaltmıştır. Bizim çalışmamızda kolposkopi normal olan 32 ASCUS vakasının 4-6 ay sonra alınan smear tekrarında 6 tane ASCUS ve üzeri patoloji gelmiştir. Bu 6 vakanın 4'ü (%66) HPV pozitifdir. LGSIL olgularında ise kolposkopisi normal olan 16 hastanın kontrol smear de 4 ü patolojik gelmiş. Ancak bunlardan 1 tanesi (%25) HPV pozitifdir. Biyopsi pozitif vakaların sadece birinde 4-6 ay sonraki smear HGSIL olarak gelmiş. Bu vakada Tip 51 pozitif bulunmuştur. Bizim çalışmamızda İstatiksel analiz için vaka sayısı çok yetersiz olmakla beraber ASCUS için HPV ile kontrol smearda patoloji ilişkisi, LGSIL'e göre daha kuvvetli görünmektedir. ASCCP 2006 konsensusunda da HPV DNA tayini ASCUS olgularında önerilmektedir.

HGSIL vakaları değerlendirilecek olursa 9 vakanın ikisi ca olarak tesbit edlip histerektomiye gitmiştir. 1 vaka biyopsi negatif gelmiştir. Kalan 6 olgunun 1'inde smear persistansı söz konusudur ve bu da HPV negatiftir. Burada neden çok hızlı rekürrense veya yetersiz konizasyona bağlanabilir.

7. SONUÇ

Patolojik smear sonucu saptanan 76 hastanın Olgunun %35.5'inde Smear sonucu LGSIL olurken, %52.6'sında ASCUS ve %11.8'inde HGSIL'dir. Tüm hastalara kolposkopi ve eş zamanlı HPV DNA testi yapılmıştır. 76 hastanın 26 (%35.5) tanesinde anormal kolposkopik bulgu saptanmıştır. Anormal kolposkopik bulgu saptanan 26 hastaya ve kolposkopisi normal olan bir adet smear sonucu HGSIL olan hastaya kolposkopi eşliğinde biyopsi yapılmıştır. Anormal kolposkopik bulgu 40 ASCUS hastasının 8 (%20) tanesinde izlenirken, 27 LGSIL hastasının 11 (%40.7) 'inde ve 9 HGSIL vakasının 7'sinde (%77.8) saptanmıştır. Anormal kolposkopik bulgu saptanan 26 hastanın 13'ünde (%50) HPV DNA pozitif iken %50'sinde HPV DNA negatiftir. Alınan 27 punch biyopsinin 18'inde (%66) biyopside CINII ve üzeri biyopsi ile kanıtlanmış patoloji mevcuttur.

Olguların %44.7 sinde HPV pozitifliği saptanmıştır. HPV Tip 16 tüm gruplarda en sık rastlanan patojendir. HPV. HPV tip 16 ve Tip 84 Smear sonucu HGSIL olan olgularda diğer gruplara kıyasla anlamlı dercede yüksektir.

Smear sonucu ile HPV tipi arasında ve smear sonucuyla biyopsi sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p < 0.01$). Smear sonucu HGSIL olan olgularda patolojik biyopsi oranı (CIN 2-3, ca) (%87.8), smear sonucu LGSIL (%29.6) ve ASCUS (%8.3) olan olgulardan anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

HPV (microarray) pozitifliği ile PCR pozitifliği arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p < 0.01$). Microarray tekniğinde HPV'si pozitif olan olguların %61.8'inde PCR pozitif iken; HPV'si negatif olan olguların %2.4'ünde PCR pozitifdir.

HPV DNA tayini ve tiplemesinin serviksin preinvaziv hastalıklarının tanı ve tedavi sonrası takibinde Smearle beraber veya smeare alternatif olarak kullanılması bir çok durumda oldukça avantajlı olabilir. HPV DNA tayini CIN 2,3 tesbitinde yüksek sensitivitesi ve takipte yol göstericiliğiyle ASCUS ve LGSIL vakalarında kullanılabilir modalitedir. HGSIL olgularında prevalansının çok yüksek oluşu kullanımını kısıtlayan en önemli faktörlerdendir. HPV tip tayini yüksek riskli tiplerin belirlenmesi ve bunların lezyonlara dağılımı lezyonların takibinde ve yönetimde yol gösterici olabilir. Burada

HPV tiplerini ayrı ayrı tanımlayabilen ve duyarlılığı oldukça yüksek olan microarray tekniği PCR ve HC II HPV DNA testlerine alternatif olabilir mi sorusunu gündeme getirmektedir. Bu kolay uygulanabilir yöntem daha geniş çalışmalarla desteklendiğinde tipe göre her vakanın ayrı değerlendirilerek risk tayini yapılmasına ve takipde ona göre tavis alınmasına fayda sağlayabilir. HPV DNA tayini ve tiplemesi özellikle normal kolposkopi sonrası takibe bıraktığımız ASCUS vakalarında atlanmış vakaların tesbitinde yardımcı olabilir.

Şu an gündemi meşgul eden HPV aşısı ve aşının yaygın kullanımı belkide ileride HPV tayini ve tiplemesinin daha ağırlıkda olduğu tarama metodlarını devreye sokabilir. Her gün gelişen teknoloji ve çalışmalar ışığında serviks kanseri ile mücadele silahlarımız artacaktır.

8. KISALTMALAR

ASCUS: ATİPİK ÖNEMİ BELLİ OLMAYAN SQUAMÖZ HÜCRELER

CIN : CERVİCAL İNTRAEPİTELİYAL NEOPLAZİ

DNA: DEOXYRUBONÜKLEİK ASİD

HC2: HİBRİDE CAPTURE 2 (HPV TESTİ)

HGSİL: HIGH GRADE SQUAMOUS İNTRAEPİTELİYAL LEZYON

HPV : HUMAN PAPİLLOMA VİRUS

LGSİL: LOW GRADE SQUAMÖZ İNTRAEPİTELİYAL LEZYON

PAP TEST: PAPANİCOLAOU

PCR: POLİMERASE CHAİN REACTION

9. KAYNAKLAR

- 1-Walboomers JM ,JacobsMV,Manos MM;Bosch FX, [7779Kummer JAHuman Papilloma virus necessary cause of invasive cervical cancer worldwide.J.Pathol 1999;189:12-9
- 2-Manos MM,Kinney WK,Hurley LB,Sherman ME,Kurman RJ İdentfying woman with cervical neoplasia .Using human papillomavirus DNA testing for equivocal papanicolu result JAMA 1999;218:1605-10
- 3-Wright TC,Sun WX, Koulos J.. Comparison of managament algorithms fort he evaluation of woman with grade cytologic abnormalities.(Obstet Gynecol 1995;85 2020-10
- 4-Pagluisi S.World health organization .Human Papilloma virus infection and cervical cancer.
- 5-Sağlık bakanlığı Kanserle savaş Dairesi başkanlığı ,kanser kayıtlarında öncelik verilecek 8 il raporu (2002)
- 6-Lorincz AT, Reid RHuman papillomavirus infection of the cervix. Obstet Gynecol 1992;79;328-37
- 7-Schhifman M,Herrero R,Desalle R.the carcinogenity of human papillomavitus types reflects viral evolution .Virology 2005;337(1):76-84
- 8-Kurman RJ,Schiffman MH Analysis of individual human papillomavirus types in cervical neoplasia .Am J Obstet Gynecol 1988 159;293-6
- 9-Genital HPV 2007. Prof Dr.M.Arvas-Doç.Dr.A.Gezer

10-Galloway DA, McDougall JK. The disruption of cell cycle checkpoints by papillomavirus oncoproteins contributes to anogenital neoplasia. *Semin Cancer Biol* 1996;7:309-15

11-Liu JS, Kuo SR, Broker TR, Chow LT. The functions of human papilloma virus type 11 E1, E2 and E3 proteins in cell-free DNA replication. *J Biol Chem* 1995;270:27283-91.

12-Moy RL, eliezri YD, Nuovo GJ, Zitelli JA, Bennett RG, Silversteib S. Human Papilloma virus type 16 DNA in periungual squamous cell carcinomas. *JAMA* 1989;261:2669-73

13-Stanley M Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine*. 2006;24 Suppl1:S16-22

14-Chen XS, Garcea RL, Goldberg I, Casini G, Harrison SC. Structure of small virus like particles assembled from the L1 protein of human papilloma virus 1. *Mol cell* 2000;5(3):557-67

15- Coleman N, Birley Hd, Renton Am, Hana Nff: Immunological Events In Regressing Genital Warts *Am J Clin Pathol* 1994;102:768-774

16- Coleman N, Birley Hd, Renton Am, Hana Nff: Immunological Events In Regressing Genital Warts *Am J Clin Pathol* 1994;102:768-774

17-86 Moore Ra, Santos Eb, Nicholis Pk, White Kl, Anderson Dm, Llyod A, Topley M, Romanos M: Intraepithelial DNA Immunisation With Plasmid Encoding A Codon Optimised Copv E1 Gene Sequence But Not The Wild Type Gene Sequence Completely Protects Against Mucosal Challenge With Infections Copv In Beagles *Virology* 2002;304:451-459

18-Burchell AN, Winer RL, Sajose S, Franco EL, Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 2006;24.S3:52-61

19-Cox T.The development of cervical cancer and its precursors:what is the role of human papillomavirus infection?.Curr Opin Obstet Gynecol 2006,18(suppl 1:S5-S13

20-Koutsky L.Epidemiology of human papillomavirus infection.Am J. Med 1997,5;102:3-8

21-Bauer HM.Hildesheim A,Schiffman MH et al.Determinants of genital human papillomavirus infection in low risk women in Portland,Oregon.sex transzm Dis 1993;20:274-278

22- Figueroa JP, Ward E, Luthi TE, et al. Prevalence of human papillomavirus among STDclinic attenders in Jamaica: association of younger age and increased sexual activity. Sex Transm Dis 1995; 22:114-118.

23- Moscicki AB, Burt VG, Kanowitz S, et al. The significance of squamousmetaplasia in the development of low-grade squamous intraepithelial lesions in young women. Cancer 1999; 85:1139-1144.

24-. Burk RD, Kelly P, Feldman J, et al. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. Sex Transm Dis 1996;23:333-337

25. Tarkowski TA, Koumans EH, Sawyer M, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection and abnormal cytologic test results in an urban adolescent population. J Infect Dis 2004; 189:46-50.

26-. 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.

27. Winer RL, Lee SK, Hughes JP,Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and

risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003;157:218-26.

28. Bauer HM, Hildesheim A, SchiffmanMH, et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-risk women in Portland, Oregon. *Sex Transm Dis* 1993; 20:274-278.

29. Ley C, Bauer HM, Reingold A et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in young women. *J Natl Cancer Inst* 1991;83:997-1003.

30. RousseauMC, Pereira JS, Prado JC, VillaLL, RohanTE, Franco EL. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. *J Infect Dis* 2001;184:1508-17.

31-Coppleson M, Reid B. The etiology of squamous carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1968;32:432-6

32-Munger K. The role of human papillomaviruses in human cancers. *Front Biosci.* 2002a;7:d641-9

33-Matsukura T, Koi S, Sugase M. Both episomal and integrated forms of human papillomavirus type 16 are involved in invasive cancers. *Virology* 1989;172:63-72

34-Emerging Issues On Hpv Infections From Science To Practice: Editor Monsonego, 2006

35- Wentzensen N, Vinokurova S, Vonknebel D: Systematic Review Of Genomic Integration Sites Of Hpv Genomes In Epithelial Dysplasia And Invasive Cancer: *Cancer Res*:2004;6:3878-3884

- 36-Munger K,Howley PM.Human papillomavirus immortalization and transformation functions.Virus Res. 2002b;89(2):213-28)
- 37-Hopman AH,Kamps MA,Smedts F,Speel EJ,Herrington CS,Ramaekers FC.HPV in situ hybridization:impact of different protocols on the detection of integrated HPV.İnt J Cancer.2005;20;115(3):419-28
- 38- Ziegert C,Wentzensen N,Vinokurova S,Kisselijov F,Einenkel J,Hoeckel M.von Knebel Doeberitz M.A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques.Oncogene.2003;22(25):3977-84b
- 39- Sopov I,Sorensen T,Magbagbeolu M,Jansen L,Beer K Detection Of Cancer Related Gene Expression Profiles İn Severe Servical Neoplasia Int J Cancer 2004;112:3334
- 40-Santin Ad, Zhan F,Bignotti F,Siegel Er,Cane S, Bellone S: Gene Expression Profiles Of Primary Hpv 16 And 18 İnfected Early Stage Cervical Cancers And Normal Cervical Epithelyum Virology 2005;331:269291
- 41- Baylin Sb,Herman Jg,: Dna Hypermetylation İn Tumorigenesis:Trends Genetics2000;16:168174
- 42- Erlich M: Dna Metylation İn Cancer ;Oncogene 2002;21:54005413
- 43-Keating JT,Ince T,Crum CP.Surrogate biomarkers of HPV infection in cervical neoplasia screening and diagnosis.Adv Anat Pathol. 2001;8(2):83-92
- 44- Von Knobel Doberitz M,New Markers For Cervical Dysplasia To Visualise The Genomic Chaos Created By Abbrant Oncogenic Papillomavirüs İnfections Eur J Cancer 2002;38:22292242

- 45- Khleif Sn, Degregori J, Yee JI, Ottersen Ga, Kaye Fj,: Inhibition Of Cyclin Activity
Proc
Natl Acad Sci Usa 1996;93:43504354
- 46- Beasejur Cm, Krtolica A, Galimi F, Narita M, Lowe Sw: Reversal Of Human Cellular
Senescence: Roles Of The P53 And P19 Pathways
- 47- Sherr CJ. Principles of tumor suppression. Cell 2004;116(2):235-46
- 48- Klaes R, Friedric R, Spitkovski D, Ridder R, Rutty W, Petry U : Every Expression Of
P16(Ink4a) As A Specific Marker For Dysplasia And Neoplastic Epithelial Cells Of
The
Cervical Cancers Int J Cancer 2001;92:276284
- 49- Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakashima T: Immunohistochemical
Over
Expression Of P16 Protein Associated With Intact Retinoblastoma Protein Expression
Cervical Cancer And Cervical Intraepithelial Neoplasia Pathol Int 1998;48:580585
- 50- Klaes R, Benner A, Friedrich E, Ridder R, Herrington S, Jenkins
Immunohistochemistry
Improves Interobserver Agreement In The Diagnosis Of Cervical Intraepithelial
Neoplasia Am J Surg Pathol 2002;26:13891399
- 51- Wentsenzen N, Bergeron c, Cas F, Vinkoruva S, von Knebel Doeberitz M. Triage of
woman with AsCUS and LSIL cytology: use of qualitative assesment of P16INK4a
pozitive cells to identfy patients with high grade cervical inthraepitelial neoplasia
.cancer 2007;111(1):58-66
- 52- Richard, R.M., Lerch, v., Baron, B.A.: A time- lapse cinemotographic study in vitro of
mitosis in normal human cervical epitelyumhium, dysplasia and carcinoma in situ. J. Natl
Cancer Inst. 39:571-567, 1967.

53-Ferencyz,S.:Cervical intraepithelial Neoplasia;Ed.A.Blaustein,Pathology of female genital tract.2nd ad.,springer-Verlag,Newyork,Heidelberg,Berlin,s 156-177 1982.

54-Wright TC Jr.Cox JT,Massad LS,Twiggs LB. 2001 Consensus guidelines fort he managment of women with cervical cytological abnormalities.JAMA 2002;287:2120y9

55-Solomon D,Davey D,Kurman R.The 2001 Bethesda system :terminology for reporting results of cervical cytology.JAMA 2002;287:2114y9

56-Moscicki AB,Ellenberg JH,Farhat S,Xu J.Persisitence of human papillomavirus infection in HIV infected and uninfected adolescent girls: risk factors and differences,by phylogenetic type.J Infect Dis 2004, 190:37-45

57-Arbyn M,ParaskevaidisE,Martin-Hirsch P,Prendeville W,Dinler J.Clinical utility of HPV DNA detection :triage of minor cervical lesions, follow-up of woman treated for high-grade CIN:an update of pooled evidence.Gynecol Oncol.2005;(99) (3 suppl 1): S7 -11

58-Ostor AG.Natural history of cervical intraepithelial neoplasia:a critical review.Int J Gynecol Pathol 1993;12:186-92

59-Mitchell H,Drake M,Medley G.Prospective evaluation of risk of cervical cancer after cytological evidence of human papillomavirus infection.Lancet 1986;1:573-5

60- Nanda K, Mccrory Dc,Myers Er, Bastian La.:Accuracy Of The Pap Test In Screening For And Follow Up Cervical Cytologic Abnormalities Ann Intern Med 2000;132:810819

61- Fahey Mt,Irving L,Macaskill P: Metaanalysis Of Pap Test Accuracy 1995;141:680689

62-Parkin DM,Pisani P,ferlay J.Estimates of the worlwide incidence of eighteen major cancers in 1985.Int J Cancer 1993;54:594-606

63-Kurman RJ,Solomon D. The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses.New Y.Springer-Verlag;1994

64-Fait G.Kupferminc M.J.,Daniel Y,Contributuon of Human papillomavirus testing by hybrid capture ina triageof womenwith repeated abnormal pap smears before colposcopy referral.Gnecol.oncol.nov.79(2) 177-80.2000

65-Davey DD,Neal MH,Wilbur DC.Bethesda 2001 implementation and reporting rates:2003 practices of paticipiants in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison program in Cervico vaginal cytology.Arch Pathol Lab Med 2004 ;128:1224Y9

66-A randomized trial on the managament of low grade squamous inthraepithelial lesion cytology interpretations.Am J Obstet Gynecol 2003 ;188:1383Y92

67-Alvarez RD,Wright TC.Effective cervical neoplasia detetction with a novel optical detetction system:A randomized trial .Gynecol Oncol.2007 04281Y9

68-JonesBA,Novis DA.Follow-up abnormal gynecologic cytology; a College of American Pathologists Q-Probes Study of 16132 cases from 306 laborotories.Arch pathol Lab med 2000;124:665y71

69-Lonky NM,Felix JC,Naidu YM,Wolde-Tsadik G.Triage of atypical squamous cells of undetermined siificance with hybrid capture II:colposcopy and histologic human papillomavirus correlation.Obstet Gynecol2003;101:48Y49T

70-Arbyn M,Sasieni P,Maijer CJ,Clavel C,Koliopoulos G,Dinler J.Chapter 9:clinical applications of HPV testing: a summary of meta- analyses .Vaccine 2006;24 (suppl 3):SY8YS89

71-Thomas C,Wright MD,L Stewart M,Charlesj,Spitzer M,solomon D.2006 Consensus Guidelines fort he managment of women with abnormal cervical screening testçASCCP Sponsored Consensus conference

72-19-Wright TC,Massad LS,Dunton CJ,Spitzer M.2006 Consensus Guidelines fort he managment of women with abnormal cervical screening tests. J Low Genit Tract Dis oct 11(4);201-222. 2007

73-Dunn TS,Burke M,Shywader J.A “see and treat” management for high-grade squamous intra-epithelial lesion pap smears.j. Lower Gen Tract Dis 2003;7:104Y6

74-Massad LS,Collins YC,Meyer PM.Biopsy corralates of abnormal cervical cytology classified using the Bethesda system.Gynecol Oncol 2001;82:516Y22

75-2. Disaia Creasman Clinical Gynecologic Oncology 6.Edition Sf 1724

76-1. Novak’s Gynecology 13. Edition Sf 480-484

77-Iftner T & Villa LL.Human papillomavirus Technologies.J Natl Cancer Inst Monogr 2003;31:80-88

78-Gravitt PE,Peyton CL,Alessi TQ,Wheeler CM,Coutlle F,Hildesheim A,Schiffman MH,Scott DR,Apple RJ.Improved amplification of genital human papillomaviruses.J Clin Microbol.2000 ;38:357-61

79- Schiffmann M,Wheeler C,Dasgupta A,Solomon D,Castle P Efor The Alts Group: A Comparison Of A Prototype Pcr Assay And Hybride Capture 2 For Detection Of Carcinogenesis Hpv Dna In Women With Equivocal Or Mildly Abnormal Pap Smears

Am J Clin Pathol 2005;124:111

80- Petry K, Menton M, Menton Sa, Carhvallo Gomez H: Inclusion Of Hpv Testing In Routine Cervical Cancer Screening For Woman Above 29 Years Germany Results For 8466 Patients Br J Cancer 2003;88:1570-1577

81-Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman Mf, Bratti M: Hpv Dna Testing Cervical Cancer Screening Results From Women In High Risk Province Of Costa Rica Jama 2000;283:8793

82-Hee Jung An, Nam Hoon Cho, Sun Young Lee, In Ho Kim, Chan Lee, Seung Jo Kim, Mi Sook Mun, Se Hyun Kim, Jeongmi Kim Jeong,. ; Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method. Cancer 2003 ;92:1672-1680

83- Nuovo GJ, Bartholomev D, Jung WW, Han IK, um T, Grabarz DF, Lee DJ, Mc Cabe Rt.s
Correlation of Pap Smear, cervical Biopsy, and Clinical follow-up with an HPV Typing Microarray System. Diagnosis Mol. Pathology 2008; March

84- Chan Joo Kim, Jeongmi Kim Jeong P, Misun Park, Tae Shin Park , Tae Chul Park, Sung Eun Namkoong , Jong Sup Park. HPV oligonucleotide microarray-based detection of HPV genotypes in cervical neoplastic lesions. Gynecologic Oncology 2003;89-2:210-217

85-Tao PP, Bian ML, Ou H, Chen QY, Li M, Liu J. Application research on the flow-through hybridization and gene chip in human papillomavirus detection. Zhonghua Fu chan Ke Za zi 2006;41-1: 43-7

86-Kaufman RH, Adam E, Is human papillomavirus testing of value in clinical practice? Am J Obstet Gynecol 1999; ”88:1049-53

87-Kaufman RH, Adam E, Icenogla J, Reeves WC. Human papillomavirus testing as trage for atypical squamous cells of undetermined significance and low grade

squamous intraepithelial lesions:sensitivity,specifity and cost effectiveness.Am J Obstet Gynecol 1997;177:930-6

88-Munoz N,Castellsague X,Gonzales AB,Gissmann L.HPV in the etiology of human cancer.Vaccine 2006;24 S3:1-10

89-Clifford GM,Gallus S,Herrero R,Munoz N,Snijders PJ,Vaccarella S,Hieu NT,Matos E,Molano M,Rajkumar R,Ronco G,de Sanjose S,Shin HR,Suckvirach S,Thomas JO. HPV Prevalence surveys study group .Worldwide distrubution of human papillomavirus types in ctologically normal women in the international agency for research on cancer HPV prevalance surveys: a pooled analysis. Lancet 2005 ;366(9490):991-8

90-Grce M,Husnjak K,Bozikov J,Magdic L,Ziacki M,Lukac J,Fistonic I,Dugic N,Pavelic K. Evaluation of genital human papilloma virus infections by polymerase chain reaction among Croation women.Anticancer Res.2001;21.579-84

91-Smith JS,Lindsay L,Hoots B,keys J,Franchesci S,WinerR,Clifford GM.Human pappilloma virus type distrubition in invasive cervical cancer and high grade cervical lesions : A meta-analysisi update.Int J.Cancer.2007 (Epub)

92-Burd EMç Human pappilloma virus and cervical cancer.Clin Microbiol Rev.2003;16 (1):1-17

93-Duggan MA,Benoit JL;Mc Gregor SE,Nation JG;stuart GC.the human papilloma virus status of 114 endocervical adenocarcinoma cases by dot blot hybridization.hum Pathol 1993;24:121-5

94-Kaufman RH,Adam E.Is human papilloma virus testing of value in clinical practice? Am J Obstet Gynecol 1999;180:1049-53

95-Clavel C,Masure M,Bory JP;Putaud I,Mangeonjean c,Lorenzato M et al.Hybrid capture II based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high grade cervical lesions .a preliminary study on 1518 women.Br J Cancer1999;80:1306-11

96-Kulasingam SL, Kim JJ, Lawrance WF, Mandellblatt JS, Myers ER et al. Cost effectiveness analysis based on the atypical squamous cells of undetermined significance / LGSIL (ALTS). J. Natl Cancer Inst 2006;98

97-Guido R, Schiffman M, Solomon D. Post colposcopy management strategies for women referred with low-grade squamous intraepithelial lesions or human papilloma virus DNA –positive atypical squamous cells of undetermined significance: A two-year prospective study. Am J Obstet Gynecol 2003;188:1401-5

