

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
ANADOLU KUZEY KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
GENEL SEKRETERLİĞİ
ÜMRANIYE EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ BÖLÜMÜ

SIVI BAZLI SİTOLOJİ MATERYALİNDE HUMAN
PAPİLLOMA VİRUS ARAŞTIRILMASI

DR.HATİCE ŞENELDİR
(UZMANLIK TEZİ)

TEZ DANIŞMANI:
DOÇ.DR.GÖZDE KIR

İSTANBUL – 2015

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her türlü bilimsel olanağı sağlayan, çalışma azmi, titizliği ve ilme olan tutkusu ile rehber edinmeye çalıştığım İdari ve Eğitim Sorumlumuz, tez danışmanım değerli hocam ***Sn. Doç.Dr. Gözde KIR***'a,

Sabır ve anlayışla tecrübelerini aktarmaya çalışan, davranışlarını örnek aldığım değerli başasistanlarımız ve değerli uzmanlarımız ***Sn.Uzm. Dr. Cumhur Selçuk TOPAL, Sn. Uzm. Dr. Muzaffer İlkay TOSUN ve Sn. Uzm. Dr. Murat Hakan KARABULUT, Sn. Uzm.Dr. Müberra SEĞMEN YILMAZ, Sn. Uzm. Dr. Fatıma GÜRSOY ve Sn. Uzm. Dr. Şenay ÇETİN***'e,

Asistanlık sürem boyunca beraber çalıştığım ve uzmanlık eğitimlerini tamamlamış arkadaşlarım ***Sn. Uzm. Dr. Meryem DOĞAN ALTUNPULLUK, Sn. Uzm. Dr.Ayşenur İHVAN, Sn. Uzm. Dr. Billur COŞAN SARBAY***'a, asistan arkadaşım ***Sn. Dr. Ece TAHTASAKAL***'a,

Özveri ve güleryüz ile desteklerini sunan başta Tıbbi Biyolog ***Sn. Şükrü MERCAN*** olmak üzere tüm diğer patoloji teknisyenlerimiz ve sekreterlerimize,

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve bana inanan değerli ***anneme ve babama***,

Bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan, sevgi, destek ve anlayışını esirgemeyen sevgili ***eşime***, sabırla beni bekleyen canım ***oğluma ve kızıma*** sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
MATERYAL VE METOD.....	63
BULGULAR.....	71
TARTIŞMA.....	76
SONUÇLAR.....	82
KAYNAKLAR.....	85

KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ACIP: Advisory Committee on Immunization Practices (Aşılama Uygulamaları Tavsiye Komitesi)

ACOG: American College of Obstetrics and Gynecology (Amerikan Obstetri ve Jinekoloji Akademisi)

ACS: American Cancer Society (Amerikan Kanser Derneği)

AGC : Atipik Glandüler Hücreler

ASCCP: American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji Derneği)

ASCP: American Society for Clinical Pathology (Amerikan Klinik Patoloji Derneği)

ASC: Atypical Squamous Cells (Atipik Skuamöz Hücreler)

ASC-H: Atypical Squamous Cells-can not exclude HSIL (High grade skuamöz intraepitelyal lezyondan ayrılmayan atipik skuamöz hücreler)

ASC-US: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (Anlamı belirgin olmayan atipik skuamöz hücreler)

BHD : Benign hücresel değişiklikler

CIN: Cervical Intraepitelial Neoplasm

CIS: Carcinoma In Situ

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

FDA: Food and Drug Administration (Amerikan gıda ve ilaç dairesi)

HC: Hybride Capture

HPV: Human Papilloma virus

HSIL:High-grade Squamous Intraepitelial Lesions (High grade skuamöz intraepitelyal lezyon)

HIV: İnsan İmmün Yetmezlik Virusu

HR HPV: High Risk HPV

HSV: Herpes Simplex Viruses

LBP: Likid bazlı Pap test

LSIL: Low-grade Squamous Intraepitelial Lesions (Low grade skuamöz intraepitelyal lezyon)

LSIL-H: High grade skuamöz intraepitelyal lezyondan ayrılmayan low grade intraepitelyal lezyon

NICE: Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü

NCI: National Cancer Institute (Ulusal Kanser Enstitüsü)

PAP Smear: Papanicolaou smear

PCR: Polymerase Chain Reaction

RB: Retinoblastom

RNA: Ribonükleik Asit

SIL: Skuamöz Intraepitelyal Lezyon

SKB: Skuamo-kolumnar bileşke

TMA: Transkripsiyon Aracılı Amplifikasyon

TZ: Transformasyon zonu

UUR: Upstream Regulatory Region

VLP: Virus-like particles

WHO: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ÖZET

AMAÇ: Serviks kanseri bütün dünyada kadınlarda görülen en yaygın ikinci, Türkiye’de ise dokuzuncu sırada yer alan bir kanser türü olup her yıl yaklaşık 500.000 yeni vaka tanımlanmaktadır. Human papilloma virus (HPV) ile ilişkisi kanıtlanmış olan servikal kanserler; HPV enfeksiyonunun başlangıcı ile kanser gelişimi arasında uzun bir latent dönemin bulunması nedeniyle tarama programlarıyla erken evrelerde saptanabilmektedir. Çalışmamızın amacı sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) materyalinde florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR ve Cervista HPV 16/18) yöntemi ile Ümraniye Bölgesi’ndeki HPV prevalansını araştırmak ve benzer diğer çalışmalarla karşılaştırmasını yapmaktır.

MATERYAL VE METOD: Bu çalışmada Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde 01.11.2013 - 01.05.2015 tarihleri arasında patoloji laboratuvarında sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) ve florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR ve Cervista HPV 16/18) sistemi ile high risk HPV-DNA (HR HPV) açısından irdelenmiş toplam 1252 adet servikal materyal retrospektif olarak incelendi. Sıvı bazlı servikal sitolojiler; Bethesda 2001/ 2014 sistemine göre BHD, ASC-US, LSIL, ASC-H, LSIL-H VE HSIL olarak sınıflandırıldı. Kalan koruyucu solusyonlarda florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR ve Cervista HPV 16/18) sistemi ile 14 HR HPV tipi (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) ve Tip16/ Tip 18 pozitifliği araştırıldı.

BULGULAR: Anormal sitoloji oranımız %24.4, genel HPV prevelansımız %34.7’dir. Benign sitolojili olgularda HPV pozitifliği %18.7, ASC-US tanılı olgularda % 72.5, LSIL tanılı olgularda %83.3, ASC-H tanılı olgularda %87.8, LSIL-H ve HSIL tanılı olgularda %100 olarak saptanmıştır. HPV pozitifliği olan toplam 435 vakanın 310’u (%71.3) tip 16/18 dışı, 110’u (%25.3) tip 16, 17’si (%3.9) tip 18 açısından pozitif olarak bulunmuştur.

SONUÇ: HPV oranlarımız literatürlerde belirtilen batı ülkelerindeki oranlar ile benzerlik göstermektedir. Türk kadınları ile yapılan daha önceki çalışmalarla

karşılaştırıldığında HPV insidansında belirgin artış göze çarpmaktadır. Ülkemizdeki gerçek HPV prevelansı ve tiplerinin belirlenebilmesi için toplum tabanlı geniş sayıda hasta içeren serilere ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Human papilloma virus, servikal sitoloji, Türkiye

ABSTRACT

OBJECTİVE: Cervical cancer is the second most common cancer among women, with an estimated 500.000 new cases occurring each year in the world. According to Ministry of Health registry data, cervical cancer is the ninth most common cancer among female cancers in Turkey. Human papillomavirus (HPV) infection is the main etiological factor for cervical cancer and premalignant lesions of the cervix. The identification of a strong causal relationship has resulted in the development of tests for HPV nucleic acid detection. The aim of this study is to investigate the prevalence of HPV DNA among women with normal and abnormal cytology.

MATERIALS AND METHODS: The study population consisted of 1252 women (age, 18-75 years; mean, 38.81±9.96 years) attending a gynecological outpatient clinic between November 2013 to May 2015 in Umraniye Education and Research Hospital. In our clinic, cervical cancer screening were performed by the combination of HPV testing (Cervista HPV HR and Cervista HPV 16/18) and liquid-based cytology testing (ThinPrep Pap Test). Cytological samples were classified according to the Bethesda 2001/ 2014 system, als NILM, ASC-US, ASC-H, LSIL, LSIL-H, and HSIL. Residual liquid material from ThinPrep samples was used for HPV detection. Cervista HPV HR test is a qualitative test for the detection of DNA from 14 HR HPV types (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) and Cervista HPV 16/18 test is a genotyping test for detection of HPV 16 and 18. Both tests use the chemistry (Hologic, Inc), a signal amplification method for detection of specific nucleic acid sequences.

RESULTS: Abnormal cervical cytology rate was 24.4 %. The overall HR HPV prevalence was 34.7%. HR HPV was detected in 18.7% of NILM samples, in 72.5

% of ASC-US samples, in 83.3 % of LSIL samples, in 87.8 % of ASC-H samples, in 100 % of LSIL-H, and HSIL samples. Of all 435 positive samples, 310 (71.3) were HR HPV non 16/18; 110 (25.3%) were HPV 16; 17 (3.9%) were HPV 18.

CONCLUSIONS: HPV prevalence and type distribution in this study were similar to that reported worldwide at least in our study population. However , HPV prevalence was more common compared with previous studies reported from Turkey. Further population based prospective multicenter studies are necessary to determine non-hospital based HPV prevalence in Turkish women.

Key words: human papilloma virus, cervical cytology, Turkey

GİRİŞ VE AMAÇ

Serviks kanseri bütün dünyada kadınlarda görülen en yaygın ikinci kanser türü olup her yıl yaklaşık 500.000 yeni vaka tanımlanmaktadır (1). Yeni servikal kanser vakalarının %80'den fazlası gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkmakta ve vakaların yaklaşık %50'si kaybedilmektedir (2). Türkiye'de ise serviks kanseri kadınlarda görülen kanserler arasında dokuzuncu, kansere bağlı ölümler arasında on üçüncü sırada yer almaktadır (3). Human papilloma virus (HPV) ile ilişkisi kanıtlanmış olan servikal kanserler HPV enfeksiyonunun başlangıcı ile kanser gelişimi arasında uzun bir latent dönemin bulunması nedeniyle tarama programlarıyla erken evrelerde saptanabilmektedir. Günümüzde servikal kanser tarama programlarının önemli bir parçası olan HPV testleri dünya genelinde yaygın olarak kullanılmaktadır (4).

Bizim çalışmamızda Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 01.11.2013–01.05.2015 tarihleri arasında patoloji laboratuvarında sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) ve florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR ve Cervista HPV 16/18) sistemi ile high risk HPV-DNA (HR HPV) açısından irdelenmiş toplam 1252 adet servikal materyal retrospektif olarak incelendi. Sıvı bazlı servikal sitolojiler; benign hücresel değişiklikler (BHD), anlamı belirgin olmayan atipik skuamöz hücreler (ASC-US), high grade skuamöz intraepitelyal lezyondan ayrılmayan atipik skuamöz hücreler (ASC-H), low grade skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL), high grade skuamöz intraepitelyal lezyondan ayrılmayan low grade intraepitelyal lezyon (LSIL-H), high grade skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL) izlenenler şeklinde sınıflandırıldı. Florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR) sistemi ile 14 HR HPV-DNA (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) açısından HR HPV (-), HR HPV (+) olarak, HR HPV (+) olgular da MİX1 (51,56,66), MİX2 (18,39,45,59,68) ve MİX3 (16,31,33,35,52,58) grubu olarak dokümanite edildi. MİX2 ve 3 grubu da ayrıca florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV 16/18) sistemi ile Tip16 ve Tip 18 pozitifliği açısından incelendi.

Çalışmamızdaki amaç sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) materyalinde florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR ve Cervista HPV 16/18) yöntemi ile Ümraniye Bölgesi'ndeki HPV prevalansını araştırmak ve benzer diğer çalışmalarla karşılaştırmasını yapmaktır.

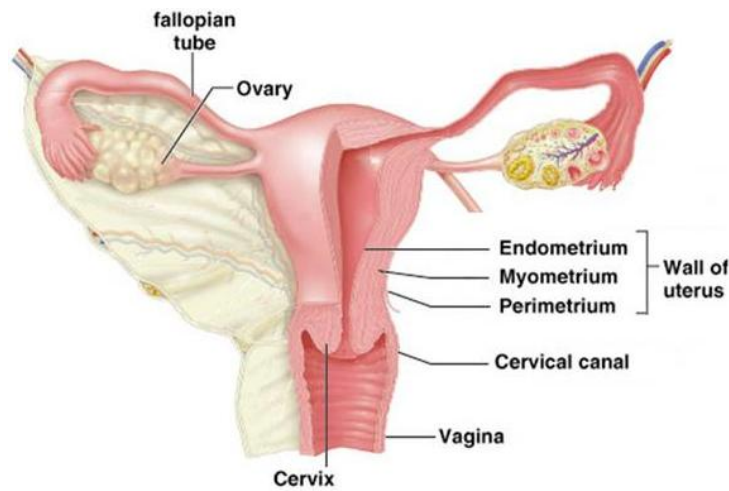


GENEL BİLGİLER

SERVİKAL ANATOMİ

Serviks (latince;cervix,boyun), uterusun fibromusküler yapıda silindirik veya konik şekilli alt segmentidir. Serviksin boyutları ve şekli yaşa, pariteye ve hormonal duruma göre farklılık göstermekte olup ortalama 3-4 cm uzunluğunda, 2,5 cm çapındadır. Serviks, anteriorda mesaneden yağ dokusu ile ayrılmış olup pelvis duvarı, lateral ve arka bölüm arasında uzanan kardinal ve uterosakral ligamentlerle desteklenir. Alt yarısına portio vaginalis adı verilir ve ön duvarı ile üst vagen içine uzanır. Serviks external os aracılığı ile vajinal kaviteye, internal os aracılığı ile de uterin kaviteye bağlanır. Eksternal os çevresine ektoserviks, internal os çevresine endoserviks, her iki os arasında bulunan bu bölüme de endoservikal kanal adı verilir (Şekil 1) (5-7).

Serviksin arteryel beslenmesi internal iliak arterden köken alan uterin arterin servikal ve vajinal dallarıyla sağlanır . Venleri arterlerine paralel seyrederek ve hipogastrik pleksusa drene olur. Lenfatik drenajı common, internal, eksternal iliak nodlar, parametrial ve obturator nodlar sağlar. İnervasyonu hipogastrik pleksustan sağlanır (5, 7).

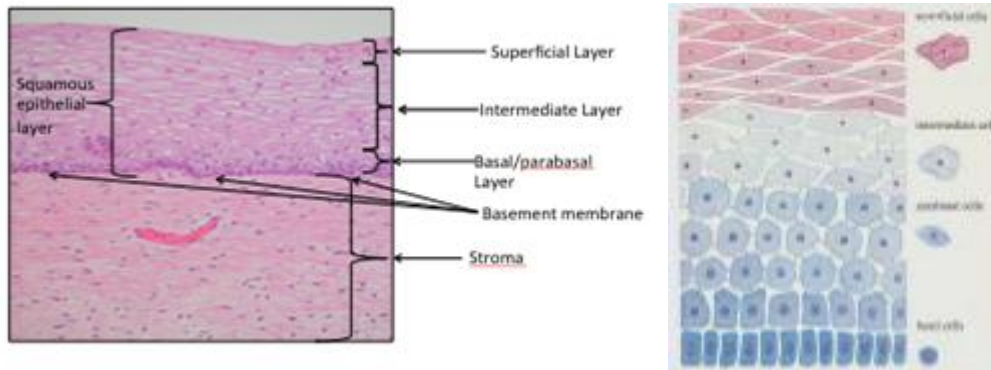


Şekil 1- Uterin serviksin anatomik yapısı

SERVİKAL EMBRİYOLOJİ VE HİSTOLOJİ

Kadın genital kanalı başlıca iki embriyolojik oluşumdan kaynaklanır: Çöломik mezodermden kaynaklanan müllerien kanallar ve ürogenital sinus. İntrauterin hayatın 6-7. haftalarında müllerian kanalın birleşmesi ile uterovaginal taslak meydana gelir ve aşağıda ürogenital sinüs ile invajinasyon yaparak birleşir. Tuba, uterus, serviks ve vagina 1/3 üst kısmı bu taslaktan gelişir. Serviks ve vajeni oluşturan müllerian kanal kolumnar epitel ile döşelidir. İntrauterin 4. ayda vajen ve serviksin kolumnar epiteli skuamöz metaplazi ile skuamöz epitele dönüşmeye başlar (8-10).

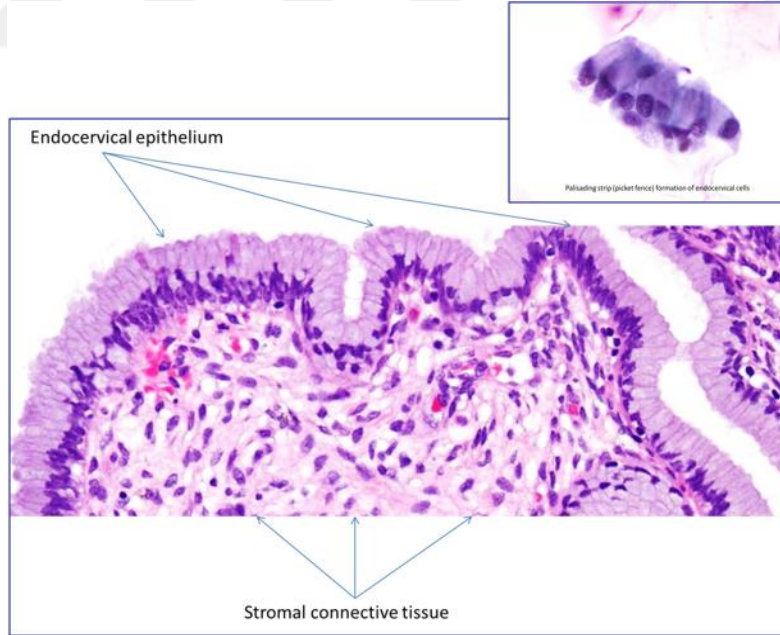
Serviksin intravajinal kısmı (portio vaginalis, ektoservix) çok katlı skuamöz epitel ile döşeli olup temelde vajen epiteli ile özdeştir. Ektoserviksin non-keratinize çok katlı skuamöz epiteli bazal/ parabazal, intermediate ve süperfisyel olarak adlandırılan hücre tabakalarından oluşmuştur. Bazal tabaka ince bir bazal membran üzerine yerleşmiş tek sıralı küçük veya alçak silindirik, iri çekirdekli hücrelerden oluşan aktif mitozun gerçekleştiği tabakadır. Bu tabaka üzerinde bulunan iri çekirdekli polihedral hücreler çok sıralı parabazal hücre tabakasını ve sitoplazmaları glikojenden zengin, vakuolizasyon içeren, yassılaşılmaya başlamış hücreler de dominant komponent olan intermediate hücre tabakasını oluşturur. En üstte ise yassılaşılmış, geniş sitoplazmalı, küçük piknotik çekirdekli, keratinizasyon gösteren hücrelerden oluşmuş süperfisyel hücre tabakası bulunur (Şekil 2) (5, 7, 9).



Şekil 2- Ektoservik histolojisi/ non-keratinize çok katlı skuamöz epitel

Endoservikal kanalı ve glandları döşeyen kolumnar epitel; müsin damlacıkları içeren çekirdekleri bazalde yerleşmiş tek tabakalı hücrelerdir. Kolumnar hücreler serviksi ve vajinayı ıslatan mukus maddesini salgırlar. Üst sınırda corpus uterinin alt kısmının endometriyal hücreleriyle, alt uçta ise skuamo-kolumnar bileşkede skuamöz hücrelerle birleşirler. Kolumnar epitelyum kanal içerisinde düz olarak uzanmaz ve kanal içerisine multiple longitudinal papiller projeksiyonlar yapar. Bu yapı endoservikal kript (endoservikal gland) formasyonu ile sonuçlanan stromada invajinasyonlar oluşturur. Silindirik hücreler arasında yer yer salgı yapmayan titrekt tüylü (silyalı) hücreler görülür; bunların başlıca görevi endoservikal mukusun yayılması ve mobilizasyonu olarak gözükmeğdir (Şekil 3) (5, 6, 8).

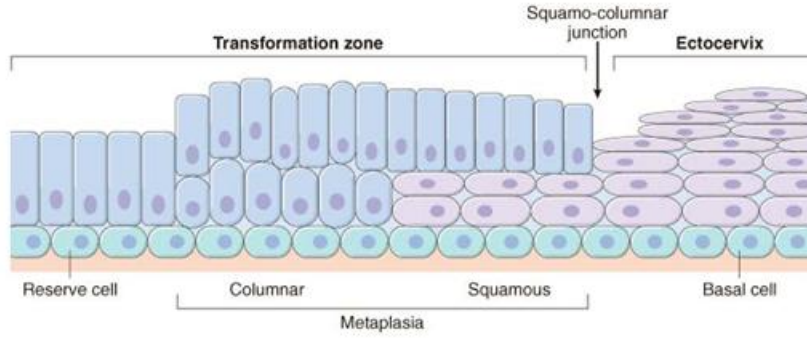
Serviksin stroması çok katlı kas lifleri ve elastik doku olan bağ dokusundan oluşur (5, 8).



Şekil 3- Endoserviksin histolojisi

TRANSFORMASYON ZONU/ SKUAMOKOLUMNAR BİLEŞKE (TZ/ SKB)

SKB endoserviksine ait kolumnar epitelin bitip ektoserviksin çok katlı yassı epitelinin başladığı yer olarak tariflenir. Eksternal osa göre yeri yaş, hormonal durum, gebelik gibi çeşitli fizyolojik durumlara bağlı olarak değişir. Doğum sırasındaki kolumnar epitel- çok katlı yassı epitelyum sınırına orjinal SKB denir. Doğumdan sonra (özellikle menarşdan sonra) uyarılara (travma, hormonal faktörler, PH değişiklikleri, enfeksiyonlar vs.) yanıt olarak skuamöz metaplazi oluşur. Bu yeni oluşmuş sınıra da fizyolojik SKB denir. Orijinal SKB ile fizyolojik SKB arasındaki bu sürekli değişim bölgesine transformasyon zonu denir ki; mitotik aktivitesi çok fazla olduğu için mutajenik ve karsinojenik etkilere çok hassastır. Serviksin prekanseröz lezyonlarının %90'ının bu bölgeden kaynaklandığı bilinmektedir (Şekil 4) (5, 8, 10).



Şekil 4- Transformasyon zonu/ skuamokolumnar bileşke

SERVİKAL NEOPLAZİ VE HPV İLİŞKİSİ

Tarihçe

M.Ö 500: Hipokrat tedavisiz hastalık olarak tanımlamıştır (11).

1900: Yetim bırakan hastalık. Her beş kadından birini öldürmesi, rahibelerde görülmemesi, ilk eşleri serviks kanserinden ölen kişilerin ikinci eşlerinin de aynı hastalıktan ölmesi dikkate alınarak epidemiyolojik çalışmaların temelleri atılmıştır (11).

1926: Aureli Babes sitolojik görüntüleme üzerine sınırlı sayıda yayın yapmıştır (12).

1928: Paponicolaou şu anda kullanılan sitolojik görüntülemeyi bulmuştur (12).

1941: Paponicolaou sitolojik görüntüleme üzerine yayın yapmış ve bu yayınlar geniş bir kitle tarafından okunup kabul görmüştür (12).

1943: Paponicolaou ve Trout altta yatan kanser ve kanser öncüllerini saptamak için uterus serviksinin pul pul dökülen hücrelerinden alınan örneklerle uyguladıkları pap sürüntüsü testini geliştirmişlerdir (13).

1977: HPV ile servikal kanser arasındaki ilişki ilk kez 1977 yılında zur Hausen tarafından bildirilmiştir (14).

1983: İlk kez HPV için dot-blod testi kullanılmıştır (15).

1988: Yeni bir sitolojik sistem olan “Bethesda Sistemi” tanıtıldı. 12-13 Aralık 1988’de ABD’de Bethesda’da National Cancer Institute önderliği altında uzman konsültanlar, ünlü sitopatologlar ve çeşitli tıbbi dernek temsilcilerinden oluşan bir komite toplanarak yeni ve tanımlayıcı bir rapor sistemi hazırladılar (16).

1991: Bethesda sistemi modifiye edildi (17).

1995: Dünya Sağlık Örgütü (WHO) jürisi HPV-16 ve HPV-18’in serviks kanserinden sorumlu olduğu sonucuna varmışlardır (18).

1996: FDA tarafından sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) onaylandı (19, 20).

1999: HC2 FDA tarafından yardımcı tarama testi olarak onaylanan ilk HPV testi oldu (21).

2001: 6-8 Eylül 2001'de ASCCP Ortak Görüş Konferansı Bethesda Maryland'da yapıldı. Büyük profesyonel bir grubun çalışmalarıyla üçüncü Bethesda toplantısı gerçekleştirildi (17).

2003: FDA tarafından sıvı bazlı sitoloji (Surepath) onaylandı(19, 20).

2003: FDA HPV DNA testlerini serviks kanseri taraması için onayladı (22, 23).

2008: HPV serviks kanseri ilişkisini ilk olarak gösteren zur Hausen tıp dalında Nobel ödülü aldı (5).

2012: ACOG (American College of Obstetrics and Gynecology) serviks kanseri için tarama önerilerini açıkladı (24).

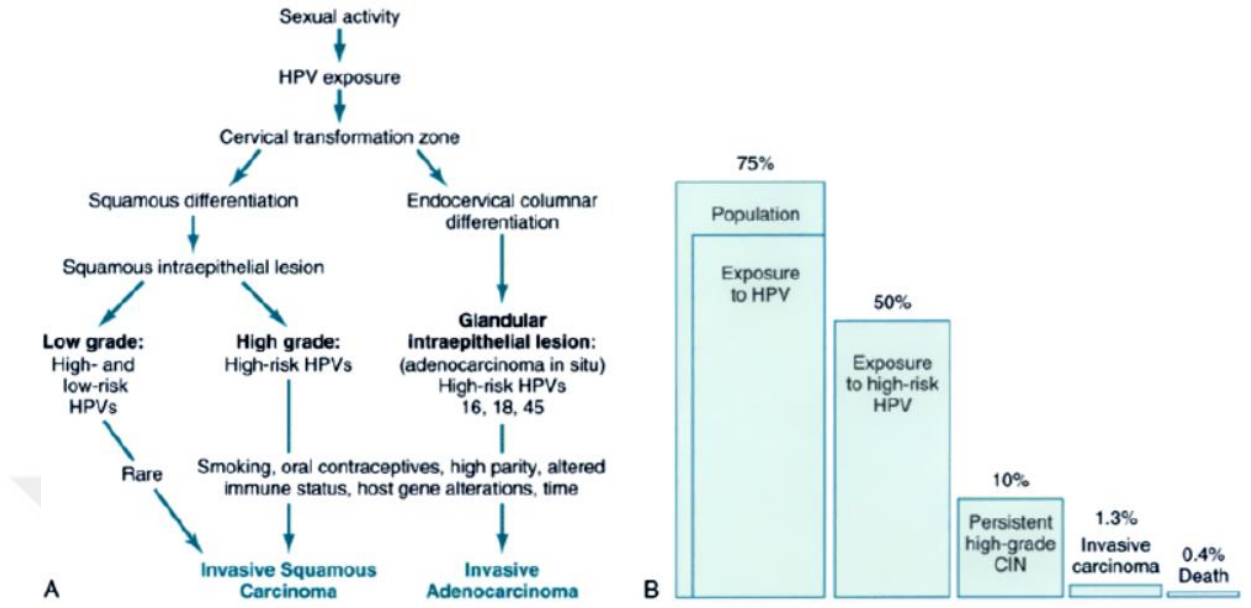
2013: Serviks kanseri tarama ve tarama aralıkları ile ilgili genişletilmiş rehberler yayınlandı (2012 Updated Consensus Guidelines for the Management of Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and cancer precursors) (25).

2015: Bethesda Sistem 2014 yayınlandı (26).

Epidemiyoloji

Epidemiyolojik çalışmalar serviks kanseri için majör risk faktörünün HPV enfeksiyonu olduğunu göstermiştir (1). Serviks kanseri ile HPV enfeksiyonu ilişkisi, akciğer kanseri sigara ilişkisinden daha sıkı ve özgün bir ilişkidir (27). Bu ilişki kanser epidemiyolojisinde şimdiye kadar belirlenmiş olan en güçlü nedensel ilişkidir (28, 29). İnsanlardaki başka hiçbir majör kanserin oluşması için gerekli tek bir neden bulunmamaktadır (30, 31). Serviks kanseri olgularının neredeyse tümünden (% 99,7) HPV DNA izole edilebilir. Dolayısıyla serviks kanseri sıklığında azalma HPV enfeksiyonunun tanınması, önlenmesi ve tedavi edilmesi ile mümkündür (27, 32). Özellikle tarama programları ile sıklıkla asemptomatik olan prekürsör lezyonlar tanınmakta ve bunlar etkili bir şekilde tedavi edilebilmektedir.

Aynı zamanda sigara içilmesi, ilk cinsel ilişkinin erken yaşta olması, düşük sosyoekonomik durum, cinsel temasla bulaşan hastalık ve multipartner öyküsü, ilk gebelik yaşının erken olması, ırk, immunsupresyon, oral kontraseptif kullanımı gibi faktörlerin de servikal neoplazi riskini arttırdığı bildirilmiştir (Şekil 5) (9).



Şekil 5- A-Servikal neoplazi patogenezinde öne sürülen basamaklar, B- Hayat boyu HPV ile enfekte olma ve serviks kanserinden ölme ile ilgili yaklaşık riskler.

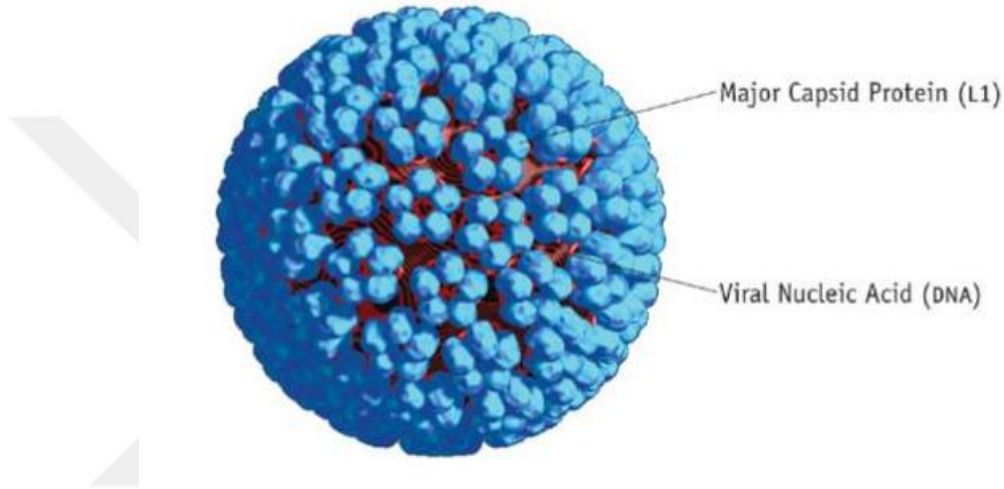
Patogenezi

Human Papilloma Virus

Servikal kanserlerin primer etyolojik ajanı olarak kabul edilen HPV, Papillomavirus ailesine ait küçük, zarfsız ikozahedral simetrik, çembersel çift zincirli bir DNA virusudur (Şekil 6) (33). Papillomaviruslar doğada son derece yaygın olarak gelişmiş vertebralılarda bulunurlar ve orijin aldıkları türe (insan , sığır), aynı tür içindeki genetik ilişki derecelerine göre sınıflandırılırlar. DNA homolojileri göz önüne alınarak bugüne kadar 200 farklı HPV tipi tanımlanmıştır (34, 35). HPV epiteliotropik bir virus olup vulvar, vaginal, penil ve anal kanser, ayrıca deride yaygın siğiller, anogenital siğiller, oral ve farengial papillom ve tekrarlayan respiratuar papillomatozis gibi deri ve mukozada çeşitli benign ve malign tümörlerin gelişmesi ile de ilgilidir (33, 34).

Alfa papilloma virus grubundan yaklaşık 40'dan fazla HPV tipinin anogenital traktı enfekte edebildiği bildirilmiş olup en sık görülen anogenital HPV

tipleri neoplazi oluşturma yeteneklerini tahmin edecek şekilde üç gruba ayrılabilir (1,5). Düşük onkojenik riskli (LR- HPV) grupta ; tip 6,11, 40, 42, 43, 44, 54, 61,70, 72, 81, 83, intermediet grupta; tip 26, 66, high onkojenik riskli (HR-HPV) grupta; tip 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 68, 73, 82 yer alır (35,36). HPV tip 16 ağırlıklı olmak üzere tip 16 ve 18 servikal kanserlerin %70'inde saptanmaktadır (1).



Şekil 6 -Human papilloma virusunun üç boyutlu modeli

Human Papilloma Virus genomu

HPV viral genomu üç ayrı alana ayrılabilir: üst regülatuar alan ‘upstream regulatory region’ (URR), ‘early region’ erken alan ve ‘late region’ geç alan. URR kodlama yapılmayan ve esas görevi viral replikasyonun regülasyonu ve erken bölgedeki aşağı sekansların transkripsiyonunun yapıldığı alandır (5).

Erken bölge virüsün erken yaşam döngüsünde önemli olan ve hücrel genomun konak genomuna yeni viral DNA oluşturmak üzere ilişkisini sağlayan proteinlerin transkripsiyonunda rol oynar. Geç bölge tam virionu oluşturmak üzere DNA’yı çevreleyen kapsid proteinlerinin kodlandığı bölgedir. HPV’nin erken alanında yedi farklı protein tanımlanmış olup bunlar E1, E2, E3, E4, E5, E6 ve E7 olarak isimlendirilmişlerdir. Viral replikasyon işlevini kontrol eden bu genlerden E6

ve E7 normal servikal hücrelerin neoplastik hücrelere dönüşümünü sağlayacak iki onkojenik proteinin kodlandığı major genlerdir (5, 37, 38).

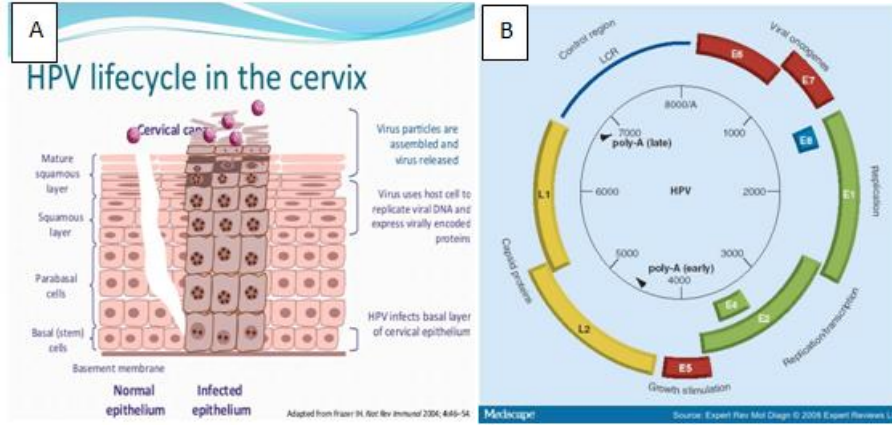
L1 ve L2 olarak tanımlanan proteinleri bölünmenin sonuna doğru transkribe olurlar ve major ve minör kapsid proteinlerini kodlarlar. L1 tarafından kodlanan protein kapsidde bulunan başlıca protein olup her HPV tipinde benzer olan proteindir. L2 tarafından kodlanan protein değişik HPV tipleri arasındaki antijenite farklılığını ortaya çıkarır (39).

Human Papilloma Virusu yaşam siklusu

Enfeksiyonun başlayabilmesi için enfeksiyöz partiküllerin servikal epitel bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak bazal tabaka hücrelerine ulaşması ve ana epitel hücrelerini enfekte etmesi gerekmektedir. Epitel bütünlüğünün bozulması bazen mikro travmalarla olmaktadır (Şekil 7-A) (5, 9).

DNA virusunun replikasyonu, konak hücrelerindeki replikasyon sistemlerine bağlıdır. E6 ve E7, hücre siklusunun inhibisyonunda engelleyici rol oynar. E6, p53'e; E7, RB'e bağlanarak bu proteinlerin azalmasına yol açar. Ayrıca E7, p53'ün transkripsiyonel aktivitesini engeller ve p21'i de inaktive eder. Böylece E6 ve E7, p53 ve RB hücre siklusu supresyon yollarını bloke eder. Bu viral proteinlerin tümör baskılayıcı gen ürünlerine afinitesi, HPV'nin onkojenik potansiyeline göre farklılıklar gösterir. E6 proteini, yüksek riskli HPV tiplerinden elde edilir ve p53'ün ubiquitin-bağımlı proteolizis yoluyla parçalanmasını artırarak inaktive olmasına neden olur. Böylece E2F transkripsiyon faktörü açığa çıkar ve hücre siklusunun ilerlemesi aktive olur (40, 41). E2F ayrıca, çok miktarda inaktif p16 ekspresyonu oluşturur. Siklin A ve siklin E salınımını artırarak p16'ın siklusa girmesini engeller (Şekil 7-B) (41).

Virusun fiziksel yapısı farklı durumlarda değişkenlik gösterir. Kanserde konak DNA'sına integre olurken ve birçok prekanseröz lezyonda ve kondilomda serbest (episomal) halde viral DNA bulunur (41).



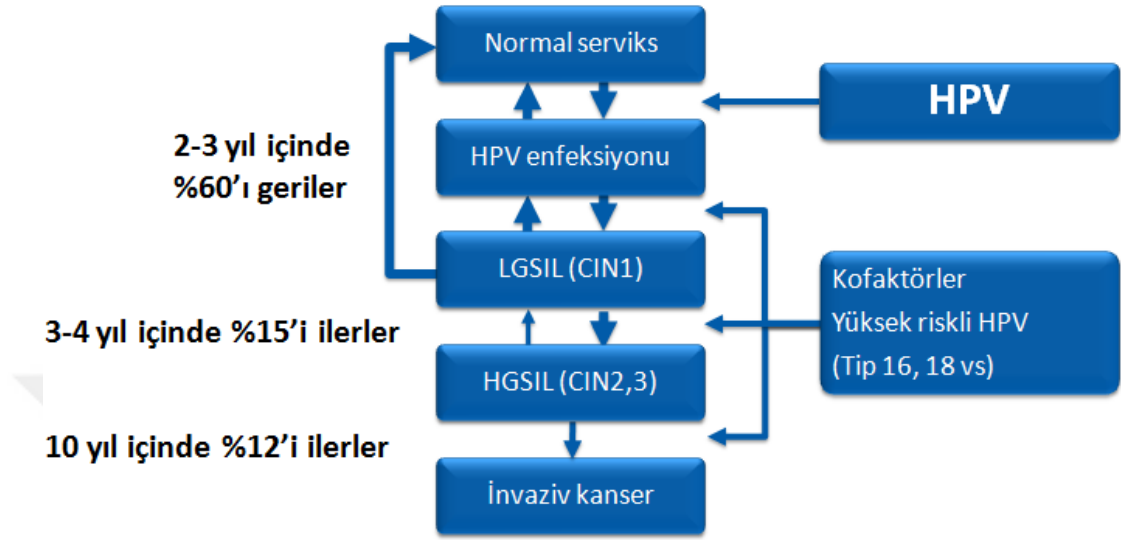
Şekil 7-A-Human papilloma virusun yaşam siklusu, B-Human papilloma virusun replikasyonu

Human Papilloma Virus enfeksiyonun seyri

Seksüel HPV enfeksiyonları, tipe bağlı olarak 3 olası sonuca yolaçar: Birincisi; hem erkek, hem kadında genital kondüloma aküminata oluşumudur. Sıklıkla tip 6-11 ile bağlantılı olup kendiliğinden 3-4 ayda gerileyebilir veya sayı ve/veya boyutları artabilir. Bu lezyonlardan nadiren yavaş bir seyirle in-situ karsinom gelişebilir. İkinci durum; latent/inaktif enfeksiyondur. Kadınların yaklaşık %10'unda HPV DNA'sı sitolojik olarak normal servikal epitelde görülebilir. Bunlar primer olarak düşük riskli tiplerdir (6,11, diğerleri). Üçüncü durum; yüksek riskli HPV ler ile bağlantılı penil, üretral, mesane, vaginal, vulvar, servikal intraepitelyal neoplazi ile sonuçlanan enfeksiyondur. Yüksek riskliler yüksek gradeli lezyon ve kanser ile, orta riskliler sıklıkla SIL ile, nadiren kanser ile bağlantılıdır. Bu tür enfeksiyonlar kansere yolaçma potansiyeli olan enfeksiyonlardır. Prospektif çalışmalar HPV DNA (+) %15-28 kadında 2 yıl içinde SIL gelişimini göstermiş olup HPV DNA (-) olanlarda ise bu oran %1-3'tür. Özellikle tip 16 ve 18'de progresyon fazladır (%40) (Şekil 8) (42).

Yakın zamanda yapılan ve oldukça yüksek duyarlılık ve özgüllükte HPV DNA saptama tekniklerinin kullanıldığı çalışmalarda , daha eski dönemde yapılan çalışmaların aksine, hemen hemen tüm CIN lezyonlarında ve invaziv kanserlerde HPV DNA bulunduğu saptanmıştır. HPV DNA sırasıyla ASCUS'ta %30,8 LSIL'de %63,2 HSIL'de %83 olarak pozitif bulunmuştur (43). Servikal intraepitelyal lezyon

gelişmiş vakaların regresyon veya invaziv karsinoma progresyon oranları da şu şekilde belirtilmiştir (Tablo 1) (44).



Şekil 8- HPV'nin klinik seyri

Tablo 1- CIN gelişmiş vakaların klinik seyri

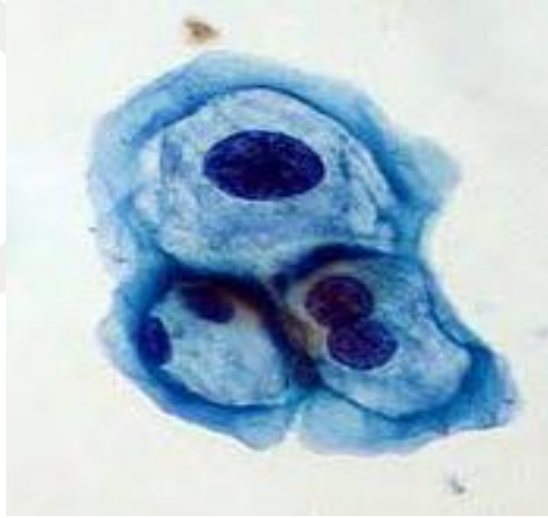
	Regresyon	Persistans	CIN 3'e Progresyon	İnvaziv Kanser
CIN 1	%60	%40	%10	%1
CIN 2	%40	%40	%20	%5
CIN 3	%33			>%12

Human Papilloma Virus enfeksiyonunun sitolojik etkileri

Servikal sitolojilerde HPV enfeksiyonunun tanısı koilositozun tesbitine dayanır. Koilositozis terimi; nükleer irileşme, hiperkromazi, kromatin yapısının bozulması, nükleer membran düzensizliği gibi nükleer anormallikler ve sitoplazmik

vakualizasyon gösteren hücreler için kullanılır. Bu hücreler yaklaşık olarak bir intermediet hücre çapında, bazofilik veya orangofilik sitoplazmalı, iri ve poligonal hücrelerdir. Nükleus intermediet hücre nükleusundan en az 3 kat daha büyük olup hafif hiperkromazi görülebilir. Sitoplazmik halo perinükleer yerleşimli, net-keskin sınırlı, üç boyutlu görünümde olup ektoplazmada yoğunlaşma izlenir. Tek tek ya da gruplar halinde bulunabilirler (Şekil 9) (45).

Koilositotik değişiklikler sitopatik etki olarak bilinir ve genel olarak düşük grade lezyonlarla birlikte. Koilositin varlığı , LSIL göstergesi olmakla birlikte eşlik eden HSIL ve hatta invaziv kanser olasılığını ekarte ettirmez aksine riski artırır (45).



Şekil 9- LSIL hücresi, HPV etkisi (koilosit)

Servikal Neoplazilerde Tarama ve Tanı Yöntemleri

Klinik hastalık evresine ilerlemiş HPV enfeksiyonlarının tanısı, mevcut lezyonların görsel muayene ile değerlendirilmesi veya enfeksiyona ait belirtilerin varlığıyla konulabilirken, subklinik HPV enfeksiyonları Pap yayması incelemeleriyle veya rutin muayeneler sırasında tespit edilebilmektedir. Morfolojik, sitolojik ve kolposkopik inceleme sonuçlarının negatif olduğu latent asemptomatik HPV

enfeksiyonlarının tanısı ise, ancak enfeksiyon bölgesindeki doku veya hücrelerde viral nükleik asitlerin gösterilmesiyle konulabilmektedir (46,47).

Sitolojik yöntemler

1. Konvansiyonel PAP Smear
2. Sıvı bazlı teknikler (ThinPrep, SurePath)
3. Kompüterize teknikler (AutoPap-Papnet)

1. Konvansiyonel Pap smear testi

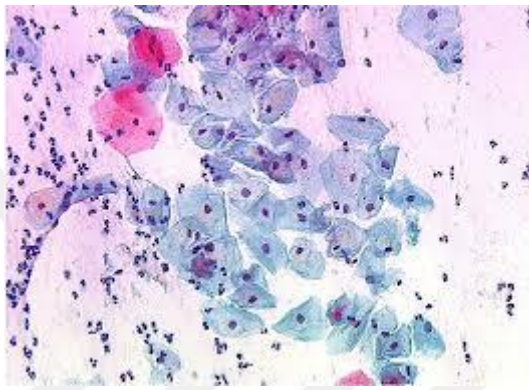
Pap smear testi dökülen servikal hücrelerin toplanıp incelenmesi esasına dayanan sitolojik bir tarama testidir. Test ilk kez 1928 yılında George Papanicolaou tarafından tanımlandığı için adına ithafen Pap smear şeklinde adlandırılır. Sitolojik yöntem, hızlı ve kolay tanıma olanağı sağlar, dokuya zarar vermez ve sık olarak hücre örneği almak açısından elverişlidir (8).

Sitolojik incelemenin yanlış negatif oranları ilk yayınlarda %40 olarak bildirilmiştir. 1947 yılında Dr. Ayre'nin sayesinde (Ayre Spatülü) yanlış negatiflik %20'lere düşmüştür (%10- 35). Yanlış pozitiflik ise % 5'tir (8). Pap smear hataları genel olarak örnek alımında hata, laboratuvar hatası ve laboratuvar kalite denetiminde yetersizlik gibi nedenlere bağlıdır. Konvansiyonel Pap smear taramasının sensitivitesi %11-98, spesifisitesi %14-97, yanlış negativitesi %6-55 arasındadır ve yanlış negativitenin %70'i anormal hücre içermemesi nedeniyle gerçek negatif olarak sınıflandırılabilirken sadece %30'u laboratuvar hatasına bağlıdır (48, 49). Smearde hücre bulunmaması örnekleme ve hazırlama hatalarından kaynaklanır ve son derece basit bir işlem olarak adlandırılabilen Pap smearin alınmasından cama yayılmasına dek geçen süreçte hücrelerin %80'i kaybedilebilmektedir. Cama yayılabilen hücreler arasında anormal hücreler saptandığında, havada kurumaya bağlı artefaktlar, ortamda bulunabilen kan, mukus, inflamatuvar debris gibi kontaminasyonlar veya yaymanın kalın yapılmış olması smearin yorumlanmasında hatalara yol açabilmektedir (50). ABD'de servikal kanser hastalarının %50'sinin smear yetersizliği veya yokluğuna bağlı olduğu düşünülmektedir (Şekil 10) (51).

Pap smear alımı konusunda standardizasyon, 2000 yılında ortaya konan Amerikan Sitopatoloji Derneği kriterleri ile sağlanmış olup bu kriterlerin

uygulanması daha uygun teknikle smear alınmasını ve dolayısıyla yanlış negativite oranının düşmesini sağlayacaktır (52).

Dünya Sağlık Örgütü, 35 – 40 yaş arası kadınlarda 1 kez yapılacak Pap smear testinin invaziv kanser riskini %65 azaltabileceğini öne sürmüş olsa da, sensitivitesi %50 veya daha az olan bir testin bu başarıyı sağlaması güçtür (53). Bu tek bir testin birçok kadında servikal lezyonu saptayamayacağını göstermektedir. Bu sınırlı duyarlılığa rağmen arka arkaya yapılan üç test de negatifse hastada servikal anormallik olma şansı %1'den azdır (54).



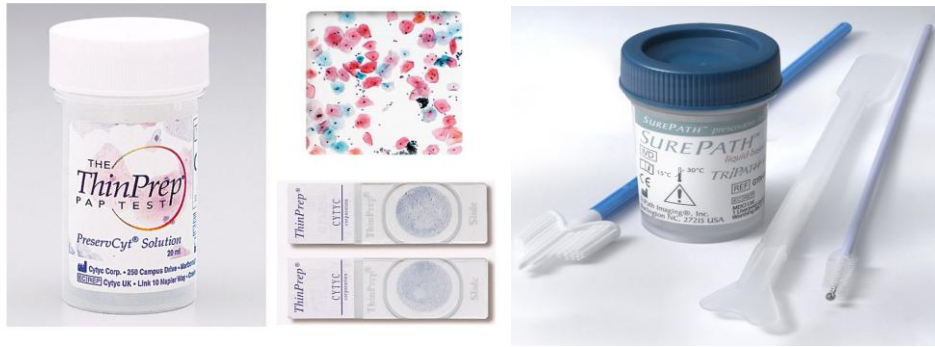
Şekil 10- Konvansiyonel Pap Smear

2. Sıvı bazlı teknikler (ThinPrep, SurePath)

FDA tarafından 1996 yılında ThinPrep'in, 2003 yılında ise SurePath'in onaylanması sıvı bazlı sitolojik yöntemlerin klinik kullanıma girişini hızlandırmıştır . Sıvı bazlı sitolojinin, yüksek gradeli lezyonların saptanmasında %16-100 artış ve yetersiz smear raporlanmasında düşüş sağladığı birçok çalışmada rapor edilmiştir (19, 20).

Sıvı bazlı tekniklerin temel prensibi; sadece değerlendirilmesi gereken servikal epiteliyal hücreleri seçerek ayırmak, bunları küçük bir alanda lam üzerine yaymak ve patoloğun veya sitoloğun değerlendirmesini kolaylaştırmak, zamandan tasarruf sağlamak ve hücre konsantrasyon kaybına engel olmaktır. Klinisyen skuamo-kolumnar bileşkeden ve eksoserviksin transformasyon bölgesinden spatül ve fırça ile örnek aldıktan sonra örnekler fiksativ solüsyonu ile dolu bir şişeye daldırılmakta ve cam lam üzerine hücrelerin yayılmasından ziyade hücreler şişe içindeki fiksatife toplanmaktadır. Lam yerine sitoloji laboratuvarına fiksativ ile dolu

şişe etiketlenerek gönderilmektedir. Laboratuarda bir makine tarafından 40,000 epitelyal hücre ince bir tabaka halinde lama yayılarak hazırlanmaktadır. Hazırlanan preparat klasik Papanicolaou boyası ve ya özel boyalar ile boyanmakta ve sitolog ya da sitopatologlar tarafından değerlendirilmektedir. Birçok çalışmada sıvı bazlı bu teknik sayesinde daha çok tanısal servikal hücrenin toplandığı ve örnekten hazırlanan preparatlarda hücre kümeleşmesi, kan ve yangısal değişikliklere bağlı artefaktların daha az olduğu gösterilmiştir (Şekil 19). Böylece daha iyi örnek hazırlanmakta ve daha iyi yorum yapılması sağlanmaktadır (54). Sıvı bazlı tekniklerle taranması gereken hücre sayısının ve kalitesinin arttığı daha küçük bir alan incelenmekte, yetersiz örnekleme oranı azalmakta ve daha da önemlisi aynı yöntemle istenirse aynı hastadan ikinci bir işlem yapmaksızın tekrar test değerlendirmeleri yapılabilmektedir. Bu yeni yöntemlerle HSIL, kanser ve LSIL olgularında daha yüksek sensitivitelere ulaşılmakta ve aynı zamanda HPV testinin (primer/ Refleks Test/ co-test) de yapılabilirliği gibi avantajları bulunmaktadır. Bunun yanında maliyetinin yaklaşık 8-10 dolar daha yüksek ve uygulamasının da konvansiyonel yöntemle göre biraz daha zor olduğu bilinmektedir (Şekil 11) (39).



Şekil 11- Sıvı bazlı yöntem (ThinPrep ve SurePath)

Sıvı bazlı sitolojinin avantajları şu şekilde sıralanabilir (45):

Spesimenin hazırlanması aşamasında,

- Tüm spesimeni elde etmeye olanak vermesi
- Uygun bir fiksasyona olanak sağlaması, kullanılan sıvı fiksatifin tüm hücrelerin transferini sağlayabilmesi
- Homojen bir örnekleme imkanı tanınması, anormal hücrelerin homojen dağılımı

- Mukus, debris vb. spesimenin incelenmesini zorlaştıran faktörlerin eliminasyonu
- Sonuçta smearin teknik kalitesinde artış sağlaması
- Ayrıca eş zamanlı HPV DNA-RNA bakılabilmesine olanak sağlaması

Sonuç bölümünde ise,

- Yetersiz ve reaktif/reperatif sonuçlarında azalma,
- En çok karışıklığa neden olan sonuç olan ASCUS oranında azalma,
- Premalign lezyonların saptanmasında artış,
- Pozitif prediktif değerinde artış,
- Glandüler lezyonlarda yalancı (+)'lik oranının düşmesi.

Konvansiyonel sitoloji ile LBS'nin tanı doğruluğunun karşılaştırılmasında merkezler arasında gözlemler değişmekle birlikte; ilk çalışmaların sonuçları, sıvı bazlı sitolojinin LSIL ya da daha ileri lezyonları saptamada konvansiyonel sitolojiye göre duyarlılığının daha yüksek olduğu yönünde olmuştur (55). On yıl sonra yapılan bir meta-analizde ise duyarlılık ya da özgüllük açısından bir fark izlenmemiştir yine de farklı çalışma sonuçları arasında belirgin farklılıklar bildirilmektedir (56). Ulusal Sağlık ve Klinik Mükemmellik Enstitüsü (NICE), Sağlık Teknolojisi Değerlendirme çalışmasına dayanarak LBS'nin konvansiyonel sitoloji ile “en azından aynı duyarlılıkta ve belki de daha iyi olabileceğine” ve yukarıda listelenen diğer büyük avantajlarına dikkat çekerek LBS'nin kullanımını tavsiye etmektedir (57). LBS; önceleri ‘sınırlı yeterli’ kategorisinde yer alan örneklerde eksuda, kan veya havada kuruma artefaktlarını neredeyse tümüyle ortadan kaldırmaktadır (58).

Dunton tarafından yapılan derlemede ince tabaka, sıvı bazlı sitolojinin anlamlı olarak daha az yetersiz ve 'yeterli fakat sınırlı' örnek tanılarına neden olduğu ve daha çok hastada düşük ya da yüksek dereceli lezyon tanısı konduğu bildirilmiştir. ‘Sağlık Bakımı Araştırma ve Kalite Kuruluşu’ ilgili literatürü derleyerek şu sonuca varmıştır: “ThinPrep için konvansiyonel sitoloji ile karşılaştırıldığında relatif gercek pozitiflik oranı 1.13 ve relatif yalancı pozitiflik oranı 1.12’dir. Bu durum ThinPrep için daha yüksek duyarlılık ancak daha az özgüllük ön görmektedir.” Bu yeni teknolojinin maliyeti klasik Pap smear testinden daha yüksektir ancak daha duyarlı bir test olduğundan daha az tarama aralığı gereksinimi yüksek maliyeti dengelemektedir. Sıvı bazlı sitoloji hem tarama hem de

sitolojik yorumlama hatalarından kaynaklanan yalancı negatif sonuçların oranını azaltmaktadır (54).

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 2002-2003 yılları arasında ThinPrep ve konvansiyonel sitolojiyi karşılaştıran, 5000 poliklinik hastasını kapsayan, bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarında; sıvı bazlı sitoloji ile yetersiz ve reaktif/reperatif değişiklik smear sonuçlarında azalma, mikroorganizma tanısında artış, ASC-US tanısında azalma, ASC-US/ LSIL oranında azalma, yüksek gradeli lezyonların saptanmasında artış saptanmıştır. Konvansiyonel sitoloji için pozitif prediktif değer 16.6, sıvı-bazlı sitoloji ile 22.2 bulunmuştur (59, 60).

Aşağıdaki tablolarda görüldüğü gibi her iki yöntemi karşılaştıran bir çok çalışma yapılmış ve bunlardan sadece bir iki küçük çalışma dışında hepsinde sonuçlar sıvı bazlı sitoloji lehine bulunmuştur (Tablo 2, 3) (60).

Tablo 2- Konvansiyonel Sitoloji ile Sıvı Bazlı Sitolojiyi Karşılaştıran Split Sample Çalışmalar

'Split Sample' Çalışmalar						
Çalışma	Hasta Sayısı	SIL			Yetersiz	
		K	T	%	K	T
Lee1997	6747	%8	%9.4	%18	%1.6	%1.9
Roberts1997	35560	%2	%2.3	%11	%3.5	%0.7
Corkill1997	1583	%2.7	%5.6	%109	-	-
Shield1999	300	%7	%8.3	%19	%17.3	%6.3
Wang1999	972	%4.4	%6	%34	-	-
Hutchinson1999	8636	%4.9	%5.2	%6	-	-
Caste2003	2585	-	-	-	%9.3	%13.1

Tablo 3- Konvansiyonel Sitoloji ile Sıvı Bazlı Sitolojiyi Karşılaştıran ‘Direct To Vial’ Çalışmalar

Çalışma	Hasta Sayısı (K/ThinPrep)	SİL			Yetersiz	
		K	T	%	K	T
Weintraub,98	13067/18247	%1	%2.9	% 190	%0.7	%0.3
Papillo,98	18569/8541	%1.6	%2.5	%56	%0.2	%0.4
Bolick,98	39408/10694	%1.1	%2.9	% 164	%1	%0.3
Dupre,98	22323/19351	%1.2	%1.7	%40	%2	%3.8
Guidos,99	5423/9583	%1.3	%4.7	% 262	%1.2	%0.5
Carpenter,99	5000/2727	%7.7	%10	%36	%0.6	%0.3
Diaz,99	74756/56339	%1.8	%3.2	%79	%0.2	%0.7
Weint,2000	129619/39455	%0.6	%2.3	% 141	%0.3	%0.2

3. Bilgisayar destekli sistemler

Bu teknikler Autopap, Papnet, ThinPrep PapTest Imaging System gibi çalışma prensipleri hücrelerin tanınma yeteneğini veya anormal hücreleri tanıma yeteneğini arttırmaktan geçen sistemlerdir. Günümüz fiyatlarına baktığımızda maliyeti yüksek olarak görülmektedir. 1990’lı yılların ortalarında uygulanır hale gelmişlerdir (39).

Autopap primer tarama sistemi:

Primer taramada kullanılabilen küçük tekniklerde de uygulanabilecek bir sistemdir. Bu sistemin temel mantığı normal hücreleri veya normal slaytları seçerek bir kenara koymak, anormal hücre bulunma olasılığı bulunan slaytları ayırarak bu slaytları manuel taramaya yönlendirmektir (39).

Daha yakın zamanda kalite kontrolünde daha yoğunluklu olarak kullanılan AutoPap 300 QC tarama sistemi günümüzde biraz daha yoğun olarak kullanılmakta, bu sistem daha çok primer taramada kullanılmakla birlikte manuel negatif smearlerin taranmasında veya başka bir deyişle kalite kontrolünde kullanılmaktadır. 1999

yılında yayınlanan bir çalışmanın sonucuna baktığımızda daha önce manuel olarak negatif kabul edilen smearler de veya slaytlarda HSIL oranının gerçekte %5 kat oranında LSIL oranında %2 kat daha arttığı saptanarak, bu sistemle sensivitenin yükseldiği negatiflik oranının da düşürüldüğü bildirilmiştir (39).

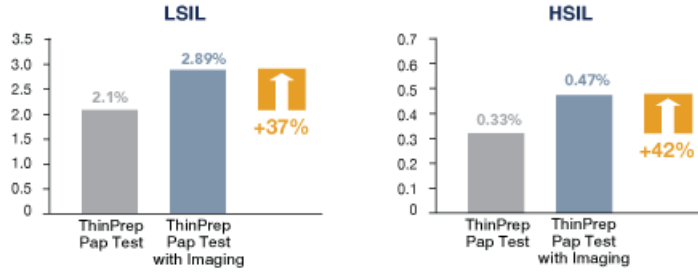
PapNet sistemi:

PapNet sistemi günümüzde kısmen değerini kaybeden ve henüz yeni versiyon cihazların üretilmediği büyük klinikler ve patoloji laboratuvarları için uygun bir sistemdir. AutoPap sisteminde olduğu gibi PapNet sisteminde de yalancı negatiflik oranının düşürüldüğü ve yalancı pozitiflik oranının da bu yöntemle yapılan taramalarda düşürüldüğü görülmektedir. Kompüterize tarama sistemleriyle gerçekten yanlış negatiflik oranı düşürülmekte ama günümüz teknolojisiyle bu teknolojilerin biraz daha geliştirilmesi gerektiği kanısı yaygındır. Bunun temel nedenlerinden biri maliyetinin yüksek oluşudur. Kompüterize tarama tekniklerinde konvansiyonel slayt yaymaları kullanılabileceği gibi aynı zamanda sıvı bazlı yayma sistemleri de birlikte kullanılabilmektedir (54, 60).

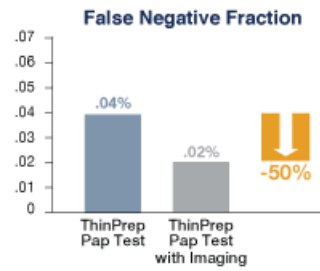
ThinPrep PapTest Imaging System:

ThinPrep PapTest Görüntüleme Sistemi ThinPrep slaytlarını otomatik bir mikroskop ile tarayan bilgisayar destekli bir sistemdir. Çalışma prensibi DNA kapsamına göre büyük, irregüler ve koyu nükleuslu hücreleri anormal olarak tanımlamasıdır. Her bir slayt cihaz tarafından taranır ve büyük, irregüler, koyu nükleuslu hücre ya da hücre grupları içeren 22 alan işaretlenir. Sitoteknolog ya da patoloji uzmanı tarafından işaretli alanlar incelenir. Bu alanlardaki hücrelerin intraepitelyal lezyon açısından negatif olduğu düşünülürse slayt normal olarak değerlendirilir, ancak şüpheli hücre ya da hücre grubu varlığında tüm slayt patoloji uzmanı tarafından tekrar manuel olarak taranır. Biyopsi ile konfirme edilmiş bağımsız çalışmalar bu şekilde dual incelemenin (ThinPrep PapTest Görüntüleme Sistemi ve sitoteknolog) tek manuel incelemeye göre anormal slayt tesbitini arttırdığını göstermiştir. 2007 yılında Miller ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ThinPrep PapTest Görüntüleme Sistemi ile manuel ThinPrep PapTest incelemesini karşılaştırmışlardır. Buna göre ThinPrep PapTest Görüntüleme Sistemi ile LSIL tespitinde %37, HSIL tespitinde %42 oranında artış (Şekil 12) ve false-negatiflik oranlarında da %50 azalma saptamışlardır (Şekil 13) (61). Kliniğimizde de halen

Hologic ThinPrep PapTest Görüntüleme Sistemi ile dual inceleme yapılmakta şüpheli slaytlar manuel taramaya yönlendirilmektedir.



Şekil 12- LSIL ve HSIL tespitinde ThinPrep PapTest Görüntüleme Sistemi ile manuel ThinPrep PapTest incelemesinin karşılaştırılması



Şekil 13- ThinPrep PapTest Görüntüleme Sistemi ile manuel ThinPrep PapTest incelemesinin false-negatiflik oranlarının karşılaştırılması

Tüm bu bilgisayar destekli sistemlerde sıvı bazlı, ince tabaka preparatlar kullanıldığında zemin daha temiz olacağından ve daha az küme yapan hücre grupları olacağından sonuçlar daha yararlı çıkmaktadır. Komputere tarama teknikleri + LBP ile sensitivite ve hasta grubu yakalama oranlarının %98'lere çıktığı belirtilmiştir. Bilgisayar destekli sistemin maliyeti daha yüksek gibi görünse de 24 saat kesintisiz hizmet verebileceği ve sito-teknikerlerin primer taramada daha az iş yapacağı düşünülürse avantajlı görülmektedir (54, 60).

Visüel yöntemler (39)

1. Asetik asit testi (VİA/VİAM)
2. Spektroskopi

3. Speculoskopi
4. Servikografi
5. Kolposkopi

1.Asetik Asit Testi (VIA/VIAM)

Özellikle düşük gelirli ülkeler için alternatif tarama şeklidir. High grade lezyonlar için sensitivitesi ortalama % 76, spesifitesi daha düşüktür. Sitoloji ile verifiye edilmiş çalışma sayısı çok azdır. Transformasyon zonunda, skuamokolumnar bileşkeye yakın, iyi sınırlı, opak, asetowhite lezyonlar pozitif sonuç olarak değerlendirilir. Asetowhite alan yokluğu, iyi tanımlanamayan, translusent asetowhite alan, polip, nabothi kisti negatif sonuç olarak değerlendirilir.

Avantajları; high grade lezyonların tanısında sitoloji kadar sensitiftir. Sitolojiden daha basit ve daha kolay öğrenilebilir. Sitoloji ve HPV testlerinden daha ucuzdur. Hemen sonuç veriyor ve tek seansta tanı ve tedavi sağlıyor. Dezavantajları; spesifitesi düşük (% 70-80), pozitif test oranı yüksek (% 10-35), pozitif prediktif değeri düşüktür (% 10-30). Bu nedenle over treatment sorunu vardır. Yalnızca ekto-servikste lezyonların tanısı içindir. Halen özellikle Hindistan, Peru, Güney Afrika gibi ülkelerde araştırma çalışmaları sürüyor. Çalışmaların çoğunda sitoloji ile konfirme edilme eksikliği vardır.

2. Spektroskopi

Spektroskopi basitçe servikal dokuya gönderilen ve geri gelen ışığın değerlendirilmesidir. Bu muayene sırasında asetik asit kullanılmaz. Yansıyan ışığa göre dokular normal veya hastalıklı olarak değerlendirilir. Anormal doku ışığı çok daha değişik yansıtacaktır. Hastalıklı dokuda hemoglobin konsantrasyonu, mukozal kalınlaşma, kapiller perfüzyon, nükleer oran, gibi değişiklikler hastalıkla ilgili optik bir imza oluşturacaktır. Bu teknoloji gelişme halindedir. Sensitivite oranları % 62-92 arasındadır.

3. Speculoskopi

Serviks yüzeyine asetik asit sürüldükten sonra özel bir ışık kaynağı kullanılarak dokusal değişiklikler değerlendirilir.

4. Servikografi

Serviks yüzeyine asetik asit sürüldükten sonra serviksin fotoğrafı çekilir. Daha sonra bu resim bir uzman tarafından yorumlanır. Sitolojiye nazaran sensitivitesi daha da düşüktür.

5.Kolposkopi

Kolposkopinin kelime anlamı vagina içine bakmaktır (colpo ve scope) (8). Sitoloji ve kolposkopi birbirine rakip değil, tam tersine birbirini tamamlayıcı yöntemlerdir. Kolposkopi ise pozitif sitolojik bulguların değerlendirilmesinde kullanılır. Şüpheli alanlardan biyopsi yapılır. Sonuç olarak sitolojik, kolposkopik ve histolojik verilerin birlikte incelenmesiyle hastaya en doğru yaklaşım yapılmış olur. Her kolposkopik incelemenin amacı en az invaziv serviks kanserinin dışlanması olmalıdır.

Kolposkop, parlak ışıktaki serviksin 6-40 kez büyütülerek direkt incelenmesini sağlayan stereoskopik bir mikroskoptur. Servikal kolposkopinin amacı, transformasyon zonunda, serviks üzerinde ya da servikal kanalda bulunan lezyonların tanımlanması, prekanseröz serviks lezyonlarının varlığının araştırılması ve anormal pap-smear sonucunda biyopsi yapılacak alanların tesbit edilmesidir (7,8).

Uzman biri tarafından yorumlandığında kolposkopinin sensitivitesi ve spesivitesi % 90 civarındadır. Teorik olarak gelişmekte olan ülkeler için ideal bir tarama yöntemi olabileceği ifade edilmektedir. Her ne kadar kolposkopi aleti pahalı olsada kullanıma bağlı olarak daha sonraki maaliyeti düşürecektir.

Moleküler yöntemler

1. Direkt Hibridizasyona dayalı yöntemler

- Southern blot hibridizasyon (SBH)
- Dot blot hibridizasyon (DBH)
- Filtre in situ hibridizasyon (FISH)

2. Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri

- ✓ Sinyal amplifikasyon yöntemleri
- Hybrid Capture testi (HC) 1 ve 2 (Digene, ABD)
- NextGen (Qiagen, Almanya)
- Invader ASRs (Cervista HPV HR ve 16/18, Hologic, ABD)

✓ Hedef amplifikasyon yöntemleri

- PCR
- Gerçek zamanlı / real-time PCR (Cobas 4800 HPV Test, Roche, ABD)
- Tipe özgül PCR
- Konsensus PCR (MY09/11, GP5+/6+, PGMY09/11, SPF 10)
- Multipleks PCR (M-PCR)
- Nested PCR

✓ HPV-RNA Amplifikasyon Testleri

- NASBA (Pre Tect HPV Proofer, NucliSENS EasyQ HPV)
- Gerçek zamanlı ters tanskriptaz PCR (RT-qPCR)
- Transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) (APTIMA HPV Assay) (47)

Dünya genelinde kadınlar arasında en yaygın ikinci kanser olan servikal kanserin tarama testleriyle önlenabilir olması, başlıca servikal yayma (smear) örneklerinin sitopatolojik incelemeleri ve HPV-DNA/RNA testlerinden oluşan tanı-tarama testlerinin önemini artırmıştır. Buna paralel olarak birçok ticari ve kullanıcı tasarımı (in-house) test geliştirilmiş ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA, Food and Drug Administration), bazı ticari testlerin HPV enfeksiyonlarında yardımcı tanı-tarama testi olarak ve belirli tipler için genotiplendirme amacıyla kullanılabileceğini onaylamıştır (62).

HPV enfeksiyonlarının tanısı için geçmişte kullanılan filtre in-situ hibridizasyon, *Southern blot* (SB) hibridizasyon, *dot blot* (DB) hibridizasyon ve hibrid yakalama (capture) tüp deneyleri gibi yöntemler düşük duyarlılıkları nedeniyle artık kullanılmamaktadır. Günümüzde klinik örneklerde HPV varlığını saptayabilmek için geliştirilmiş yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip çok sayıda tanı tekniği bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın kullanılan ve kabul görenler sinyal amplifikasyonuna dayalı teknikler, hedef amplifikasyonuna dayalı teknikler (konsensus veya tipe özgül primerlerin kullanıldığı gerçek zamanlı PCR temelli yöntemler ve transkripsiyon bazlı sistemler) ve PCR ürünlerinin saptanması ve analizinde kullanılan çeşitli yöntemler olmak üzere üç ana kategoride

gruplandırılabilir. Moleküler tanı yöntemleri, HPV varlığının saptanmasında kullanıldıkları gibi, HPV enfeksiyonlarının yönetiminde çok önemli olan genotiplendirme amacıyla da kullanılmaktadır. Tip tayini yapabilen yöntemlerin diğer önemli avantajları ise çoklu tip varlığını saptayabilmeleri, HPV persistansının doğrulanmasına imkan vermeleri ve minör lezyonların takibi ve tedavi sonrası izlenmesine olanak sağlamalarıdır (47).

1. Direkt Hibridizasyona Dayalı Yöntemler

HPV-DNA klinik örneklerden izole edildikten sonra SB veya DB hibridizasyon ile doğrudan tespit edilebilir. Ancak her iki yöntem de uygulaması zor ve duyarlılığı düşük teknikler olup günümüzde rutin tanıda kullanılmamaktadır. Benzer şekilde geçmişte kullanılmış bir diğer direkt hibridizasyon yöntemi olan filtre in-situ hibridizasyon da günümüzde yerini daha gelişmiş tekniklere bırakmıştır (47).

2. Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri

Sinyal Amplifikasyon Yöntemleri

Sinyal amplifikasyon sistemlerinde nükleik asitler ilk olarak özgün problemlerle hibridize edilir ve daha sonra bu komplekslerden üretilen sinyallerin derecesi artırılır. *Hybrid Capture* (HC) 1 ve 2 (Digene, ABD), *NextGen* (Qiagen, Almanya) ve *Invader ASRs* (Hologic, ABD) HPV tanısında kullanılan sinyal amplifikasyon prensibi ile çalışan ticari testlerdir. Sinyal amplifikasyon testlerinin en önemli avantajları kolay uygulanabilirlikleri ve standardize edilmiş olmalarıdır. Bununla beraber, genotip düzeyinde tanımlama yapma ve çoklu enfeksiyonları tespit etme etkinliklerinin sınırlı olması yanında saptama limitlerinin de nispeten yüksek olması başlıca dezavantajlarıdır (47).

HPV tanısına yönelik ilk HC testi olan HC1 1995 yılında Digene tarafından geliştirilmiştir. O zamandan bu yana, bir adet mikrotitre plate'i yerine tüplerin kullanıldığı ve sıvı bazlı servikal örneklerde HR-HPV tiplerinin tespitini mümkün kılan FDA onaylı ikinci nesil testler (HC2) kullanıma sunulmuştur. HC2 1999 yılında FDA tarafından yardımcı tarama testi olarak onaylanan ilk HPV testidir. Bununla beraber, FDA onayında bu testin tek başına bir tarama testi gibi kullanılmaması gerektiği ve sadece bu testten elde edilmiş sonuçlara dayanarak klinik değerlendirme veya hasta tedavisi yapılmaması gerektiği belirtilmiştir. HC2

sistemi hedef DNA'nın bir solüsyon içerisinde işaretli RNA problemleri ile hibridize edilmesine dayalı radyoaktif olmayan bir sinyal amplifi kasyon yöntemidir (47, 63). Test, biri beş adet LR-HPV'ye diğeri de 13 adet HR-HPV'ye ait iki prob kokteyli içerir. L1 gen bölgesini hedefleyen bu yöntemde; RNA-DNA hibridleri, bu hibridlere özgül monoklonal antikorlar ile kaplı mikrokuyucuklar üzerinde yakalanır ve ortama ikinci bir monoklonal antikor (konjugat) ve kemilüminesan substrat eklenmesiyle tespit edilir. Her antikor birkaç alkalen fosfotaz molekülü ile konjuge edilmiştir ve yakalanmış durumdaki her hibrid moleküle çok sayıda antikor bağlanabildiği için hedef virus başına yaklaşık 3000 kat göreceli sinyal amplifikasyonu üretilir. Bu yaklaşım sayesinde HPV-DNA yarıkantitatif olarak ölçülebilmektedir. Birçok ülkede standart hale gelen ve yaygın olarak kullanılan HC2 testinde üretilen sinyaller, bir lüminometrede görece ışık birimleri (RLU) olarak okunur. Bilinmeyen RLU değerleri 1.0 pg/ml HPV-16 içeren bir pozitif kontrol reaksiyonuna göre karşılaştırılır ve bilinmeyen RLU/kontrol oranları > 1.0 olanlar pozitif kabul edilir. Bu kesim noktası (cut-point) yaklaşık olarak reaksiyon başına 5000 genoma eşdeğerdir. Çoklu karşılaştırma çalışmalarında 1.0 pg/ml kontrol standart kullanıldığında HC2 performansının PCR tabanlı testlerle karşılaştırılabilir olduğu gösterilmiştir. Ancak HC2 testi, tüm yüksek riskli tipleri taramadığı gibi, yüksek riskli ve düşük riskli gruplar arasında ayrım yaptığı halde özgül tip tanımlaması yapamamaktadır. Tespit sınırı yaklaşık 5000 genoma eşdeğer olduğundan düşük kopya sayılı örnekleri de saptayamayabilir. Ayrıca iki prob kokteyli arasında çapraz reaktivite görülebilmekte ve bu durum pozitif bir sonucun klinik önemini azaltabilmektedir (47, 63). Bu dezavantajlarına rağmen, HC2 testi HPV tespiti için klinik yararlılığı kanıtlanmış standart bir yöntemdir ve karşılaştırmalı değerlendirmeler için özellikle önerilmektedir (47).

HC2 teknolojisinin basitleştirilmiş yeni versiyonu olan *Care-HPV* (Qiagen, ABD) hızlı bir tarama testi olarak kullanıma girmiştir. Bu yöntem yaklaşık üç saat içerisinde 14 HR-HPV tipinin varlığını test edebilmektedir. Bu strateji, özellikle hasta takibinin zor olduğu düşük kaynaklara sahip bölgeler ve gelişmekte olan ülkeler için önemlidir. Özel bir nem veya sıcaklık koşulu, ya da belirli bir elektrik veya su şebekesi gibi gereksinimler olmadan herhangi bir ortamda asgari laboratuvar eğitimi olan bir sağlık çalışanı tarafından uygulanabilmesi, servikal örneklerin bir

sağlık çalışanı tarafından ya da hastanın kendisi tarafından toplanabilmesi, sonuçların kısa sürede alınabilmesi ve kolay yorumlanabilmesi testin önemli avantajlarıdır. Ancak, sadece 24-90 örneğin çalışılabilmesi (manuel olarak), hasta yükünün yüksek olduğu durumlarda testin verimliliğini sınırlar. Çalışma prensibi HC2 yöntemi ile aynı olan NextGen sisteminde ise bazı iyileştirmeler yapılmış ve profile HPV-66 ve 82 eklenerek saptanabilen yüksek riskli tip sayısı 15'e çıkarılmıştır (47).

Bir diğer sinyal amplifikasyon sistemi olan *Invader ASRs* yönteminde, L1 dışındaki gen bölgeleri de hedeflenmektedir. HPV-82 dışındaki 14 yüksek riskli tipi saptayan yöntem üç farklı prob kokteyli içerir (47, 64). Testin çalışma prensibi HC2 sisteminden farklıdır. Tipe özgül hibridizasyonu takiben cleavase enzimi ile parçalanan problardan floresans oluşması prensibi ile çalışan kalitatif bir yöntemdir. Bu yöntemde teorik olarak 106-107 kat amplifikasyon artışı elde edildiği ve yöntemin saptama duyarlılığının 1000-10.000 kopya/ml olduğu bildirilmiştir. Üç prob kokteylinin her birinde bulunan ve insan histon-2 genine bağlanan oligonükleotidler internal kontrol olarak işlev görür. Bu teknoloji ile çalışan ve bizim de çalışmamızda kullandığımız *Cervista HPV HR* ve *Cervista HPV 16/18* (Hologic, ABD) olmak üzere iki farklı ticari test geliştirilmiştir. Bu testlerin her ikisi de FDA tarafından onaylanmıştır; ancak HC2 testinde olduğu gibi bu testler için verilen onayda da belirli kullanım sınırlamaları bulunmaktadır. Örneğin, bu testlerin klinik değerlendirmeler yapılırken tek başlarına kullanılmamaları ve 30 yaş altındaki normal sitolojili kadınlarda uygulanmamaları gerektiği belirtilmiştir (47,62). *Cervista HPV 16/18* testi, tip tayini için onay alan ilk HPV testidir, ancak her iki tip için de aynı kimyasal kullanıldığından, servikal kanser olgularında en sık karşılaşılan bu iki tipi birbirinden tam olarak ayırt edemez (47, 64, 65). *Cervista* testlerinin diğer sınırlamaları ise şöyle sıralanabilir: (a) *Cervista HPV HR* testi sadece 14 HR-HPV tipini ve *Cervista HPV 16/18* sadece iki HR-HPV tipini saptayabilmektedir; (b) *Cervista HPV HR* testi risk düzeyi belli olmayan HPV tiplerinden HPV-67 ve 70 ile çapraz reaktivite gösterirken, *Cervista HPV 16/18* de yüksek riskli bir tip olan HPV-31 ile yüksek düzeyde çapraz reaktivite gösterir. Ayrıca, düşük viral kopya sayılı enfeksiyonlarda bu test ile yanlış negatif sonuçlar elde edilebilmektedir (47, 66).

PCR Temelli HPV-DNA Testleri

Hedef amplifikasyonuna dayalı HPV tanı testlerinin büyük çoğunluğu, özgül nükleik asit dizilerini çoğaltma prensibine dayalı PCR temelli yöntemlerdir. PCR testlerinin saptama duyarlılığı genel olarak 100 ng hücresel DNA içeren bir klinik örnekte 1-100 viral genomdur. Ancak, PCR tabanlı yöntemlerin duyarlılığı ve özgüllüğü DNA ekstraksiyon prosedürleri, klinik örneğin tipi ve yeri, örnek taşıma ve saklama şekli, primer setleri, PCR ürününün büyüklüğü, reaksiyon koşulları ve reaksiyonda kullanılan DNA polimerazın performansı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Klasik PCR temelli sistemler çoğunlukla ikinci bir saptama ve tiplendirme tekniği içerirler. Ancak, günümüzde yaygın olarak kullanılan gerçek zamanlı PCR uygulamaları ile HPV-DNA'nın saptanması, tip tayini ve kantitatif analizler tek basamakta gerçekleştirilebilmektedir. Klinik örneklerde HPV-DNA varlığı aynı anda çok sayıda farklı HPV tipini saptayabilecek şekilde tasarlanan genel (konsensus) primerlerin kullanıldığı geniş spektrumlu PCR analizleri ile veya tipe özgül primerlerin kullanıldığı PCR analizleri ile araştırılabilir. Gerçek zamanlı PCR testlerinde amplifikasyon ürünleri *SYBR Green* gibi özgül olmayan boyalar kullanılarak veya floresan boyalarla işaretlenmiş tipe özgül probalar ile görüntülenebilir. Bu iki yaklaşımın dışında, HPV enfeksiyonlarının tanısında kullanılmak üzere iş yükü ve maliyeti azaltmayı hedefleyen multipleks PCR testleri ve saptama duyarlılığını artırmayı amaçlayan *nested* PCR uygulamaları gibi PCR temelli farklı yöntemler de tanımlanmıştır. Gerçek zamanlı PCR testlerinin en önemli avantajları çok düşük konsantrasyonlardaki nükleik asitleri saptayabilmeleri, kantitatif sonuç eldesine imkan vermeleri, tekrarlanabilirliklerinin yüksek olması, farklı floresan boyaların kullanıldığı multipleks uygulamalar için elverişli olmaları ve test sonuçlarının kısa sürede alınabilmesi olarak sıralanabilir. Gerçek zamanlı PCR testlerinin gelişmiş bir örneği olan ve ticari bir test olarak kullanıma sunulan *Cobas 4800 HPV Test* (Roche, ABD) tek bir analizde 14 HR-HPV tipini saptayabilmektedir. Test HPV-16 ve 18'i özgül olarak tanımlarken, eşzamanlı olarak diğer 12 HR-HPV tipini de saptamaktadır. Bu testin HC2'ye göre en önemli avantajı HPV-16 ve 18'i özgül olarak tanımlayabilmesidir (47).

HPV-RNA Amplifikasyon Testleri

HPV saptama stratejilerinin çoğunluğu DNA bazlı olmasına rağmen, özgül viral RNA'ların varlığı da nükleik asit dizi bazlı amplifikasyon (NASBA) testleri veya PCR amplifikasyonu öncesinde bir ters transkripsiyon basamağı içeren gerçek zamanlı ters transkriptaz PCR (RT-qPCR) ile araştırılabilir. HPV E6/E7 mRNA düzeylerinin tespiti, HPV-DNA saptanması, viral yük tespiti ve insan genomuna entegrasyonun gösterilmesi ile kıyaslandığında klinikle daha uyumlu sonuçlar vermektedir (47, 67). Çalışma prensipleri aynı olan *PreTect HPV Proofer* (NorChip, Norveç) ve *NucliSENS EasyQ HPV* (Biomérieux, Fransa) testleri NASBA teknolojisiyle çalışır. *NucliSENS EasyQ v1* testi; orijinal *PreTect HPV Proofer* yöntemi üzerinde primer ve işaretli prob konsantrasyonlarında yeni ayarlamalar yapılması, test protokolünün yeniden düzenlenmesi ve testin tekrarlanabilirliğini artırmak için beş farklı tipe ait pozitif kontrollerin ve internal kontrolün DNA formatından RNA formatına dönüştürülmesi gibi önemli değişikliklerin yapıldığı daha gelişmiş bir testtir. Bu yöntemler HR-HPV tiplerinden HPV-16, 18, 31, 33 ve 45'in E6/E7 mRNA'larını kalitatif bir şekilde saptamak üzere tasarlanmış olup, gerçek zamanlı izotermal RNA amplifikasyonu ve multipleks saptama prensibiyle çalışır. İnsan U1A mRNA'sının internal kontrol olarak kullanıldığı testte, her multipleks reaksiyonda iki farklı etiketle işaretlenmiş moleküler problemler kullanılır. HPV-16, 31 ve 33'ün saptanması için florofofor olarak FAM (fl uorescein) kullanılırken, U1A, HPV-18 ve 45'in saptanması için *Texas Red* kullanılır. *PreTect HPV Proofer* yönteminin analitik duyarlılığı HPV-16 ve 18 için sırasıyla yaklaşık 20 ve 25 kopya olarak bulunmuştur (47).

APTIMA HPV Assay (Gen-Probe, ABD) tekniği ise, transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) temelli bir yöntemdir. Bu yöntem nükleik asit amplifikasyonu ve takiben kemilüminesan işaretli prob hibridizasyonu ile HPV-82 dışındaki 14 HR-HPV tipinin E6/E7 mRNA'larını saptayabilen multipleks nükleik asit saptama testidir. Yöntem HR-HPV varlığı/yokluğu için pozitif veya negatif şeklinde kalitatif sonuç verirken, örnekte bulunan özgül HPV tiplerini tanımlamaz. Yöntem tek tüp içinde HPV'ye özgül yakalayıcı oligomerler ve manyetik mikropartiküller kullanılarak hedef mRNA'ların yakalanması, TMA ile hedef mRNA'ların

amplifikasyonu ve amplifikasyon ürünlerinin saptanması olmak üzere üç ana basamak içerir. Her üç basamağın (yakalama, amplifikasyon ve saptama) performansını değerlendirmek üzere teste bir internal kontrol transkripti eklenmiştir. Testin analitik duyarlılığı yarı otomatize Direct Tube Sampling (DTS) sistemle 38-488 kopya HPV-mRNA ve tam otomatize TIGRIS DTS sistemiyle (Gen-Probe, ABD) 17-275 kopya HPV-mRNA olarak bulunmuştur. Testin yeni bir versiyonu olan *APTIMA HPV 16 18/45 Genotype Assay* (Gen-Probe, ABD), yakın zamanda HPV-16, 18 ve 45'in tip düzeyinde tanımlanması için piyasaya sürülmüş ve FDA onayı almıştır (47).

Özgül viral RNA'ların varlığı RT-qPCR yöntemleriyle de araştırılabilir. RT-PCR ile HPV-16 E6 proteininin araştırıldığı ve aynı yöntemin modifiye edilerek *nested* RT-PCR yöntemi ile saptama etkinliğinin artırıldığı farklı RT-PCR uygulamaları da bulunmaktadır (47).

HPV enfeksiyonlarının tanı ve takibinde (yönetiminde) kullanılan tarama-tiplendirme yöntemlerinin ve kombine yaklaşımların seçimini kritik ve karmaşık hale getiren, gerek yöntemsel gerekse virusun doğasından kaynaklanan çeşitli zorluklar bulunmaktadır. Bunların en önemlileri; (a) çok sayıda farklı HPV tipinin (> 40) anogenital bölgede enfeksiyon etkeni olarak saptanabilmesi (68), (b) genomun aynı HPV tipi içinde bile çok sayıda dizi varyasyonları gösterebilmesi (69), (c) mevcut yöntemlerin saptama duyarlılıklarının test edilecek örnekteki virus kopya sayısı veya enfeksiyon etkeni tiplere göre değişebilmesi (70-72), (d) HPV enfeksiyonlarında klinik seyrin etken HPV tiplerine göre önemli derecede değişkenlik göstermesi (73), (e) tanı yöntemlerinin kanseröz dönüşüm riskini öngörme, tekrarlayan-persistan enfeksiyonları belirleme ve prekanseröz lezyonların tedavi sonrası takibinde kritik önemi olan tip düzeyinde tanımlama yapabilme ve çoklu enfeksiyonları saptayabilme kabiliyetlerinin farklılığı (65, 66, 71) (f) yöntemlerin maliyetleri arasında belirgin farklılıkların olması ve (g) insan genomuna entegre olabilen tiplerde entegrasyon sırasında hedef genom bütünlüğünün bozulabilmesi olarak özetlenebilir (47).

Anormal Servikal Sitolojinin Değerlendirilmesi

Yaklaşık 50 yıl süreyle Papanicolaou sınıflaması en sık kullanılan sınıflama olmuştur. Bu sistem sitolojik tabloyu 5 kategoride değerlendirir (54):

Class I (Negatif I): Tamamen normal görünümlü yayma

Class II (Negatif II): Kesinlikle benign tip hücreler, tam iltihabi yayma

Class III (Şüpheli): Anormal hücrelerin varlığı - normalden sapmış oldukları ve kuşku uyandırdıkları halde malign tanımına uyacak kadar da anormal olmayan hücreler-

Class IV (Zayıf pozitif): Ağır displazi veya karsinoma in-situyu gösterir hücrelerin varlığı

Class V (Kuvvetli pozitif): İnvaziv kanseri gösterir hücrelerin varlığı

Bu sınıflama zaman içinde değişen klinik ve histolojik terminoloji yüzünden kliniğe uygulamakta zorluklara yol açmış ve çeşitli modifikasyonlara uğramıştır. Ayrıca aynı sınıflama kullanıldığı halde her laboratuvarın raporlarında varvasyonlar olabilmektedir. 1970'li yıllardan sonra Papanicolaou'ya karşı yeni bazı alternatifler önerilmeye başlanmıştır. 1973'te Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sitolojik bulguların rakam ve harflerle değil histolojideki gibi sözlerle ifade edilmesini önermiş ve bu öneri tartışmalı olmakla beraber Uluslararası Sitoji Akademisi'nce kabul görmüştür. 1976 yılında Richart ciddi displazi ve karsinoma in-situ kategorilerini bir araya toplayan servikal intraepitelyal neoplazi CIN 3 terimini önermiştir. Servikal intraepitelyal neoplazi, derece 1 (CIN1) hafif displazi ile aynı tanımlamadır ve CIN2 orta displaziye benzerdir. Fakat, CIN3 ciddi displazi ile karsinoma in-situyu kombine etmiştir ve böylece 4 kategori olan sınıflandırma üçe inmiştir. Bu pratik terminoloji klinisyenler tarafından onaylanmış ve tüm dünyada benimsenmiştir. Bu sınıflama hem sitolojik hem de histolojik tanımlar için kullanılmaktadır (Tablo 4) (54).

1988 yılında Bethesda Maryland'da Ulusal Kanseri Enstitüsü (NCI) servikal sitoloji için ortak bir konsensusa varmışlar ve Bethesda Sistemi'ni geliştirmişlerdir. Bu sistem 1991, 2001 ve 2014 tarihinde yeniden modifiye edilmiş olup günümüzde de Bethesda sınıflaması kullanılmaktadır.

1988 Bethesda: 12-13 Aralık 1988 Dr.V.P.Hutter ve Dr.D.E.Henson önderliğinde National Institute of Health, Bethesda'da yapılmıştır. Terminoloji grubunun başkanlığını Dr. D. Solomon yapmıştır. Bu toplantının getirdiği en önemli yenilik standardizasyon olmuştur. Tanılar standardize edilmeye çalışılmıştır. Epitelyal hücre anomalileri başlığı altında ASCUS ve AGUS tanımlarını getirmiştir (17).

1991 Bethesda : 1991 yılında yayınlanmıştır. Daha çok bir gözden geçirme niteliğinde olmuştur (*revised Bethesda System*). HPV ile ilgili değişiklikler LSIL kategorisine alınmıştır (17).

2001 Bethesda : 2001 yılında, son 10 yılda edinilen bilgiler doğrultusunda (*özellikle HPV DNA testlerinin kullanıma girmesi ve ASCUC/AGUS hastalarının takipleri ile elde edilen bilgiler*) oluşturulmuştur (17).

2014 Bethesda: 2014 yılında minimal değişiklikler söz konusudur (40 yaş üstü kadınlarda benign endometrial hücre varlığı 45 yaşa çekilmiştir, LSIL-H kategorisi raporlamaya dahil edilmemiştir, HPV ile ilişkili testlerin yaygın kullanımıyla ilgili olarak yönetim seçenekleri ve serviks kanseri risk analizi ilave edilmiştir) (74).

Tablo 4- Servikal sitolojide kullanılan önceki terminoloji ve Bethesda sisteminin karşılaştırılması

Pap	WHO	CIN	Bethesda
Class I	Normal		Normal
Class II	Atipik inf.		Benign veya ASC
			ASC-US ve ASC-H
	Displazi		SIL
Class III	Hafif	CIN 1	LGSIL
	Orta	CIN 2	
Class IV	Şiddetli	CIN 3	HGSIL
Class V	CIS		

Bethesda Sistemi

Bethesda Sisteminde servikal sitolojik anormallikler, köken alınan hücre tipine göre "skuamöz" ve "glandüler" lezyonlar olmak üzere iki ana grupta incelenir.

Skuamöz lezyonlar, atipik skuamöz hücreler (ASC), düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL) ve yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL) olmak üzere başlıca üç bölümde kategorize edilir. Sitolojik sonuçlar lezyon terimi ile tanımlanırken biyopsi ile kesin tanı konulan olgular için servikal

intraepitelyal neoplazi (CIN, cervical intraepithelial neoplasia) terimi seçilmektedir (Tablo 5) (17, 26).

ASC (Atipik skuamöz hücreler) kategorisi; çoğu ASC-US (anlamı belirgin olmayan atipik skuamöz hücreler) ve küçük bir bölümü de ASC-H (high grade skuamöz intraepitelyal lezyondan ayrılmayan atipik skuamöz hücreler) olmak üzere iki alt grubu içerir (17). Ortalama bir kadın popülasyonunda hedef ASC için %4-6, ASC-US/ SIL oranı için de 2-3 olmalıdır (75).

ASC-US

ASC-US; reaktif değişikliklerden daha belirgin, LSIL'i düşündüren ancak kalitatif ve kantitatif olarak spesifik LSIL tanısı için yeterli kriterleri taşımayan hücresel anormallikleri tanımlar (76). Kesin olarak displastik ya da reaktif değişiklik şeklinde yorumlanamayan değişiklikleri ifade eder.

- Matür intermediate ya da süperfisyal skuamöz hücrelerdir
- Nükleusta hafif büyüme (x2-3 kat)
- Yuvarlak-oval nükleus, minimal nükleer membran düzensizliği
- Kromatin ince-homojen, normokromik ya da orta derecede hiperkromatik
- Binükleasyon, koilositi düşündüren şüpheli perinükleer halo olabilir
- Nükleol belirsizdir
- Sitoplazma poligonaldır

2003 CAP'e göre ABD'de ortalama ASC-US oranı % 4.7'dir (5). ASC-US'de CIN 2 ya da CIN 3 olasılığı %5- 17, invaziv kanser gelişimi %0.1 ile %0.2'dir (77,78).

LSIL

LSIL kategorisi hem hafif displaziyi (CIN I) hem de HPV'ye bağlı hücresel değişiklikleri içerir. LSIL hücresi, normal hücrelere çok benzeyen ancak anormal (büyük ve koyu) nükleusa sahip, nükleus/ sitoplazma oranı hafifçe artmış en büyük ve en matür displastik hücre olup yaymalarda kolayca tanınır, sıvı bazlı örneklerde daha net görünürler.

- Hücreler tek ya da tabakalar halindedir.
- Genelde matür tipte skuamöz hücrelerdir.
- Orantısız nükleer irileşme (x3 katından büyük)
- Hiperkromazi
- Anormal kromatin paterni
- Nükleer membran düzensizliği
- Multiple anormal nükleus
- İnce, transparan geniş sitoplazma
- Nükleol belirsiz

Koilositozis HPV'nin skuamöz hücrelerde oluşturduğu sitopatik etkidir ve sitoplazmada bir halo oluşumu ile sonuçlanarak bu hücre koilosit adını alır. Koilositler, HPV enfeksiyonu/ kondilom için patognomoniktir. Koilositin varlığı LSIL göstergesi olmakla birlikte eşlik eden HSIL ve hatta invaziv kanser olasılığını ekarte ettirmez aksine riski artırır. LSIL olgularının %11'inin CIN 3'e ilerlediği, %1'inde invaziv kanser geliştiği bildirilmiştir (45, 77, 78).

ASC-H

ASC-H terimi sitomorfolojik değişikliklerin HSIL için kuşkulu ancak bu tanı için kalitatif (atipi derecesi) ve kantitatif (hücre miktarı) olarak yetersiz olduğu durumlarda kullanılır (45). 2003 CAP'e göre ASC-H'in ortalama görülme sıklığı %0.4 olup ASC-H/ASC-US oranı beklentisi 1/10'dur (5, 45).

- Hücreler küçük, parabazal veya metaplazik skuamöz epitelyum tipinde
- Şekil ve boyut farklılığı olabilir (pleomorfizm)
- Nükleus/ sitoplazma oranı artmıştır
- Kromatin kabalaşması ve hiperkromazi
- Nükleer kontur düzensizliği
- Tek tek duran ya da küçük gruplar yapan hücreler

Ayrıcı tanıda özellikle immatür skuamöz metaplaziden ve onarım, atrofi bulgularından ayırt edilmesi gerekir (45). ASC-H 'de %24-94'de CIN 2 ya da CIN 3 tanımlanmaktadır (77, 78).

HSIL

2003 CAP'e göre ortalama HSIL görölme sıklığı %0.7'dir (5). HSIL tanıli olguların %70-75 CIN 2 ya da CIN 3, %1-2 serviks kanseri olma olasılığı vardır (77).

- Hücreler LSIL hücrelerinden daha küçük ve daha az matürdür.
- Tek tek, tabakalar ve sınırsız agregatlar şeklinde izlenebilir.
- Nükleer irileşmenin derecesi değişkendir.
- Nükleus/ sitoplazma oranı artmıştır.
- Sitoplazma oldukça dardır.
- Nükleer membran konturları düzensiz ve sıklıkla katlantılıdır.
- Nükleer hiperkromazi
- Nükleuslarda üç boyutlu görünüm

AGC

Atipik glandüler hücre (AGC) 3 alt gruba ayrılmaktadır. AGC-NOS, AGC-Neoplazi lehine, AIS (Adenokarsinoma in situ). AGC tanısı genel olarak ASC grubuna göre daha yüksek oranda saptanmış neoplazi ile sonuçlanmaktadır. AGC tanısı alan tüm hastalar bir arada değerlendirildiğinde histolojik tanı olarak %9- 54 oranında CIN, %0-8 oranında AIS ve %1-9 oranında değişen invaziv servikal adenokanser belirlenmiştir (77).

2001 yılında revize edilmiş olan servikal sitoloji sonuçlarını raporlamak için kullanılan Bethesda sistem terminolojisi ile anormal servikal sitoloji ve servikal kanser prekürsörüne sahip olan kadınların yönetimi için standart bir yaklaşıma ihtiyaç duyulmuştur. Bu nedenle American Society for Colposcopy and Cervical Pathology servikal intraepitelyal neoplazi (CIN), adenokarsinoma in situ (AIS) ve anormal servikal sitolojisi olan kadınların yönetimi ile alakalı kanıta dayalı, kapsamlı bir konsensus guideline'ı oluşturmuştur. Bu guidelineler standart olarak kullanılsa da revizyona ihtiyaç olduğu günyüzüne çıkmıştır. CIN, AIS ve anormal tarama testleri için yönetimde 2012'de geniş tabanlı veri tabanı ile Kaiser Permanente Northern California Medical Care Plan (KPNC) National Cancer Institute (NCI) ile birlikte çalışarak yeni bir analiz yapılmıştır. Bu yeni kanıt 2006'daki rehberdeki boşlukları doldurmaktaydı (25).

Tablo 5- Bethesda Sınıflandırma Sistemi

BETHESDA SINIFLANDIRMA SİSTEMİ 2001/ 2014

SPESMEN YETERLİLİĞİ

- Değerlendirme için yeterli
(endoservikal/transformasyon zonu mevcudiyeti)

GENEL GRUPLAMA

- Değerlendirme için yetersiz
- İntraepitelyal lezyon ve malignansi için negatif
- Epitelyal hücre anormallığı
- Diğer

SONUÇ

İntraepitelyal lezyon ve malignite açısından negatif

- 1) Organizmalar
 - Trikomonas vaginalis
 - Kandida ile uyumlu
 - Bakterial vaginözis ile uyumlu
 - Aktinomiçes ile uyumlu
 - Herpes simpleks ile uyumlu hücresel değişiklikler
- 2) Diğer Non-neoplastik Bulgular
 - Reaktif hücresel değişiklikler
 - İnflamasyon
 - Radyasyon
 - Rahim içi araç
 - Histerektomi sonrası glandüler hücreler
 - Atrofi

Epitelyal Hücre Anormallikleri

Skuamöz hücre anormallikleri

1. Atipik skuamöz hücreler
 - "of undetermined significance" (*ASC-US*)
 - "cannot exclude HSIL" (*ASC-H*)
2. Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL)
3. Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL)
4. Skuamöz hücreli karsinom

Glandüler Hücre Anormallikleri

1. Atipik glandüler hücreler (AGC)
endoservikal/endometrial veya tanımlanamayan hücreler
2. Atipik glandüler hücreler, malignite lehine
(endoservikal/tanımlanamayan hücreler)
3. *Endoservikal in situ adenokarsinom(AIS)*
4. Adenokarsinom

Diğer

- ≥40 yaş bayanlarda endometriyal hücre
≥45 yaş bayanlarda endometriyal hücre (2014)

HPV Moleküler Testleri ve Servikal Sitolojinin Birlikte Değerlendirilmesi

Günümüzde HPV DNA testlerinin başlıca dört kullanım alanı vardır:

- Primer tarama testi
- Sitoloji ile eş zamanlı co-test
- Sitolojide ASC-US tanılı olguların yönetiminde reflex test
- CIN II-III tedavisi sonrası takip testi

HPV-DNA testleri genel olarak yayma incelemelerine göre daha yüksek duyarlılığa sahiptir (Tablo 6) (46, 79). Bununla beraber, HPV enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun geçici olması nedeniyle, HPV-DNA testlerinin doğrudan tarama testi olarak kullanılması durumunda, takipler sırasında hasta üzerinde olumsuz psikolojik etkilerin ortaya çıkabileceği ve hastanın gereksiz kolposkopi uygulamaları ve invaziv girişimlere maruz kalabileceği dikkate alınmalıdır.

Tablo 6- HPV testleri ve sitolojinin karşılaştırılması

	Sensitivite	Spesivite
Sitoloji	53%	97%
HPV testi	96%	92%

Bu ve benzeri olumsuz neticeleri en aza indirmek ve tarama stratejisinin klinik etkinliğini artırabilmek için servikal kanser taramalarının belirlenmiş programlar dahilinde düzenli olarak yapılmasını öngören, Pap yayması ve HPV-DNA testlerinin beraber kullanılmasına dayalı çeşitli tarama algoritmaları geliştirilmiştir (46).

Örneğin minör sitolojik anormalliği olan kadınların yönetimindeki başlangıç yaklaşımlarına açıklık getirmiştir. Sonuçlar sitolojisi daha ağır olan kadınlar ve post-kolposkopi takipleri için incelenmiş ve bir rehber oluşturulmuştur. Son olarak, HPV genotiplemesi kabul görmüştür ve bazı özel klinik senaryolar için kolposkopi yönetiminde kullanımı faydalı kabul edilmiştir. ASCCP anormal ko-test

sonuçlarının yönetimi ve yetersiz spesmene sahip sitoloji ve anormal tarama sonuçlarının yönetimi, 21-24 yaş arası kadınlardaki yönetim ve diğer konularda bir konsensus oluşturmuştur (25).

Tarama popülasyonu (24, 25);

ASCCP'ye göre yaşıdan bağımsız olarak yıllık herhangi bir tarama önerilmiyor, çünkü;

Kanser insidansını azaltmıyor,
Geçici HPV enfeksiyonlarının prevelansı yüksek,
Gereksiz girişim ve tedavi sayısı artıyor,
Maliyet artıyor.

Taramaya 21 yaş ile başlanıyor, 21 yaş öncesi kadınlara sitolojik tarama, tarama ya da reflex test olarak HPV testi önerilmiyor.

21-29 yaş arası; 3 yıl ara ile yalnızca sitoloji ile tarama öneriliyor (HPV testinin tek başına ya da sitoloji ile kullanılması önerilmiyor), çünkü;

Kanser insidansını azaltmıyor,
Kolposkopi sayısı artıyor,

30 yaş altı kadınlarda HPV prevelansı yüksek (1 yıl içinde %70, iki yıl içinde %90 spontan regresyon)

30-65 yaş arası kadınlarda 3 yıl arayla yalnızca sitoloji ile tarama ya da 5 yılda bir sitoloji+ HPV testi (co-test) ile tarama öneriliyor, çünkü;

3 yıldan sık tarama yapılırsa invaziv kanser insidansı çok az değişirken kolposkopi sayısı çok artmakta,

Tarama aralığı üç yılı geçince de kanser riski artmakta

65 yaş üstü kadınlarda daha önce yeterli bir tarama yapılmış ve önceki bir yirmi yılda CIN2+ olmayan kadınlarda herhangi bir tarama önerilmez, çünkü;

HPV enfeksiyonunun doğal seyri bu yaş kadınlarda da aynıdır (çoğu kendiliğinden regrese olur ve TZ daha küçüktür)

Yeterli negatif taramadan sözedebilmek için de son on yıl içinde arka arkaya 3 negatif sitoloji veya arka arkaya 2 negatif co-test olmalı ve son yapılan test de son 5 yıl içinde yapılmış olmalı

Histerektomili ancak CIN2+ anamnezi olmayan kadınlara tarama önerilmemektedir, çünkü;

Vajinada kanser riski çok nadirdir (0.69/100.000)

Bir vajinal displazi bulunması için 663 vajinal cuff sitolojisi yapılması gerekir

CIN2, CIN3 veya AIS anamnezi olan kadınlar için tedavi sonrası rutin tarama en az 20 yıl devam etmelidir. 65 yaş sınırına bakılmaksızın 1. ve 2. yıl co-test, 3 yıl sonra tekrar co-test, sonrasında rutin taramaya geçilmelidir (Tablo 7).

Tablo 7- Servikal kanser tarama rehberi özeti (2012 ACOG, ASCP, ACS, ASCCP)

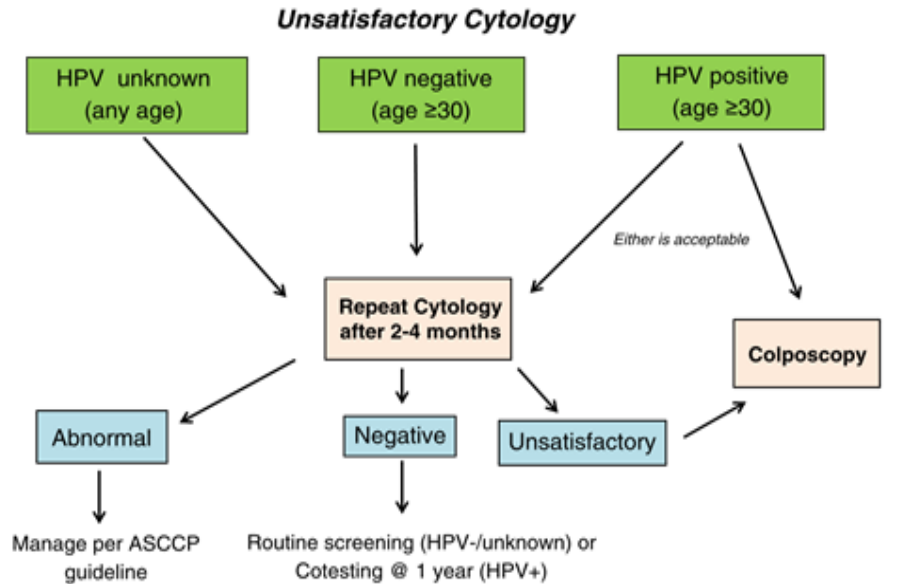
Yaş	Tarama önerisi	Yorum
<21	Tarama önerilmiyor	HPV testi tarama ya da ASC-US için reflex test olarak kullanılmamalı
21-29	3 yılda bir sitoloji ile tarama (kabul edilir) ASC-US sitolojili olgularda HPV testi uygulanır (önerilen)	Rutin co-test önerilmez ASC-US sitolojili olgularda reflex HPV testi uygulanır
30-65	5 yılda bir co-test (önerilen) 3 yılda bir yalnız sitolojili ile tarama (kabul edilir)	Yalnız HPV testi ile tarama çoğu klinik tarafından önerilmez
>65	Yeterli negatif öyküsü olan olgularda tarama önerilmiyor	CIN2 anamnezi olan olgular için tedavi sonrası rutin tarama en az 20 yıl devam etmelidir
Histerektomi sonrası	CIN2 öyküsü yoksa tarama önerilmez	Son yirmi yıl içinde servikal kanser ya da CIN2 öyküsü varsa taramaya devam edilir

Yetersiz sitoloji;

Sitoloji sonuçları %1 veya daha az olmak üzere yetersiz olarak raporlanmaktadır. Yetersiz sitoloji örnekleri epitelyal anormalliklerin tespitinde güvenilir değildir. Ancak bir çok çalışma, kan, inflamasyon veya diğer prosesler ile yetersiz sitoloji sonucu olan kadınlarda (özellikle geleneksel Pap testi ile gerçekleştirilen) daha yüksek hastalık riski bulmuştur.

Amerikada yaygın olarak kullanılan ve ülkemizde de yaygınlaşmakta olan engelleyici faktörlerin kontrol edilebildiği sıvı-bazlı yöntemlerle yetersiz olarak gelen sonuçlar büyük ölçüde yetersiz skuamöz hücrelerden ortaya çıkmaktadır. Yetersiz örnekten dolayı HPV testi yalancı negatiflik sağlayabileceğinden, negatif bir HPV testi güvenilir değildir. Bizim de bu çalışmada kullandığımız yöntem olan Cervista HPV HR, test için yeterli düzeyde DNA'nın numunede bulunup bulunmadığını da tespit eden bir internal kontrol içermektedir (25).

Yetersiz sitolojili 30 yaş üstü kadınlarda HPV pozitif olgulara 2-4 ay sonra sitoloji tekrarı ya da kolposkopi, HPV negatif olgulara da 2-4 ay sonra sitoloji tekrarı önerilir (Şekil 14) (25).



© Copyright , 2013, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. All rights reserved. ASCCP

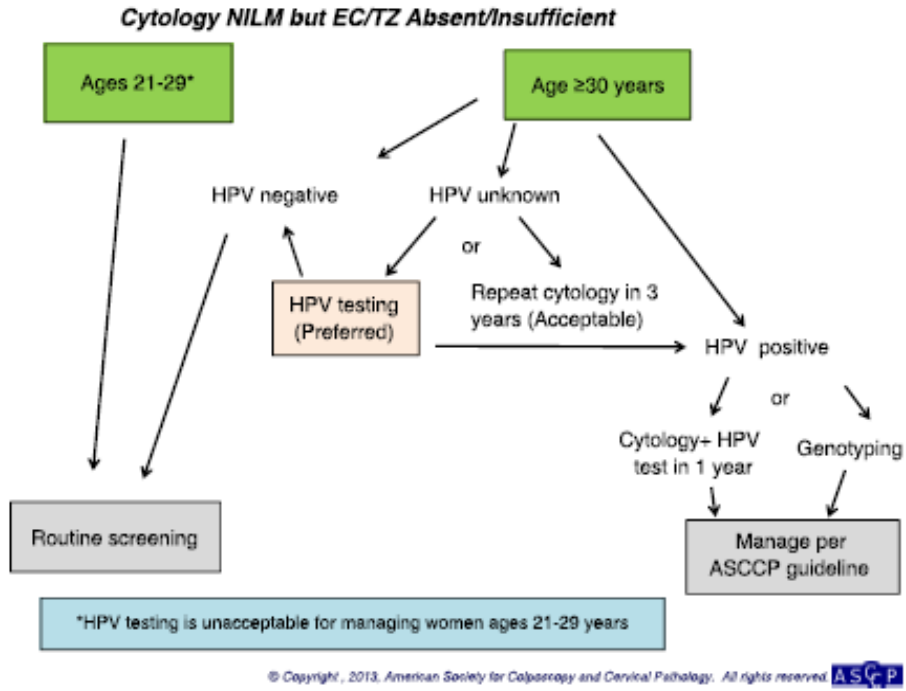
Şekil 14- Yetersiz sitolojili olgularda yönetim

Sitoloji negatif, TZ örneklenmemiş;

Negatif bildirilmiş sitoloji ile yetersiz veya olmayan EC/TZ (endoservikal/transformasyon zonu) bileşeni, yorumlama için yeterli hücreye sahiptir ancak, skuamokolumnar junction'dan yeterince örnek alınmadığını düşündüren endoservikal veya metaplastik hücrelerden yoksundur. Bu kaçırılmış hastalık için endişe uyandırmaktadır. Negatif bildirilmiş sitoloji ancak yetersiz veya olmayan EC/TZ bileşeni oranları %10 ile %20 arasında değişmektedir ve yaşlı kadınlarda daha yüksektir. Önceki klavuzlar erken sitoloji tekrarını önermektedir.

Yetersiz veya EC/TZ bileşeni olmayan kadınlar tatmin edici EC/TZ bileşeni olan kadınlara göre, daha az eş zamanlı sitolojik anomaliye sahiptir ve gerçek prekanserler kaçırılmış olabileceğinden, beklenilenin tersine CIN 3 için artmış riske sahip değildir. Bunun yanında, yaşlı kadınlarda, yetersiz EC/TZ bileşeni görülme ihtimali daha yüksek olup CIN 3 için daha düşük riske sahip olabilirler. Yakın bir meta-analiz negatif sitolojinin yetersiz veya olmayan EC/TZ bileşenine rağmen iyi bir spesifiteye ve negatif prediktif değere sahip olduğunu bulmuştur.

HPV testi transformasyon zon örneklemeinden bağımsız görünmektedir ve şu anda tercih edilen tarama stratejisinde ortak test kullanılan 30-64 yaşları arasındaki kadınlarda ek bir marj sunmaktadır. Olmayan EC/TZ bileşeni CIN 2 tedavisinden sonra serviks hastalığının insidasında bir artış ile ilişkilendirilmemiştir. Negatif sitoloji ve EC/TZ bileşeni yetersiz veya olmayan 21-29 yaşlarındaki kadınlarda, rutin tarama önerilmektedir. HPV testi kabul edilmemektedir. Negatif sitoloji ve EC/TZ bileşeni yetersiz/olmayan ve HPV testi bilinmeyen/olmayan 30 yaş ve üzeri kadınlarda HPV testi tercih edilebilir. HPV testi gerçekleştirilmemiş ise 3 yıl içinde sitoloji tekrarı kabul edilebilir. HPV testi gerçekleştirilmiş ve negatif bulunmuş ise, rutin taramaya dönüş önerilmektedir. HPV testi pozitif ise, her iki testin 1 yıl içerisinde tekrarı ya da ayrıca genotipleme de kabul edilebilir; HPV tip 16 veya 18 varlığında kolposkopi önerilmektedir. HPV tip 16 ve tip 18 bulunmamakta ise, 12> ay ortak test tekrarı önerilmektedir (Şekil 15) (25).

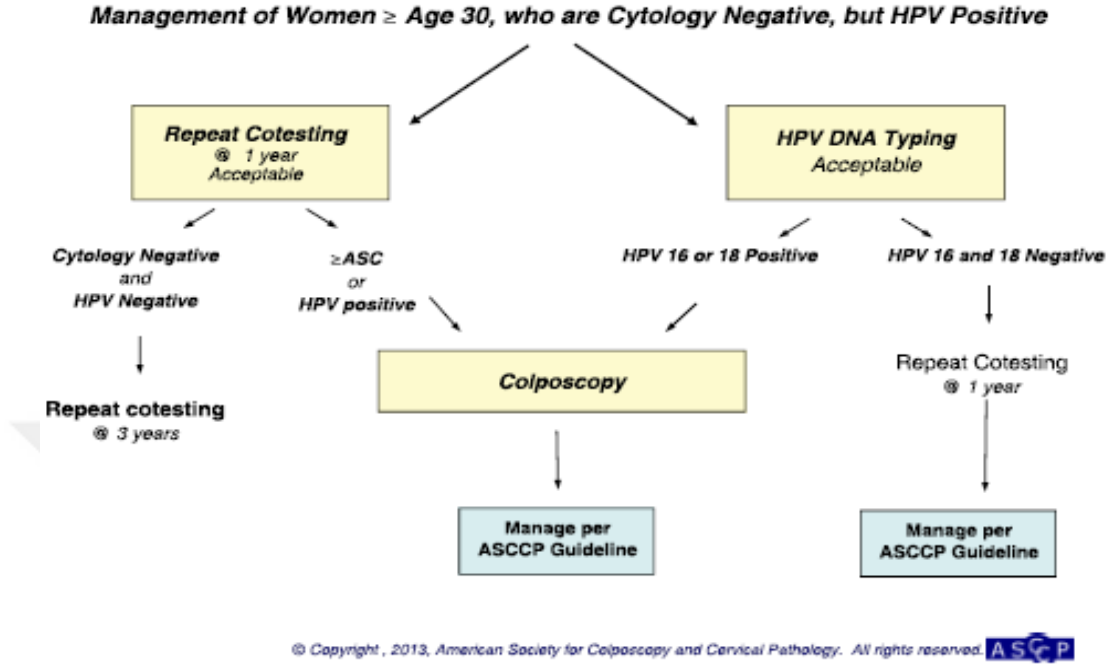


Şekil 15- Sitoloji negatif TZ olmayan olgularda yönetim

Sitoloji negatif HPV pozitif olgular;

Genç kadınlar için belirtilmiş olmasa da, 30-64 yaş arasındaki kadınlarda ortak-test tercih edilen tarama stratejisidir. Negatif sitolojiye rağmen onkojenik HPV virüsü ile enfekte kadınlar, HPV-negatif kadınlara göre ileri CIN 3+ için daha yüksek risk taşımaktadır. HPV pozitif ancak sitoloji negatif kadınlarda CIN3+ riski tekrar test için geri dönüşü haklı göstermek için yeterlidir. Persistan HPV pozitivitesi riski daha da artırmaktadır. Ancak, birçok HPV enfeksiyonu temizlenerek, CIN3+ riski büyük ölçüde azaltılmaktadır. Bununla birlikte CIN 3+ gözlem sırasında ortaya çıkabileceğinden, hastalık riskini ortadan kaldırmak için HPV'nin temizlenmesine yönelik müdahaleler sırasında ortaya çıkan risklerin dengelenmesinde klavuzlar gerekmektedir. Bu HPV enfeksiyonu var olan ancak negatif sitolojiye sahip kadınlar için bile geçerlidir. KPNC kohort çalışmasında, HPV-pozitif ancak sitoloji negatif sonucunun ardından CIN 3+ riski, önceki negatif tarama sonucuna sahip kadınlardan daha yüksektir. HPV-16 enfeksiyonu olan kadınlar CIN 3+ için özellikle risk altındadır (25). Bu nedenle sitolojisi negatif HPV tip16/18 pozitif olgularda

kolposkopi, tip16/18 dışı pozitifliklerde ise bir yıl sonra co-test önerilmektedir (Şekil 16) (25).



Şekil 16- Sitoloji negatif, HPV pozitif 30 yaş üstü kadınlarda yönetim

ASC-US'da yönetim;

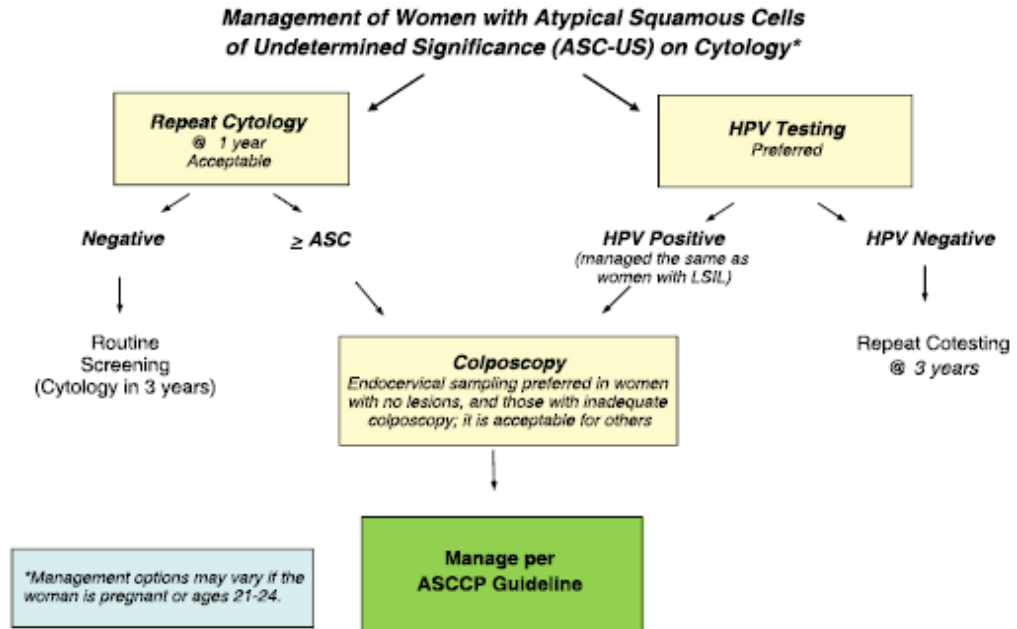
ASC-US en yaygın görülen sitolojik anormalliktir fakat CIN 3+ lezyonlarla en az ilişkili olanıdır. Son 2011 tarama klavuzları HPV-negatif ASC-US kadınlarda ortak-test sonuçlarının rutin takip ile yönetilmesini önermektedir. HPV-negatif ASC-US'den sonra kesin CIN 3+ riski daha düşük olduğu için 3-yıl aralıklı takibi önermiştir. 60 yaş üzeri HPV-negatif ASC-US olan kadınlar, takip sırasında serviks kanseri riskinde negatif ortak teste sahip kadınlardan risk daha yüksek bulunarak, devamlı tarama gerekliliği önerilmiştir.

ASC-US + HPV-16 veya HPV-18'e sahip kadınlar, ASC-US ve 16 veya 18'den farklı yüksek-riskli HPV tiplerine sahip kadınlara göre yaklaşık olarak iki kat CIN 3+ riskine sahiptir. Bununla birlikte KPNC verileri, her iki grupta CIN 3 riskinin kolposkopi eşiğini aştığını göstermiştir.

Gebe veya postmenopozal kadınlarda belirlenen ASC-US üzerine 2006 klavuzlarını değiştirecek yeni bir veriye rastlanmamıştır. ASC-US sitolojisine sahip

kadınlarda reflex HPV testi tercih edilmektedir. Refleks HPV testi veya ortak testten herhangi birinde HPV pozitif ASC-US olan kadınlarda, kolposkopi önerilmektedir. HPV pozitif ASC-US'li kadınlarda kolposkopi CIN belirlemediğinde, 12 ay içerisinde ortak test önerilmektedir. Eğer ortak test HPV ve sitoloji negatif ise, 3 yıl içerisinde yaşa-uygun teste dönülmesi önerilmektedir. Eğer tüm testler negatif ise, rutin tarama önerilmektedir. Kolposkopiden sonra takiplerde HPV testi 12 aydan az aralıklar ile gerçekleştirilmemelidir.

ASC-US sitolojisi olan ve HPV sonucu olmayan kadınlar için 1 yıl içerisinde sitoloji tekrarı kabul edilebilirdir. Sonuç ASC-US veya daha kötü ise, kolposkopi önerilmektedir. Sonuç negatif ise 3-yıl aralıklar ile sitoloji testine dönülmesi önerilmektedir. Endoservikal örnekleme lezyon belirlenmemiş ve yetersiz kolposkopi olan kadınlarda tercih edilmektedir ancak, yeterli kolposkopi ve transformasyon zonunda lezyon belirlenen kadınlarda da kabul edilebilir. Aşırı tedavi potansiyelinden dolayı, CIN 2 yokluğunda, ASC-US başlangıcında, loop elektrocerrahi eksizyon (LEEP) gibi diagnostik eksizyonel prosedürlerin rutin kullanımı kabul edilemez (Şekil 17) (25).



© Copyright , 2013, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. All rights reserved. **ASCCP**

Şekil 17- ASC-US sitolojili olgularda yönetim

21-24 yaş arası ASC-US / LSIL;

İlk Yönetim

ASC-US'li 21-24 yaş aralığındaki kadınlarda, 12 aylık aralıklarla yalnız sitoloji tercih edilmektedir ancak refleks HPV testi de kabul edilmektedir. ASC-US ile refleks HPV testi gerçekleştirildiğinde ve HPV pozitif sonuçlandığında 12 ay içerisinde sitoloji tekrarı önerilmektedir. Kolposkopi veya HPV test tekrarı önerilmemektedir. Refleks HPV testi gerçekleştirilmiş ve negatif sonuçlanmış ise, 3 yıl içerisinde tek başına sitoloji ile rutin taramaya dönülmesi önerilmektedir.

Takip

21-24 yaşları arasında ASC-US'li kadınlarda 12 aylık aralıklar ile sitoloji takibi önerilmektedir. Kolposkopi önerilmemektedir. 12 aylık takipte ASC-H veya HSIL+ varlığında kolposkopi tavsiye edilmektedir. 24-aylık takipte ASC-US veya sonucu daha kötü olan kadınlarda kolposkopi önerilmektedir. Ardışık iki negatif sonuç alınan kadınlarda rutin taramaya dönülmesi önerilmektedir.

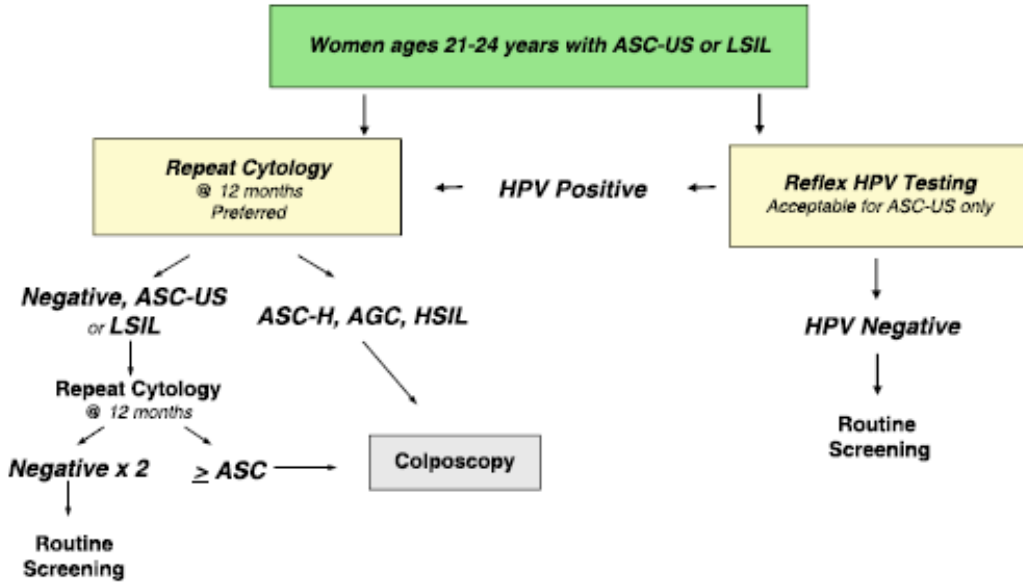
65 yaş ve üzeri kadınlarda taramadan çıkışın haricinde ASC-US'li post menopozal kadınlar, genel popülasyondaki kadınlar ile aynı şekilde tedavi edilmelidir. Bu kadınlar için, HPV-negatif ASC-US sonuçları anormal olarak düşünülmelidir. Bir yıl içerisinde tarama tekrarı ile ek izlem önerilmektedir; ortak test tercih edilmektedir ancak sitoloji de kabul edilmektedir.

ASC-US'li gebe kadınlar için seçenekler; kolposkopi için doğum sonrası 6. hafta beklenmesi haricinde, gebe olmayan kadınlar için belirtilen ile aynıdır. Gebe kadınlarda endoservikal küretaj kabul edilemezdir. İlk kolposkopide, sitolojik, histolojik veya kolposkopik CIN2+ şüphelenilmeyen gebe kadınlarda, postpartum takip önerilmektedir

ASCUS-LSIL Triyaj çalışması, LSIL'in doğal sürecinin HPV-pozitif ASC-US'a yaklaştığını göstererek, herhangi birine sahip kadınların aynı şekilde tedavi edilmesi gerektiğini önermiştir. KPNC veritabanının analizi 21-24 yaşlarındaki LSIL'li kadınların CIN3+ riskinde yaşlı kadınlara göre daha düşük bir risk taşıdığını onaylamıştır. LSIL yaklaşık %77 HPV pozitivitesi ile, yüksek oranda HPV

enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir. Bu oran, kolposkopi için adayların etkin olarak seçilmesinde refleks HPV testinin kullanılması için çok yüksektir. Ancak, 30 yaş ve üzeri kadınlarda ortak test tercih edildiğinde bazı kadınlarda HPV-negatif LSIL tespit edilmiştir. KPNC kohortunda, *HPV-negatif LSIL olan kadınlar, yalnızca ASC-US olan kadınlara benzer şekilde düşük CIN3+ riskine sahip bulunmuştur*. LSIL sitolojisine ek olarak pozitif HPV testi / HPV testi yok; ise kolposkopi önerilmektedir. Ortak test, HPV-negatif LSIL gösteriyor ise, bir yıl içerisinde ortak test tekrarı tercih edilmektedir, ancak kolposkopi de kabul edilebilir bir yaklaşımdır. Eğer 1 yıl içerisinde ortak test tekrarı tercih edilmiş ise ve sitoloji ASC-US/ daha kötü veya HPV testi pozitif ise kolposkopi önerilmektedir. Bir yıl içerisindeki ortak test sonucu HPV-negatif ve sitoloji negatif ise, ek 3 yıldan sonra ortak test tekrarı önerilmektedir. Bu zamanda tüm testler negatif sonuçlanır ise, rutin taramaya dönülmesi önerilmektedir (Şekil 18) (25).

Management of Women Ages 21-24 years with either Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) or Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL)



© Copyright , 2013, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. All rights reserved. ASCCP

Şekil 18- 21-24 yaş arası ASC-US/ LSIL sitolojili olgularda yönetim

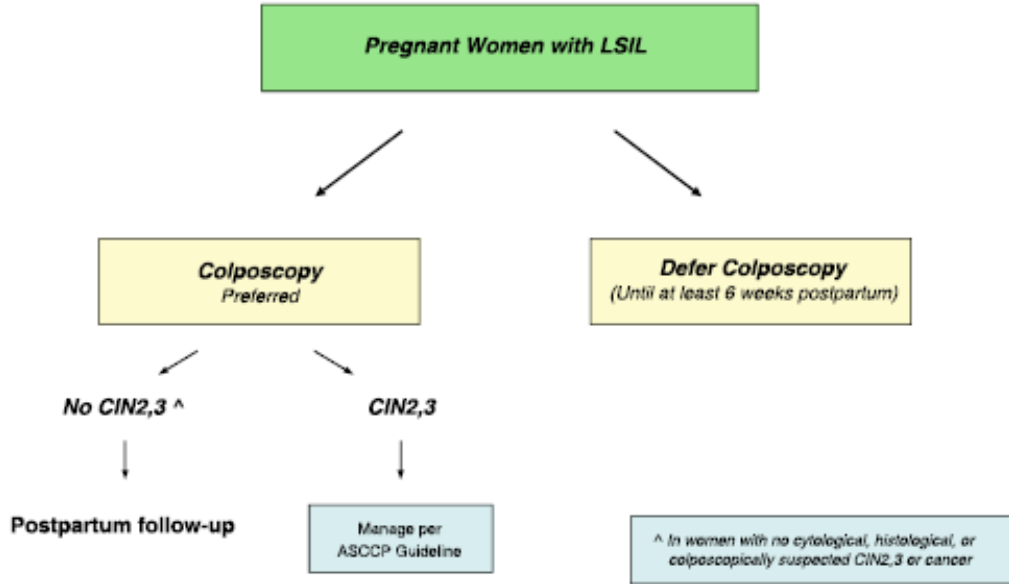
Özel Populasyon

21-24 yaşlarındaki kadınlar

21-24 yaşlarındaki LSIL'lu kadınlarda 12 aylık aralıklar ile sitoloji takibi önerilmekte olup kolposkopi önerilmemektedir. 12 aylık takipte ASC-H veya HSIL+ sahibi kadınlarda kolposkopi tavsiye edilmektedir. 24 aylık takipte ASC-US veya daha ileri sonuca sahip kadınlarda kolposkopi önerilmektedir. Ardışık iki negatif sonuç alan kadınlarda, rutin taramaya dönülmesi önerilmektedir

HPV sonucu olmayan LSIL'li gebe kadınlar için kolposkopi önerilmektedir. Gebelerde endoservikal küretaj kabul edilemez. 21-24 yaşları arasındaki gebe kadınlarda tedavi, 21-24 yaşları arasındaki kadınların LSIL tedavi kılavuzunu takiben yönetilmelidir. Kolposkopinin doğum sonrası 6. haftaya ertelenmesi kabul edilebilir. Sitolojik, histolojik veya kolposkopik olarak CIN2+ şüphelenilmeyen gebe kadınlarda, postpartum takip önerilmektedir (Şekil 19) (25).

Management of Pregnant Women with Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL)

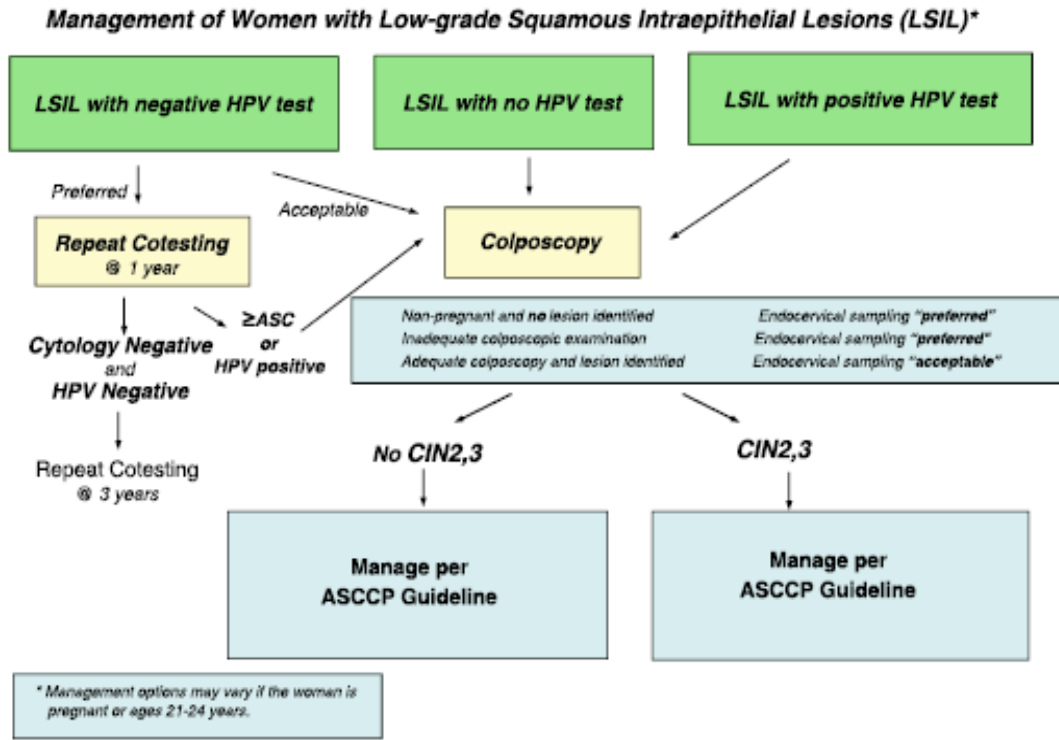


© Copyright , 2013, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. All rights reserved. ASCCP

Şekil 19- LSIL sitolojili gebe kadınlarda yönetim

LSIL'li HPV testi olmayan postmenopozal kadınların yönetiminde kabul edilebilir seçenekler;

HPV testini, 6 ve 12 ay içerisinde sitolojik test tekrarını ve kolposkopi içermektedir. Eğer HPV testi negatif veya kolposkopi de CIN tanımlanamıyor ise, 12 ay içerisinde sitoloji tekrarı önerilmektedir. HPV testi pozitif veya tekrar sitoloji ASC-US veya daha ileri ise, kolposkopi önerilmektedir. Eğer ardışık iki sitoloji testi, negatif ise, rutin taramaya dönülmesi önerilmektedir (Şekil 20) (25).

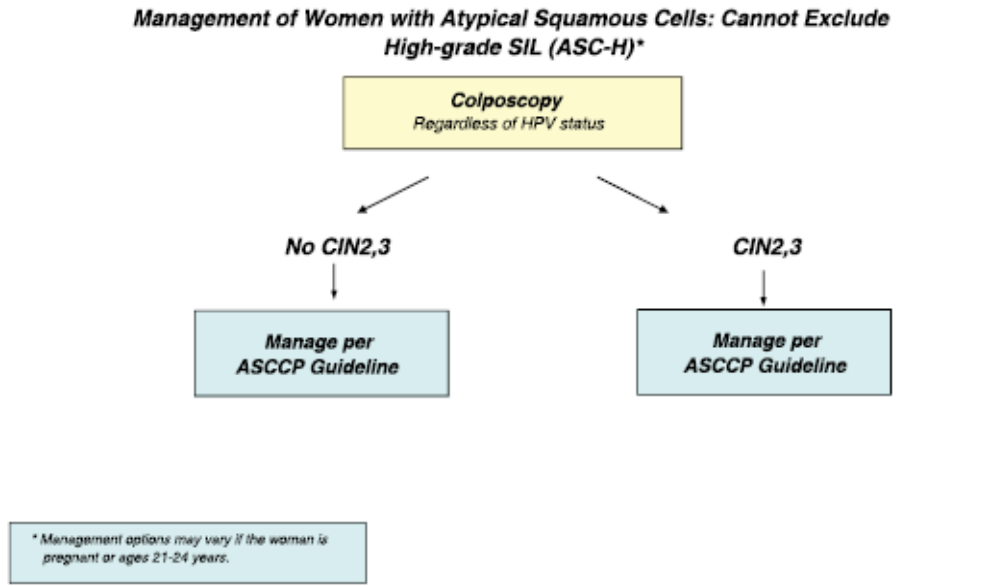


© Copyright , 2013, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. All rights reserved. ASCCP

Şekil 20- LSIL sitolojili olgularda yönetim seçenekleri

ASC-H yönetimi;

KPNC verileri, bir ASC-H raporunun belirttiği; takip eden HSIL'den daha düşük risk olmasına karşın, ASC-H'nin CIN3+'da zaman içerisinde LSIL veya ASC-US'den daha yüksek risk taşıdığını onaylamıştır. Bu ayrıca ASC-H'lı yaşlı kadınlardan daha düşük CIN3+ riskine sahip olsalarda, bu risk 21-24 yaş arasındaki kadınlar için de geçerlidir. ASC-H'lı kadınlarda HPV pozitifliğindeki yüksek oran, refleks HPV testini uygunsuz kılmaktadır. Ek olarak, *HPV-negatif ASC-H'li kadınlarda 5-yıllık kanser risk oranı %2'dir.* ASC-H sitolojisine sahip kadınlarda, HPV sonucundan bağımsız olarak kolposkopi önerilmektedir. *Refleks HPV testi önerilmemektedir* (Şekil 21) (25).



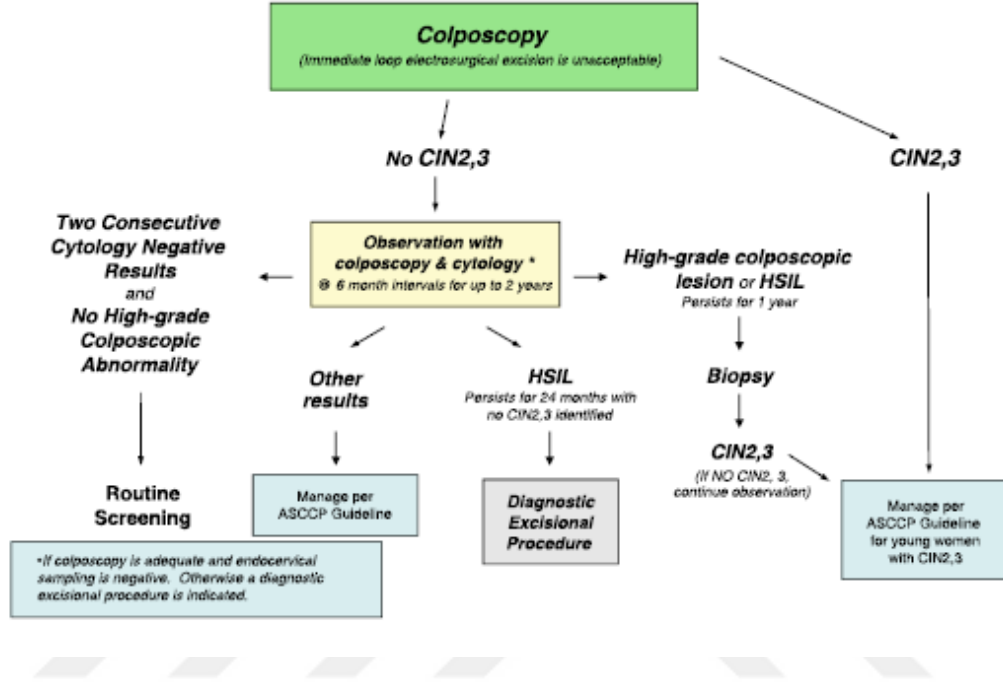
© Copyright , 2013, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. All rights reserved. **ASCCP**

Şekil 21- ASC-H sitolojili olgularda yönetim

Özel popülasyonda ASC-H;

Özel popülasyondaki 21-24 yaşlarındaki kadınlar kolposkopi önerilmektedir (Şekil 22) (25).

Management of Women Ages 21-24 yrs with Atypical Squamous Cells, Cannot Rule Out High Grade SIL (ASC-H) and High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL)



© Copyright , 2013, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. All rights reserved. ASCCP

Şekil 22- 21-24 yaş arası ASC-H sitolojili kadınlarda yönetim

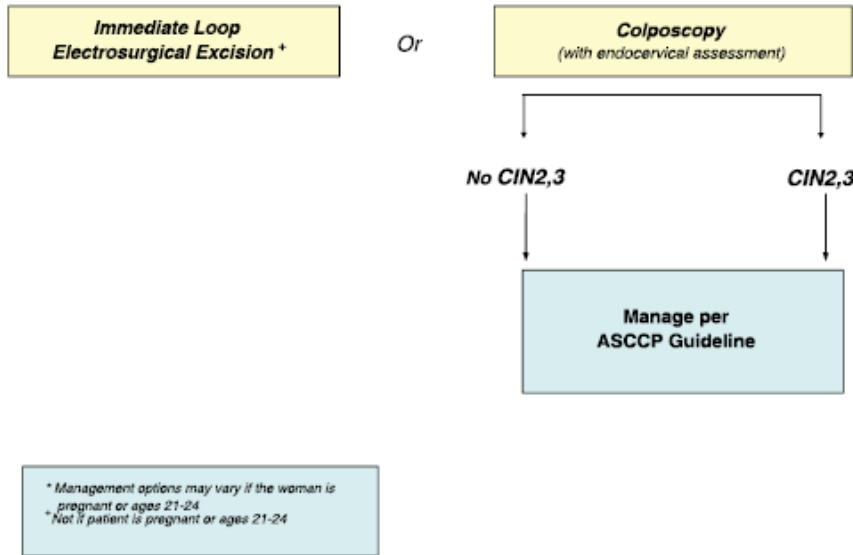
HSIL yönetimi:

HSIL olan kadınların %60'ında kolposkopide CIN2+ bulunmuştur. Özellikle takipte sıkıntı yaşanacak veya çocuk doğurma yaşını tamamlamış olan kadınlarda, herhangi bir kadın için, transformasyon zonunun derhal eksizyonu yaklaşımını haklı çıkarmaktadır. Takip altında dahi olsa 21-24 yaşları arasındaki kadınlarda risk düşük olsada, HSIL'li kadınların %2'sinde kolposkopide servikal kanser bulunmuştur. 30 yaş ve üzerindeki kadınlar arasında 5-yıllık servikal kanser riski % 8'dir. Riskler HPV test sonuçlarına göre değişmektedir.

HPV-negatif HSIL ortak test sonuçları yaygın olmamasına karşın CIN3+'da %7'si kanser geliştirecek iken, %29'luk 5 yıllık risk taşımaktadır. Bu HSIL için refleks HPV triyajını dışlamaktadır. KPNC kohortunda, HPV-pozitif HSIL'lu 30 yaş ve üzeri kadınlarda 5-yıllık kanser riski %7 iken 5 yıllık CIN3+ riski %50'dir. HSIL'lu kadınlarda HPV sonuçları ortak test ile bilindiğinde ve CIN2+ belirlenmediğinde bu riskler; derhal diagnostik eksizyon, kolposkopi ile diagnostik eksizyon, sitolojik ve kolposkopik gözlem tercihini sağlayacaktır. CIN2+ belirlenmesi için kolposkopi sensitivitesi daha önce belirtildiğinden daha düşüktür ve kolposkopi sırasında; çok sayıda farklı lezyonlar görüldüğünde birden fazla biyopsinin alınması gerektirdiğini düşündürmektedir. HSIL sitolojisi olan kadınlarda, özel popülasyonlar haricinde direk LEEP veya kolposkopi kabul edilebilir. Sitoloji tekrarı veya refleks HPV testi triyajı kabul edilemez. Direkt eksizyon ile tedavi edilmemiş kadınlarda, ortak testte elde edilen HPV sonucu ile ilgisiz olarak kolposkopi önerilmektedir. Bu nedenle refleks HPV testi önerilmemektedir.

Gebelik haricinde, kolposkopik muayenenin yetersiz olduğu durumlarda; HSIL olan kadınlarda diagnostik eksizyonel prosedür önerilmektedir (Şekil 23) (25).

Management of Women with High-grade Squamous Intraepithelial Lesions (HSIL)*



Şekil 23- HSIL sitolojili olgularda yönetim

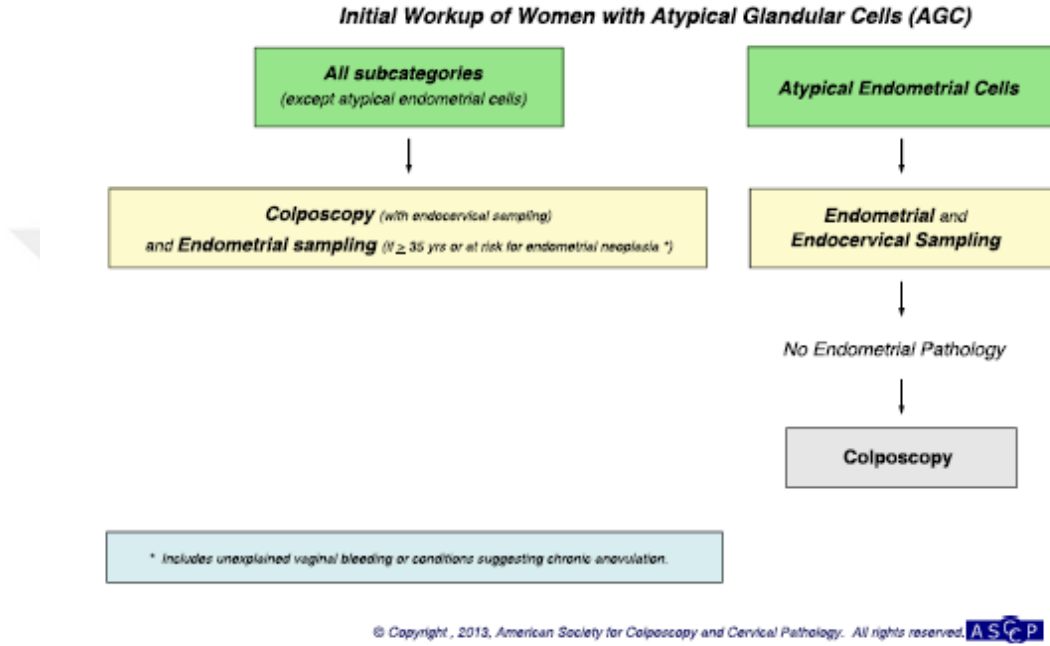
AGC yönetimi:

AGC polipler ve metaplazi ile ilişkili olmasının yanı sıra, endometrium, serviks, over, fallop tüpü ve diğer alanların adenokarsinomları ile de ilişkili bulunmuştur. AGC neoplazi lehine yorumlandı ise veya direk AIS olarak bildirildiğinde neoplazi riski daha yüksektir. Kanser riski AGC'li 35 yaşından genç kadınlarda düşük olsada, CIN 2+ riski yüksektir ve tüm yaşlarda dikkatli değerlendirme önerilmiştir. KPNC kohortunda, *CIN 3+ 30 yaş ve üzeri AGC sitolojisi olan kadınların %9'unda ve kanserli olanların %3'ünde bulunmuştur.* AGC sitolojisi en sık olarak CIN 1'i içeren skuamöz lezyonlar ile ilişkilendirilmiştir. Glandüler ve skuamöz lezyonlar sıklıkla eşlik etsede, AIS olan kadınların yaklaşık yarısında CIN bulunmuştur, böylece CIN belirlenmesi AIS veya adenokarsinomu dışlamamaktadır.

Servikal adenokarsinom HPV ilişkili olsa ve HPV testi ile belirlense de endometriyal kanser HPV testi ile belirlenemez böylece refleks HPV testi hangi subgrubun daha az invazif değerlendirme gerektireceği ayrımını belirleyemez. Negatif bir HPV testi, serviks hastalığından ziyade endometrial hastalıkta daha yüksek riske sahip kadınların belirlenmesinde yararlı olabilir. Endometrial kanser riski, endometrial kanser risk faktörleri olmayan genç kadınlarda düşük olsada, yaşlı kadınlarda ve risk faktörleri bulunan genç kadınlarda büyük ölçüde büyüktür. Benign-görüntülü endometrial ve stromal hücreler veya histiositler, premalignant lezyonlarla ve genç kadınlarda kanser ile nadiren ilişkilidir. Ancak postmenopozal kadınlarda, bu değişiklikler endometrial adenokarsinomu da içeren klinik olarak önemli patolojilerde yaklaşık %5 risk taşımaktadır.

Tüm AGC alt kategorilerinde ve atipik endometriyal hücreler olmaksızın AIS olan kadınlarda, HPV sonucundan bağımsız olarak endoservikal örnekleme ile beraber kolposkopi önerilmektedir. Bu yüzden, refleks HPV testi ile triyaj önerilmemektedir ve tekrar servikal sitoloji kullanılarak triyaj kabul edilemez. Endometriyal örnekleme, 35 yaş ve üzeri, tüm AGC alt kategorilerin ve AIS olan kadınlarda endoservikal örnekleme ve kolposkopi bileşkesinde önerilmektedir. Endometriyal örnekleme ayrıca 35 yaşından genç, endometriyal neoplazide risk altında olduğunu öne süren klinik bulgulara sahip kadınlar için de önerilmektedir. Bunlar açıklanamayan vajinal kanama veya kronik anovülasyonu öne süren

durumları içermektedir. Atipik endometriyal hücre olan kadınlarda, başlangıç değerlendirilmesi endometrial ve endoservikal örnekleme ve başlangıç değerlendirmede kolposkopi ertelenmişse ve endometrial patoloji belirlenmemiş ise kolposkopi önerilmektedir (Şekil 24) (25).



Şekil 24- AGC sitolojili olgularda yönetim

Dünya genelinde servikal kanser taraması

Dünya genelinde kadın kanserleri arasında birinci ve ikinci sırada meme kanseri ve serviks kanseri yer almaktadır. Günümüzde çoğu tarama stratejisi içinde Pap test kullanılmaktadır. Kanser mortalitesinde ve insidansında bu strateji ile önemli bir düşüş sağlanmıştır. 2003 yılında The Council of the European Union önerisi 20 ve 30 yaşlar arasında servikal kanser taramasına Paptest ile başlanmasıdır. The Advisory Committee on Cancer Prevention önerisi servikal kanser tarama sıklığı 3-5 yıl olmalıdır şeklinde olmuştur. Tabi her ülkenin kendi sağlık ekonomisi ile ilgili olarak değişik stratejiler belirlemişlerdir. Bazı ülkeler popülasyon temelli programlar yürütmüşlerdir. Bu programda taranacak popülasyonda taranacak kadın tespiti yapılır ve taramaya davet edilir. Bu tarama ülke genelinde veya sadece spesifik bir bölgede

uygulanabilir. Oportünist uygulamada kendi kararıyla başvuran veya bir sağlık çalışanı tarafından bilgilendirilmiş olan taranır. Popülasyon temelli programda başarıya ulaşma şansı daha yüksektir. Palencia ve arkadaşlarını yaptığı çalışmada Avrupa ülkelerinde değişik tarama programlarının popülasyonun sosyoekonomik durumuna göre değerlendirilmesi yapılmıştır (80). Popülasyon temelli tarama programlarında sosyoekonomik olarak herhangi bir eşitsizlik yok iken, oportünist veya bölgesel taramada popülasyonun sosyoekonomik durumu göre eşitsizlik yarattığını söylemişlerdir. Neden olarak daha iyi bilgilendirilmiş ve sosyoekonomik durumu daha iyi olan bayanların daha çok tarama programlarına katıldığı söylenmiştir. Sosyoekonomik statüden bağımsız olarak herkes programa davet edilip tarandığı için popülasyon temelli programların başarı oranının daha yüksek olduğu raporlanmıştır (80).

Organize servikal kanser taramanın etkinliğine ilişkin ilk kayıtlar İskandinav ülkelerine aittir. Buralarda ülke genelindeki organize tarama programları ile 1955 ve 1980 yılları arasında mortalitede %80 (İzlanda), %50 (Finlandiya) ve %34 (İsveç) oranlarında düşme gözlenmiştir. Organize tarama programlarının popülasyonun %40 ve %5'ini kapsadığı Danimarka ve Norveç'te ise sırasıyla %25 ve %10 gibi daha düşük düşme oranları gözlenmiştir (81).

Almanya başlangıç yaşını 20, bitiş yaşını ise 70 yaş üzeri alarak ve tarama sıklığını yılda bir alarak en yoğun servikal kanser taraması yapan ülkelere biridir. Finlandiya, İrlanda ve Hollanda ise tarama sıklığı en az olan ülkelerdir (81). Halen Avrupa'da pek çok ülkede pilot çalışmalar yapılmakla birlikte HPV testini primer tarama testi olarak kullanan ülke bulunmamaktadır (82).

Türkiye'de servikal kanser taraması

Sağlık Bakanlığı Kanseri Savaş Daire Başkanlığı'nın 2005 yılından itibaren kurmaya başladığı KETEM (Kanser Erken Teşhis, Tarama ve Eğitim Merkezi) ile daha önceden uygulanmakta olan dar kapsamlı ve pilot uygulamalar yerini daha geniş toplum taramalarına bırakmıştır. KETEM'de üç önemli kanser olan meme, serviks ve kolon kanserleri için özellikle 2008 yılında yürürlüğe giren yasa ile bütün tetkiklerin geri ödeme ve sosyal güvenlik kurumları tarafından ödenmesi ile etkin bir tarama programı uygulanmaya başlanmıştır. Ülkemiz koşulları dikkate alındığında

gerçekleştirilebilir hedef, kadınlarda 30 yaşında başlayan ve 65 yaşında biten toplum tabanlı taramadır (30 ve 65 yaşlar dahil edilecektir). Taranacak popülasyon, aile hekimlerine kayıtlı bireyler esas alınarak tanımlanmalıdır. HPV veya Pap-smear testi geliştirilecek davet yöntemleriyle her beş yılda bir tekrarlanır. Son iki HPV veya Pap-smear testi negatif olan 65 yaşındaki kadınlarda tarama kesilmelidir (83).

HPV Aşıları

Serviks kanseri ile HPV enfeksiyonu arasında çok kuvvetli bir ilişkinin olması ve buna immunolojik çeşitli mekanizmaların da etkili oluşu, araştırmacıları HPV enfeksiyonuna karşı aşı geliştirmeye zorlamıştır. Aşının HPV enfeksiyonu gelişmesine engel olarak, serviks kanseri insidansını azaltacağı ve böylece çok pahalıya mal olan serviks kanseri ya da HPV tarama programlarını azaltacağına inanılmıştır. HPV aşısı ile ilgili ilk çalışmalar 1993'te, konu ile ilgili klinik çalışmalar ise 1996 sonunda başlamıştır. Günümüze değin faz 3 çalışmalarında 60,000'in üzerinde kadınla çalışılmıştır. Merck-Sharpe-Dohme firması (Gardasil) tarafından ilki monovalan (faz 2) ve devamında tetravalan (faz 2) ve Glaxo-Smith-Kline (Cervarix) firması tarafından bivalan (faz 2) olmak üzere üç randomize VLP profilaktik aşı çalışması tamamlanmıştır (84).

Bütün bu çalışmaların ortak sonuçları, HPV VLP (virüs-benzeri parçacıklar) aşıları iyi tolere edildiği ve yüksek oranda immunojenik olduğu, yüksek antikor titrelerine sebep oldukları, persistan HPV enfeksiyonu ve HPV-ilişkili klinik hastalığın azaltılmasında etkili oldukları ve bivalan aşı ile antikor titrelerinin süresi daha uzun olduğudur. Aşıların içerdikleri virus tipi sayısı da önemli bir konudur. Pentavalan (beşli) aşı ile potansiyel olarak serviks kanseri olgularının % 83'ünün, heptavalan (yedili) aşı ile olguların % 87'sinin önlenebileceği öngörülmüştür (84). Ancak maliyet-etkinlik çalışmalarında en fazla yararın kuadrivalan (dörtlü) aşı ile elde edilebileceği hesaplanmaktadır (84). Bunun yanısıra, aşı uygulamaları sonrası HPV 16 ve 31 ve HPV 18 ile 45 arasında çapraz reaksiyonlar sonucunda etkin korunma sağlanabilecek düzeyde HPV 31 ve 45'e karşı da antikorların oluşabildiği bildirilmektedir. HPV 16 ile 31 arasındaki çapraz koruyuculuk oranları % 55 (12-78), HPV 18 ile 45 arasındaki çapraz koruyuculuk % 94 (63-100) olarak bulunmuştur

(84). Aşı aynı zamanda, serviks kanseri tarama stratejilerinde de birtakım değişikliklere yol açacaktır. Sitolojik tarama aralıkları uzayacak, DNA testleri kullanılması azalacak, dolayısı ile maliyetlerde önemli bir azalma gündeme gelecektir. Servikal kanserden korunmada, aşılanmanın en azından bugünkü stratejilerden daha başarılı olacağı öngörülmektedir. Serviks kanseri olgularının çoğunun HPV 16 ve 18 sonucunda olması nedeniyle etkili profilaktik aşılama programları ile bu hastalığa bağlı ölümlerde % 95 azalma izlenecektir. Hedef kitle daha genç kabul edildikçe, aşılanmanın etkilerinin gözlenmesi için daha uzun sürelerle gerek duyulacaktır. HPV aşılmasının en önemli etkisi gelişmekte olan ya da geri kalmış ülkelerde izlenecektir. Bu ülkelerde sitolojik tarama ya yoktur ya da etkisiz kalmaktadır. HPV 16 ve 18'e karşı aşılama servikal kanser olgularının % 70'ini önleyebilecektir . Ancak HPV enfeksiyonunun doğal gidişi göz önüne alındığında bu etki en erken 20 yıl sonra ölçülebilir hale gelecektir (84).

HPV Aşısı Gardasil

Merck firması (MSD) tarafından geliştirilen "Gardasil" quadrivalan bir aşı olup HPV tip 16,18, 6,11'e benzer partikülleri içerir ve serviks kanserleri ile prekanseröz lezyonları haricinde dış genital bölgede bulunan siğilleri (condyloma accumulata) de önleyicidir. Aşının uzun süre kalıcı olabilmesi için bir kez yapıldıktan 2 ve 6 ay sonra tekrarlanması gereklidir. Üç doz yapıldıktan sonra aşının etkinliği ömür boyu kalıcıdır, yani ilerleyen yıllarda rapel (doz tekrarı) gerekmez. FDA, 2006 Haziran ayında Gardasil'in adölesan dönemden itibaren kullanılmasına onay vermiştir. Gardasil, 2007 yılı nisan ayı itibari ile ruhsat aşamasını tamamlayarak Türkiye ilaç marketlerinde bulunmaktadır (84, 85, 86).

HPV Aşısı Cervarix

GlaxoSmithKline (GSK) firması tarafından üretilen "Cervarix" bivalan bir aşıdır ve HPV tip 16 ile 18'e benzer partikülleri içerir. Cervarix özellikle servikal kanser ve prekanserleri önlemeye yöneliktir. FDA, 2009 ekim ayında Cervarix'in adölesan dönemden itibaren kullanılmasına onay vermiştir. Cervarix'in yeterli antikor titresini oluşturabilmesi için için bir kez yapıldıktan 1 ve 6 ay sonra tekrarlanması gereklidir. Cervarix, Gardasil'in aksine toplumda son yıllarda oldukça

fazla yayılma eğiliminde olan anogenital siğillere karşı koruyucu değildir (84, 85, 86).

HPV Aşısı Gardasil 9

Gardasil 9 yeni bir HPV aşısı olup FDA aralık 2014 te kullanımına onay vermiştir. Diğer şu anda kullanımda olan Gardasil aşısına ek olarak 5 tane daha virüs tipine karşı (HPV tip 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 ve 58) koruma sağlamaktadır. HPV 6, 11, 16 ve 18 tipleri için q HPV aşısı ile eşit oranda ve 31, 33, 45, 52 ve 58 tipleri ile ilişkili hastalıklarda %97 oranında koruma sağladığı bildirilmiştir (Tablo 8) (85, 86).

Aşılar rekombinant protein ekspresyonu yöntemi ile üretilir ve virüs DNA'sı içermezler. Rekombinant VLP'lar, gerçek virionlardan morfolojik olarak ayırt edilemezler ve böylece konakta humoral immün yanıtı neden olurlar. HPV aşısı, enfeksiyonun kendisinden daha fazla immün yanıtı neden olur. Bunun en önemli nedeni, HPV enfeksiyonun viremiye neden olmadan epitele sınırlı kalması, aşının ise sistemik olarak immün yanıtı neden olmasıdır. Gerek kuadrivalen, gerekse bivalen aşı sonrası antikor düzeyleri istenen seviyelerde izlenmiştir. Çok düşük antikor seviyeleri bile HPV'nin servikal epitel hücrelerine girişini önlemektedir (87).

ACIP ve ACOG HPV enfeksiyonu ile ilişkili anogenital kanser ve genital siğillerin insidansının azaltılmasına yardım etmek için adolesan bağışıklama platformunun bir parçası olarak kız ve erkek çocuklara 11-12 olan hedef yaşta HPV aşılmasını önermektedir. Bivalen, kuadrivalen ve 9-valen aşılar 9-26 yaş kadınlarda; kuadrivalen ve 9-valen aşılar 9-26 yaş erkeklerde önerilmektedir. Kızların daha erken yaşta (15-26 yaşa karşılık 9-14 yaşlar) human papillomavirus aşılmasının yapılması daha yüksek antikor seviyeleriyle sonuçlanmaktadır. Bu daha güçlü immün yanıtın daha iyi aşı etkinliği ile bağlantılı olup olmadığı bilinmese de kızların daha erken aşılmasını (9-14 yaş) destekleyen bir diğer sebep olabilir. Aşılar cinsel aktivite başlamadan önce yapıldığında en etkin olduğu ve istatistikler 9. Sınıftakilerin (14-15 yaş) üçte birinin ve 12. Sınıftakilerin (17-18 yaş) üçte ikisinin cinsel birliktelik kurduğunu gösterdiği için erken aşılama özellikle tercih edilmektedir (86).

İsveç'te 20-22 yaşlarda ve 23-26 yaşlarda aşılananlar için sırasıyla %48 ve %21 olan oranlarla karşılaştırıldığında 10-13 yaşlarda aşılanan kızlar arasında genital

siğillerin önlenmesinde aşı etkinliği %93'tür. Tüm bu bulgular hedef yaşta (11-12 yaşlar) ve cinsel aktivite başlamadan önce aşılamanın önemini vurgulamaktadır. Her ne kadar 9-13 yaştakiler için WHO 2 dozluk kısaltılmış plan önerse de bu doz planlaması ne ACIP ne de ACOG tarafından herhangi bir yaş için önerilmemektedir (86).

Aşılama cinsel aktivite veya HPV'ye maruziyetten bağımsız olarak önerilmektedir. Aşı cinsel aktif bireylerde daha az etkin olabilmekle birlikte tüm aşı tipleriyle cinsel karşılaşma olası olmadığından bir miktar fayda sağlanacağı beklenmektedir. Aşılama hasta HPV DNA için test edilmiş olsa ve sonuç pozitif saptansa dahi önerilmektedir. HPV DNA testi yapılması aşılama öncesi hiçbir grupta önerilmemektedir (86).

9-valan HPV aşısına 11-12 yaşlarındaki kız ve erkek çocukları için Aralık 2014'te FDA tarafından lisans verilmiştir ve aşı ACIP tarafından önerilmektedir. 11-12 hedef yaşta aşılanmamış kız ve erkekler için 26 yaşına dek yakalama aşılması önerilmektedir. 16-26 yaş aralığındaki yaklaşık 14,000 kadında 9-valan HPV aşısı ile kuadriyalan HPV aşısını karşılaştıran bir faz III etkinlik çalışmasında, 9-valan HPV aşısı HPV 31, 33, 45, 52 ve 58 genotiplerine bağlı CIN 2 ve daha ileri lezyonların, vulvar intraepitelyal neoplazi (VIN) 2 veya 3'ün ve vaginal intraepitelyal neoplazi 2 veya 3'ün önlenmesinde yüksek etkinliğe sahiptir. HPV 6, 11, 16 ve 18 genotiplerine karşı antikor titreleri diğer beş HPV genotipinin eklenmesiyle düşmemiştir (86).

Kuadriyalan veya bivalan HPV aşısı ile 3 dozluk seriyi önceden tamamlayan bireyler için 9-valan HPV aşısı ile yeniden aşılama henüz rutin olarak önerilmemektedir. Obstetrisyen-jinekolog veya diğer bakım sağlayıcılar önceki uygulanan HPV aşı ürününü bilmiyor veya o aşıya sahip değillerse, veya 9-valan HPV aşısına geçiş yapan düzenlemeler içindeyseler, kadınlarda herhangi bir HPV aşı ürünüyle HPV 16 ve 18 genotiplerine karşı koruma için seriye devam edebilir veya seriyi tamamlayabilirler; erkeklerde 9-valan HPV aşısı veya kuadriyalan HPV aşısıyla seriye devam edebilir veya seriyi tamamlayabilirler (86).

HPV Aşı Güvenliği

Her üç HPV aşısı için emniyetlilik verileri güven vericidir. Aşı Olumsuz Olaylar Raporlama Sistemine göre 60 milyon dozdan fazla HPV aşısı dağıtılmıştır ve aşılama ile ilişkili ciddi olumsuz etki veya olumsuz reaksiyon olduğunu düşündürecek veri yoktur. 9-valan HPV aşısının kuadriyalan HPV aşısına göre enjeksiyon alanında, her başarılı 9-valan HPV aşı dozundan sonra artan oranda olmak üzere, daha sık şişlik ve eritem olması dışında 9-valan ve kuadriyalan aşılar benzer güvenlik profillerine sahiptir. Obstetrisyen-jinekolog veya diğer bakım sağlayıcılar hastaları aşılama sonrası hafif ağrı-sızı beklemeleri ve bu ağrı-sızının endişe sebebi olmaması konusunda bilgilendirmelidirler. Mevcut veriler kuadriyalan HPV aşısı ile aşılandıktan sonra 9-valan HPV aşısı ile aşılanan bireylerde güvenlik endişesi olmadığını göstermektedir. HPV aşısının herhangi bir komponentine veya HPV aşısının önceki dozuna karşı yaşamı tehdit eden allerjik reaksiyon geçirmiş kişiler aşılanmamalıdır. Obstetrisyen-jinekolog veya diğer bakım sağlayıcılar hastaları maya allerjisi de dahil şiddetli allerjiler için değerlendirmelidir. Orta şiddette veya ağır hastalığı olan bireyler aşılanmadan önce hastalığın iyileşmesini beklemelidirler (86).

Özel Populasyonlar İçin Düşünceler

Gebelik sırasında HPV aşılması önerilmemesine rağmen aşılama öncesi rutin gebelik testi yapılması da önerilmemektedir. Gebelik sırasında aşının istemeden yapılmasına ait mevcut emniyetlilik verileri güven vericidir. Obstetrisyen-jinekolog veya diğer bakım sağlayıcılar, konsepsiyon döneminde veya gebelik sırasında 9-valan HPV aşısına maruz kalan kadınların üretici ile bağlantı kurarak kayıt edilmeleri için teşvik edilmektedirler. Kuadriyalan HPV aşısı ve bivalan HPV aşısı için gebelik kayıtları kapatılmıştır. Bu aşılara maruziyet üreticiyi arayarak rapor edilebilir. Bir aşı serisi başlanmış ve sonra hasta hamile kalmışsa aşı serisinin tamamlanması gebelik tamamlandıktan sonraya bırakılmalıdır. Laktasyondaki kadınlar herhangi bir HPV aşısını yaptırabilirler çünkü HPV gibi inaktive aşılar anneler ve bebekler için emzirmenin güvenliğini etkilemezler.

HIV enfeksiyonlu veya organ transplantasyonlu hastalarda görüldüğü gibi immunsupresyon varlığı HPV aşılması için bir kontrendikasyon değildir. Ancak immün yanıt immünkompromize hastalarda daha zayıf olabilir.

Human papillomavirus aşıları Birleşik Devletler’de 26 yaşından büyük kadınlarda henüz lisanslandırılmamıştır. Ruhsat dışı kullanımının vakaya özgü endikasyonu olabilir (86).

Hasta Eğitimi Ve Aşılama Çalışmaları

Yüksek HPV aşılama oranları Birleşik Devletler’de HPV-ilişkili hastalık yükünü azaltacaktır. Şu andaki aşılama oranları kabul edilemeyecek kadar düşüktür. Çalışmalar hastaların ve ebeveynlerinin HPV aşılmasını kabul etmelerinde hekimlerin önerilerinin kritik rol oynadığını göstermektedir . Obstetrisyen-jinekolog ve diğer bakım sağlayıcıların ofislerinde ebeveynleri ve hastaları HPV aşılmasının güvenliği ve faydaları üzerine eğitmeleri ve HPV aşılarını tavsiye etmeleri çok önemlidir (86).

Önerilerin Özeti (ACOG 2014)

- Obstetrisyen-jinekolog ve diğer bakım sağlayanların ebeveynleri ve hastaları HPV aşılmasının faydaları ve güvenirliliği hakkında eğitmesi çok önemlidir.
- CDC ve ACOG kız ve erkek çocuklar için HPV aşısı ile rutin aşılama önermektedir. Bu öneriye rağmen Birleşik Devletler’deki 13-17 yaş aralığındaki kızların sadece yaklaşık %50’si en az bir doz aşı almıştır; sadece %33’ü her üç dozu da almıştır.
- Aşılama için hedef yaş kız ve erkek çocuklar için 11-12 yaştır.
- 9-valan HPV aşısı ACIP önerilerine kız ve erkek çocuklar için hedef yaş 11-12 ve hedef yaşta aşılanmamış kız ve erkekler için 26 yaşına dek yakalanmak üzere eklenmiştir.
- HPV DNA testi herhangi bir grup için önerilmemektedir ve eğer hasta HPV DNA testi yaptırmış ve sonuç pozitif çıkmışsa aşılama yine de önerilmektedir (86).

Ülkemizde, HPV için ulusal bir aşılama programı bulunmamaktadır. Türk Jinekolojik Onkoloji Derneği HPV aşısını önermektedir (88). Her iki tip HPV aşısı Türkiye’de bulunmaktadır. Ülkemiz de yapılan çalışmalar daha çok HPV aşısı farkındalık ve genel tutum çalışmalarıdır (87).

Tablo 8- HPV aşıları, endikasyonları ve etkinlikleri

Aşı	HPV Tipleri	Hastalık Azalması	Etkinlik
Bivalan	16 ve 18	HPV 16 ve 18 genotipleri ile ilişkili servikal kanser, CIN 1, CIN 2/3 ve adenokarsinoma in situ	Genotipler 16 ve 18’e bağlı HPV hastalığı; %98.1
Kuadrivalan	6, 11, 16 ve 18	Kadınlarda HPV 6, 11, 16 ve 18 genotipleri ile ilişkili servikal, vulvar ve vajinal kanser; CIN 1, CIN 2/3; adenokarsinoma in situ; VIN 2/3; ve vajinal intarepityal neoplazi 2/3 Erkeklerde penil intraepityal neoplazi 1/2/3 ve penil kanser Kadınlarda ve erkeklerde siğiller, anal intraepityal neoplazi ve anal kanser	Genotipler 6, 11, 16 ve 18’e bağlı HPV hastalığı; %100’e kadar
9-valan	6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 ve 58	Kadınlarda HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 ve 58 genotipleri ile ilişkili servikal, vulvar ve vajinal kanser; CIN 2/3; adenokarsinoma in situ; VIN 2/3; ve vajinal intarepityal neoplazi 2/3 Erkeklerde penil intraepityal neoplazi 1/2/3 ve penil kanser Kadınlarda ve erkeklerde siğiller, anal intraepityal neoplazi ve anal kanser	Erkeklerde eksternal genital hastalık; %90.4

MATERYAL VE METHOD

Bu çalışmada Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 01.11.2013–15.05.2015 tarihleri arasında patoloji laboratuvarında sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) ve florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR ve Cervista HPV 16/18) yöntemi ile high risk HPV-DNA (HR HPV) açısından irdelenmiş toplam 1252 adet servikal materyal retrospektif olarak incelendi.

18-75 yaş arası kadın hastalara ait, 2001 ve 2014 Bethesda Sistemine göre yeterlilik kriterlerine uyan ve tanı alan, sıvı bazlı servikal sitolojiler (ThinPrep Pap Test) benign hücresel değişiklikler (BHD), anlamı belirgin olmayan atipik skuamöz hücreler (ASC-US), high grade skuamöz intraepitelyal lezyondan ayrılmayan atipik skuamöz hücreler (ASC-H), low grade skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL), high grade skuamöz intraepitelyal lezyondan ayrılmayan low grade intraepitelyal lezyon (LSIL-H), high grade skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL) izlenenler şeklinde sınıflandırıldı.

Koruyucu solüsyonlarından florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR) sistemi ile 14 HR HPV-DNA (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) varlığı açısından incelenen olgular HR HPV (-), HR HPV (+) olarak, HR HPV (+) olgular da MIX1 (51,56,66), MIX2 (18,39,45,59,68) ve MIX3 (16,31,33,35,52,58) grubu olarak dokümanite edildi. MIX2 ve 3 grubu da ayrıca florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV 16/18) sistemi ile Tip16 ve Tip 18 pozitifliği açısından incelendi.

Çalışma için hastanemiz etik kurulundan onay alınmıştır.

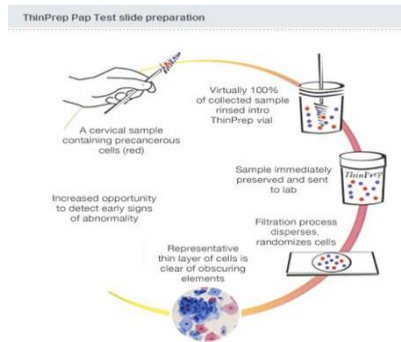
Sıvı Bazlı Sitoloji Materyalinin Hazırlanması (ThinPrep Pap Test)

ThinPrep Pap Test herhangi bir yöntemle, herhangi bir yerden alınan sitolojik materyali metanol içeren özel taşıyıcı- koruyucu sıvı ortama aktarıp değerlendirmeyi güçleştirebilecek istenmeyen elemanlardan arındırmayı ve santrifüje ederek bir araya toplanan hücrelerin lam üzerinde tek ince bir hücre tabakası halinde yayılmasını sağlayan bir yöntemdir

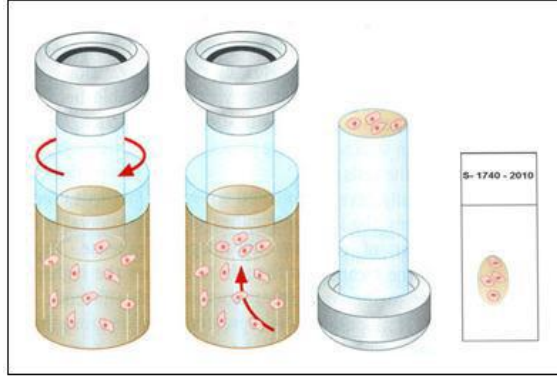
Jinekolojik örnek spatula veya fırça yardımı ile alınır. Hücreler lam üzerine yayılmaz, spatula veya fırça hücreleri bozulmadan taşımak üzere hazırlanmış olan içerisinde solüsyonu hazır şişe (örnek kabı) de 10 kez çalkalanır ve spatula/fırça atılır. Örnek kabının ağzı kapatılır, etiketlenir ve laboratuvara gönderilir.

Laboratuvarda materyal, vial ve polikarbon filtre içeren silindir örnek kabı cihaza yerleştirilir. Önce hafif bir çalkalama ile örnek kan, mukus ve tanısal olmayan elemanlardan arındırılır. Bu işlem negatif basınçla hücre dışı elemanları süzerek tanısal, hücresel materyali tek ve ince bir tabaka halinde 8 mikron çapında 70.000 adet por ihtiva eden beyaz renkli jinekolojik filtre üzerine toplar. Daha sonra daha hızlı bir santrifüj ile toplanan hücre sayısı artırılır. Filtre kalsiyum ile kaplı adheran özel lama değdirilerek 20 mm ince tabaka touch-preparat hazırlanır. Hemen %95'lik alcole konarak fikse edilir. Havada kuruma artefaktı ve kalın yayma dezavantajları ortadan kaldırılmış olur. ThinPrep stain cihazı hazırladığı yaymaları ara vermeden boyama işlemini gerçekleştirir. Cihaza bağlı olan boya setinden su, alkol, hematoksilen, AE-50 ve orange-G boyaları boya probu aracılığıyla preparat odacıklarına aktararak yaymaları boyar (Şekil 25, 26).

Gerekli durumlarda preparatın yeniden hazırlanması veya immünohistokimyasal/ moleküler çalışmalar için kalan materyal tekrar kullanılabilir. Materyalden tekrar preparat hazırlamak için sıvının yeterli olup olmadığı kontrol edilir. Solüsyon tüp üzerinde işaretli olan seviyenin altında ise jinekolojik stok sıvıdan (kullanılmamış) ilave edilir. Materyal tekrar çalışmaya hazırdır. ThinPrep kabında işaretli olan seviyenin altında veya üzerinde sıvı bulunuyor ise ThinPrep cihazı işlem yapmaz.



Şekil 25- ThinPrep Pap Test materyalinin hazırlanması

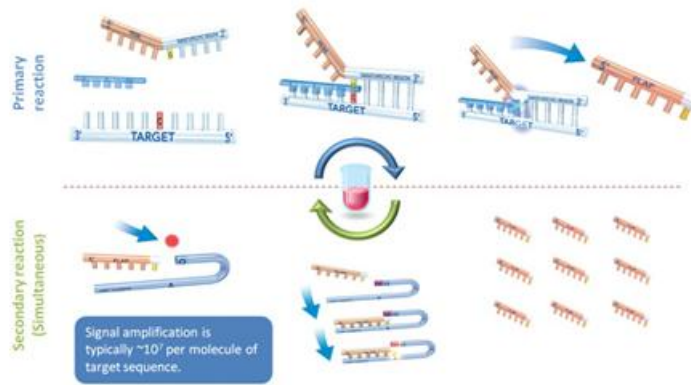


Şekil 26- ThinPrep kabı ve filtresi

HPV-DNA Testi Çalışma Prensibi (Cervista HPV HR ve HPV 16/18)

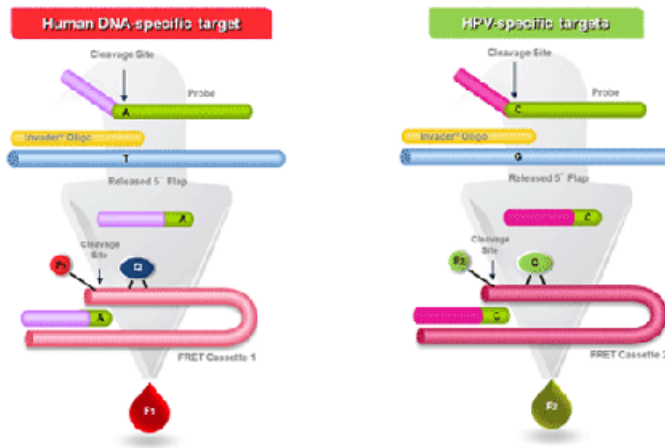
Yeni jenerasyon Cervista HPV HR, yüksek risk grubunda bulunan 14 HPV tipinin (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) DNA'sını tespit eden ve yalancı pozitiflik oranını düşüren dünyada ilk FDA onayı bulunan bir sinyal amplifikasyon sistemidir. Cervista HPV HR, test için yeterli düzeyde DNA'nın numunede bulunup bulunmadığını da tespit eden bir internal kontrol içermektedir.

Cervista HPV HR testi spesifik nükleik asit sekanslarının tespiti için bir sinyal amplifikasyon metodu olan Invader® teknolojisini kullanır. Bu method iki izotermal reaksiyon tipini içerir: Hedef DNA sekansında meydana gelen primer reaksiyon ve florasan sinyal oluşturan sekonder reaksiyon (Şekil 27).

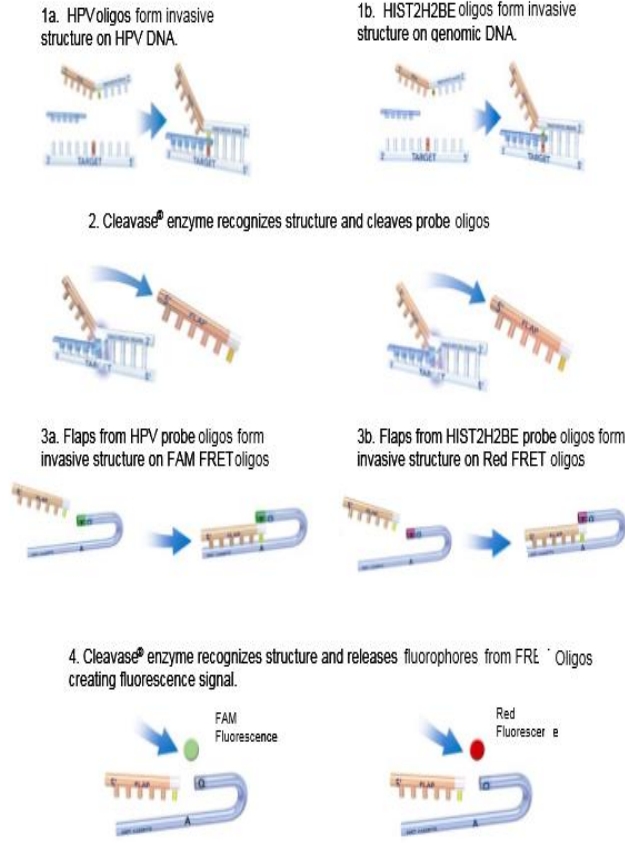


Şekil 27- Primer ve sekonder reaksiyon

Primer reaksiyonda hedef DNA sekansına bağlanan iki tip sekans spesifik oligonükleotid kullanılır bunlar; probe oligonükleotid ve Invader[®] oligonükleotiddir. Bu oligonükleotidler hedef sekansda en az bir baz çifti ile örtüşüklerinde Cleavase[®] enzim için substrat görevi gören bir invaziv yapı oluşturur. Bu enzim probun örtüşen kısmının 5' parçasını (flap) ayırır. Probelerin hedef sekanslardaki büyük miktarlarda ve hızlı olarak bağlanıp ayrılması her hedef sekansı için çok sayıda ayrılmış 5' flaplar oluşturur. Ayrılmış flaplar daha sonra Cleavase[®] enzimi tarafından substrat olarak algılanan invaziv yapıyı oluşturan universal hairpin fluorescence resonance energy transfer (FRET) oligonükleotidlere bağlanır. Bu enzim, FRET oligonükleotidleri fluorophore ve quencher moleküllerine ayırır ve floresan sinyal üreten ayrılmış flapleri oluşturur. Her hedef kopyalanması sırasında birleşik primer ve sekonder reaksiyonlar 10^6 - 10^7 kat sinyal amplifikasyonu üretir. Flap sekansları ve FRET oligonükleotidleri hedeflenen sekans ile bütünleşmediği sürece bağımsızdır. Bu test 14 HR HPV tipini filogenetik olarak ilişkili, HPV DNA sekansları açısından benzer üç oligonükleotid karışımı şeklinde gruplandırır. Oligonükleotidler bu üç tür oligonükleotid karışımında bulunan human histone 2 genine (H2be, HIST2H2BE) bağlanır. HIST2H2BE internal kontrol ürünü olarak örnek içinde bulunur. Cervista[®] HPV HR her biri ayrı ışımsal fluorophore içeren (FAM ve Red) probe üzerinde yerleşimli iki farklı FRET oligonükleotidleri ile birlikte iki farklı flap sekansının kullanılmasıyla tek bir kuyu üzerinde eş zamanlı HPV DNA sekansını ve HIST2H2BE'yi tesbit etmeye yarar. Bu şekilde hedef spesifik sinyal oluşumu için ayrılmış 5' flaplar kendisine ait FRET oligonükleotidlere bağlanır (Şekil 28, 29).

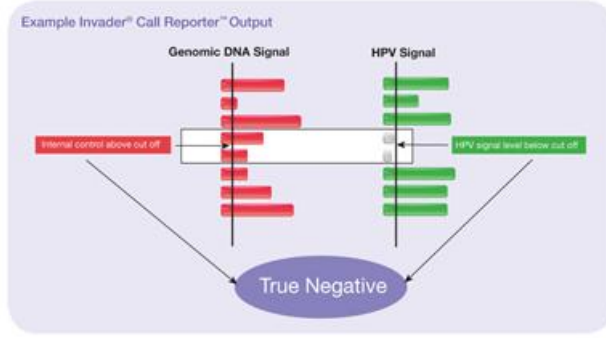


Şekil 28-Sekonder reaksiyon



Şekil 29- Cervista[®] HPV HR çalışma prensibi

Pozitif bir sonuç 14 HR HPV DNA'sından en az birini işaret eder. Bu sonuç FAM florasan sinyalinin deneysel olarak oluşturulan cut-off değerinin üzerinde olduğunu gösterir. Her bir sonuç için negatif sonuç da deneysel olarak oluşturulan cut-off değerinin altındadır. Her bir reaksiyon için human HIST2H2BE geni de kırmızı florasan sinyali ile ölçülür ve cut-off değerinin altındadır. Bu yöntemle de yeterli düzeyde DNA'nın numunede bulunup bulunmadığı konfirme edilerek internal kontrol mekanizması sağlanmış olur (Şekil 30, Tablo 9).



Cervista HPV HR: The Only FDA-approved HPV Test with an Internal Control

Şekil 30- Cervista® HPV HR internal kontrol mekanizması

Tablo 9- İnternal kontrol sistemi değerlendirmesi

	Signal	No Signal
Internal Control Reaction Red	Adequate DNA present for valid test result	Specimen not adequate for testing result
HPV Reaction Green	Presence of high- risk HPV types	No high-risk HPV types present

Prosedür

Cervista HPV HR testi öncesi Genfind-DNA ekstraksiyon kiti ile DNA izolasyonu sağlanır.

İzolasyon basamakları

1. Her olgu için koruyucu solüsyonlardan 20 µL deep-well'e konulur.
2. 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir.
3. Aspirasyon sonrası dipte kalan pellet üzerine lizis buffer+ protein kinaz ilave edilir.
4. Termomixerde 15 dakika 37 derecede inkübe edilir
5. Isı ayarı 0 derecede olacak şekilde binding buffer eklenir
6. Termomixerde 2 dakika inkübe edilip özel mıknatıs üzerine konulur. Dördüncü basamakta açığa çıkan DNA ve altıncı basamaktaki binding buffer bağlanıp özel mıknatıs yardımıyla çöktürülür.

7. Wash bufferla yıkanarak bekletilir ve aspire edilir.
8. % 70'lik etil alkol ile 3 defa yıkanarak aspire edilir.
9. Üzerine tris buffer eklenir (binding buffer + DNA birleşimini ayırıp DNA'nın solüsyonda kalmasını sağlar)
10. Her olgu için serbest DNA çalışılmak ya da saklanmak üzere bir plate'e transfer edilir.

İzole edilen serbest DNA ile +4 derecede 24 saat, -20 derecede 1 hafta saklanabilir.

İzolasyon aşaması sonrası basamaklar ise şöyledir:

1. Kontrol ve numune örneklerinin her birinden 10 µL 96 mikrokuyucuk içeren çalışma plate'i üzerindeki üçer kuyuya eklenir.
2. Buharlaşmayı en aza indirmek ve inkubasyon sırasındaki ısı dengesini korumak için üzerlerine 20 µL mineral yağı eklenir ve şeffaf koruyucu yerleştirilir
3. Gen Amp PCR system 9700 içinde 5 dakika 95 derecede inkübe edilir.
4. Üç ayrı HPV oligo+enzim karışımı hazırlanarak 30 dakika içinde kullanılır.
5. Gen Amp PCR system 9700 ısı 63 dereceye düşürülür.
6. Her bir mikrokuyuya 10 µL hazırlanmış olan antikor- enzim karışımı ilave edilerek en az 10 kez pipetaj yapılır.
7. Gen Amp PCR system 9700 içinde 63 derecede 4 saat inkübe edilir.
8. Okumadan önce çalışma plate ısısının 6 derecede olmasına dikkat edilir.
9. 96 mikrokuyucuk üzerindeki şeffaf koruyucu kaldırılır
10. Çalışma plate'i i-tecan cihazında FAM ve kırmızı ayarlar için iki kere iki ayrı nanometrede okutulur.
11. Invader systemde herhangi bir numune için pozitif veya negatif veya belirsiz sonuç üç ayrı reaksiyon mikrokuyularının analizine dayalı olarak oluşturulur.
12. Testin geçerli sayılabilmesi için her üç kontrolün de beklenen sonuçlarda olması gerekir. Aksi durumda test geçersizdir ve tekrarlanmalıdır.
13. Mix 2 ve mix 3 grubu sırasıyla tip 18 ve tip 16'yı kapsamaları nedeniyle Cervista HPV 16/18 ile benzeri yöntemle ileri analiz yapılarak irdelenir.

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (frekans) yanısıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

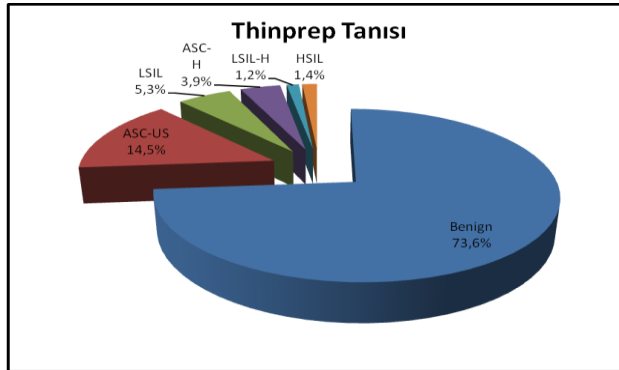


BULGULAR

Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 01.11.2013–01.05.2015 tarihleri arasında patoloji laboratuvarında sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) ile 17.295 vaka incelenmiş 16.882'si (%97.6) benign, 412'si (%2.4) anormal sitolojili olarak raporlanmıştır. Anormal sitolojili olguların tüm vakalar içindeki dağılımı; ASC-US 226 (%1.3), LSIL 86 (%0.5), ASC-H 55 (%0.3), LSIL-H 16 (%0.1), HSIL 29 (%0.7), anormal sitolojili olguların kendi içlerindeki dağılımı ise şu şekildedir: ASC-US %55, LSIL %21, ASC-H %13, LSIL-H %4, HSIL %7.

Çalışmamıza sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) sonrası kalan koruyucu solusyonlarında florasan sinyal amplifikasyon (Cervista HPV HR) yöntemi ile 14 HR HPV-DNA (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) araştırılan toplam 1252 olgu dahil edilmiştir. Olgular tarama amaçlı randomize seçilerek co-test uygulanan, klinik istem nedeniyle co-test uygulanan ve anormal sitoloji nedeniyle reflex-test uygulanan vakalardan oluşmaktadır. Anormal sitolojili 412 olgunun 82'sinde koruyucu solusyonlarındaki yetersizlik nedeniyle HPV DNA izolasyonu sağlanamamış olup bu olgular çalışma dışı bırakılmıştır. Olguların yaşları 18 ile 75 arasında değişmekte olup, median değer 38'dir.

Çalışmamıza dahil edilen 1252 olgunun sitolojik (ThinPrep Pap Test) incelemesinde 922'sine (%73.6) benign hücresel değişiklikler, 182'sine (%14.5) ASC-US, 66'sına (%5.3) LSIL, 49'una (%3.9) ASC-H, 15'ine (%1.2) LSIL-H ve 18'ine (%1.4) HSIL tanıları verilmiştir (Şekil 31).



Şekil 31- ThinPrep tanılarına göre dağılım

Olguların 435’inde (%34.7) HPV pozitifliği saptanırken 817’sinde (%65.3) HPV negatif olarak bulunmuştur. ThinPrep tanı gruplarına göre pozitif HPV görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p=0.001$; $p<0.01$). Benign grubun HPV oranı (%18.7), ASC-US (%72.5), LSIL (%83.3), ASC-H (%87.8), LSIL-H (%100) ve HSIL (%100) gruplarının oranlarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0.001$; $p<0.01$). ASC-US grubunun HPV oranı (%72.5), ASC-H (%87.8), LSIL-H (%100) ve HSIL (%100) gruplarının oranlarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p_1=0.043$, $p_2=0.013$, $p_3=0.008$; $p<0.05$, $p<0.01$). Diğer grupların HPV dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10: ThinPrep tanılarına göre HPV prevalansı ve servikal sıvı bazlı sitolojilerin değerlendirilmesi

		Benign	ASC-US	LSIL	ASC-H	LSIL-H	HSIL	Total	p
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
HPV	Pozitif	172 (%18,7)	132 (%72,5)	55 (%83,3)	43 (%87,8)	15 (%100)	18 (%100)	435 (%34,7)	0,001**
	Negatif	750 (%81,3)	50 (%27,5)	11 (%16,7)	6 (%12,2)	0 (%0)	0 (%0)	817 (%65,3)	

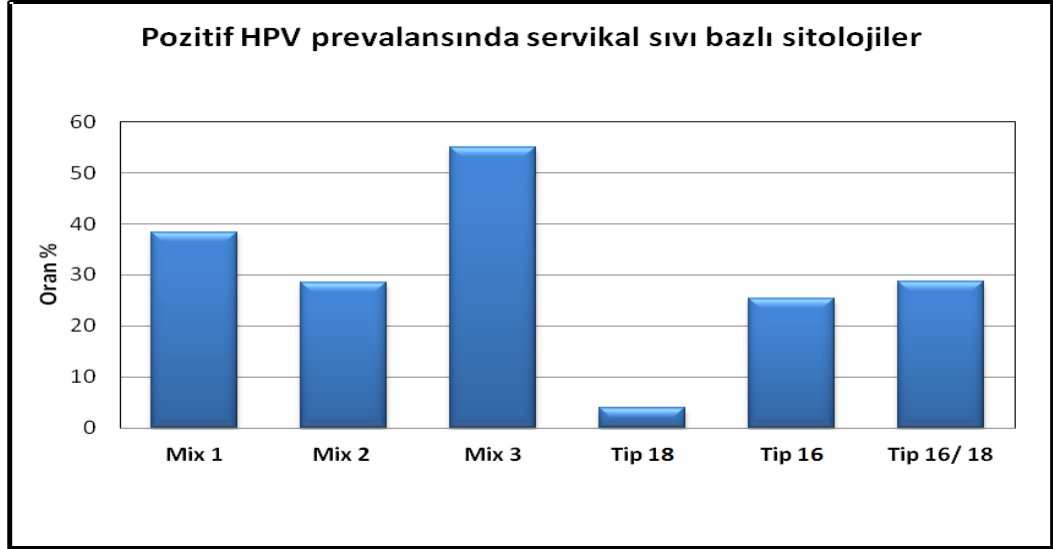
Ki-Kare Test

** $p<0.01$

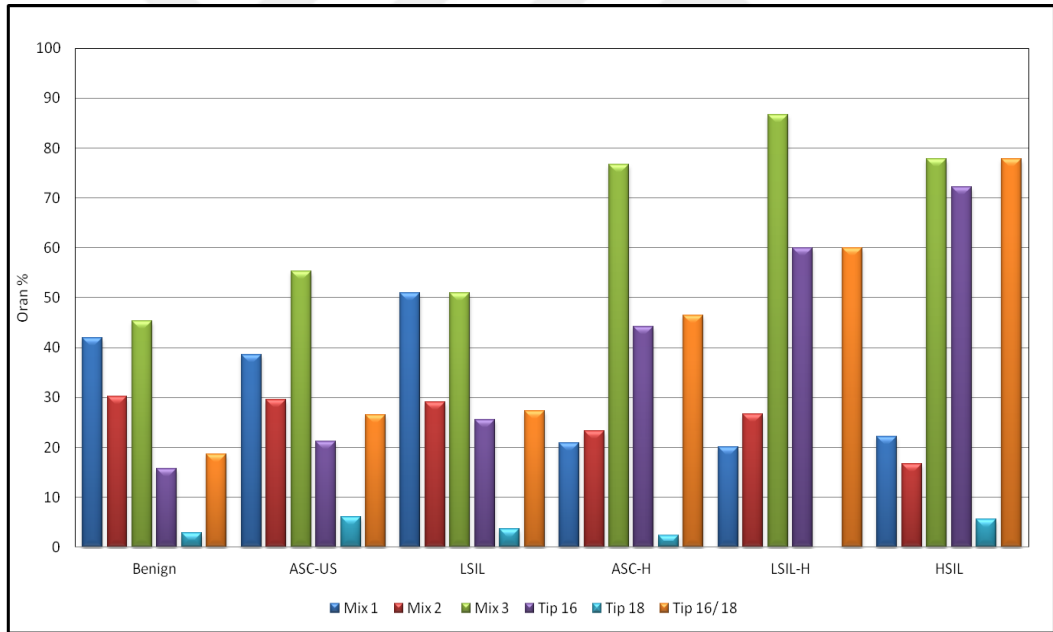
HPV pozitif olan olguların 167’sinde (%38.4) Mix 1, 124’ünde (%28.5) Mix 2, 239’unda (%54.9) Mix 3 grubundan en az biri, 110’unda (%25.3) Tip 16, 17’sinde (%3.9) Tip 18 ve 125’inde (%28.7) Tip 16/18 pozitifdir (Şekil 32).

Multiple HPV ile enfeksiyon olguların 89’unda (%20) mevcuttur. 6’sı (%1.3) Mix1,2,3 grubundan en az bir (toplamda en az üç tip), 83’ü (%19) Mix 1,3 veya Mix 1,2 veya Mix 2,3 grubundan en az bir (toplamda en az iki) olmak üzere multiple HPV ile enfektedir. Yalnızca iki vakada HPV tip 16 ve 18 birlikteliği saptanmıştır.

Pozitif HPV saptanan olgularda ThinPrep tanı gruplarına göre dağılım da şu şekildedir (Şekil 33):



Şekil 32- Pozitif HPV prevalansında servikal sıvı bazlı sitolojiler



Şekil 33- Pozitif HPV saptanan olgularda ThinPrep tanı gruplarına göre dağılım

Pozitif HPV görülenlerde ThinPrep tanı gruplarına göre Mix 3 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.01$). ASC-H grubunun Mix 3 oranı (%76.7), Benign (%45.3), ASC-US (%55.3) ve LSIL (%50.9) gruplarının oranlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur

($p_1:0.001$, $p_2:0.020$, $p_3:0.016$; $p<0.01$, $p<0.05$). LSIL-H grubunun Mix 3 oranı (%86.7), Benign (%45.3), ASC-US (%55.3) ve LSIL (%50.9) gruplarının oranlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.005$, $p_2:0.039$, $p_3:0.028$; $p<0.01$, $p<0.05$). HSIL grubunun Mix 3 oranı (%77.8), Benign (%45.3) grubunun oranlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0.018$; $p<0.05$). Diğer grupların Mix 3 dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

ThinPrep tanısı benign olguların 32'sinde (%18.6), ASC-US tanılı olguların 35'inde (%26.5), LSIL tanılı olguların 15'inde (%27.3), ASC-H tanılı olguların 20'sinde (%46.5), LSIL-H tanılı olguların 9'unda (%60), HSIL tanılı olguların 14'ünde (%77.8) Tip 16/18 pozitifdir (Tablo 11).

Tablo 11: Pozitif HPV prevalansında ThinPrep tanılarına ve HPV tip 16/18 pozitifliğine göre servikal sıvı bazlı sitolojilerin değerlendirilmesi

HPV		Benign	ASC-US	LSIL	ASC-H	LSIL-H	HSIL	Total	p
Pozitif		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Tip 16	Pozitif	27	28	14	19	9 (%60)	13	110	0,001**
		(%15,7)	(%21,2)	(%25,5)	(%44,2)		(%72,2)	(%25,3)	
	Negatif	145	104	41	24	6 (%40)	5	325	
		(%84,3)	(%78,8)	(%74,5)	(%55,8)		(%27,8)	(%74,7)	
Tip 18	Pozitif	5 (%2,9)	8 (%6,1)	2 (%3,6)	1 (%2,3)	0 (%0)	1 (%5,6)	17 (%3,9)	0,681
		Negatif	167	124	53	42	15	17	
	(%97,1)		(%93,9)	(%96,4)	(%97,7)	(%100)	(%94,4)	(%96,1)	
	Tip 16/ 18	Pozitif	32	35	15	20	9 (%60)	14	
(%18,6)			(%26,5)	(%27,3)	(%46,5)	(%77,8)		(%28,7)	
Negatif		140	97	40	23	6 (%40)	4	310	
		(%81,4)	(%73,5)	(%72,7)	(%53,5)		(%22,2)	(%71,3)	
Ki-Kare Test			* <i>p</i> <0.05			** <i>p</i> <0.01			

Pozitif HPV görülenlerde ThinPrep tanı gruplarına göre Tip 16/18 görülme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0.001$; $p<0.01$). LSIL-H grubunun Tip 16/18 oranı (%60), Benign (%18.6), ASC-US (%26.5), LSIL (%27.3) ve ASC-H (%46.5) gruplarının oranlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.001$, $p_2:0.014$, $p_3:0.039$, $p_4:0.001$; $p<0.01$, $p<0.05$). HSIL grubunun Tip 16/18 oranı (%77.8), Benign (%15.7) ve ASC-US (%21.2) gruplarının oranlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0.001$; $p<0.01$). ASC-H

grubunun Tip 16/18 oranı (%46.5), Benign (%15.7) ve ASC-US (%21.2) gruplarının oranlarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1:0.001$, $p_2:0.024$; $p<0.01$, $p<0.05$). Diğer grupların Tip 16/18 dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).



TARTIŞMA

Serviks kanseri ve HPV ilişkisi ilk olarak Zur Hausen ve arkadaşları tarafından öne sürüldükten sonra yapılan çalışmalar HPV'nin serviks kanseri ve preinvaziv servikal lezyonlar için en önemli risk faktörü olduğunu göstermiştir (89,90). Serviks kanseri olan hastalar bilinen tüm yüksek riskli HPV tipleri açısından araştırıldığında %99.7 oranında bir pozitiflik gözlenir (91). Li ve arkadaşlarının 2011'de yaptığı meta analize göre de bu oran %85.9 ile %92.9 arasındadır (89). Özellikle yüksek riskli HPV tipleri olarak bilinen 16, 18, 31, 45 tüm serviks kanseri hastalarının %80'inde bulunur. Serviks kanseri ve HPV için çeşitli coğrafik bölgelerde 20 kat fark edebilen değişik sıklıklar bildirilmiştir (91, 92).

Hiçbir kanser tipi, korunmanın, erken tanının ve mortalitede küratif tedavinin dikkate değer etkilerini serviks kanserinden daha iyi ortaya koyamaz (9). Dolayısıyla serviks kanseri sıklığında azalma HPV enfeksiyonunun tanınması, önlenmesi ve tedavi edilmesi ile mümkündür. Günümüzde sitolojik incelemeler ile birlikte servikal kanser tarama programlarının önemli bir parçası olan HPV-DNA/RNA testleri dünya genelinde sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır.

Dünyada yaygın olarak kabul edilen görüşe göre bir patoloji laboratuvarında incelenen servikal sitolojilerde ASC-US oranının %4-5'ten fazla olmaması gerektiği ve oranın daha yüksek olduğu koşullarda laboratuvarın kalite kontrolünün yeniden değerlendirilmesinin uygun olacağı belirtilmektedir. Greenberg ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ASC-US oranını %5 (93), Manos ve arkadaşları %3.5 (94), Chhieng ve arkadaşları %5.7 (95), Stoler ve arkadaşları %2.8 (96) olarak açıklamışlardır. 2009 yılında Türk Servikal Kanseri ve Sitoloji Araştırma Grubu'nun 140334 türk kadını ile 33 merkezde yaptıkları çalışmada bu oran %1.07 olarak bildirilmiştir (97). Koyuncu ve arkadaşlarının %4.2 (60), Demirkaya ve arkadaşlarının %5.7 (98) olarak saptadıkları ASC-US oranı bizim çalışmamızda literatürde önerilen oran ile uyumlu olarak %1.3'tür.

Bir diğer ve daha değerli kalite kontrol indikatörü olarak ASC-US/ LSIL ya da ASC/ SIL oranı gösterilmektedir. Bethesda sistemi 2001'den önce ASC-US/ LSIL oranı 3/1 olarak kabul edilmekteyken Bethesda 2001'den sonra bu oran 1/1

olarak öngörülmüştür (17). Cibas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ABD’de ASC-US/ LSIL oranı 0.99-4.02 (1.77) olarak saptanmıştır (99). 2001 yılında Juskevicius (100) ve arkadaşları ASC-US/ SIL oranlarını 2/1, 2006 yılında Chhieng ve arkadaşları ASC/ SIL oranlarını 2/1 (101), 2007 yılında Nascimento ve arkadaşları 3.5 yıl boyunca 6 aylık periyodlarla takip ettikleri ASC/ SIL oranlarını 2.05-1.73 arasında (102) bildirmişlerdir. 2014 yılında Belçika’da yapılan 58.265 vakadan oluşan Catteau ve arkadaşlarının çalışmasında da ASC/SIL oranları 1.9’dur (103). Yine Demirkaya (98) ve arkadaşları ASC-US/ LSIL oranlarını 1.6, Koyuncu ve arkadaşları 2.05 (60) olarak tesbit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da ASC-US/ SIL oranı 1.72, ASC-US/ LSIL oranı 2.62, ASC/ SIL oranı 2.14 olup literatürlerde bildirilen değerlerle uyumludur.

Genel popülasyonda anormal sitolojilerdeki dağılım da çeşitli çalışmalarda şu şekildedir: Manos ve arkadaşları; ASC-US %3.5, LSIL %0.9, HSIL %0.3, Chhieng ve arkadaşları; ASC-US %5.7, HSIL % 2.5, Stoler ve arkadaşları; ASC-US % 2.8, LSIL % 1.97, HSIL % 0.51 olarak bildirmişlerdir (94,95,96). Demirkaya ve arkadaşları (98) oranlarını ASC-US % 5.7, LSIL % 3.4, HSIL % 1.1 , Koyuncu ve arkadaşları (60) ASC-US % 4.2, LSIL % 2, HSIL % 1.3 olarak saptamışlardır. 2009 yılında 33 merkezli Türkiye datasına (97) göre de ASC-US % 1.07, LSIL %0.3, ASC-H % 0.07, HSIL % 0.17’dir. Bizim çalışmamızda oranlarımız; ASC-US %1.3, LSIL % 0.5, ASC-H % 0.3, LSIL-H %0.1, HSIL %0.7’dir. ASC-US ve LSIL oranlarımız literatür değerlerinin alt sınırlarına yakın iken HSIL oranımız daha yüksektir. Bu durumun HSIL ve daha ileri lezyonları gruplandırma sırasında tek grup altında toplamamızdan kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmüştür.

Sitolojik incelemelerde günlük uygulamada LSIL bulguları ile birlikte HSIL için tanısal olmayan ancak kuşkulu hücreler içeren olgularla karşılaşılabilir (104). Bethesda 2001 ve 2014 bu antitete yer vermemiştir. Ancak laboratuvarımızda bu tür değişiklikler gösteren olgulara ‘LSIL-H; HSIL dışlanamayan atipik skuamöz hücreler içeren LSIL’ tanısı verilmektedir. 2004 yılında Kır (105), 2006 yılında Elsheik (106), 2011 yılında Kaygusuz (104), 2013 yılında Çetiner (107), 2014 yılında Barron (108) ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda LSIL-H ile ilişkili histolojik olarak CIN2 ve üzeri bir lezyon bulunma oranının LSIL ve HSIL arasında olup ASC-H’e benzediği bu nedenle LSIL tanısında hasta takip edilebilirken LSIL-

H tanısında ise kolposkopi ile inceleme yapılması gerektiği öne sürülmüştür. Bizim çalışmamızda da 16 (%0.1) vakaya LSIL-H tanısı verilmiş olup %100 oranında HPV pozitifliği saptanmış ve kolposkopik inceleme önerilmiştir. HPV tip 16/18 pozitifliği incelendiğinde de LSIL- H grubunun %60 oranı ile ASC-H (%46.5) ve HSIL (%77.8) arasında yer aldığı görülmüştür.

Dünyadaki HPV prevelansı ve dağılımı coğrafik bölgelere ve etnik gruplara göre %2-44 (109) arasında değişiklik göstermektedir. 2008 yılında İngiltere’de 24510 kadın ile yapılan ARTISTIC çalışmasında HR HPV oranı %10.6’dır (110). 2011 yılında Tailand’da Laowahutanont ve arkadaşları HR HPV oranını %9.3 (111), 2014 yılında Çin’de 15.267 kadının dahil edildiği Liu ve arkadaşlarının çalışmasında HR HPV prevelansı %22.8 olarak bulunmuştur (112). Daha önceki çalışmalarda Türk kadınları arasında HPV prevelansının %2-6 oranında (113,114,115,116) olduğu bildirilmiştir. Son çalışmalarda ise 2013 yılında Dursun ve arkadaşları HR-LR HPV oranını %25 (117), Akyar ve arkadaşları HR HPV oranını %47.7 (118), 2009 yılında yine Dursun ve arkadaşları %23 (3), Demir ve arkadaşları %17.9 (119), Yüce ve arkadaşları HR HPV oranını %23 (120), Tezcan ve arkadaşları %22.3 (121), Eren F. ve arkadaşları %16.5 (122), Tuncer ve arkadaşları %22.4 (123), Eren H. ve arkadaşları %49.5 (124) olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızdaki HR HPV prevelansı da %34.7’dir. Son çalışmalar da dikkate alındığında artık Türkiye’de de verilerin daha iyi korunduğu ve prevelans çalışmalarına önem verildiği görülmektedir.

Çalışmamızda *normal sitolojili olgularda* HR HPV pozitifliği %18.7, *anormal sitolojili olgularda* % 80 olarak tespit edilmiştir. Normal sitolojili olgularda Schiffman ve arkadaşlarının 2011 yılında 20.000 kadın üzerinde yaptıkları Kaiser Kohort çalışmasında HR HPV oranı yaşlara göre %17 ile %5 arasında değişmektedir (125). Laowahutanont ve arkadaşları ise Thailand’da HR HPV oranını daha düşük (% 6.7) olarak saptamıştır (111). 2014’te Çin’de Liu ve arkadaşlarının 15267 vakalık çalışmalarında normal sitolojili olgularda HR HPV oranı %16.2 (112), Jonge ve arkadaşlarının 2013’te Almanya’da yaptıkları çalışmada bu oran %26’dır (126). Türk popülasyonunda normal sitolojili olgularda HPV oranı Dursun ve arkadaşlarının çok merkezli ve 6388 vakalık çalışmasında %27, anormal sitolojili olgularda %53 (117), Koyuncu ve arkadaşlarına göre normal sitolojik sonuçlarda

%19.3, anormal sitolojik sonuçlarda %69.3'tür (60). 2013'te Akyar ve arkadaşlarının çalışmasında HR HPV oranı %17.7'dir (118). Yine Eren H. ve arkadaşları pap smear testinde hücresel değişiklik saptanmayan olgularda HPV pozitifliğini % 34 (124), Demirkaya ve arkadaşları %28.6 olarak bulmuşlardır (98). Bizim çalışmamızdaki sonuçlar da toplumumuzda sanıldığığının aksine yüksek oranda HPV taşıyıcılığı olduğunu bir ölçüde yansıtmakta ve HPV'nin anormal sitolojik sonuçlar için önemli bir risk faktörü olduğunu desteklemektedir.

Anormal sitolojilerdeki HPV oranlarımıza baktığımızda ASC-US tanıılı olguların % 72.5'i , LSIL tanıılı olguların %83.3'ü, ASC-H tanıılı olguların %87.8'i, LSIL-H ve HSIL tanıılı olguların %100'ü pozitif olarak saptanmıştır. Schiffman ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları geniş kapsamlı Kaiser Kohort çalışmasında bu oranlar ASC-US için %62-17, LSIL için %86-56, HSIL için %96-78 arasında değişmektedir (125). Evans ve arkadaşlarının bir çalışmasında da HR HPV pozitifliği ASC-US %53, LSIL %55.5, ASC-H %80 ve HSIL tanıılı olgularda %87.5 olarak tespit edilmiştir (127). 2014'te Laowahutanont ve arkadaşlarının anormal sitolojilerde HR HPV pozitifliği %53.4, ASC %46.7, LSIL %54.8, HSIL %80'dir (111). 2013'te Jonge ve arkadaşlarına göre HR HPV ASC-US %43.2, LSIL %78.9, ASC-H %62.1, HSIL %91.9'dur (126). Koyuncu ve arkadaşlarının çalışmasında ASC-US lezyonlarının %56'sında, ASC-H lezyonlarının hepsinde, LSIL lezyonlarının %85'inde, HSIL lezyonlarının %92.3'ünde HPV pozitifliği saptanmıştır (60). Demirkaya ve arkadaşlarının çalışmasında da ASC-US, LSIL ve HSIL oranları sırasıyla şu şekildedir: %24, %50 ve %100 (98). 2000 yılında yapılan ALTS grup çalışmasında 642 LSIL hastasında HPV enfeksiyonu araştırılmış 642 hastanın 532'sinde (%82,9) HPV enfeksiyonu pozitif bulunmuştur (128). Çalışmamızdaki LSIL olgularındaki HPV pozitifliği de literatürle benzerlik göstermektedir. ASC-US olgularındaki yüksek HPV oranımız ise sitolojik incelemede ASC-US eşik değerimizin daha yüksek, kriterlerimizin daha net ve keskin olması ile açıklanabilir. Literatür bilgisine paralel olarak çalışmamızda ASC-H, LSIL-H ve HSIL lezyonlarındaki yüksek HPV pozitifliği, bu sitolojik sonuçlarda HPV testinin gereklilik ve tanı değerini düşürmekte ve ilk yapılması gereken işlemin kolposkopik ve histopatolojik inceleme olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda tüm olguların 125'inde (%10), HPV pozitifliği olanların %28.7'sinde, thin prep tanısı benign olguların 32'sinde (%18.6), ASC-US tanılı olguların 35'inde (%26.5), LSIL tanılı olguların 15'inde (%27.3), ASC-H tanılı olguların 20'sinde (%46.5), LSIL-H tanılı olguların 9'unda (%60), HSIL tanılı olguların 14'ünde (%77.8) Tip 16/18 (tip 16 veya 18) pozitif olarak saptanmıştır. 2015 yılında Bhar (129) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada normal sitolojili olgularda tip 16 ve 18 pozitifliği sırasıyla %25.8 ve %4.5, çalışmamızda da %15.7 ve %2.9 olarak belirtilmiştir. Laowahutanoat (111) ve arkadaşlarının çalışmasında da HPV pozitifliği olan tüm olguların %78.2'i tip 16/18 dışı, %17.4'ü tip 16 ve %44'ü tip 18 olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise HPV pozitifliği olan tüm olguların %71.3'ü tip 16/18 dışı, %25.3'ü tip 16 ve %3.9'u tip 18'dir. Evans ve arkadaşlarının tip 16 pozitifliği ASC-US'ta %17.5, LSIL'da %15.5, ASC-H'de %48.5 ve HSIL'de %49'dur (127). 2013'te Almanya'da Jonge ve arkadaşlarının çalışmasında ise sitolojik incelemede ASC-H ve HSIL'de en sık görülen HPV tipi 16 olmasına rağmen bizim oranlarımızdan daha düşük bildirilmiştir (126). 2015 yılında Monsenogo (130) ve arkadaşlarının çalışmasında normal sitolojili olgularda tip 16 ve 18 oranı sırasıyla %1.3 ve %0.6 olarak saptanmış ve bu gruptaki kadınların kolposkopiye yönlendirilmesinin öneminden bahsedilmiştir. Bizim çalışmamızda da sitolojisi negatif kadınlarda tip 16 ve 18 oranlarımız %2.9 ve %0.5 idi. Dursun ve arkadaşlarının çok merkezli çalışmalarında anormal sitolojilerdeki tip 16 ve 18 oranları da sırasıyla şu şekildedir: ASC-US; %29.8 ve %7.6, LSIL; %41.4 ve %10.5, HSIL; %68.8 ve %4.2 (117). Bizim oranlarımız; ASCUS; %21.2 ve %6.1, LSIL; %25.5 ve %3.6, ASC-H; %44.2 ve %2.3, LSIL-H; %60 ve %0, HSIL; %72.2 ve %3.9'dur. Çalışmamızda da literatüre benzer şekilde bizim toplumumuzda da tip 16 görülme oranının oldukça yüksek, tip 18'in ise göreceli olarak daha az olduğu görülmüştür. ASC-US ve LSIL tanılı olgularda tip16/18 dışı HPV oranımız (%73.5 ve %72.7) yüksek olup özellikle LSIL tanılı olgularda mix 1 (51,56,66) grubunda anlamlı farklılık vardır. Yine HSIL sonuçlarına baktığımızda da bizim HSIL tanısı vermede daha konservativ bir yaklaşım sergilediğimiz düşünülebilir.

HPV pozitif olgularımızın 89'unda (%20) multiple enfeksiyon mevcuttur. Olguların 6'sı (%1.3) Mix1,2,3 grubundan en az bir (toplamda en az üç tip), 83'ü (%19) Mix 1,3 veya Mix 1,2 veya Mix 2,3 grubundan en az bir (toplamda en az iki)

olmak üzere multiple HPV ile enfektedir. Yalnızca iki vakada HPV tip 16 ve 18 birlikteliği saptanmıştır. 2015 yılında Monsonego ve arkadaşlarının 40.901 vaka ile yaptıkları çalışmada multiple HR HPV oranı %13.4'tür (130). Bizim genel popülasyondaki oranımız ise daha düşük olup %7'dir. 2013 yılında Dickson ve arkadaşları 309.000 kadın ile yaptıkları çalışmada multiple HPV ile enfekte olma oranını %4.6 olarak bildirmiştir (131).



SONUÇLAR

- Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 01.11.2013–01.05.2015 tarihleri arasında patoloji laboratuvarında sıvı bazlı sitoloji (ThinPrep Pap Test) ile 17.295 vaka incelenmiş 16.882'si (%97.6) benign, 412'si (%2.4) anormal sitolojili olarak raporlanmıştır.
- Anormal sitolojili olguların tüm vakalar içindeki dağılımı şu şekildedir: ASC-US 226 (%1.3), LSIL 86 (%0.5), ASC-H 55 (%0.3), LSIL-H 16 (%0.1), HSIL 29 (%0.7). Bizim çalışmamızda da literatürlerde bildirilen değerlerle uyumlu olarak ASC-US oranımız %1.3, ASC-US/ SIL oranımız 1.72, ASC-US/ LSIL oranımız 2.62, ASC/ SIL oranımız 2.14'tür.
- Anormal sitolojili olguların kendi içlerindeki dağılımı ise şu şekildedir: ASC-US %55, LSIL %21, ASC-H %13, LSIL-H %4, HSIL %7.
- Çalışmamıza dahil edilen 1252 olgunun sitolojik (ThinPrep Pap Test) incelemesinde 922'sine (%73.6) benign hücresel değişiklikler, 182'sine (%14.5) ASC-US, 66'sına (%5.3) LSIL, 49'una (%3.9) ASC-H, 15'ine (%1.2) LSIL-H ve 18'ine (%1.4) HSIL tanıları verilmiştir.
- LSIL-H tanısı Bethesda Sistemi 2001 ve 2014'de yer almamış ancak literatürde bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da 16 (%0.1) vakaya LSIL-H tanısı verilmiş olup %100 oranında HPV pozitifliği saptanmış ve kolposkopik inceleme önerilmiştir. HPV tip 16/18 pozitifliği incelendiğinde de LSIL- H grubunun %60 oranı ile ASC-H (%46.5) ve HSIL (%77.8) arasında yer aldığı görülmüştür.
- Olguların 435'inde (%34.7) HPV pozitifliği saptanırken 817'sinde (%65.3) HPV negatif olarak bulunmuştur.
- Çalışmamızda normal sitolojili olgularda HR HPV pozitifliği %18.7, anormal sitolojili olgularda % 80 olarak tespit edilmiştir.
- Anormal sitolojilerdeki HPV oranlarımız; ASC-US tanılı olgularda % 72.5, LSIL tanılı olgularda %83.3, ASC-H tanılı olgularda %87.8, LSIL-H ve

HSIL tanılı olgularda %100'dür. Çalışmamızdaki LSIL olgularındaki HPV pozitifliği de literatürle benzerlik göstermektedir. ASC-US olgularındaki yüksek HPV oranımız ise sitolojik incelemede ASC-US eşik değerimizin daha yüksek, kriterlerimizin daha net ve keskin olması ile açıklanabilir. Literatür bilgisine paralel olan ASC-H, LSIL-H ve HSIL lezyonlarındaki yüksek HPV pozitifliği, bu sitolojik sonuçlarda HPV testinin gereklilik ve tanı değerini düşürmekte ve ilk yapılması gereken işlemin kolposkopik ve histopatolojik inceleme olduğunu ortaya koymaktadır.

- Tüm olguların 125'inde (%10), HPV pozitifliği olanların %28.7'sinde, Thin Prep tanısı benign olguların 32'sinde (%18.6), ASC-US tanılı olguların 35'inde (%26.5), LSIL tanılı olguların 15'inde (%27.3), ASC-H tanılı olguların 20'sinde (%46.5), LSIL-H tanılı olguların 9'unda (%60), HSIL tanılı olguların 14'ünde (%77.8) Tip 16/18 (tip 16 veya 18) pozitif olarak saptanmıştır. Çalışmamızda da literatüre benzer şekilde bizim toplumumuzda da tip 16 oranının oldukça yüksek, tip 18'in ise göreceli olarak daha az olduğu ve sitolojik anormalliğin derecesi ile birlikte tip 16/18 saptanma oranının da korele olarak arttığı görülmüştür.
- HPV pozitif olgularımızın 89'unda (%20) multiple enfeksiyon mevcuttur. Genel popülasyondaki bu oranımız ise literatürdeki ortalama değerlere yakın olup %7'dir.
- Serviks kanseri sıklığında azalma HPV enfeksiyonunun tanınması, önlenmesi ve tedavi edilmesi ile mümkündür. Özellikle tarama programları ile sıklıkla asemptomatik olan prekürsör lezyonlar tanınmakta ve bunlar etkili bir şekilde tedavi edilebilmektedir.
- Mevcut çalışmalar serviks kanserinden kaynaklanan mortalite insidansının azaltılmasında ThinPrep yöntemi ile HPV DNA-RNA tespitinin etkili olduğunu desteklemektedir.
- HPV DNA-RNA testleri genel olarak yayma incelemelerine göre daha yüksek duyarlılığa sahiptir. Bununla beraber, HPV enfeksiyonlarının büyük çoğunluğunun geçici olması nedeniyle, HPV DNA-RNA testlerinin doğrudan tarama testi olarak kullanılması durumunda, takipler sırasında hasta üzerinde olumsuz psikolojik etkilerin ortaya çıkabileceği ve hastanın gereksiz

kolposkopi uygulamaları ve invaziv girişimlere maruz kalabileceği dikkate alınmalıdır.

- Bu bulgulardan sonra ele alınması gereken konu da HPV enfeksiyonundan korunmayı sağlayacak profilaktik HPV aşılarının topluma sunulması ve bu konuda toplumun bilgilendirilmesidir.
- Ülkemizdeki gerçek HPV prevelansı ve tiplerinin belirlenebilmesi için toplum tabanlı geniş sayıda hasta içeren serilere ihtiyaç olduğu aşikardır.
- Ulusal düzeyde organize edilmiş toplum tabanlı erken teşhis ve tarama faaliyetleri serviks kanseri açısından ülkemiz için ümit verici olan gelişmeler olup gelecekte ülkemizde rutin aşılama çalışmalarında kullanılacak genotiplerin önceliğini belirlemede yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Kurman, R.J., Carcangiu, M.L., Herrington, C.S., Young, R.H. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. Fourth Edition. Lyon : IARC Press, 2014:169-206.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Forman D, Bray F. GLOBOCAN 2012 cancer incidence. Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.
3. Dursun P, Senger SS, Arslan H, Kuşçu E, Ayhan A. Human papillomavirus (HPV) prevalence and types among Turkish women at a gynecology outpatient unit. BMC Infect Dis 2009;9:191.
4. Psyrri A, DiMaio D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. Nat Clin Pract Oncol 2008; 5: 24-31.
5. Kurman RJ, Hedrick Ellenson L, Ronnett BM. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. 6th ed. New York: Springer-Verlag, 2011:156-295 .
6. Janqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji text&atlas (çeviri editörleri: Solakoğlu S, Aytekin Y) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009: 451.
7. Disaia JP, Creasman TW . Klinik Jinekolojik Onkoloji (çeviri Ayhan A). 6. baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2003; 3-61, 633.
8. Atasü T, Aydın K.. Jinekolojik Onkoloji. 2. baskı, 1999; 178-259
9. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robins ve Cotran'ın Hastalığın Patolojik Temeli (çeviri editörleri: Sav A, Özdamar ŞO). 7.baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2009: 1059-1117.
10. Patnick J. Cervical cancer control in Europe. CME Journal of Gynecologic Oncology 2000;5:8-12.
11. Karaca MZ. Smearden HPV'ye serviks kanseri taramaları , 2015 [internet]. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığı. <http://kanser.gov.tr/bilgi/dokumanlar/sunum.html?start=20>
12. Ayinde AE, Adewde IF, Babarinsa IA. Trends in cervical cancer screening in Ibadon, Nigeria: A four-year review. West Afr, Med. 1998; 17: 25-30.
13. Zemheri E, Koyuncaer A. Servikal kanserlerin erken tanısında pap testinin önemi. Sted 2005;14 :1-4.
14. Zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. Curr Top Microbiol Immunol 1977, 78:1-30.
15. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D et al. American Cancer Society. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. CA Cancer J Clin. 2002;52:342-62.

16. Arisan K. Kadın Hastalıkları (Jinekoloji). Uterus kanserleri 3. baskı İstanbul 1991: 647-685.
17. Nayar R, Solomon D. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria and Explanatory Notes, 2nd Edn. New York: Springer; 2004.
18. Crum CP. Human papillomaviruses. Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1995;94:301-379.
19. Klinkhamer PJ, Meerding WJ, Rosier PF et al. Liquidbased cervical cytology. Cancer 2003;99:263-271.
20. Limaye A, Connor AJ, Huang X et al. Comparative analysis of conventional Papanicolaou tests and a fluid-based thin-layer method. Arch Pathol Lab Med 2003;127:200-204.
21. Malloy C, Sherris J, Herdman C. HPV DNA Testing: Technical and Programmatic Issues for Cervical Cancer Prevention in Low-Resource Settings. PATH, 2000. Available at: <http://screening.iarc.fr/doc/HPV-DNA-Testing>
22. Federal Drug Administration. FDA approves expanded use of HPV test. 2003. Available at <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2003/NEW00890.html> Retrieved June 8, 2005.
23. Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM, Jacobson D, Yi B, Hwang YT, et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. JAMA 2002;287:2372-81.
24. ACOG Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician Gynecologists: Screening for Cervical Cancer. November, 2012.
25. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, Solomon D, Wentzensen N, Lawson HW; 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. Obstet Gynecol 2013 ;121(4):829-846.
26. Nayar R, Wilbur D. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes, 3rd Edn. New York: Springer; 2015.
27. Akhan E S. Ülkemizde servikal kanser epidemiyolojisi ve HPV serotipleri. Ankem Dergisi 2007; 21, Ek 2: 96-98.
28. Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N eng J Med 2003;348:63-73.
29. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. Br J Cancer 2003;348:518-527.
30. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM, Jenkins D, Schuind A, Costa Clemens SA, Dubin G; HPV Vaccine Study group. Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. Lancet 2006 ;367:1247-1255.
31. Bosch FX, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol 2002;55: 244-65.
32. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Vol 90, Cervix Cancer Screening . IARC Pres. Lyon, 2005 .

33. Yarkin F. Human Papillomavirus: Patogenez ve İmmunité. 32. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, Antalya, Türkiye. 2006 :234-236.
34. Kubar A. Papillomavirusların genel özellikleri. 32. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, Antalya, Türkiye. 2006:231-233.
35. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Manual of Clinical Microbiology. 1st ed. Washington DC, USA: ASM Press; 2007.
36. World Health Organization International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: A Review of Human Carcinogens. Lyon France: International Agency for Research on Cancer Working Group; 2011.
37. Yıldırım D, Yıldırım ME, Bakıcı MZ. Sivas Bölgesinde Yaşayan Kadınlarda Servikal Örneklerde Human Papillomavirus Pozitifliği ve Genotiplerin Sıklığı. Fırat Tıp Dergisi 2013;18:94-97.
38. Gerald L.Mandell, John E.Bennat, Raphel Dolin. Principles and Practice of İnfection Disease. 5th Edition, Volume 2, 1999;1160-1171.
39. Karaahmet Ö. ASC-US ve LGSIL’de yüksek onkojenik riskli HPV DNA testi ve kolposkopik biyopsi sonuçları (tez). İstanbul: Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2008.
40. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Tissue Renewal and Repair: Regeneration, Healing and Fibrosis. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th ed. Philadelphia, Elsevier Saunders 2005; 87-118.
41. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer:Evasion from host cell control in early events in carcinogenesis. J Natl Cancer Inst 2000 ;92:690- 698.
42. Eileen M. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Clinical Microbiology Reviews. 2003;16:1-17.
43. Allan BR, Marais DJ, Denny L. Et al. The agreement between cervical abnormalities identified by cytology and detection of high-risk types of human papillomavirus. S Afr Med J. 2006 ;96:1186-1190.
44. Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. Int J Gynecol Pathol 1993;12(2):186-192.
45. Aydın Ö. Sıvı bazlı servikal sitoloji kursu notları- IV, İstanbul, Türkiye, 2015.
46. Şahiner F, Şener K. Human papilloma virus enfeksiyonları, risk faktörleri ve koruyucu önlemler. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni 2013; 12: 715-722.
47. Şahiner F. Genital İnsan Papillomavirus Enfeksiyonlarının Moleküler Tanısında Karşılaşılan Sorunlar ve Yeni Gelişmeler. Mikrobiyol Bul 2014;48:689-706.
48. McCrory DC, Matchan BB, Bastain L, et al. Evaluation of cervical cytology. Evidence Report Technology Assessment (summ), 1999 ;5:1-6.
49. Fahey MT, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. Am J Epidemiol 1995;141:680-689.

50. DeMay RM. Cytopathology of false negatives preceding cervical carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1110-1113.
51. Shingleton HM, Patrick RL, Johnston WW et al.. The current status of the Papanicolaou smear. *CA Cancer J Clin* 1995;45:305- 320.
52. Hakan Ozan: Pap smear ne zaman? nasıl? kimden? *TJOD - Uzmanlık Sonrası Eğitim ve Güncel Gelişmeler*. 2005;2:35-40.
53. Control of cancer of the cervix uteri. A WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1986;64:607-618.
54. Jhon A. Rock, Howard W. Jones. Te Linde's Operative Gynecology. 9. Basım (Türkçe) Bölüm 45-46, 1231-1254.
55. Lee KR, Ashfaq R, Birdsong GG et al. Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based system for cervical cancer screening. *Obstet Gynecol* 1997;90:278:284.
56. Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P et al. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systemic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2008;111:167-177.
57. Karnon J, Peters J, Platt J et al. Liquid-based cytology in cervical screening: an updated rapid and systematic review and economic analysis. *Health Technol Assess* 2004;8:1-78.
58. Siebers AG, Klinkhamer PJ, Vedder JE, Arbyn M, Bulten J. Causes and relevance of unsatisfactory and satisfactory but limited by smears of liquid-based compared with conventional cervical cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136:76-83.
59. Tuncer ZS. Konvansiyonel sitoloji ve sıvı bazlı sitoloji sunumu, Türk-Alman Jinekoloji Kongresi, 2004.
60. Koyuncu E. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran hastaların servikal sitolojilerinin servikal kanser risk faktörlerine göre analizi-normal ve anormal sitolojik sonuçlarda yüksek onkojenik riskli HPV prevalansı (tez). İstanbul: Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2006
61. Miller FS, Nagel LE, Kenny-Moynihan MB. Implementation of the ThinPrep Imaging System in a high volume metropolitan laboratory. *Diag Cytopath.* 2007;35:213-7.
62. Lenhoff A. Five FDA-approved HPV assays. *MLO Med Lab Obs* 2012; 44: 14, 16, 18.
63. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol* 2005; 32(Suppl 1): 43-51.
64. Stillman MJ, Day SP, Schutzbank TE. A comparative review of laboratory-developed tests utilizing Invader HPV analyte-specific reagents for the detection of high-risk human papillomavirus. *J Clin Virol* 2009; 45(Suppl1): 73-77.
65. Poljak M, Kocjan BJ. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8: 1139-1162.
66. Dutra I, Foroni I, Couto AR, Lima M, Bruges-Armas J. Molecular diagnosis of human papillomavirus,. In: Vanden Broeck D (ed), *Human Papillomavirus and Related Diseases - From Bench to Bedside -Research Aspects*. InTech, Rijeka, Croatia. 2012; 203-46.
67. Andersson S, Hansson B, Norman I, et al. Expression of E6/E7 mRNA from

- 'high risk' human papillomavirus in relation to CIN grade, viral load and p16INK4a. *Int J Oncol* 2006; 29: 705-711.
68. Şahiner F, Kubar A, Yapar M, Şener K, Dede M, Gümral R. Detection of major HPVs by a new multiplex realtime PCR assay using type-specific primers. *J Microbiol Methods* 2014; 97: 44-50.
69. Nindl I, Rindfleisch K, Lotz B, Schneider A, Dürst M. Uniform distribution of HPV 16 E6 and E7 variants in patients with normal histology, cervical intra-epithelial neoplasia and cervical cancer. *Int J Cancer* 1999; 82: 203-207.
70. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 357-361.
71. Gravitt PE, Viscidi RP. Measurement of exposure to human papillomaviruses. In: Rohan TE, Shah KV (eds), *Cervical Cancer: From Etiology to Prevention*. Kluwer Academic Publishers, Boston. 2004; 119-41.
72. Depuydt CE, Boulet GA, Horvath CA, Benoy IH, Vereecken AJ, Bogers JJ. Comparison of MY09/11 consensus PCR and type-specific PCRs in the detection of oncogenic HPV types. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 881-891.
73. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 518-27.
74. Nayar/Wilbur The Pap Test and Bethesda 2014 *Acta Cytologica* 2015;59:121–132
75. Kurman RJ et al. Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. *JAMA* 1994 271: 1866-1869.
76. Solomon D et al. The Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. 2002 *JAMA* 287: 2114-2119.
77. Wright T.C., Cox T.J, Massad L.S, Twiggs L.B., Wilkinson E.J.; 2001 Consensus Guidelines for the Management of Women With Cervical Cytological Abnormalities for the 2001 ASCCP-Sponsored Consensus Conference. *JAMA* 2002; 287:2120-2129.
78. Cibas E.S., Ducatman B.S.; *Cervical and Vajinal Cytology*. Cytology, 2.nd.Ed. Saunders: Elsevier, 2003;1-61.
79. Mayrand MH et al. *Int J Cancer* 2006 119;615-623.
80. Palència L, Espelt A, Rodríguez-Sanz M, Puigpinós R, Pons-Vigués M, Pasarín MI, Spadea T, Kunst AE, Borrell C. Socio-economic inequalities in breast and cervical cancer screening practices in Europe: influence of the type of screening program. *Int J Epidemiol* 2010 ;39:757-65.
81. <http://www.eurocytology.eu/>
82. Cuzick, J. Clinical workshop IPV 2012, Puerto Rico.
83. <http://www.kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/ketem-ve-kanser-taramalari.html>
84. Arvas M. Human papillomavirus enfeksiyonu ve aşısı. İ.Ü. Cerrahpaşa tıp fakültesi sürekli tıp eğitim etkinlikleri, sempozyum dizisi no: 59, 2007;25-31
85. Özgül N. Dünyada ve Türkiyede HPV hastalık yükü. www.kanser.gov.tr/ sunum 2015

86. Adölesan Sağlığı Komitesi Bağısklama Uzman alışma Grubu, KOMİTE GÖRÜřÜ (ev. Arslan T.) Aşılama Zamanı Human Papillomavirus Aşılması 2015; 641.
87. řahbaz A, Erol O. HPV vaccination practice. J Turk Soc Obstet Gynecol. 2014; 11(2): 126-130.
88. <http://www.trsgo.org/menu/157/hpv-asilari>.
89. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJ, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication. Int J Cancer 2011 128:927-935.
90. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM *et al*. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999 189:12-9.
91. Kuzey GM. Temel patoloji. İstanbul: Güneş kitabevi 2007; 647-648.
92. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. J Infect Dis 2010 15; 202:1789-1799.
93. H. Greenberg, M. Duarte, O. R. Quezada. Implications regarding atypical squamous cells of undetermined significance among women residing in a US-Mexico border city.. International Gynecological Cancer 2006; 16: 1014-1016.
94. Manos MM, Kinney Wk, Hurley LB *et al*. Identifying Women With Cervical Neoplasia Using Human Papillomavirus DNA Testing for Equivocal Papanicolaou Results. J Am. Med. Assoc 1999; 281:1605-1610.
95. Chhieng DC, Elgert PA, Cangierella JF *et al*. Clinical Significance of Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance. Acta Cytol 2000; 44: 557-56.
96. Stoler MH. Advances in Cervical Screening Technology. Mod Pathol 2000; 13: 275-284.
97. Turkish Cervical Cancer And Cervical Cytology Research Group. Prevalence of cervical cytological abnormalities in Turkey. Int J Gynaecol Obstet 2009;106:206-209.
98. Demirkaya N. Servikal lezyon saptanan hastalarda ThinPrep yöntemi ile HPV prevelansının araştırılması (tez). İstanbul : şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2009.
99. Edmund S.Cibas, MD, Kelly H.Zou, Christopher P.Crum, MD. Using the Rate of Positive High-Risk HPV Test Results for ASC-US Together With the ASC-US/SIL Ratio in Evaluating the Performance of Cytopathologists. AM Clinic Pathology 2008; 129 : 97-101.
100. Juskevicius R, Zou KH, Cibas ES. An analysis of factors that influence the ASCUS/SIL ratio of pathologists. Am J Clin Pathol 2001 ;116:331-5.
101. Chhieng DC, Chen J, Connolly K, Roberson J, Eltoum I. High-risk HPV DNA detection rate in patients with atypical squamous cells and its relationship to the atypical squamous cell: squamous intraepithelial lesion ratio. Acta Cytol 2006 ; 50:291-294.
102. Nascimento AF, Cibas ES. The ASC/SIL ratio for cytopathologists as a quality control measure: a follow-up study. Am J Clin Pathol 2007 ;128:653-6.

103. Catteau X, Simon P, Noël JC. Research Article Evaluation of the Oncogenic Human Papillomavirus DNA Test with Liquid-Based Cytology in Primary Cervical Cancer Screening and the Importance of the ASC/SIL Ratio: A Belgian Study. *ISRN Obstetrics and Gynecology* Volume 2014 , Article ID 536495, 5 pages.
104. Kaygusuz EI, Cetiner H, Sahin D. LSIL/ASC-H (LSIL-H) in cervicovaginal smear: histopathological outcomes and clinical significance. *Turk Patoloji Derg* 2011 ;27:46-50.
105. Kir G, Cetiner H, Gurbuz A, Karateke A. Reporting of "LSIL with ASC-H" on cervicovaginal smears: is it a valid category to predict cases with HSIL follow-up? *Eur J Gynaecol Oncol* 2004;25:462-4.
106. Tarik M. Elsheikh, MD, Joseph L. Kirkpatrick, CT, Howard H. Wu The Significance of 'Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion, Cannot Exclude High-Grade Squamous Intraepithelial lesion' as a Distinct Squamous Abnormality Category in Papanicolaou Tests. 2006 American Cancer Society 2006; 108 : 277-281.
107. Çetiner H, Kır G, Kaygusuz E, Sağlıcan Y, Kabaca C. Is the Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion/Atypical Squamous Cells Cannot Exclude High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Category Associated with Cervical Intraepithelial Neoplasia 2? *Acta Cytologica* 2013;57:581–584.
108. Barron S, Li Z, Austin RM, Zhao C. Low grade squamous intraepithelial lesion/ cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL-H) is a unique category of cytologic abnormality associated with distinctive HPV and histopathologic CIN2+ detection rates. *Am Clin Pathol* 2014;141:239-246.
109. Burkhart CG, Burkhart CN. If papillomavirus found universally in epidermal tissues, what does that mean if a PCR pap test is positive? *Open Dermatol J* 2009; 3: 52–53.
110. Sargent A, Bailey A, Almonte M, Turner A, Thomson C, Peto J, et al. Prevalence of type-specific HPV infection by age and grade of cervical cytology: data from the ARTISTIC trial. *Br J Cancer* 2008;98:1704–9.
111. Laowahutanont P, Karalak A, Wongsena M, Loonprom K, Pukcharoen P, Jamsri P, Sangrajrang S. Prevalence of high risk human papillomavirus infection with different cervical cytological features among women undergoing health examination at the National Cancer Institute, Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:5879-82.
112. Liu XX, Fan XL, Yu YP, Ji L, Yan J, Sun AH. Human papillomavirus prevalence and type-distribution among women in Zhejiang Province, Southeast China: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2014 19;14:708.
113. Inal MM, Köse S, Yildirim Y, Ozdemir Y, Töz E, Ertopçu K, Ozelmas I, Tinar S. The relationship between human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in Turkish women. *Int J Gynecol Cancer* 2007 ;17:1266-1270.

114. Ozcelik B, Serin IS, Gokahmetoglu S, BasbugM, ErezR: Human papillomavirus frequency of women at low risk of developing cervical cancer: A preliminary study from a Turkish university hospital. *Eur J Gynaecol Oncol* 2003, 24:157-159
115. Tuncer ZS, Basaran M, Ustaçelebi S, Kuzey GM: High-Risk Human Papilloma Virus (HPV) Infection Determined By Hybrid Capture II Assay in a Turkish University Hospital Outpatient. *Clinic MN-Gorm* 2006; 12:129-134
116. Safi Z, Demirezen S, Beksaç MS, Kuzey GM, Kocagöz T, Ustaçelebi ^, Hasçelik G, Çakar An: İnsan papilloma virüsünün (IPV) polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile servikal ve vajinal akıntı örneklerinde saptanması. *MN-Klinik Bilimler&Doktor* 2002;8:112-114.
117. Dursun P, Ayhan A, Mutu L, Çağlar M, Haberal A, Güngör T, et al. HPV Types in Turkey: Multicenter Hospital Based Evaluation of 6388 Patients in Turkish Gynecologic Oncology Group Centers Türkiye'deki HPV Tipleri: Türk Jinekolojik Onkoloji Grubuna Üye Merkezlerle Başvuran 6388 Hastanın Retrospektif Analizi. *Turk Patoloji Derg* 2013, 29:210-216
118. Akyar I, Aydın Ö, Yakıcıer MC, Kocagöz T, İnce Ü, Ünsal İ. Human papillomavirus prevalence and type in liquid-based cervical samples from Turkish women in a selected risk group. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2013;43:963-970.
119. Demir ET, Ceyhan M, Simsek M, Gunduz T, Arlier S, Aytac R, Aycan AE, Gurbuz V. The prevalence of different HPV types in Turkish women with a normal Pap smear. *J Med Virol* 2012 ;84:1242-1247.
120. Yuce K, Pinar A, Salman MC, Alp A, Sayal B, Dogan S, Hascelik G. Detection and genotyping of cervical HPV with simultaneous cervical cytology in Turkish women: a hospital-based study. *Arch Gynecol Obstet* 2012 ;286:203-208.
121. Tezcan S, Ozgur D, Ulger M, Aslan G, Gurses I, Serin MS, Giray BG, Dilek S, Emekdas G. Human papillomavirus genotype distribution and E6/E7 oncogene expression in Turkish women with cervical cytological findings. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:3997-4003.
122. Eren F, Erenus M, Bas E, Ahiskali R, Yoldemir T. Prevalence of HPV infection by cytologic diagnosis and HPV DNA extraction and prevalence of the HPV genotypes detected in urban Turkish women. *Int J Gynaecol Obstet* 2010 ;109:235-238.
123. Tuncer ZS, Boyraz G, Sahin N, Alp A. Distribution of human papillomavirus types in Turkish women. *Eur J Gynaecol Oncol* 2012;33:204-206.
124. Eren H. Serviksin Prekanseroz Lezyonlarındaki Human Papilloma Virus Prevelansı (tez): İstanbul: Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2007.
125. Schiffman M, Glass AG, Wentzensen N, Rush BB, Castle PE, Scott DR, Buckland J, Sherman ME, Rydzak G, Kirk P, Lorincz AT, Wacholder S, Burk RD. A long-term prospective study of type specific human papillomavirus infection and risk of cervical

- neoplasia among 20,000 women in the Portland Kaiser Cohort Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1398-1409.
- 126.de Jonge M, Busecke G, Heinecke A, Bettendorf O. Human papillomavirus genotype distribution in cytologically screened women from northwest Germany. *Acta Cytol* 2013;57:591-598.
 - 127.Evans MF, Adamson CS, Papillo JL, St John TL, Leiman G, Cooper K. Distribution of human papillomavirus types in ThinPrep Papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes. *Cancer* 2006 ;106:1054-1064.
 128. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. et al. Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study (ALTS) Group. *J Natl Cancer Inst* 2000 92:397-402.
 129. Bhar VS, Gupta N, Singh MP, Nijhawan R, Srinivasan R, Suri V, Barward A, Sood S, Rajwanshi A. Human papillomavirus (HPV) types 16 and 18 in liquid-based cervical cytology samples. *Virchows Arch* 2015 ;466:711-715.
 130. Monson J, Cox JT, Behrens C, Sandri M, Franco EL, Yap PS, Huh W. Prevalence of high-risk human papilloma virus genotypes and associated risk of cervical precancerous lesions in a large U.S. screening population: data from the ATHENA trial. *Gynecol Oncol* 2015 ;137:47-54.
 - 131.Dickson EL, Vogel RI, Bliss RL, Downs LS Jr. Multiple-type human papillomavirus (HPV) infections: a cross-sectional analysis of the prevalence of specific types in 309,000 women referred for HPV testing at the time of cervical cytology. *Int J Gynecol Cancer* 2013; 23:1295-1302.