



BİRÜNİ
LABORATUVARI



SERVİKAL KANSER TARAMASINDA YÜKSEK RİSK HUMAN PAPİLLOMA VİRUS TESTLERİ

Human papilloma virus servikal kanserlerin başlıca nedenidir. Virus, cinsel yolla bulaşır ve erkekler taşıyıcıdır. 100'den fazla HPV genotipi tanımlanmış olup, bunların yaklaşık 20'si servikal karsinom ile ilişkilidir.

Papilloma virusların oluşturdukları premalign lezyonlar; displaziler, servikal intraepitelyal neoplaziler (CIN) veya skuamöz intraepitelyal neoplaziler (SIL) olarak adlandırılır. Bu lezyonlar servikal neoplazinin öncül şekilleri olarak tanımlanır. Bazı HPV tipleri nadiren malign lezyonlara neden olurlar. Bunlara düşük risk HPV (HPV tip 6, 11, 42, 43 ve 44) adı verilir. Ancak bazı HPV tipleri yüksek derecede displazi ve servikal

kanser oluşumu ile ilişkili olmaları nedeniyle yüksek risk HPV tipleri (tip 16, 18, 31, 35, 45, 46, 51, 52 ve 56) olarak adlandırılırlar. Ayrıca yapılan çalışmalarda HPV genotip 16, 18, 31 ve 45'in sırasıyla % 49.2, %11.7, %5 ve %8 oranlarında servikal karsinom ile ilişkili oldukları saptanmıştır. HPV genotip 16 skuamöz karsinomlarda, genotip 18 ise adenokarsinomlarda daha sık olarak görülür. Ülkemizde yapılan çalışmalarda HPV tip 16'nın özellikle CIN III ve invazif kanserlerin etiyolojisinde çoğunlukla sorumlu olduğu ve bunu HPV 18'in takip ettiği rapor edilmiştir.

Yüksek risk ve düşük risk genital HPV tipleri arasında en önemli fark, yüksek risk HPV tiplerinin tümör supresyon gen ürünü proteinleri olan E6 ve E7 proteinlerini bağlamalarıdır. Normalde p53 hücre proteini, hücre üremesini ve hücre DNA'nın yıkımını kontrol eder. HPV E6 proteini p53 proteinini bağlayarak hücrenin kontrolsüz mitozaya girmesini sağlar. Aynı şekilde diğer bir tümör supresyon gen ürünü olan retinoblastoma proteini, HPV E7 tarafından inaktive edilerek bu supresyon ortadan kalkar.

HPV enfeksiyonunun birçoğunun subklinik seyretmesi nedeniyle bazı bölgelerde prevalansı saptamak mümkün olamamaktadır. Batı ülkelerinde normal servikal sitolojisi olan kadınlarda HPV sıklığının PCR testi ile %10-25 oranında olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kadınlarda birden fazla HPV tip enfeksiyonu da saptanmaktadır. Erkeklerde ise asemptomatik olarak HPV taşıyıcılığı mevcut olup, genellikle bu taşıyıcılar enfeksiyon kaynağı olarak kabul edilmektedir. HPV enfeksiyonu sıklığı ABD'de yılda 500.000-1.000.000 arasında değişmektedir. HPV enfeksiyon insidansı 15 yaşından başlayarak 20-24 yaşlarında en yüksek düzeye çıkmaktadır. HPV enfeksiyonu prevalansı, ülkeler arasında kadınların yaş ve yaşam

biçimlerine bağlı olarakda değişkenlik göstermektedir. Örneğin, ABD'de genç ergenlerle yapılan bir çalışmada %77'sinin yüksek risk HPV genotipleri ile enfekte oldukları saptanmıştır. Benzer olarak, Kore'de hayat kadınları ve Brezilya'da servikal preneoplazik lezyona sahip kadınların %43-47'sinde HPV enfeksiyonu saptanmıştır. Buna karşılık Barselona'da evli kadınlar arasında yapılan bir çalışmada bu oran sadece %3-14 gibi düşük değerlerde bulunmuştur.

Her yıl 500.000'den fazla kadın servikal karsinom tanısı almakta ve 273.000'den fazla kadın ise bu hastalık nedeniyle ölmektedir. Pap tarama programları uygulanan ülkelerde dahi önemli sayıda kadın servikal kanser sonucu ölmektedir. Servikal kanserler bütün dünyada en sık görülen kanserler arasında 5. sırada bulunmakla birlikte, kadınlarda en sık ölüme neden olan kanserler arasında ikinci sırayı almaktadır.

Servikal displazi için rutin taramalarda Pap smear testinin değeri tartışılmazdır, ancak servikal karsinom olgularının %95'ine 20 farklı genotipi ile HPV enfeksiyonlarının neden olduğu bilinmektedir. Bu yüksek risk genotiplerin saptanması servikal karsinomların kontrolünde oldukça değerlidir. Hem prognostik gösterge olarak hem de Pap smear sonucunun

yetersiz veya şüpheli olduğu durumlarda sekonder tarama testi olarak ayrı bir öneme sahiptir. Ayrıca, Pap smear ve HPV test sonuçlarının kombinasyonu tarama sıklığının saptanmasında da yardımcı olur.

Tam

HPV bugüne kadar invitro olarak hücre kültürlerinde üretilmemiştir. Genital HPV infeksiyonlarının tanısı klinik muayene ile mümkündür. Ancak sadece büyük ve papiller lezyonların saptanabilmesi nedeniyle duyarlı bir yöntem değildir. Bazı düz lezyonlar kolposkopik yöntemle saptansa dahi duyarlılığı azdır. Genellikle ekfoliyel hücre ve doku biopsi örneklerinin sitolojik muayenesi tanıya yardımcı olur. HPV ile infekte hücrelerde, çekirdek kromatininin dağılımında değişim, perinükleer açılma ve bunu saran sitoplazmanın yoğunluğunda bir artış görülür. Skuamöz hücrelerde görülen bu değişikliğe “koilosit” adı verilir.

HPV'e karşı elde edilen monoklonal antikolar yardımıyla, antijenler infekte hücrelerde immunokimyasal yöntemler kullanılarak saptanabilmektedir. Ancak geç viral yapısal proteinlerin az miktarda sentezlenmesi nedeniyle bu testlerin duyarlılığı azdır. Şu anda HPV infeksiyonlarının tanısında kullanılacak tatmin edici serolojik test mevcut değildir. Özellikle virus benzeri papilloma

partiküllerinden oluşan antijenlerle ELİSA testi geliştirilmiş ve HPV1, HPV6, HPV 11, HPV 16 infeksiyonlarının tanısında kullanılmıştır. Bu yöntem hastaların ancak %50'sini saptayabilmektedir.

Bugün HPV'lerin klinik örneklerde tanımlanmasında kullanılan özgül, duyarlı ve güvenilir testler moleküler tekniklerle uygulanan testlerdir. HPV'lerin laboratuvar tanısında “altın standart” olarak kabul edilen yöntem virus tiplerine karşı uygulanan hibridizasyon yöntemidir. HPV DNA'nın hibridizasyon öncesi PCR yöntemi ile çoğaltılması testin duyarlılığını son derece arttırmaktadır.

Pap (Papanicolaou testi) Tarama Programları

Servikal kanser taramasında Pap testinin değeri tartışılmazdır. Rutin sitolojik tarama programlarıyla, 30 yaş ve üzeri kadınlarda servikal karsinom mortalite oranı %60 oranında azaltılmıştır. Servikal kanser tarama programlarının, ilk vaginal cinsel ilişkiden 3 yıl sonra başlatılması önerilmektedir. Önerilen tarama sıklığı; geleneksel sitolojik smear için her yıl, likit bazlı sitolojik smear için ise 2 yıllık periyottur. Üç kez normal smear sonucu alınan ve yüksek risk faktörleri bulunmayan durumlarda tarama sıklığı azaltılabilir. Pap smear testi teknik olarak başarısız olabilmektedir. Örneğin yeterli

sayıda servikal hücre içermemesi gibi uygun olmayan örnek alımı veya örneğin doğru şekilde alınmasına rağmen uygun

olmayan çalışma ve tarama prosedürlerinin uygulanması sonucu yalancı negatif sonuçlar elde edilebilmektedir.

Pap Test Sonucu	HPV DNA test sonucu	
	Pozitif	Negatif
İntraepitelyal neoplazi saptanmamış (Normal smear sonucu)	Pap ve HPV DNA testleri 6-12 ay içinde yapılmalı	Pap ve DNA testleri 3 yıl içinde yapılmalı
ASCUS	Kolposkopi	HPV DNA testi ile birlikte Pap testi 12 ay içinde yapılmalı
Düşük grade skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL)	LSIL : 12 ay içinde HPV DNA testi ile yakın takip veya 6. ve 12. ayda servikal sitoloji tekrarı. Anormallik devam eder veya ilerleme gösterirse kolposkopi uygulanır. HPV DNA testi, daha az muayene ve kolposkopi ihtiyacı gerektirdiği için önerilir.	
Yüksek grade intraepitelyal lezyon (HSIL)	HSIL : İnvaziv kansere ilerlemeyi önleyici tedavi.	
Atipik glanduler hücreleri (AGC) içeren diğer anomaliler.	AGC: Tedavi altta yatan anomaliye bağlıdır ve endoservikal kanalın geniş eksizyonu veya histerektomi uygulanır.	

Tablo 1. Pap test ve HPV DNA testlerinin sonuçlarına göre hasta takibinde uygulanacak prosedürler

HPV Genotiplemesinin Tarama Programlarındaki Rolü

HPV 100'den fazla farklı genotipe sahiptir ve bunların yaklaşık 30 farklı genotipi genital mukoza enfeksiyonuna neden olur. HPV servikal kanser için önemli bir risk faktörü olmasının yanı sıra penis ve anal kanserlerde de rol oynamaktadır.

20.000'den daha fazla sayıda kadını içeren geniş skalalı bir çalışmada; Pap test/ HPV DNA testlerinden biri veya her ikisi pozitif bulunan kadınlarda 45 aylık izleme periyodundan sonra servikal karsinom oluşma riskinin, her iki testi negatif olan kadınlara göre çok daha fazla olduğu görülmüştür. Her iki testi negatif olan gruptaki azalmış risk, esasen *yüksek prediktif değere sahip negatif HPV test sonucuna bağlıdır. Her iki test sonucunun negatif olması yaklaşık olarak %99 oranında hastada servikal karsinom olmadığını göstermesi açısından önemlidir.*

PCR ile yapılan HPV DNA testi, yüksek risk karsinojen HPV genotiplerini tanımlamaktadır. PCR bazlı testler, ASCUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) tanısı konulmuş, yüksek riske sahip kadınlarda, ileri tedaviye karar vermeyi kolaylaştırması açısından ayrı bir öneme sahiptir. Pap test ve HPV DNA testlerinin sonuçlarına

göre hasta takibinde uygulanacak prosedürler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tedavi gerektiren servikal intraepitelyal neoplazisi olan kadınlarda 5 kat daha fazla invaziv servikal neoplazi gelişme olasılığı vardır. Bu hastaların takibinde HPV-PCR testinin gerekliliği tartışılmazdır. Her türlü pratik amaç için; negatif yüksek risk HPV sonucu, %100'e yakın negatif prediktif değer verdiği için relaps riskini ortadan kaldırmaktadır. Sonuçta, HPV PCR tarama testi klinisyene sadece sitolojik incelemeden elde edilenden çok daha değerli bilgiler verir. Birçok ülkede, sadece Pap test yapıp sonucu negatif bulunduğu anda, tarama testinin tekrarının 1 yıl sonra yapılması önerilirken, Pap test ve HPV testlerinin her ikisi birlikte negatif ise tarama periyodu 3-5 yıla kadar uzatılmaktadır.

Özetle; HPV genotiplemesi için önerilen uygulamalar şunlardır:

- Spesifik HPV tiplerinin saptanması,
- Yüksek risk enfeksiyonların persistansının takibi,
- Cerrahi tedavi, radyasyon tedavisi ve kemoterapinin etkinliğinin değerlendirilmesi,
- Epidemiyolojik çalışmaların değerlendirilmesi.

HPV DNA testi özel swab ile alınan servikal sürüntü veya taze servikal biopsi materyalinden çalışılmaktadır.

Kaynaklar

1. Sanchez-Anguiano LF et al. Human papillomavirus infections in women seeking cervical Papanicolau cytology of Durango, Mexico: prevalence and genotypes. BMC Infectious diseases 2006; 6 (27): 1-6.
2. Castle PE et al. Pilot study of a commercialized human papillomavirus (HPV) genotyping assay: comparison of HPV risk group to cytology and histology. J Clin Microbiol 2006; 44 (11): 3915-3917.
3. Papillomaviruses. In: Winn WJr, Allen S, eds. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Ed 6. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 1362-1363.
4. Kiviat NB. Human papillomavirus. In: Manual of clinical microbiology. Ed 7. Washington DC: ASM Press, 2005: 1070-1079.
5. Ziebolz B. Testing for high-risk HPV in cervical cancer screening programmes. Clinical Laboratory 2005; 29 (7): 8-9.
6. Leyden WA et al. Cervical cancer in women with comprehensive health care access: attributable factors in screening process. J Natl Cancer Inst 2005; 97: 675-683.
7. Sherman ME et al. Baseline cytology, human papilloma virus testing and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. J Natl Cancer Inst 2003; 9: 46-52.
8. Saslow D et al. American cancer society guideline for the early detection of cervical neoplasia cancer. CA cancer J Clin 2002; 52: 342-362.
9. Ustaçelebi Ş. Papillomaviruslar. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (edit). İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul 2002; 1211-1217.
10. Tuncer S. İnsan papillomavirusları. Ustaçelebi Ş, (edit). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara 1999; 797-802.

MECİDİYEKÖY

Büyükdere Cad.
Gökfiliz İş Merkezi No: 11 Kat: 3
34387 Mecidiyeköy - İstanbul
Tel. : (212) 217 41 41
Faks : (212) 217 41 10

KADIKÖY

Cemil Topuzlu Cad. Fazilet Sitesi
No: 44 Kat: 2
34726 Çiftelavuzlar - Kadıköy - İstanbul
Tel. : (216) 369 17 67
Faks : (216) 369 01 61

BAKIRKÖY

İncirli Cad. Santral Çıkmazı
Toprak Blokları A-Blok 1-2
34147 Bakırköy - İstanbul
Tel. : (212) 570 88 60
Faks : (212) 570 93 00

ETİLER

Tepecik Yolu
No: 28/A
34337 Etiler - İstanbul
Tel. : (212) 358 51 00
Faks : (212) 358 50 56

NİŞANTAŞI

Valikoncağı Cad. Çam Apt.
No: 161 Kat: 1
34363 Nişantaşı - İstanbul
Tel. : (212) 233 22 95
Faks : (212) 233 38 42

ULUS

Etiler Adnan Saygun Cad. Uydu Sok.
No: 2/B Kat: 1 Gündeş Apt.
34340 Ulus - İstanbul
Tel. : (212) 287 43 00
Faks : (212) 287 33 83

ERENKÖY

Şemsettin Günaltay Cad.
No: 184/B
34738 Erenköy - İstanbul
Tel. : (216) 411 31 66
Faks : (216) 411 20 61

FINDIKZADE

Millet Cad. Emir Han
No: 55 Kat: 2
34096 Fındıkzade - İstanbul
Tel. : (212) 633 41 42
Faks : (212) 633 49 05

ACIBADEM

Acıbadem Cad. Aydın Apt.
No: 109 Kat: 2
34718 Acıbadem - İstanbul
Tel. : (216) 545 72 72
Faks : (216) 545 74 77

YEŞİLKÖY

İstasyon Cad.
No: 21 Kat: 1
34149 Yeşilköy - İstanbul
Tel. : (212) 662 99 77
Faks : (212) 662 68 00

ÇEKMEKÖY

Aydın Menderes Cad.
Carpe-Diem İş Merkezi Kat: 1
34782 Çekmeköy - İstanbul
Tel. : (216) 642 43 00
Faks : (216) 642 54 84