

Sıvı Bazlı Sitoloji, HPV-DNA Genotiplendirme ve Kolposkopik Biyopsi Sonuçlarının Değerlendirilmesi: 407 Vakanın Analizi

Liquid Based Cytology, HPV-DNA Genotype and Evaluation of Colposcopic Biopsy Results: The Analysis of 407 Cases

Ezgi Işıl TURHAN¹, Melike NALBANT¹, Mehmet BAYRAK²

¹Bursa Şehir Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Bursa
²Bursa Şehir Hastanesi, Jinekolojik Onkoloji Kliniği, Bursa

Öz

Bu çalışmanın amacı Bursa ilinde en sık rastlanan HPV tiplerini belirlemek, bu tiplerle ilgili olarak eş zamanlı sıvı bazlı sitoloji ve kolposkopik biyopsi sonuçlarının tutarlılığını araştırmaktır. Retrospektif çalışmamıza Ekim 2019-Mayıs 2020 tarihleri arasında hastanemizde servikal smear örnekleme yapılan ve eş zamanlı olarak real time PCR yöntemi ile yüksek riskli HPV-DNA genotip tayini yapılmış 407 hasta dahil edildi. Çalışmamızda yüksek riskli HPV görülme oranımız %18 bulundu. İzole olarak bakıldığında en sık görülen yüksek riskli HPV tipi, tip 16 (%32.5) bulundu. HPV pozitifliği saptanan 77 hastada smearde %28.5 oranında önemi belirlenemeyen atipik skuamöz hücreler (ASC-US), %7.7 oranında düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL), %3.8 oranında yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL) saptandı. SIL saptanan beş hastanın ikisinde biyopside servikal intraepitelyal neoplazi 1 (CIN1), üçünde ise servikal intraepitelyal neoplazi 3 (CIN3) saptanmıştır. HPV testinin smear ile eş zamanlı yapılması taramanın sensitivitesini yüksek dereceli lezyonların saptanma olasılığını artırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: HPV-DNA, Kolposkopik Biyopsi, Sıvı Bazlı Sitoloji, Yüksek Riskli HPV

Abstract

The aim of this study is to determine the most common HPV types in Bursa and to investigate the consistency of concurrent liquid-based cytology and colposcopic biopsy results regarding these types. In our retrospective study, 407 patients, who underwent cervical smear sampling in our hospital between October 2019 and May 2020, and, who were simultaneously diagnosed with high-risk HPV-DNA genotype by real-time PCR method, were included. In our study, our rate of high-risk HPV was 18%. The most common high-risk HPV type was type 16 (32.5%). Considering smear results, ASC-US was found in 28.5%, LSIL was found in 7.7% and HSIL was found in 3.8% with HPV positivity. In 2 of 5 patients with SIL, biopsy showed cervical intraepithelial neoplasia 1 (CIN1), and 3 had cervical intraepithelial neoplasia 3 (CIN3). Simultaneous HPV testing with smears increases the sensitivity of the scan and the probability of detecting high-grade lesions.

Keywords: HPV-DNA, Colposcopic Biopsy, Liquid Based Cytology, High Risk HPV

Giriş

Serviks kanseri meme ve kolorektal kanserden sonra kadınlarda üçüncü sıklıkta görülen bir kanser türüdür (1). Servikal kanserin erken teşhisinde ve önlenmesinde kişideki HPV enfeksiyonunun ve etken olan HPV tipinin saptanması önem taşımaktadır (2). Kanserle ilişkili enfeksiyonların %30'undan sorumlu tutulan HPV tipleri arasında en sık %60 oran ile HPV tip 16 görülmektedir. HPV tip 16 ve tip 18 toplam %70 oranında saptanmaktadır. Bunları azalan sırayla tip 45, 31, 33, 51, 58 takip etmektedir (3,4). Türkiye'de servikal kanserli hastalarda HPV prevalansı %93'tür. HPV tip 16 ve/veya 18 oranı %75 olarak belirtilmiştir (5). Servikal kanser taramasında günümüzde üç major yöntem mevcuttur. Bunlar; sitoloji, HPV testi ve sitoloji-HPV co-test uygulamasıdır (6). Servikal

smear'ın sitolojik olarak değerlendirilmesi ve aynı örnekte eş zamanlı HPV DNA çalışılması "co-test" olarak adlandırılır. Yeni tarama prensiplerine göre servikal kanser taraması 21 yaşında başlamalı ve 21-29 yaş arası her üç yılda bir konvansiyonel smear veya sıvı bazlı sitoloji ile taranmalıdır. Bu yaş grubu için HPV testi kullanılması önerilmemektedir. Uygulanması kanser saptama sıklığını azaltmamakla birlikte daha fazla gereksiz işlem yapılmasına neden olmaktadır (7). Buna karşılık otuz yaş ve üzeri kadınlarda HPV testinin ilave edilmesi tarama testinin sensitivitesini özellikle CIN3 yakalama gücünü arttırmaktadır. Otuz yaş ve üstü kadınlarda negatif sitoloji ve negatif yüksek riskli HPV test sonucu sonraki 4-6 yıl içinde CIN2 ve CIN3 gelişme riskinin oldukça düşük olduğunu gösterir (8,9). Co-test, günümüzde 30 yaş üzerindeki kadınlar için en çok kabul gören tarama yöntemidir (1). Bu çalışmamızın amacı, Bursa ilinde en sık rastlanan HPV tiplerini belirlemek, bu tiplerle ilgili olarak eş zamanlı sıvı bazlı sitoloji ve kolposkopik biyopsi sonuçlarının tutarlılığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamıza Ekim 2019-Mayıs 2020 tarihleri arasında hastanemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran, servikal smear örnekleme ve eş zamanlı olarak real time PCR yöntemi ile

	ORCID No
Ezgi Işıl TURHAN	0000-0001-9532-3854
Melike NALBANT	0000-0002-1896-986X
Mehmet BAYRAK	0000-0002-9910-8032

Başvuru Tarihi / Received: 14.03.2021
Kabul Tarihi / Accepted : 25.11.2021

Adres / Correspondence : Ezgi Işıl TURHAN
Bursa Şehir Hastanesi, Tıbbi Patoloji, Bursa

e-posta / e-mail : ezgiisilbas@gmail.com

HPV-DNA genotip tayini (tip 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) yapılmış 407 hasta dahil edildi. Sitoloji preparatları ThinPrep (Cytoc Corp., Boxborough, MA, USA) tekniği ile hazırlandı. Preperasyon için ThinPrep 2000 automated processor kullanıldı. Yüksek riskli HPV co-testi olarak Roche Cobas 4800 HPV testi kullanılmıştı. HPV-DNA genotiplendirme sonuçları tip16, tip18 ve diğer yüksek riskli suşlar (tip 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) olarak 3 kategoriye ayrıldı Sıvı bazlı preparatlar Bethesda sistemi 2014 versiyonuna göre rapor edildi. Servikal smear örnekleme sonrası gerekli görülüp kolposkopi yapılan hastaların kolposkopik biyopsi materyallerinden hazırlanan parafin bloklar 5 mikron kalınlığında kesildi, preparatlar Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Hastalara ait klinik bilgilere elektronik ortamdaki hastane kayıtlarından ulaşıldı. Çalışmada elde edilen veriler Microsoft Excel çalışma programı kullanılarak analiz edilmiştir. Yaş gibi numerik değişkenler ortalama \pm standart sapma şeklinde hesaplandı. Veriler sıklık ve yüzde olarak sunuldu ve yöntemler arasındaki uyum Kappa testi ile değerlendirildi. Bu çalışma, 1975 Helsinki Bildirgesi kararlarına uygundur ve Bursa Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (2021-1 / 9) tarafından onaylanmıştır.

Bulgular

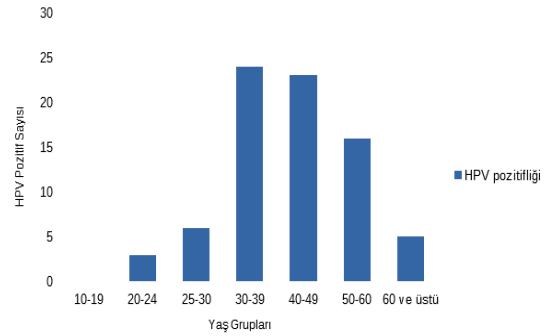
Hastaların 77'sinde (%18) yüksek riskli HPV pozitif, 330 hastada (%82) negatif saptandı. HPV pozitifliği saptanan 77 hastanın yaş ortalaması 42.6 (yaş dağılımı 20-68) bulunmuştur. HPV pozitifliği saptanan hastaların dekadlara göre dağılımına bakıldığında 25 hasta 30-39 yaş aralığında iken 22 hasta 40-49 yaş aralığında, 16 hasta 50-60 yaş aralığındadır. 30 yaş altı 10 hasta, 60 yaş üstü ise 4 hasta vardır. Dekadlara göre HPV prevalansı Şekil 1'de gösterilmiştir. Yüksek riskli HPV pozitifliği saptanan 77 hastadan 25'inde (%32.5) izole HPV tip16, dokuzunda (%11.7) izole tip 18, dokuzunda (%11.7) tip16 ve diğer yüksek riskli suşlar, üç hastada (%3.9) tip18 ve diğer yüksek riskli suşlar, 28'inde (%36.3) diğer yüksek riskli suşlar, üç hastada (%3,9) ise tüm yüksek riskli suşlar pozitif saptandı. HPV tiplerine göre olguların görülme sıklığı Tablo 1'de özetlenmiştir. HPV pozitifliği saptanan 77 hastanın sıvı bazlı sitoloji sonuçlarına bakıldığında 45 hasta (%58.4) intraepitelyal lezyon veya malignite açısından negatif iken; 22 hastada (%28.5) önemi belirlenemeyen atipik skuamöz hücreler (ASC-US) (Şekil 3), altı hastada (%7.7) düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL) (Şekil 4), üç hastada ise (%3.8) yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (HSIL) (Şekil 5) saptandı. Bir hastaya ait sıvı bazlı preparat (%1.2) yeterli skuamöz hücrenin olmayışı nedeniyle değerlendirme için yetersiz kabul edildi. Hastaların

anormal sitoloji bulguları ve pozitif HPV tipleri Şekil 2'de gösterilmiştir.

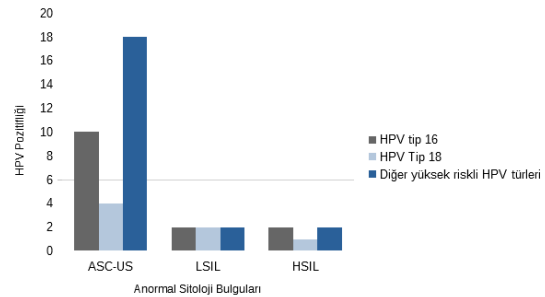
Tablo 1. HPV tiplerine göre olguların dağılımı

HPV Tipi	Vaka Sayısı	Görülme Yüzdesi
16	39	%50.6
18	15	%19.4
Diğer Yüksek Riskli Türler	43	%55.8

Smearde skuamöz intraepitelyal lezyon saptanan dokuz hastanın beşine (%44) kolposkopik biyopsi yapılmamıştır. Biyopsi yapılmayan üç vaka LSIL iken; iki vaka yeni tanı almış HSIL vakasıdır. Biyopsi yapılan beş vakanın (%56) ikisinde servikal intraepitelyal neoplazi 1 (CIN1) (Şekil 6), üçünde ise servikal intraepitelyal neoplazi 3 (CIN3) (Şekil 7) saptanmıştır. CIN1 saptanan vakaların tamamı smearde LSIL, CIN3 saptanan vakaların tamamı ise smearde HSIL tanısı almıştır.



Şekil 1. Dekadlara göre HPV prevalansı

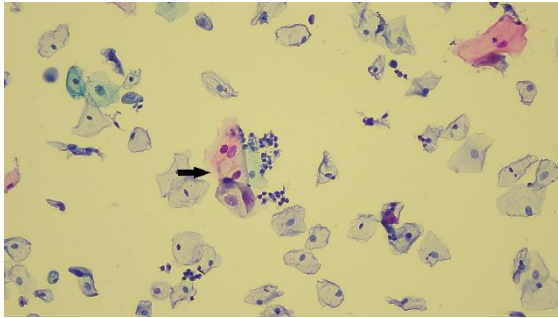


Şekil 2. HPV tipleri ve anormal sitoloji bulguları

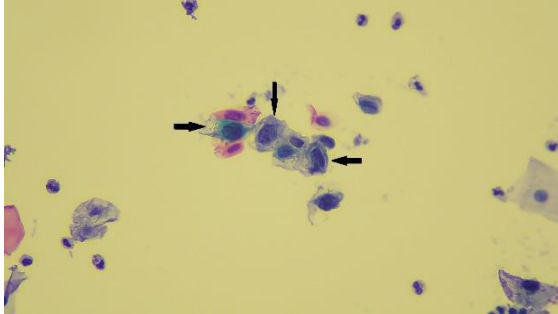
Tartışma

Serviks kanseri açısından risk taşıyan kişilerin belirlenmesi ve uygun klinik takibin gerçekleştirilmesi için günümüzde rutin sitolojik taramalara ek olarak HPV enfeksiyonunun ve virus tipinin saptanması yaklaşımı tüm dünyada yaygın olarak uygulanmaktadır (2,10,11). HPV enfeksiyonlarının tanısında virus izolasyonu ya da serolojik testlerin yararlı olmaması nedeniyle viral nükleik asitlerin gösterilmesi en geçerli yaklaşımdır (2,12). Literatüre bakıldığında HPV-DNA'nın servikal kanser dokularında %90 oranında görüldüğüne dair çalışmalar mevcuttur (13).

Usubütün ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada servikal kanser dokularında HPV görülme sıklığı %93.5 (232/248) olarak saptanmıştır (5). HPV enfeksiyonu servikal skuamöz hücreli karsinoma ve adenokarsinoma gelişiminde önemli risk teşkil etmektedir. Karsinogenez ile ilişkili 16 adet yüksek riskli HPV serotipi mevcuttur. Bunlar arasında HPV tip 16 ve 18 en önemli iki serotip olup tüm dünyada servikal kanserlerin %70'inden sorumludurlar (13-15). Türkiye'de 2011 yılında Dursun ve arkadaşlarının yapmış olduğu çok merkezden 6388 olgunun değerlendirildiği bir çalışmada en sık rastlanan HPV tipi 16 (%32) olarak saptanırken bunu sırasıyla 6,11,18,31,51,33 takip etmektedir (16). Bizim çalışmamızda da izole olarak bakıldığında en sık rastlanan HPV tipi, tip 16 (%32,5) olarak saptanmıştır.



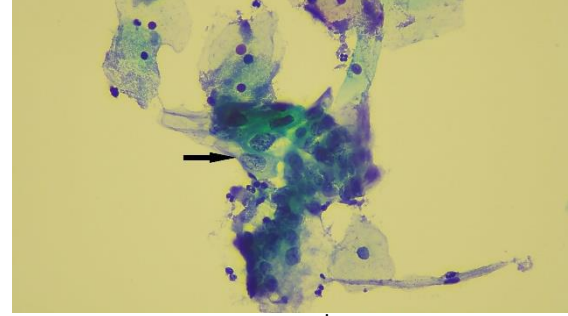
Şekil 3. Önemi Belirlenemeyen Atipik Skuamöz Hücreler (ASC-US). İnflamasyonun eşlik ettiği bir zeminde nükleer genişleme gösteren multinükleer hücreler (x40, PAP)



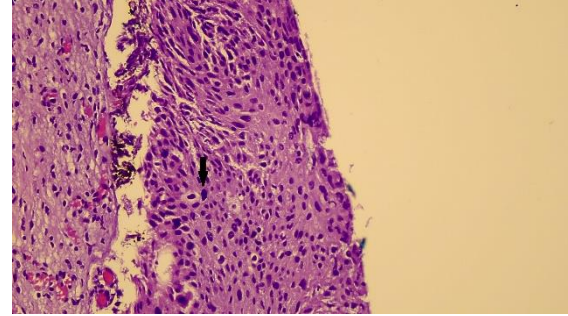
Şekil 4. Düşük Dereceli Skuamöz İntraepitelyal Lezyon (LSIL). Normal intermediate hücrelere göre 3-4 kat artmış nükleus boyutu, granüler kromatin varlığı izlenen hücreler (x40, PAP)

Çalışmamızda yüksek riskli HPV pozitifliği %18 (77/407) olarak bulunmuştur. HPV pozitifliği olan vakalarda anormal sitoloji bulgularına baktığımızda en sık ASC-US (%28.5) saptanırken bunu LSIL (%7) ve HSIL (%3.8) izlemektedir. Dursun ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada (16) HPV görülme oranı %25 olarak saptanmıştır. HPV pozitifliği olan vakalara ait anormal sitoloji bulgularına bakıldığında ise en sık ASC-US (%20) saptanmış, bunu sırasıyla LSIL (%14), HSIL (%10) izlemiştir. Bu çalışmada %5 oranında ASC-H, %0,08 oranında glandüler hücre anormallığı, %3 oranında SCC saptanmıştır. Mevcut çalışmaya göre ASC-US oranımızın daha yüksek olmasının, skuamöz intraepitelyal lezyon oranımızın daha

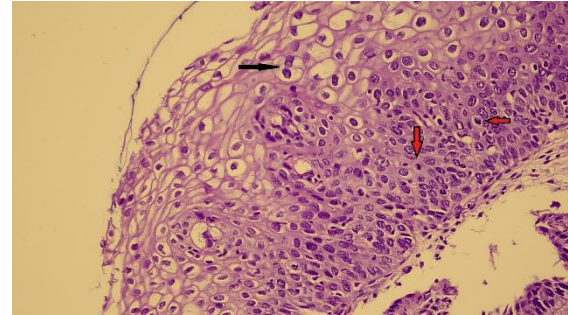
düşük olmasının nedeninin yorumcular arası farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bunun yanında diğer bulgular arasındaki rakamsal farklılıklar ve saptanmayan diğer sitolojik anormallikler (ASC-H, glandüler hücre anormallığı, SCC vs) serimizin ilgili çalışmaya göre daha dar olmasından kaynaklanabilir (407/6388).



Şekil 5. Yüksek Dereceli Skuamöz İntraepitelyal Lezyon (HSIL). Nükleusları hiperkromatik, nükleus boyutu belirgin artmış, düzensizlik gösteren hücreler (x40, PAP)



Şekil 6. Servikal İntraepitelyal Neoplazi 1 (CIN1). Koilositik atipi (siyah ok), epitelin alt 1/32'lük kısmında displazi, mitotik figür varlığı (kırmızı oklar) izlenmekte (x40, H&E)



Şekil 7. Servikal İntraepitelyal Neoplazi 3 (CIN3). Epitelin tüm tabakalarında dizilim bozukluğu

Optimal bir servikal kanser tarama stratejisinde amaç invaziv tümöre progresyonda yer alan prekürsörleri saptamaktır. Bunun yanında HPV enfeksiyonunun yol açacağı benign ve kansere dönüşmeyecek lezyonların gereksiz oyalayıcı tedavilerinden kaçınılmalıdır. Sitoloji temelli tarama doğru tekniklerle uygulandığı takdirde servikal kanser insidansı ve mortalitesini azaltmaktadır. PAP testin maliyeti HPV testine göre düşüktür ancak yanlış pozitif sonuçlar yaygındır. Saptanan çoğu anormal sitoloji (ASC-US vs.) CIN3 veya servikal kanser ile ilişkili değildir. HPV ve kanser gelişimi

arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması ile birlikte HPV'yi saptayan moleküler testler daha çok kullanılmaya başlanmıştır. HPV testleri 5-15 yıl içinde CIN3 gelişimi olabilecek vakaları saptamada sitolojiden daha değerli bir yöntemdir (17). Dört geniş randomize kohort çalışmasının sonuçlarına göre de HPV temelli servikal kanser taramasının, sitoloji temelli taramaya göre %60-70 daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada 30 yaşından itibaren HPV tabanlı tarama testinin yapılması önerilmektedir (18). American Cancer Society (ACS), American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP) ve American Society for Clinical Pathology (ASCP) servikojajinal smear ile yapılan eş zamanlı HPV testinin, tek başına smeare göre lezyonu saptamada daha duyarlı olduğunu bildirmektedir. ACS, ASCCP, ASCP; 30–65 yaş arasında kadınların öncelikle beş yılda bir co-test ile taranmasını, HPV testi yapılmıyor ise 3 yılda bir sitoloji ile taranmasını önermektedir. 21-29 yaş aralığında HPV enfeksiyonlarının çoğunlukla geçici olması nedeniyle HPV testi önerilmemekte, bu yaş grubu için üç yıllık intervaller ile sitoloji ile tarama önerilmektedir (17).

Sonuç olarak smear ile bir epitelyal hücre anormalliği tespit edilmemiş olsa bile, HPV testinin riskli yaş grubundaki bütün kadınlarda yapılması riskli bireylerin belirlenmesini, hastaların biyopsiye yönlendirilmesini, dolayısıyla erken tanı ve tedavi şansını artıracaktır. Ayrıca HPV negatif olgularda da epitelyal hücre anormalliği saptanabileceği için HPV testinin smear ile birlikte co-test olarak çalışılması önerilmektedir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için, Bursa Şehir Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (2021-1/9) tarafından onaylanmıştır.

Kaynaklar

1. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı, <http://kanser.gov.tr/daire-faaliyetleri/kanser-istatistikleri.html>
2. Ergünay K, Mısırlıoğlu M, Fırat P ve ark. Sitolojik olarak anomali saptanan serviks örneklerinde insan papilloma virus DNA'sının araştırılması ve virusun tiplendirilmesi. Mikrobiyoloji Bül. 2007;41:219-26.
3. The Lancet. Chronic disease management in ageing populations (Editorial). Lancet Oncol 2012;379:1851.
4. Serrano B, Alemany L, Ruiz PA, et al. Potential impact of a 9-valent HPV vaccine in HPV-related cervical disease in 4 emerging countries (Brazil, Mexico, India and China). Cancer Epidemiol. 2014;38(6):748-56.
5. Usubütün A, Alemany L, Küçükali T, et al. Human papillomavirus types in Invasive cervical cancer specimens from Turkey. Int J Gynecol Pathol. 2009;28(6):541-8.
6. Wentzensen N., Schiffman M, Palmer T, et al. Triage of HPV Positive Women in Cervical Cancer Screening. J Clin Virol. 2016;76(1):49-55.
7. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Effectiveness of cervical screening with age: population based case-control study of prospectively recorded data. BMJ. 2009;339:b2968.
8. Vijayaraghavan A, Efrusy M, Mazonson P, et al. Cost-effectiveness of using Human papillomavirus 16/18 genotype triage in cervical cancer screening. Gynecol Oncol. 2010;119(2):237-42.
9. Koliopoulos G, Arbyn M, Martin-Hirsch P, et al. Diagnostic accuracy of human papillomavirus testing in primary cervical screening: A systematic review and meta-analysis of nonrandomized studies. Gynecol Oncol. 2007;104(1):232-46.
10. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. Can Med Assoc J. 2001;164:1017-25.
11. Cronje HS. Screening for cervical cancer in developing countries. Int J Gynecol Oncol. 2004;84:101-8.
12. Molijn A, Kleter B, Quint W, et al. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. J Clin Virol. 2005;32:43-51.
13. Munoz N, Bosch FX, Sanjose S., et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. N Engl J Med. 2003;348:518-27.
14. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. Int J Cancer. 2007;121:621-32.
15. Cheung TH, Yim SF, Yu MY, et al. Liquid biopsy of HPV DNA in cervical cancer. J Clin Virol. 2019;114:32-6.
16. Dursun P, Ayhan A, Mutlu L, et al. HPV types in Turkey: multicenter hospital based evaluation of 6388 patients in Turkish gynecologic oncology group centers. Turk Patoloji Derg. 2013;29(3):210-16.
17. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. J Low Genit Tract Dis. 2012;16:175-204.
18. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials [published correction appears in Lancet. 2014;383(9916):524-32.