

SERVİKS KANSERİ TARAMASINDA HPV DNA TESTİNİN YERİ

THE IMPORTANCE OF HPV DNA TEST IN THE SCREENING OF CERVICAL CANCER

Diğer Yıldırım, Hüsnü Gökaslan

ÖZET

Human papilloma virüs (HPV) serviks kanseri etiyolojisinde rol alan en önemli faktördür. HPV insanda bir kanserle en yüksek oranda ilişkilendirilmiş enfeksiyöz ajandır, skuamöz hücreli serviks kanserlerinin tamamına yakınında HPV DNA pozitif saptanır. Bu nedenle serviks kanseri taramasında HPVDNA testi önemli yer tutar. Serviks kanseri tarama programları bütün dünyada serviks kanseri insidansının önemli oranda azalmasını sağlamıştır. Günümüze kadar en yaygın kullanılan tarama yöntemi servikal sürüntünün sitolojik değerlendirilmesi (pap test) olmuştur ancak son yıllarda bu tarama programlarına kombine olarak veya tek başına HPV DNA testinin eklenmesi ile daha etkili ve kolay uygulanabilir tarama yöntemleri planlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Serviks kanseri; Tarama; HPV DNA testi.

ABSTRACT

HPV is the most important factor in etiology of the cervical cancer. HPV is the only infectious agent that is highest associated with a cancer in humans. Thus HPV-DNA is identified as positive in most squamous cell cervical cancer. That is why HPV DNA test takes an important part of the screening of cervical cancer. Cervical cancer screening programs leads to decrease the incidence of the cervical cancer in the world. Up to now the most commonly used screening test was pap test. However in the last years high effective and useful tests are planning to be developed in addition to these test methods even alone or combined with the HPV-DNA test.

Key Words: Cervical cancer; Cancer screening; HPV DNA tests.

Geliş Tarihi: 22/06/2015

Kabul Tarihi: 31/08/2015

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

İletişim: Dr. Diğer Yıldırım

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

Tel: 0506 851 58 57

E-posta: dinceryildirim@hotmail.com

Human papilloma virüs (HPV) günümüzde en sık saptanan seksüel geçişli hastalık etkenlerinden birisidir. HPV çift sarmal DNA içeren zarfsız bir virüstür ve 100'den fazla alt tipi tanımlanmıştır, bu tiplerin yaklaşık 40 tanesi genital enfeksiyona neden olmaktadır. HPV alt tipleri yüksek riskli ve düşük riskli olarak iki gruba ayrılmıştır (Tablo 1). Yüksek riskli gruptakiler serviks kanseri, servikal preinvaziv lezyonlar, vulva kanseri, anüs kanseri ve penis kanseri etiolojisinde rol alırlar (1,2). Düşük riskli HPV tipleri daha sıklıkla dış genital bölgedeki siğillerin etiolojisinde rol alırlar.

HPV'nin serviks kanseri etiolojisinde yüksek oranda rol almasından dolayı günümüzde tarama testi olarak kullanılabilmesi düşünülmüştür. Yaklaşık 50 yıldır en yaygın tarama yöntemi olarak kullanılan pap-smear sitoloji testine günümüzde entegre olarak HPV DNA testi eklenmiştir. Sitoloji ve HPV DNA'nın birlikte değerlendirilmesine co-test denir.

HPV insanlar arasında en yaygın olarak seksüel yolla geçmektedir. Ancak kazanılan enfeksiyonların yaklaşık %90'ı iki yıl içerisinde kendiliğinden regrese olmaktadır (3,4). Kadınlarda en yüksek prevalansı adolesan çağda ve daha sonra 20-30 yaş arasındadır (1, 3). Regrese olmayıp persiste eden HPV enfeksiyonlarının bir kısmının sonucunda invaziv serviks kanseri meydana gelmektedir. HPV virüs enfeksiyonunun persiste etmesinde rol oynayan bütün mekanizmalar bilinmemse de sigara kullananlarda, immünsistemi baskılanmış olanlarda, HIV enfeksiyonu varlığında ve 30 yaş üzerinde persistans şansının arttığı bilinmektedir (2, 5, 6). Servikal hücrelerde bulunan viral yükün fazlalığı ile lezyonun grade yüksekliği arasında korelasyon mevcuttur (5).

HPV 16 serviks kanserinde en sık saptanan alt tiptir, ikinci sırada HPV 18 yer alır. Tüm servikal kanserlerin yaklaşık %55-60'ından HPV 16, %10-15'inden HPV 18, geri kalan kısmından ise diğer tipler sorumludur (1, 9).

Serviks kanseri tarama yöntemleri Schiller'in 1938 yılında tanımladığı lugol solüsyonu ile serviksin boyanması sonrasında çıplak gözle değerlendirilmesi yönteminden bugüne kadar çeşitli aşamalar ve değişimler gösterdi (10). 1941 yılında Papanicolaou tarafından tarif edilen pap testin uygulamaya girmesi sonraki yıllarda serviks kanseri insidansının önemli ölçüde azalmasına neden olmuştur (11). Son yıllarda pap test dışında HPV DNA testinin tarama yöntemlerine entegre olarak kullanılması yönünde araştırmalar

artmıştır. HPV DNA testinin pap test ile birlikte aynı anda uygulanması (co-test) günümüzde en yaygın kullanım alanını oluşturmaktadır, 30 yaş üzerinde 5 yılda bir co-test uygulanması ASCCP (Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patolojiler Derneği), ACS (Amerikan Kanser Derneği) ACOG (Amerikan Jinekoloji ve Obstetri Akademisi), USPSTF'nin (Amerikan Koruyucu Hizmetler Çalışma Grubu) güncel önerisidir (1, 2). Co-test olarak uygulanmasının aksine HPV DNA testinin tek başına serviks kanseri taramasında uygulanması günümüzde bütün ülkelerde rutin öneri olabilecek kadar kanıtlanmamaktadır (12, 13).

Ticari olarak mevcut olan HPV DNA testleri iki tiptir. Birinci grup 13 veya 14 tür yüksek riskli HPV DNA tiplerini tespit eden testlerdir. Bu testler raporda hangi alt tiplerin bulunduğunu bildirmez ancak testin negatif olması en yaygın görülen yüksek riskli HPV tiplerinin mevcut olmadığı anlamına gelir. İkinci grup sadece HPV 16 ve 18 alt tiplerini tespit eden testlerdir, spesifik olarak genotipleme yaparak hangi alt tipin enfeksiyona neden olduğunu bildirirler.

Co-Test

Servikal smearin sitolojik olarak değerlendirilmesi ve aynı örnekte eş zamanlı HPV DNA çalışılması co-test olarak adlandırılır. Co-test günümüzde 30 yaş üzerindeki kadınlar için en çok kabul gören tarama yöntemidir, ASCCP ve ACOG 30-65 yaş arasında kadınların 5 yılda bir co-test ile taranmasını önermektedir (1,2). 30 yaş altında co-test önerilmemektedir çünkü bu yaş grubunda HPV enfeksiyonları yüksek oranda geçicidir, persistans oranı azdır, bu durum testin yanlış pozitiflik oranının artmasına neden olur (1). Bu nedenle 21-30 yaş arasında 3 yılda bir sadece sitoloji ile tarama önerilmektedir (1, 2). 30-65 yaş arasındaki kadınların 5 yılda bir co-test ile taranması 3 yılda bir sitoloji ile taranması kadar etkilidir (1).

Sadece sitolojik değerlendirme ile taramaya göre HPV DNA testi eklenmesi halinde taramanın sensitivitesi artmaktadır ancak spesifitesi azalmaktadır (14). Servikal sitoloji ile yapılan taramalar sonucunda serviks adenokarsinomu insidansında yassı hücreli kanser kadar azalma izlenmemiştir, co-test adenokarsinoma in situ saptanmasında daha sensitif olduğu için adenokarsinoma önlenmesinde sadece sitolojiye göre daha etkili olduğunu bildiren araştırmalar vardır (15, 16, 17). Co-test'in veya sadece HPV DNA testi uygulanmasının negatif prediktif değeri sitolojiye göre daha yüksektir

Tablo 1 • Düşük Riskli ve Yüksek Riskli HPV Tipleri (7, 8)

Düşük riskli	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81
Yüksek riskli	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68

ve cotestin negatif izlenmesi gelecek 5 yıl içerisinde CIN 3 ve üzeri lezyon gelişme ihtimalinin güven verici derecede düşük olduğunu göstermektedir (8, 12, 14, 17, 18, 19).

Co-test sonucunda sitoloji negatif fakat HPV DNA pozitif izlenen hastaların yönetimi için güncel ASCCP önerisi öncelikle HPV alt tipinin belirlenmesidir. HPV 16 ve/veya 18 pozitif ise hasta direk kolposkopiye referedilmelidir, diğer alt tipler pozitif ise bir yıl sonra co-test ile tekrar değerlendirilmelidir (1).

Blatt ve arkadaşlarının 2015 yılında yayınlanan çalışmasında CIN 3 ve üzeri lezyonların saptanmasında, 30-65 yaş arası kadınlarda co-test ile taramanın yalnız HPV ve yalnız sitoloji ile taramaya göre daha sensitif olduğu bildirilmiştir (sensitivite sırasıyla %98.8, %94, %91.3). Pozitif sitolojinin spesifitesi %26.3, pozitif HPV DNA'nın spesifitesi %25.6, pozitif co-testin spesifitesi %10.9 olarak hesaplanmıştır. Serviks kanseri tanısı alan 526 hastanın %5.5'inde co-test negatif, %12.2'inde sadece sitoloji negatif, %18.6'sında sadece HPV testi negatif olarak bildirilmiştir (20). Güncel yaygın kabul gören guideline önerilerinde co-testin uygulanma aralığı 5 yıl olarak belirlenerek spesifitesinin düşük olma özelliği minimize edilmiştir, optimum fayda zarar dengesi sağlanmıştır, çünkü spesifitesi düşük test fazla sayıda hastanın kolposkopiye referedilmesine neden olacak ve kanser kaygısı, stres, gereksiz biyopsi gibi istenmeyen durumlara neden olacaktır.

Primer HPV DNA Testi ile Tarama

Sitolojik değerlendirme yapılmaksızın sadece HPV DNA testi ile tarama yapılması primer HPV DNA tarama testi olarak adlandırılır. 2014 yılından önce onaylanan HPV DNA testleri sadece co-testin parçası olarak kullanılmak üzere ve ASCUS gibi şüpheli sitoloji sonuçlarının yönetiminde kullanılmak üzere FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanmıştır. 2014 yılında FDA ilk defa yirmi beş yaş üzeri kadınlarda primer taramada kullanılmak üzere bir HPV DNA testine onay vermiştir (12). Ancak bu onayda FDA uygulama şekli ve sıklığı açısından bir öneride bulunmamıştır, günümüzde primer HPV DNA testi bütün ülkelerde uygulanacak kadar yaygın kabul görmüş değildir.

Yapılan çalışmalar primer HPV DNA testi ile taramanın servikal preinvaziv lezyonların saptanmasında sitolojiye göre sensitivitesinin daha fazla olduğunu ancak spesifitesinin daha az olduğunu göstermiştir (8, 9). Sensitivitesinin yüksek olması sitolojiye göre daha seyrek aralıklarla tarama yapılabilmesini mümkün kılarsa da spesifitenin düşük olması fazla sayıda hastanın kolposkopiye referedilmesine neden olmaktadır.

Gage ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptığı çalışmada, negatif HPV testi sonrası 3 ve 5 yıllık kümülatif

insidans oranlarının (CIN 3 ve üzeri lezyonlar için) negatif sitoloji grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (19).

Primer HPV testi ile ilgili önemli soru işaretlerinden birisi hrHPV (yüksek riskli HPV) pozitif test sonuçlarının nasıl yönetileceği konusudur. Primer HPV taramasında bütün pozitif sonuçların kolposkopiye referedilmesi halinde kolposkopi oranı çok yüksek olacağı için HPV DNA ile kolposkopi arasında basamak görevi görecektir ek yöntem gereklidir. Bu konuda kanıtlar sınırlı olsa da günümüzde en yaygın kabul gören yönetim algoritması HPV 16, 18 için genotiplendirme yapılması şeklindedir (12). HPV genotiplendirme sonucunda tip 16 ve/veya 18 tespit edilirse hasta kolposkopiye referedilir, diğer 12 yüksek riskli tip HPV tespit edilirse sitoloji uygulanır. HPV pozitifliği durumunda uygulanan sitolojik değerlendirmeye refleks sitoloji denir. Sitoloji sonucunda ASCUS veya daha ileri lezyon tespit edilenler kolposkopiye yönlendirilir. Önerilen bu algoritmanın nedeni HPV 16 ve 18 sonucunda yüksek dereceli preinvaziv lezyon gelişme olasılığının diğer 12 tip onkojenik HPV sonucuna göre yüksek olmasıdır. ATHENA çalışması sonucunda HPV16/18 pozitif olan grupta CIN 3+ lezyonlar için 3 yıllık kümülatif insidans %21.1 bulunurken, aynı oran diğer 12 tip onkojenik HPV pozitifliği sonrasında %5.4 olarak bildirilmiştir (22). Rijkaart ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 3 yıl için aynı kümülatif insidans oranları sırasıyla %26.1 ve %6.6 olarak hesaplanmıştır (23).

Primer HPV taraması konusunda ilk prospektif çalışma olan ATHENA çalışmasının sonucuna göre 25 yaş üzerinde kadınlarda CIN3 ve üzeri lezyonların yakalanması açısından primer HPV taraması sadece sitoloji ile taramaya göre ve hibrit (30 yaş altında sitoloji, 30 yaş üzerinde co-test) tarama uygulamasına göre daha yüksek sensitiviteye sahiptir (22).

Primer HPV taramasını en yüksek sensitivite ve en düşük yanlış pozitif sonuçla maksimum verimli hale getirmek için HPV genotiplendirmesi dışında p16^{INK4A}, E6 ve E7 ekspresyon analizi, tümör supressör genlerinin metilasyon analizi gibi pozitif HPV sonuçlarının yönetimine dair yeni triaj yöntemleri araştırılmaktadır. Bütün bu araştırılan yöntemlerdeki amaç geçici HPV enfeksiyonlarını persistan enfeksiyonlardan ayırabilmektir. Akut HPV enfeksiyonlarının sadece yüzde 90'ının persiste ettiği ve persiste etmeyen %90'lık kısmın kanser etiyolojisinde rol almadığı göz önüne alınırsa triaj amaçlı biyomarker çalışmaları çok önemlidir ve gelecekte HPV taramasını primer tarama yöntemi haline getirerek, sitolojiye çok sınırlı kullanım alanı bırakması muhtemeldir (24). Serviks dokusunun dışarıdan görülebilir ve kolaylıkla biyopsi alınabilir olması biyomarker çalışmalarının direk doku örnekleri üzerin-

de yapılabilmesi açısından avantaj oluşturmaktadır. Biyomarkerlar sadece pozitif HPV sonuçlarının triajında değil, genç yaşta olduğu için HPV ile taramaya uygun olmayan hasta grubunda primer tarama yöntemi olarak da kullanılabilir, p16/Ki-67 ile çift boyamalı biyomarker çalışması genç hasta grubunda CIN 2 ve üzeri lezyonların tespit edilmesinde sadece sitoloji ile taramaya göre benzer spesifite ve daha yüksek sensitivite sonucu vermiştir (25). Kan ve arkadaşlarının çalışmasında tek başına PAX1 gen metilasyonu kullanılmasının CIN3+ lezyonların saptanmasında %86 sensitivite, %85 spesifiteye sahip olduğu ve güncel tarama yöntemlerine eklenmesinin daha etkili tarama sağlayacağı bildirilmiştir (26).

HPV enfeksiyonu sonucunda viral onkoprotein E7'nin ekspresyonu, Rb (retinoblastom) tümör baskılayıcı geninin inaktivasyonuna neden olur ve bu sayede p16^{INK4A} transkripsiyonu artar. P16 bir tümör baskılayıcı genidir ve servikal preinvaziv lezyonlarda P16^{INK4A}'nın aşırı ekspresyonu immünohistokimyasal boyama yöntemi ile gösterilebilir (27). Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada p16 ve survivin proteini ekspresyonu servikal preinvaziv lezyonlarda grade ile, invaziv kanserde lenf nodu metastazı ve kötü prognoz ile korele bulunmuştur. Survivin bir apoptoz engelleyici proteindir ve birçok malignitede ekspresyonu artmaktadır (28).

Dünyada HPV tiplerinin dağılım sıklığı coğrafi farklılık göstermektedir. Asya kıtasında bazı ülkelerde HPV 52 ve 58 tipleri HPV 16 ve 18'in ardından en sık görülen tiplerdir ve preinvaziv lezyonların önemli bir oranından sorumludurlar (29, 30). Bu nedenle toplumu yüksek oranda kapsamaları için bu ülkelerde tarama programlarında HPV 16 ve 18 dışındaki bazı tiplerin de dahil edilmesi gerekebilir.

Gelişmekte Olan Ülkelerde Hpv Dna Testi

Serviks kanseri tüm yeni tanı alan kadın kanserleri arasında 3. sıradadır ve bunların %85'inden fazlası gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir (31). Bu nedenle bu ülkeler için özelleştirilmiş tarama yöntemlerinin yaygın şekilde uygulanması çok önemlidir. Gelişmekte olan ülkeler ekonomik, sosyal ve sağlık kurumuna ulaşım v.b faktörler açısından gelişmiş ülkelere göre büyük farklılık gösterirler. Elli yedi ülke üzerinde yapılan bir çalışmada gelişmekte olan ülkelerde ortalama taramaya ulaşan kadın oranı %19, gelişmiş ülkelere %65 bulunmuştur; çalışmada yaşlı ve fakir kadınların serviks kanseri açısından daha riskli olmalarına rağmen taramaya daha az ulaşabildikleri saptanmıştır (32).

Gelişmekte olan bazı ülkelerde sitoloji yöntemi masraflı, zaman alıcı ve sonuç için hastaya ikinci kere ulaşmayı gerektirmesi gibi nedenlerde kullanışlı olamamaktadır. Bu nedenle bu ülkelerde vizüel gözlem (VILI)

yöntemi (33) ile kombine olarak veya tek başına HPV DNA testleri ile tarama avantaj sağlayabilir. Bu ülkeler için ucuz ve birkaç saat içinde sonuç veren HPV DNA testleri üretilmiştir (34). Sağlık kurumuna ulaşılması zor bölgelerde yaşayanlar veya sosyokültürel nedenlerle muayeneden kaçınan kadınların taramaya dahil edilebilmesi amacıyla hastanın kendi kendine servikovajinal sürüntü alarak HPV DNA testi yapabilmelerini sağlayan araçlar üretilmiştir (35). Fırça, tampon veya lavaj yöntemi ile örnek almayı sağlayan bu araçlar hastanın evine posta ile gönderilmekte veya sağlık kuruluşunda hasta tarafından uygulanabilmektedir. Bu test kitlerinin maliyetlerinin azalması ve bu ülkelerde yaygın olarak uygulanması yeni serviks kanseri vakalarının %85'inden fazlasının bulunduğu gelişmekte olan ülkelerde prevalansta ciddi düşmeler sağlayacaktır, ayrıca gelişmiş ülkelerin kırsal bölgelerinde yaşayan ve tarama programlarına alınmakta güçlük çekilen kadınların taramaya katılmasını kolaylaştıracaktır (36). Kendi kendine alınan ve sağlık personeli tarafından alınan servikovajinal örneklerde yapılan HPV DNA testlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda preinvaziv lezyonları saptama açısından her iki yöntemin yakın güvenilirlikte olduğu gösterilmiştir (37, 38).

SONUÇ

Son yıllarda HPV DNA testleri ülkemizde ve dünyada yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Şu an için en yaygın kullanım alanı co-test olsa da yakın zamanda sitoloji olmaksızın primer test olarak HPV'nin tek başına kullanılması olasıdır. Primer HPV DNA tarama testinin yaygın kabul görür hale gelmesi için pozitif sonuçların yönetiminde kullanılacak yöntemler konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu güne kadar uygulanan sitoloji ağırlıklı yöntemler dünyada serviks kanseri insidansında önemli azalmalar sağlamıştır ancak bu azalma gelişmiş ülkelerde daha fazla olmuştur ve günümüzde yeni serviks kanseri vakalarının %85'i gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. Bu nedenle bundan sonra dünya genelinde uygulanacak stratejilerin gelişmekte olan ülkelerdeki kadınları taramaya yüksek oranda alabilmesi gerekmektedir. Primer HPV DNA testinin uygulanabilmesinin kolay olmasından dolayı gelişmekte olan ülkelerdeki tarama çalışmalarına önemli katkı sağlayacağı tahmin edilmektedir.

KAYNAKLAR

1. 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. *CA Cancer J Clin* 2012; 62:147.
2. ACOG Practice Bulletin Number 131: Screening for cervical cancer. *Obstet Gynecol.* 2012 Nov;120(5):1222-38.
 3. Schiffman M, Castle P. When to test women for human papillomavirus. *BMJ.* 2006 Jan 14; 332(7533): 61–62.
 4. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998 Feb 12;338(7):423-8.
 5. Xi LF, Koutsky LA, Castle PE, Edelstein ZR, Meyers C, Ho J, Schiffman M. Relationship between cigarette smoking and human papilloma virus types 16 and 18 DNA load. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Dec;18(12):3490-6
 6. Weissenborn S. J., Funke A. M., Hellmich M., Mallmann P., Fuchs P. G., Pfister H. J., U. Wieland Oncogenic Human Papillomavirus DNA Loads in Human Immunodeficiency Virus-Positive Women with High-Grade Cervical Lesions Are Strongly Elevated. *J Clin Microbiol.* 2003 Jun; 41(6): 2763–2767.
 7. Newkirk G. Human Papillomavirüs DNA Typing. In: John L. Pfenninger, Grant C. Fowler. Pfenninger and Fowler's Procedures for Primary Care, 3rd Edition; 2010. Philadelphia. Saunders, p.963-65.
 8. Leinonen M, Nieminen P, Kotaniemi-Talonen L, Malila N, Tarkkanen J, Laurila P, Anttila A. Age-specific evaluation of primary human papillomavirus screening vs conventional cytology in a randomized setting. *J Natl Cancer Inst.* 2009 Dec 2;101(23):1612-23.
 9. Kahn JA. HPV vaccination for the prevention of cervical intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med.* 2009 Jul 16;361(3):271-8.
 10. Schiller, W. Leucoplakia, leukokeratosis, and carcinoma of the cervix. *Am J Obstet Gynecol.* 1938; 35:17.
 11. Papanicolaou GN, Traut HF. Diagnostic value of vaginal smears in cancer of the uterus. *Am J Obstet Gynecol.* 1941;42:193-206.
 12. Huh WK, Ault KA, Chelmow D, Davey DD, Goulart RA, Garcia FA, Kinney WK, Massad LS, Mayeaux EJ, Saslow D, Schiffman M, Wentzensen N, Lawson HW, Einstein MH. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance. *Obstet Gynecol.* 2015 Feb;125(2):330-7.
 13. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol.* 2015 Feb;136(2):189-97
 14. Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C, de Sanjose S, Naucler P, Lloveras B, Kjaer S, Cuzick J, van Ballegooijen M, Clavel C, Iftner T. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *BMJ.* 2008 Oct 13;337:a1754.
 15. Bray F, Carstensen B, Møller H, Zappa M, Zakelj MP, Lawrence G, Hakama M, Weiderpass E. Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Sep;14(9):2191-9.
 16. Anttila A1, Kotaniemi-Talonen L, Leinonen M, Hakama M, Laurila P, Tarkkanen J, Malila N, Nieminen P. Rate of cervical cancer, severe intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma in situ in primary HPV DNA screening with cytology triage: randomised study within organised screening programme. *BMJ.* 2010 Apr 27;340:c1804.
 17. Katki HA1, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, Poitras NE, Cheung L, Demuth F, Schiffman M, Wacholder S, Castle PE. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. *Lancet Oncol.* 2011 Jul;12(7):663-72.
 18. Moyer VA. Screening for cervical cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2012 Jun 19;156(12):880-91
 19. Gage JC, Schiffman M, Katki HA, Castle PE, Fetterman B, Wentzensen N, Poitras NE, Lorey T, Cheung LC, Kinney WK. Reassurance against future risk of precancer and cancer conferred by a negative human papillomavirus test. *J Natl Cancer Inst.* 2014 Jul 18;106(8)
 20. Blatt AJ, Kennedy R, Luff RD, Austin RM, Rabin DS. Comparison of cervical cancer screening results among 256,648 women in multiple clinical practices. *Cancer Cytopathol.* 2015 Apr 10.
 21. Malila N, Leinonen M, Kotaniemi-Talonen L, Laurila P, Tarkkanen J, Hakama M. The HPV test has similar sensitivity but more overdiagnosis than the Pap test—a randomised health services study on cervical cancer screening in Finland. *Int J Cancer.* 2013 May 1;132(9):2141-7.
 22. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol.* 2015 Feb;136(2):189-97.
 23. Rijkaart DC, Berkhof J, van Kemenade FJ, Coupe VM, Rozendaal L, Heideman DA, Verheijen RH, Bulk S, Verweij W, Snijders PJ, Meijer CJ. HPV DNA testing in population-based cervical screening (VUSA-Screen study): results and implications. *Br J Cancer.* 2012 Feb 28;106(5):975-81
 24. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers.* 2007;23(4):315-30.
 25. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, Griesser H, Alameda F, Angeloni C, Bogers J, Dachez R, Denton K, Hariri J, Keller T, Doeberitz M, Neumann H, Puig-Tintore L, Sideri M, Rehm S, Ridder R. Screening for cervical cancer precursors with p16/Ki-67 dual-stained cytology: results of the PALMS study. *J Natl Cancer Inst.* 2013 Oct 16; 105(20): 1550–1557.
 26. Kan YY, Liou YL, Wang HJ, Chen CY, Sung LC, Chang CF, Liao CI. PAX1 methylation as a potential biomarker for cervical cancer screening. *Int J Gynecol Cancer.* 2014 Jun;24(5):928-34.
 27. Tabrizi SN, Tan SE, von Knebel Doeberitz C, Tan J, Quinn MA, Garland SM. Evaluation of p16INK4a immunostaining for the detection of high-grade changes in cervical cytology. *Pathology.* 2015 Jun;47(4):314-9.

28. Liu HQ, Wang YH, Wang LL, Hao M. P16INK4A and survivin: Diagnostic and prognostic markers in cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinoma. *Exp Mol Pathol*. 2015 Apr 21
29. Quek SC, Lim BK, Domingo E, Soon R, Park JS, Vu TN, Tay EH, Le QT, Kim YT, Vu BQ, Cao NT, Limson G, Pham VT, Molijn A, Ramakrishnan G, Chen J. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical intraepithelial neoplasia across 5 countries in Asia. *Int J Gynecol Cancer*. 2013 Jan;23(1):148-56.
30. Bao YP, Li N, Smith JS, Qiao YL. Human papillomavirus type distribution in women from Asia: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer*. 2008 Jan-Feb;18(1):71-9
31. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.
32. Gakidou E, Nordhagen S, Obermeyer Z. Coverage of Cervical Cancer Screening in 57 Countries: Low Average Levels and Large Inequalities. *PLoS Med*. 2008 Jun; 5(6): e132.
33. Shastri SS, Mitra I, Mishra GA, Gupta S, Dikshit R, Singh S, Badwe RA. Effect of VIA screening by primary health workers: randomized controlled study in Mumbai, India. *J Natl Cancer Inst*. 2014 Mar;106(3):dju009.
34. Qiao YL, Sellors JW, Eder PS, Bao YP, Lim JM, Zhao FH, Weigl B, Zhang WH, Peck RB, Li L, Chen F, Pan QJ, Lorincz AT. A new HPV-DNA test for cervical-cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China. *Lancet Oncol*. 2008 Oct;9(10):929-36.
35. Arbyn M, Castle PE. Offering self-sampling kits for HPV testing to reach women who do not attend in the regular cervical cancer screening program. *Cancer epidemiol biomarkers Prev*. 2015 May;24(5):769-72.
36. Lazcano-Ponce E, Lorincz AT, Cruz-Valdez A, Salmerón J, Uribe P, Velasco-Mondragón E, Nevarez PH, Acosta RD, Hernández-Avila M. Self-collection of vaginal specimens for human papillomavirus testing in cervical cancer prevention (MARCH): a community-based randomised controlled trial. *Lancet*. 2011 Nov 26;378(9806):1868-73.
37. Latiff LA, Rahman SA, Wee WY, Dashti S, Andi Asri AA, Unit NH, Siah Li SF, Esfehiani AJ, Ahmad S. Assessment of the reliability of a novel self-sampling device for performing cervical sampling in Malaysia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(2):559-64.
38. Snijders PJJ, Verhoef VM, Arbyn M, Ogilvie G, Minozzi S, Banzi R, van Kemenade FJ, Heideman DA, Meijer CJ. High-risk HPV testing on self-sampled versus clinician-collected specimens: a review on the clinical accuracy and impact on population attendance in cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2013 May 15;132(10):2223-36.