

## HPV Tip 66'yı Olası Yüksek Riskli Grupta Değerlendirmeli miyiz? Ankara Gazi Üniversitesi'ndeki HPV Tip 66'nın Prevalansı, Klinik ve Histopatolojik Değerlendirmesi

Should We Accept the HPV Type 66 into a Probable High-Risk Group? The Prevalence, Clinical and Histopathological Evaluation of HPV Type 66 in Gazi University, Ankara

Ferah Kazancı<sup>1</sup>, Aylin Altay Koçak<sup>2</sup>, Meryem Çolak<sup>3</sup>, Özlem Erdem<sup>4</sup>, M. Anıl Onan<sup>1</sup>, Gülendam Bozdayı<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Karabük Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Yüksekokulu, Karabük, Türkiye

<sup>4</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>5</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Viroloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

### ÖZET

**Giriş:** Farklı HPV genotiplerinin neden olduğu enfeksiyon prevalansı, farklı coğrafik alanlara göre değişmektedir. Bu çalışmanın amacı, normal ve anormal Pap smear testi sonucu olan kadınlarda HPV 66 genotipinin prevalansı ve dağılımını belirlemektir.

**Yöntemler:** Bu retrospektif çalışma Ocak 2017-Şubat 2018 tarihleri arasında İç Anadolu Bölgesindeki üçüncü basamak bir üniversite hastanesinde yürütülmüştür. Çalışmaya 66'sı HPV DNA pozitif (%22.9) olan 288 kadın dahil edilmiştir. HPV DNA taraması otomatize bir sistemde (Cobas 4800 System, Roche Diagnostics Ltd, İsviçre) real time PCR yöntemi ile çalışılmış ve bu yöntemle tip 16 ve 18 ayrımı yapılmış, diğer 12 onkojen tip ise yüksek riskli-HPV (HR-HPV: 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) olarak raporlanmıştır. Diğer onkojen tiplerin genotiplendirmesi için ise ticari bir real time PCR yöntemi (NLM Genotypes 14 Real-TM Quant, NLM Diagnostic, İtalya) kullanılmıştır.

**Bulgular:** En sık saptanan HPV tipleri HPV 16 (%6.3), HPV 56 (%3.8), HPV 18 (%3.1), HPV 66 (%3.1), HPV 51 (%2.8) ve HPV 52 (%2.1)'dir. Onkojenisiteleri belirsiz olan diğer tipler olarak kabul edilen HPV tip 66, çalışmamızda en fazla tanımlanan üçüncü tiptir. Çalışmamızda ikisinde (%0.7) anormal Pap smear sonucu olan dokuz kadında (%3.1) HPV tip 66 saptanmıştır. Pap smear testi sonucu ASC-H/HSIL olan sifilizli bir hastaya kolposkopik inceleme, LEEP (Loop Electrosurgical Excision Procedure) ve ECC (Endocervical Curettage) yapılmıştır. Histopatolojik rapor sonucu benign bulunmuştur. Pap smear testi sonucu LSIL olan diğer hastaya da kolposkopik inceleme yapılmış ve patolojik bir bulguya rastlanmamıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmada, HPV 66 sıklığı diğer çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur. HPV 66 saptanan 9 hastanın 2'sinin (%2.4) pap smear testi sonuçları anormaldir. HPV 66'nın onkojenliği belirsiz HPV tipleri grubunda sınıflandırılabilen kanısına varılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Serviks kanseri, Pap smear, HPV DNA genotip, HPV 66, real time PCR, kolposkopi

**Geliş Tarihi:** 16.10.2020

**Kabul Tarihi:** 27.11.2020

### ABSTRACT

**Introduction:** The prevalence of infection by different genotypes of human papillomavirus (HPV) varies among different geographic areas. The objective of the study is to determine the prevalence and distribution of HPV66 genotype among women with normal or abnormal Pap smear tests.

**Methods:** This retrospective study was conducted in a tertiary care university hospital between January 2017 and February 2018, in central Anatolia of Turkey. This study included 288 women, 66 (%22.9) of whom had HPV DNA positive. HPV DNA screening was done by an automatized system using real time PCR method (Cobas 4800 System, Roche Diagnostics Ltd, Switzerland) and this method distinguishes types 16 and 18, while the other 12 oncogene types are reported as high-risk HPV (HR-HPV: 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68). For the genotyping of other oncogene types, a commercial real time PCR method (NLM Genotypes 14 Real-TM Quant, NLM Diagnostic, Italy) was used.

**Results:** The most common identified HPV types were HPV16 (%6.3), HPV 56 (%3.8), HPV 18(%3.1), HPV 66 (%3.1), HPV 51 (%2.8), HPV 52(%2.1). HPV type 66 which has admitted recently other-subtypes with their unclear oncogenicity is the third most identified type in our study. In our study 9 (%3.1) women had type 66 and 2 (%0.7) of whom had abnormal Pap smear results. One patient with syphilis whose pap smear test results was ASC-H/HSIL was evaluated by colposcopic examination and LEEP (Loop Electrosurgical Excision Procedure) and ECC (Endocervical Curettage) were performed. The result of histopathological report was benign. The other patient whose Pap smear test result was LSIL evaluated by colposcopic examination and found no pathological finding.

**Conclusion:** The frequency of HPV 66 infection was found to be higher in our study compared to previous reports. In 2 patients out of 9 cases (% 2.4) who were detected HPV 66 had normal pap test results.

**Key Words:** Cervical cancer, Pap smear, HPV DNA genotype, HPV 66, real time PCR, colposcopy

**Received:** 10.16.2020

**Accepted:** 11.27.2020

Bu çalışma Uluslararası 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde poster bildiri olarak sunulmuştur.

**ORCID IDs:** F.K. 0000-0002-3910-0821, A.A.K. 0000-0002-0451-0142, M.Ç. 0000-0001-9876-936X, Ö.E. 0000-0002-8396-458X, M.A.O. 0000-0001-7643-1585, G.B. 0000-0002-6036-6819

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Dr.Aylin Altay Koçak, PhD Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD Bağlıca Kampüsü, Ankara, Türkiye E-posta: aynalty@hotmail.com

©Telif Hakkı 2021 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi - Makale metnine <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/> web adresinden ulaşılabilir.

©Copyright 2021 by Gazi University Medical Faculty - Available on-line at web site <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/>

doi:<http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2021.18>

**GİRİŞ**

İnsan papilloma virüsü (HPV), Papillomaviridae ailesinden, 50-55 nm çapında, zarfsız, çift sarmallı, ikozahedral nükleokapsidli ve proteinle çevrili epiteliotropik özellikler içeren bir DNA virüsüdür (1,2). Diğer birçok virüsün aksine HPV'ler, antijenik yapılarıdan çok DNA yapısına göre sınıflandırıldığından; serotipler yerine genotipler olarak, keşfedildikleri sıraya göre numaralandırılmaktadır ve bugün 200'den fazla tipi tanımlanmıştır (1,3). DNA sekanslarına göre de papilloma virüslerin filogenetik sınıflandırılmasında, majör viral L1 gen bölgesinin homolojisi etkindir (4). Yeni bir HPV tipinin tanımlanması için bilinen tüm tiplere göre L1 dizisinde %10'dan fazla nükleotid farkı (ya da %90'dan az sıra homolojisi) gerekir. HPV tipleri klinik olarak, düşük riskli (LR-HPV), olası yüksek riskli ve yüksek riskli HPV'ler [(HR-HPV) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 68, 73 ve 82] olmak üzere 3 kategoriye ayrılmaktadır (5). Yüksek riskli HPV enfeksiyonunun başlangıcı ile serviks kanseri gelişimi arasında genellikle 10 yıl veya daha uzun süren bir latentlik dönemi olması nedeniyle pap smear ve HPV DNA testlerinin kullanıldığı tarama programları, servikal kanserlerin önlenmesi ve erken tanısında büyük önem taşımaktadır (4).

Serviks kanseri kadınlarda dünyada en sık 2. kanserdir ve % 99.7'si insan papilloma virus (HPV) enfeksiyonuna dayandırılmaktadır (6). Servikal kanser için yüksek riskli olduğu bilinen HPV tipleri diğer anogenital (vulva, vajina, anal, penis) ve orofarenks kanserleri ile de ilişkilendirilmiştir (6). GLOBOCAN (Global Burden of Cancer-Küresel kanser verileri) 2018 verilerine göre, her yıl serviks kanserli 570 000 yeni tanı ve 311 000 ölüm vakası olup, bunların yaklaşık %84.3'ü az gelişmiş ülkelerde izlenmiştir (6,7). Türkiye'de kanser istatistikleri verilerine göre, serviks kanserinin, insidansı 4/100.000 olup, yıllık yeni vaka sayısı 1800 ve en sık görülen 9. kanserdir. Yaşam boyu yakalanma riski %0.55 olup, mortalite hızı 2/100.000, %55'i ileri evrede tanı almaktadır (8). Servikal taramayla birincil hedef, serviks kanserini önlemektir. Bu da, preinvaziv servikal lezyonların saptanması, tedavi edilmesi ve takipleri ile mümkündür (9,10). Serviks kanseri eradike edilebilir tek kanserdir, Amerika'da servikal kanserden ölüm oranları ve hastalıktan etkilenenlerin sayısı 1950'lerden beri istikrarlı bir şekilde azalmaktadır (11). Serviks kanserinden etkilenenlerin genel sayısı ve serviks kanserine bağlı ölüm oranlarında azalmalar geniş çaplı tarama programları sayesinde (10,12).

Amacımız; kliniğimize farklı jinekolojik şikayetlerle başvuran hastalardan alınan servikal sürüntü örneklerinde, hem patolojik hem de mikrobiyolojik incelemeler sonucunda HPV tip 66'nın prevalansı ve klinikopatolojik sonuçlarını değerlendirmek ve HPV tip 66'yu olası yüksek riskli grupta mı değerlendirmeliyiz sorumuza yanıt aramaktır. Araştırma için etik kurul onayı alınmıştır (Karar no:504 25/06/2018).

**YÖNTEMLER****Çalışmaya Dahil Edilen Hastalar**

Çalışmamıza, Ocak 2017-Şubat 2018 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Kadın Doğum Polikliniği'ne başvuran HPV PCR ve 'pap smear' (co-test) testi incelenen 24-74 yaş arasında 288 hasta dahil edilmiştir. Örnekler, post-koital kanama, kötü kokulu lökore, disparoni, kasık ağrısı gibi şikayetler ile başvuran hastalardan alınmıştır. Gebelik döneminde, tanı ve tedavi almış vulva, vajen, serviks kanseri olguları ile histerektomi ve servikal konizasyon yapılanlar çalışma kapsamı dışında tutulmuştur.

**Servikal Sürüntü Örneklerinde Gerçek Zamanlı PCR ile HPV Saptanması****Yüksek Riskli Onkojen HPV Tiplerinin Tanınması**

Alınan servikal sürüntü örnekleri, 'PreservCyt®' solüsyonu içerisine koyularak Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Örnekler, Cobas 4800 System Software Version 2.2 (Roche Diagnostics Ltd, İsviçre) cihazında, aynı ticari kit kullanılarak tam otomatize bir sistem ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve kalitatif olarak 'gerçek zamanlı PCR' yöntemi ile çalışılmıştır. Kullanılan yöntem 14 yüksek riskli onkojen HPV tipini saptayabilen FDA onaylı bir testtir; Tip 16 ve 18 ayrımını ayrıca yapabilirken, kalan 12 onkojen tipi 'diğer yüksek riskli HPV (HR-HPV: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) olarak sonuçlandırmaktadır.

**HPV Pozitif Örneklerin Genotiplendirilmesi**

Taramada HR-HPV pozitif çıkan örneklerin saklanan alikotlarına, genotiplendirilmek üzere otomatize bir cihazda (EZ1, Qiagen, Almanya) EZ1 virüs mini kit kullanılarak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstrakte edilen DNA örnekleri ticari bir gerçek zamanlı PCR kiti (NLM Genotypes 14 Real-TM Quant, NLM Diagnostic, İtalya) ile gerçek zamanlı PCR cihazında (Rotor-Gene Q, Qiagen, Almanya) çalışılmış ve diğer yüksek riskli HPV pozitif saptanan örnekler dört farklı boya (Fam (Green), Joe (Yellow), Rox (Orange) ve Cy5 (Red) kanalından incelenmiş ve genotipler belirlenmiştir.

**Servikal Sitolojinin ve Biyopsi Materyallerinin Histopatolojik Değerlendirilmesi**

Sıvı bazlı sistem ile toplanan ekfloide servikal hücrelerin, patoloji bölümü tarafından modifiye Bethesda sistemine göre sitolojik incelemesi yapılmıştır. Anormal pap smear test sonuçları; ASCUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) (önemi bilinmeyen atipik hücreler), LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion) (düşük dereceli skuamoz intraepitelyal lezyon), ASC-H (Atypical Squamous Cells – cannot exclude HSIL) (atipik skuamoz hücreler-yüksek dereceli skuamoz lezyon ekarte edilmeyen), HSIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion) (yüksek dereceli skuamoz intraepitelyal lezyon), AGC-NOS [Atypical Glandular Cells (specify endocervical or not otherwise specified)] (önemi bilinmeyen atipik glanduler hücreler), skuamoz hücreli kanser olarak tanımlanmıştır (13,14).

Pap test sonucu anormal olan hastaların bazılarında, p16 ve Ki-67 ile immunohistokimyasal boyama ile ileri değerlendirilmesi yapılmıştır. p16; hücre siklusunda regülör bir protein olup, G1-S fazında hücre profilyasyonuna neden olur. Retinoblastom proteininin inaktivasyonu ile p16 proteini artışı olur, özellikle yüksek riskli HPV DNA enfeksiyonlarında p16 ile boyanma belirgindir (15). Ki-67 ise, nükleer ve nukleolar protein olup sadece aktif hücre siklus (G1, S, G2, M) fazında salgılanır. Ki-67, HPV DNA enfekte hücrelerde epitelyal hücre proliferasyonunda artışa yol açar (15).

**Kolposkopik Muayenede Hasta Seçimi**

Taramada HPV tip 16, 18 ile ve diğer yüksek riskli HPV DNA ile enfekte olup beraberinde sitoloji incelemelerinde  $\geq$ ASCUS lezyonu saptananlara kolposkopik muayeneye refere edilmiştir (16,17).

Kolposkopik muayene de; öncelikle serviksteeki mukus, kuru bir tamponla silindikten sonra en az 30-45 saniye süreyle %3' lük asetik asit ve/ veya lugol solüsyonu uygulanarak, serviks önce düşük büyütme ile (6-10 büyütme) olacak şekilde, klasik teknikte incelenmesi yapılmıştır. Kolposkopide; orijinal skuamozepitel, kolumnar epitel ve transformasyon zonu değerlendirildikten sonra, hiperkeratozis yada lökoplaki (asetik asit sürülmeden serviks de izlenen asetobeyaz alanlar), asetobeyaz epitel, ince yada kaba punktuasyon, mozaizim ve atipik damarlanma saptanan bölgelerden biyopsi alınmıştır (18).

**İstatistiksel Yöntem**

Araştırma verisi SPSS 22.0 istatistik paket programı aracılığıyla değerlendirilecektir. Tanımlayıcı istatistikler ortalama ( $\pm$ ) standart sapma, ortanca (min/maks), frekans dağılımı ve yüzde olarak sunulacaktır. Bu çalışmanın istatistiksel anlamlılık değeri  $p \leq 0.05$  olarak kabul edilmiştir.

**BULGULAR**

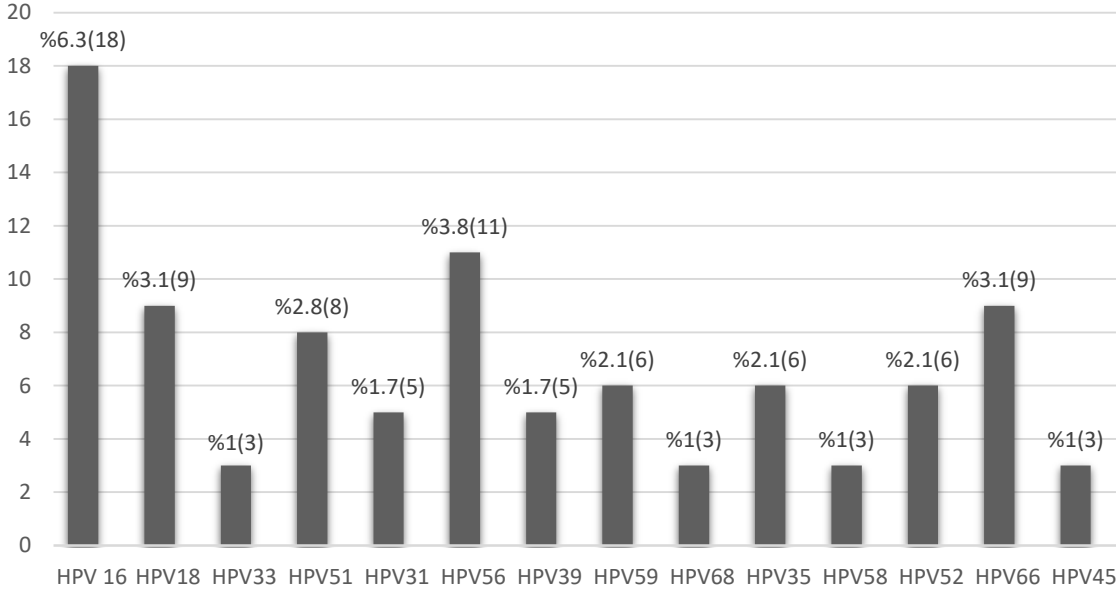
Kliniğimize başvuran 288 hastanın 66 (%22.9)'sında HPV DNA pozitif saptanmıştır. Çalışmamızda en sık izlenen genotip HPV tip 16 (%6.3) olup bunu sırasıyla, tip 56 (%3.8), tip 18 (%3.1), tip 66 (%3.1), tip 51 (%2.8) ve tip 52 (%2.1) takip etmiştir. HPV tiplerinin dağılımı şekil 1'de gösterilmiştir. Hastalar en fazla 3.ve 5. dekatta olup, yaş dağılımlarına göre analiz edildiğinde, HPV pozitif grubun 30-39 yaş aralığında (%42.4) daha sık izlenmekte olup, HPV negatif vakalarla kıyaslandığında bu dağılımda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. HPV pozitif toplam 66 vaka incelendiğinde; 43'ünün (%14.9) tek bir tip HR-HPV ile enfekte iken, 23 (%8) hastanın multiple HPV tipleri (bunların da 14'ü (%5) 2'li, 6'sı (%2) 3'lü, 3'ü (%1) 4'lü) ile enfekte olduğu izlenmiştir.

HPV pozitif grupta genotiplerin dağılımı incelendiğinde; tip 66'nın 9 vakada (%3.1) pozitif olup, 2 (%0.7)'sinde HPV 66'nın tek başına, 4 (%1.4)'ünde tip 16 ve 18 ile birlikte ve 3 (%1)'ünde ise diğer yüksek riskli tiplerle birlikte enfeksiyon yaptığı saptanmıştır (Şekil 2). HPV tip 66 ile enfekte olan hastaların yaş dağılımı 29-62 arasında izlenmiştir (Şekil 3).

Anormal servikal sitoloji sonucu, sadece tip 66 ile enfekte olan 2 (%0.7) hastada saptanmıştır, diğer 7 (%2.4) hasta ise normal servikal sitoloji sonucuna sahiptir. Tip 66 ile enfekte olan 6 vakaya kolposkopik inceleme yapılmıştır.

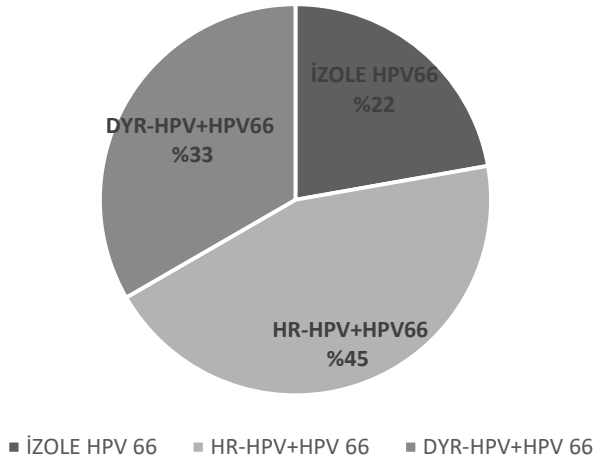
Tablo 1’de HPV tip 66 ile enfekte 9 hastanın yaş dağılımı, servikal sitoloji ve kolposkopik muayene sonuçları verilmiştir.

HPV TIPLERİNİN DAĞILIMI(n)



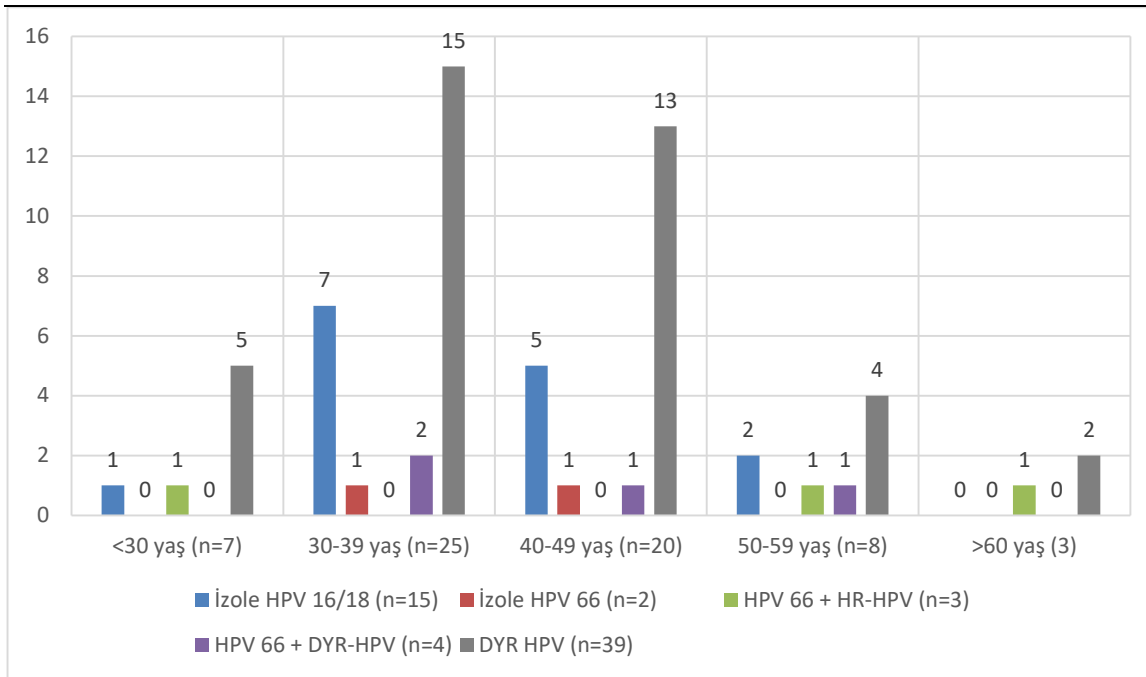
Şekil 1: HPV tiplerinin dağılımı

## HPV 66



Şekil 2: HPV tip 66'nın diğer alt gruplarıyla olan enfeksiyonların dağılımı

\*DYR: Diğer yüksek riskli



**Şekil 3:** Yaş gruplarına göre HPV tip 16, 18, 66 ve DYR-HPV pozitif gruptaki hastaların sayıları  
\*DYR: Diğer yüksek riskli

**Tablo 1:** HPV tip 66 vakalarının klinik ve histopatolojik bulguların dağılımı

HPV	(n,%)	Yaş	Sitoloji	Kolposkopi
İzole tip 66	1(0.3)	32	LSIL	Normal
İzole tip 66	1(0.3)	42	ASCH,HSIL	Asetowhite(LEEP+ECC)
Tip 66+tip16	1(0.3)	40	Normal	Normal
Tip 66+tip 16+tip51	1(0.3)	31	Normal	Normal
Tip 66+tip18+tip58	1(0.3)	38	Normal	Normal
Tip 66+tip 18+tip 31+tip 56	1(0.3)	48	Normal	Normal
Tip66+tip 52	1(0.3)	52	Normal	Yapılmadı
Tip 66+tip 31+tip 58	1(0.3)	62	Normal	Yapılmadı
Tip66+tip 39+tip 52+tip 56	1(0.3)	29	Normal	Yapılmadı
<b>Toplam</b>	<b>9(3.1)</b>			

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, HR-HPV ile enfekte hastalardaki HPV tip 66 pozitifliği; hastaların klinik durumları ve histopatolojik sonuçları ile birlikte değerlendirilerek yorumlanmıştır. Çalışmamızda HR-HPV pozitifliği %23 ile Türkiye’de yapılan toplum temelli taramaya göre yüksek iken, hastane bazlı çalışmalarla karşılaştırıldığında bazıları ile benzer, bazılarına göre düşük saptanmıştır (8,19,20). HPV prevalansındaki bu farklılığın sebepleri arasında; çalışma popülasyonumuzun birçok jinekolojik şikayeti olan olgulardan oluşması, farklı sosyoekonomik düzeylere sahip olması ve yaşadıkları coğrafik bölge gibi demografik özelliklerinin yanında HPV analizinde kullanılan kitin ve yöntemin özelliği gibi birçok faktörün de etkili olabileceği düşünülmüştür.

DNA dizi homolojileri ve filogenetik farklılıklarına göre tanımlanan HPV genotiplerinden, 40’tan fazla tipin anogenital bölgede enfeksiyonu etkeni olduğu gösterilmiştir (4). Çoklu tiplerle oluşan enfeksiyonların saptanması, tekrarlayan örneklerde aynı tipin gösterilmesiyle HPV persistansının doğrulanması, lezyonların tedavi sonrası durumunun takibi ve HPV aşlarının popülasyondaki etkinliğinin öngörülebilmesi gibi nedenlerden dolayı HPV genotipinin belirlenmesi önemlidir (21,22). HPV genotiplerinin farklı coğrafik bölgelerdeki prevalansı hakkında bilgi edinmek, ileri dönemlerde üretilecek HPV profilaktik aşları belirlemede de esas olacaktır (22,23,24). Uluslararası kanser araştırmaları ajansının verilerine göre serviks kanserinde HPV enfeksiyonu oranı Güney Afrika’da %63.9, Kuzey Afrika’da %79.8, Güney Amerika’da %65, Avrupa ve Kuzey Amerika’da %71.6’dır. Dünya genelinde en sık izole edilen HR-HPV tipi 16 olup, serviks kanseri olgularının yaklaşık %70’inde ise HPV tip 16 ve 18 birlikte sorumlu tutulmuştur (22). ABD ve Avrupa’da yaklaşık %50 oranında tip 16 en fazla olmak kaydıyla, tip 18, 31 ve 45 diğer sık izlenen genotiplerdir (22).

Güney Çin’de ise tip 52 en sık olup bunu tip 16, 58, 68 ve 33 takip etmektedir (21,24). Türkiye’de toplum temelli taramanın sonuçlarında, HPV DNA prevalansı % 4.14 olarak saptanmış ve tip 16 en sık görülen genotip olup, bunu tip 51, 31, 52 ve 18 izlemiştir (8).

Beyazıt ve arkadaşları; uterusu olup, post-koital kanama, dispareni, kasık ağrısı, kötü kokulu akıntı gibi jinekolojik şikayetlerle başvuran 201 hastayı kapsayan retrospektif çalışmalarında HPV DNA pozitifliğini % 45.2 ve genotip analizinde tip 16’yı % 16.5 oranında en sık olmak üzere sırasıyla tip 58, 6, 31 ve 33’ü tespit etmişlerdir (19). Özdemir ve arkadaşlarının yaşları 18-73 aralığında olan 837 hastaya yaptıkları retrospektif çalışmada, bizim çalışmamızda olduğu gibi, HPV tiplendirmesi de gerçek zamanlı PCR yöntemi kullanılarak araştırılmış ve %41 oranında HPV DNA pozitifliği, en sık %12.2 ile tip 16 ve takiben tip 31, 51 ve tip 18 saptanmıştır. HPV pozitif hastaların prevalansı 30 yaşından küçük olanlarda %55.2 oranında bulunmuştur (20).

Normal sitolojideki HPV prevalansı dünya genelinde %11.7 oranında iken, Afrika’da %21.1, Amerika’da %11.5, Avrupa’da %14.2 ve Asya’da %9.2 olarak saptanmıştır (27). Türkiye’de ise yapılan toplum temelli tarama çalışmasındaki HPV DNA pozitif olguların servikal sitoloji sonuçları incelendiğinde; %67’sinde normal hücresel bulgular, %19’unda anormal sitolojik bulgular izlenirken, %16’sında yetersiz materyal nedeniyle tam değerlendirme yapılamamıştır (%11.6 LSIL, %6.1 ASCUS, %0.8 HSIL, %0.4 AGUS, %0.2 ASC-H, %0.1 serviks kanseri) (8). Bizim çalışmamızda da diğer hastane bazlı çalışmalarla benzer düzeylerde; HPV pozitif hastalarda normal ve anormal sitolojik bulgu oranları sırasıyla %60.6, %39.4 olarak bulunmuştur (20).

Bizim vakalarımızda, yapılan birçok çalışma ve Türkiye toplum temelli çalışmalarından farklı olarak tip 66 oranının daha fazla olduğu izlenmiştir (8,19,20). Bruni ve arkadaşlarının beş kıta ve 1 milyon normal sitolojiye sahip popülasyonu kapsayan çalışmasında; HPV tip 66 prevalansı Avrupa'da %0.6, Afrika'da %1.5, Latin Amerika'da %0.4, Kuzey Amerika'da %1.3, Asya'da %0.2 olmak üzere tüm dünya genelinde ise %0.5 oranında saptanmıştır (27). Yüksek ve düşük riskli HPV tipleri ile enfekte vakaların histopatolojik sonuçları analiz edildiğinde HPV tip 66 ile enfekte hastaların da düşük riskli HPV tiplerine benzer şekilde, HSIL, adenokarsinom ve skuamöz hücreli kanser gibi lezyonların çok az oranda olduğu görülmüştür. HR-HPV tiplerinden HPV tip 16; patoloji sonuçları LSIL olanlarda %18.7, HSIL'da %45, adenokarsinomda %31.3 ve skuamöz hücreli kanserde ise %54.3 oranında, iken diğer HR-HPV tiplerinden, HPV tip 18'de ise LSIL lezyonu olanlarda %6.1, HSIL'da %7.1, adenokarsinomda %31.3 ve skuamöz hücreli kanserde de %12.6 oranında saptanmıştır. Düşük riskli HPV tiplerinden HPV tip 6 ise LSIL olanlarda %6.2, HSIL'da %1.9, adenokarsinomda %0.1 ve skuamöz hücreli kanserde ise %0.6 oranında iken, HPV tip 11 ise LSIL'da %3.2, HSIL'da %1.3, adenokarsinomda %0.1 ve skuamöz hücreli kanserde de %0.3 oranında tespit edilmiştir. HPV tip 66 ise LSIL lezyonlarında %6.5, HSIL'da %2.1, adenokarsinomda ve skuamöz hücreli kanserde %0.2 oranında saptanmıştır (5). HSIL, adenokarsinom ve skuamöz hücreli kanser gibi patolojik sonuçların izlendiği lezyonlarda HPV 66 pozitifliğinin çok az oranlarda izlendiği için tip 66'yı olası yüksek riskli grupta değerlendirmenin doğru bir yaklaşım olduğu düşünülmüştür (28). Çalışmamızda sitoloji sonuçları incelendiğinde tip 66 ile enfekte olan 9 vakanın; 2 (%0.7)'sinde anormal hücreler izlenirken, 7(%2.4)'sinde ise normal sitolojik bulgular saptanmıştır.

Sadece tip 66 ile enfekte olan, pap smear sonucu ASC-H, HSIL olan hastalarımızdan birinin eş zamanlı sifiliz enfeksiyonu geçirdiği tespit edilmiştir. İlk vizitteki smear testinin immunohistokimyasal incelenmesinde, p16 ile boyanma pozitifken, Ki-67 proliferasyon indeksi artmış izlenmiştir. Hastaya yapılan kolposkopik inceleme sonucu tespit edilen asetowhite alandan LEEP (Loop Electrosurgical Excision Procedure=loop elektrocerrahi eksizyon prosedürü) ile servikal biyopsi ve ECC (endoservikal küretaj) yapılmıştır ve materyallerin histopatolojik incelemesinde LSIL ve matür skuamöz ektoservikal epitel, immunohistokimyasal incelenmesinde HPV boyanma ve p16 negatif, Ki-67 proliferasyon indeksi artmış olarak raporlanmıştır. Servikal patolojilerden özellikle ASCUS ve LSIL tirajında (CIN2 biyopsi tahmin etmede) p16/Ki-67 dual immunohistokimyasal boyama ile ilgili yapılan çalışmalarda HPV DNA'ya oranla daha az sensitif fakat ciddi oranda daha fazla spesifik olduğu saptanmıştır (15). Takibe alınan hastanın 4 ay sonraki pap smear testi ASCUS olup immunohistokimyasal incelenmesinde HPV boyanma ve p16 negatif, Ki-67 proliferasyon izlenmemiştir ve bu olguda eş zamanlı sifiliz enfeksiyonu olduğu için immünojenik faktörler ve sinerjistik etkilerden dolayı bu sitolojik değişikliklerin izlenebileceği düşünülmüştür. Sadece tip 66 ile enfekte diğer hastanın ise pap smear sonucu LSIL (CIN1) ve immunohistokimyasal incelemesi p16 boyanma ve Ki-67 proliferasyon indeksinde artış izlenmemiş olup yapılan kolposkopik incelemede herhangi bir patolojik bulgu saptanmaması üzerine bir yıl sonra co-test ile takip önerilmiştir.

ASCCP (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology) ve ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) rehberleri doğrultusunda serviks kanseri taramasında HPV tip 16 ve tip 18 pozitif olan hastalarda sitoloji sonucuna bakılmaksızın, DYR-HPV tipleri enfekte hastalarda ise sitoloji sonucu  $\geq$ ASCUS saptananları kolposkopiye refere edilmesi önerilmektedir. DYR-HPV tipleri enfekte hastalarda ise sitoloji sonucu normal olanlarda ise 1 yıl sonra co-test önerilmektedir (29).

Tip 66'nın tip 16 ve 18 gibi yüksek riskli HPV tipleri ile birlikte izlendiği 4 vakanın sitolojik değerlendirilmesi ve kolposkopik muayenesinin normal saptanması üzerine rehberler doğrultusunda bir yıl sonra co-test yapılması planlanmıştır. Tip 66 ve diğer yüksek riskli HPV tipleri birlikte pozitif olan 3 vakanın servikal sitoloji sonuçları normal olduğu için rehberlere uygun olarak, hastalara bir yıl sonra co-test ile takip önerilmiştir.

## SONUÇ

Çalışma grubunun, cinsel yaşam alışkanlıklarına, sosyal ve kültürel faktörler gibi özelliklerine, çalışmanın tasarımına (toplum bazlı tarama veya diğer metotların kullanımına göre) ve ülkeler içinde farklı coğrafik bölgelere bağlı olarak HPV DNA pozitiflik oranları, çoklu enfeksiyon sıklığı ve genotip prevalansı değişkenlik göstermektedir. Tip 66 son yapılan çalışmalarda yüksek riskli HPV grubundan çıkarılarak olası yüksek riskli gruba dahil edilmiştir.

Bizim çalışmamızda HPV tip 66 ile enfekte olan hastaların klinik ve histopatolojik sonuçları değerlendirildiğinde literatürü destekler bulgular saptanmıştır.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

## KAYNAKLAR

1. Vink MA, Bogaards JA, Meijer Chris JLM, Berkhof J. Primary human papillomavirus DNA screening for cervical cancer prevention: Can the screening interval be safely extended? *Int J Cancer* 2015; 137(2):420-27
2. Partridge EE, Abu-Rustum NR, Campos SM, Fahey PJ, Farmer M, Garcia RL et al. Cervical cancer screening. National Comprehensive Cancer Networks. *J Natl Compr Canc Netw* 2010; 8(12):1358-86.
3. Siebers AG, Klinkhamer PJ, Vedder JE, Arbyn M, Bulten J. Causes and relevance of unsatisfactory and satisfactory but limited smears of liquid-based compared with conventional cervical cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136(1):76-83
4. Kukimoto I, Muramatsu M: Genetic Variations of Human Papillomavirus Type 16. Implications for cervical carcinogenesis *Jpn J Infect Dis* 2015; 68(3): 169-175
5. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albergó G, Serrano B, Mena M, Gomez D, et al. Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. ICO/IARC HPV Information Centre .2019 p:1-306 www.hpvcentre.net.
6. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R, Torre LA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.
7. Plummer M, Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012 ; a synthetic analysis. *Lancet Oncol* 2016; 4 (9): 609-16.
8. Gültekin M, Karaca M, Küçükıldız I, Dündar S, Boztaş G, Turan HS, et al. Initial results of population based cervical cancer screening program using HPV testing in one million Turkish women. *Int J.Cancer* 2018; 142(9):1952-58
9. Kreimer AR, Struyf F, Hildesheim A, David M, Wheeler MC. Fewer than three doses of HPV vaccine. Author's reply. *Lancet Oncol* 2015; 16(9):775-786.
10. Simonella L, Canfell K. The impact of a two- versus three-yearly cervical screening interval recommendation on cervical cancer incidence and mortality: an analysis of trends in Australia, New Zealand and England. *Cancer Causes & Control* 2013; 24(9) : 1727-1736
11. Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer statistics, 2017 *Cancer J Clin.* 2017; 67(1).
12. Musa J, Achenbach Chad J, O'Dwyer LC, Evans TC, McHugh M, Hou L et al. Effect of cervical cancer education and provider recommendation for screening on screening rates: A systematic review and meta-analysis. *PloS One.*2017;12(9):e0183924.
13. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. Forum Group Members, Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting result of cervical cytology. *JAMA.* .2002; 287(16): 2114-19
14. Nayar R, Wilbur D.C. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: A Historical Perspective. *Acta Cytologica* 2017;61:359-372
15. Kanthiya K, Khunnarong J, Tangsitgamol S, Puripat N, Tanvanich S. Expression of the p16 and Ki-67 in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions and Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2016 July 28;17(7):3201-06
16. George F. Sawaya, Cervical Cancer Screening—Moving From the Value of Evidence to the Evidence of Value *JAMA Intern Med.* 178(10): 1293-1295.
17. Practice Bulletin NO.157: Cervical Cancer Screening and Prevention. *Obst&Gynecol.*2016 Jan .127(1):e1-e20.
18. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, et al.; ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guideline Committee. 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(3):147-172.
19. Beyazit F, Silan F, Gencer M, Aydın B, Paksoy B, Unsal MA, et al. The prevalence of human papillomavirus genotypes detected by PCR in women with normal and abnormal cervico-vaginal cytology. *Ginekologia Polska* 2018; 89(2):62-7
20. Özdemir BN, Keser H, Ege GA, Şimşek E, Özdemir H. Prevalence of High-Risk Human Papillomavirus and Identification of Type Using Real-Time Polymerase Chain Reaction Analysis AND Liquid -Based Cytology. *South Clin Ist Euras* 2017;28(3):175-80

21. Meinikow J, Henderson JT, Burda BU, Senger CA, Durbin S, Weyrich MS. Screening for Cervical Cancer With High-Risk Human Papillomavirus Testing: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA* 2018; 320(7):687-705.
22. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. IARC HPV Prevalence Surveys Study Group: Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005; 366(9490):991-8.
23. Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, de Sanjos S, Franceschi S, et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: A meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int. J. Cancer* 2012;131(10):2349–2359
24. Dilley S, Miller KM, Huh WK. Human Papillomavirus vaccination: Ongoing challenges and future directions. *Gynecol Oncol* 2019; pii:S0090-8258(19)31602-6.
25. Cheng Tan S, Ismail MP, Duski DR, Othman NH, Ankathil R. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in Malaysian women with and without cervical cancer: an updated estimate. *Bioscience Reports* 2018; 38 ;1268-78
26. Peng J, Yuan Y, Shen F, Wang Y, Chen L, Liao DJ, et al. Cervical Cancers Manifest a High Rate of Infection by a High-Risk Human Papilloma Virus Subtype but a very Low Rate of Infection by a Low-Risk Subtype in the Guiyang District of China. *J Cancer* 2017;8(7)1263-1270.
27. Bruni L, Diaz M, Casteilsague X, Ferrer E, Bosch FX, Sanjose S. Meta-analysis of 1 Million Women with Normal Cytological findings. *Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents. J Infect Dis.* 2010;202(12):1789-99
28. Cuzick J, Wheeler C. Need for expanded HPV genotyping for cervical screening. *Papillomavirus Research* 2016;2: 112-115
29. Wentzensen N, Schiffman M, Palmer T, Arbyn M. Triage of HPV positive women in cervical cancer screening *J Clin Virol.* 2016; 76(1): S49–S55.