

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine Başvuran Kadınlarda Genital Human Papilomavirus Enfeksiyon Prevalansı

The Prevalence of Human Papilloma Virus Infection Among Women who Admitted to Çukurova University Faculty of Medicine Hospital

Dr. Zafer ALTUN,^a
Dr. Fügen YARKIN,^a
Dr. Mehmet Ali VARDAR,^b
Dr. Aysun Hatice UĞUZ^c

^aMikrobiyoloji AD,
^bKadın Hastalıkları ve Doğum AD,
^cPatoloji AD,
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Adana

Geliş Tarihi/Received: 09.12.2009
Kabul Tarihi/Accepted: 04.08.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Zafer ALTUN
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji AD, Adana,
TÜRKİYE/TURKEY
draltun@mynet.com

ÖZET Amaç: Human papillomavirus (HPV) servikal kanser ile ilişkisi gösterilmiş majör etyolojik ajandır. Servikal kanser tüm dünyada kadınlar arasında en yaygın ikinci kanserdir. Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran kadınlarda human papillomavirus enfeksiyonunun prevalansının araştırılması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Toplam 460 servikal sitoloji örneği 20-68 yaş arası kadınlardan toplanmıştır. HPV DNA tespiti için MY09/11 ve GP5+/6+ primerleri ile yapılan konsensus PCR (polymerase chain reaction) testi kullanılmıştır. HPV DNA pozitif örnekler HPVpU-1M/pU-2R ve HPVpU-31B/pU-2R primerleri ile sırasıyla yüksek riskli (HR; high risk) ve düşük riskli (LR; low risk) tipler olarak tanımlanmıştır. Ayrıca HPV DNA pozitif bulunan örnekler servikal kanserde en yaygın görülen HR HPV tipleri olan HPV 16, 18, 31 ve 45 için tip spesifik PCR ile genotiplendirilmiştir. **Bulgular:** Toplam 460 örnekten 24 (%5.2)'ü HPV DNA için pozitif bulunmuştur. HPV DNA pozitif 24 kadından 14'ünde (%3) tek veya multiple enfeksiyon şeklinde HR HPV tipi ve 10'unda (%2.2) ise tek başına LR HPV pozitifliği tespit edilmiştir. HPV DNA pozitif 30 yaş ve üstü olan 24 kadında %33.3 oranı ile en sık görülen HR HPV tipi HPV tip 16 olup bunu sırasıyla HPV 45 (%20.8), HPV 18 (%4.2) ve HPV 31 (%4.2) izlemiştir. **Sonuç:** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran kadınlarda genital HPV enfeksiyon prevalansı %5.2 bulunmuştur. HPV enfeksiyonunun epidemiyolojik araştırmalarının servikal kanser tarama stratejilerinin geliştirilmesine ve HPV aşlarının uygunluğunun gösterilmesi için gelecekte de sürdürülmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnsan papillomavirusü 16; insan papillomavirusü 18;
polimeraz zincir reaksiyonu; uterin servikal tümörler; prevalans

ABSTRACT Objective: Human papilloma virus (HPV) is the major etiologic agent for cervical cancer. Cervical cancer is the second most prevalent cancer among women in the world. In this study, we aimed to investigate the prevalence of HPV infection among women admitted to Hospital of Çukurova University Faculty of Medicine. **Material and Methods:** A total number of 460 cervical smears were obtained from women aged between 20-68 years. Consensus polymerase chain reaction (PCR) assay using MY09/11 and GP5 + /6 + primers were used to detect HPV DNA. HPV DNA positive samples were further stratified as high risk (HR) and low risk (LR) by using HPVpU-1M/pU-2R and HPVpU-31B/pU-2R primers, respectively. HPV DNA positive samples were also genotyped for HPV 16, 18, 31 and 45, which are the most frequently detected genotypes in cervical cancer, by using type-specific PCR. **Results:** Twenty-four of 460 samples (5.2%) were positive for HPV DNA. Among the 24 HPV DNA positive women, 14 (3%) had single or multiple infection with HR HPV types, 10 (2.2%) had isolated LR HPV positivity. Among 24 women with HPV DNA positivity and aged ≥ 30 years, the most common HPV genotype was HPV 16 (33.3%), followed by HPV 45 (20.8%), HPV 18 and HPV 31 (4.2%), in rank order. **Conclusion:** The prevalence of genital HPV infection among women who admitted to Hospital of Çukurova University Faculty of Medicine was found as 5.2%. Epidemiological studies for HPV infection should be conducted to establish screening strategies for cervical cancer and to demonstrate the feasibility of HPV vaccination.

Key Words: Human papillomavirus 16; human papillomavirus 18; polymerase chain reaction; uterine cervical neoplasms; prevalence

doi:10.5336/medsci.2009-16463

Copyright © 2011 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2011;31(2):307-14

Human papillomavirus (HPV) bütün dünyada servikal kanserin primer etyolojik ajanı olarak kabul edilmektedir. HPV servikal kanser dışında diğer anogenital kanserler; vulvar, vaginal, anal ve penil kanser ve ayrıca genital siğiller ve respiratuvar papillomamatozis lezyonları ile de ilişkilidir. HPV papillomaviridae ailesinin bir üyesi olup DNA dizi analizine göre şimdiye kadar 100'den fazla genotipi tanımlanmıştır ve 40'dan fazla HPV genotipi genital mukozayı enfekte eder. Mukozal HPV genotipleri prekanseröz lezyon ve servikal kanserle ilişkilerine göre yüksek risk (High risk: HR HPV tipleri) ve düşük risk (Low risk: LR HPV tipleri) HPV tipleri olarak sınıflandırılır. Servikal kanserden en az 15 HPV genotipi sorumlu olup en çok izole edilen HPV tipi %53.5 oranla HPV tip 16'dır, bunu ikinci sırada %17'lik oranla HPV tip 18 izler. HPV tip 16 ve 18 bütün servikal kanserlerin %70'inden sorumludur. Diğer HPV tiplerinden ise HPV tip 45 üçüncü sırada, HPV tip 31 dördüncü sırada yer alır ve bu dört HPV tipi bütün servikal kanserlerin %80'inde tespit edilir. Düşük risk HPV tiplerinden HPV 6 ve 11 ise genital siğillerin %90'ından fazlasında etkenidir.^{1,2}

Servikal kanser, bütün dünyada, kadınlarda göğüs kanserinden sonra görülen ikinci en yaygın kanserdir. HPV enfeksiyonu cinsel yolla bulaşan en yaygın viral enfeksiyonlardan biri olup kadınların %50'den fazlası yaşamları boyunca HPV enfeksiyonu ile karşılaşır. Dünyada her yıl 470000'den fazla yeni servikal kanser vakası tanınmakta ve servikal kansere bağlı yaklaşık 270000 ölüm bildirilmektedir. Servikal kanser vakalarının çoğu, yaklaşık %80'i servikal kanser tarama programlarının etkili bir şekilde yapılmadığı veya uygulanmadığı gelişmekte olan ülkelerde görülür. Servikal kanser, prekanseröz lezyonların tespiti ve tedavisi ile büyük oranda (> %90) önlenilebilir bir hastalıktır. Erken tanı etkilidir, çünkü prekanseröz lezyonlar invaziv kansere çok yavaş, genellikle 10-15 yıl kadar uzun bir sürede ilerler.³

Servikal prekanseröz lezyonlar sitolojik tarama testi olan Papanicolaou (Pap) testi kullanılarak servikal hücrelerin analizi ile tespit edilebilir. Gelişmiş ülkelerde Pap testinin yaklaşık 50 yıldır kul-

lanılması ile servikal prekanseröz lezyonların erken tanısı ve tedavisi sonucu servikal kanser insidansının %70 oranında azalmasına karşılık, bu sonuç beklenenin altındadır. Servikal kanserin tam olarak eradike edilememesinin en önemli sebebi yüksek grade skuamöz intraepitelyal lezyonların (HSIL: high-grade squamous intraepithelial lesions) tanısı için Pap testinin sensitivitesinin oldukça düşük, %50-70 arasında olmasıdır. Oysa HSIL'i tespit etmede HPV-DNA testinin sensitivitesi %84-100 arasındadır. HPV-DNA testinin spesifitesi ise %64-95 olup Pap testinin spesifitesi %86-100 oranına benzer veya biraz düşüktür. Servikal kanser ve prekürsör lezyonların %99.7'sinde HPV DNA tespit edilmiştir. HPV enfeksiyonu ve servikal kanser arasındaki kuvvetli etyolojik ilişki HPV testinin servikal kanser taramasında 30 yaş ve üstü kadınlarda servikal kanser ve prekürsörlerinin tespiti için sitolojiye ilaveten yardımcı bir tarama testi olarak veya Pap testine alternatif tek başına bir tarama testi olarak değerlendirilmesine yol açmıştır.^{3,4}

Servikal kanser taramasında, 30 yaş ve üstü kadınlarda sitolojik test ile HPV-DNA testinin birlikte kullanımına son yıllarda artan bir ilgi vardır. Bu strateji servikal kanser için risk altındaki popülasyonların erken tanınmasını sağlamaktadır, üstelik normal Pap smear ve negatif HPV-DNA testinin negatif prediktif değeri %99-100 dür.⁵

Bu çalışmanın amacı Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran kadınlarda genital HPV enfeksiyon prevalansını tespit etmektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) etik kurulu tarafından onay almıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalar bilgi formu ile bilgilendirilmiş ve hastalardan olur alınmıştır. ÇÜTF Balcalı Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine 2006 Mart ve 2008 Mart tarihleri arasında başvuran 472 hastadan Pap testi için servikal hücre sürüntüsü alındıktan sonra aynı fırça, içinde fosfat tamponlu tuzlu su (Phosphate buffered saline; PBS) bulunan steril kaplar içerisine konuldu ve servikal sürüntü örnekleri tüplere aktararak santrifüj edildi. Hücreler Eppendorf tüplerine alınarak 200µl TE (Tris EDTA) buffer eklendi ve çalışılana

kadar -70°C'de saklandı. Örneklerden DNA ekstraksiyonu için High Pure Viral Nucleic Acid (Roc-he Kat. No: 11 858 874 001) kiti kullanıldı.

Bütün örnekler HPV DNA analizinden önce ekstrakte edilen DNA'nın yeterliliğini kontrol etmek amacıyla PC04 ve GH20 primerleri (PC04: 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC -3', GH20: 5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC -3') ile hücrel beta-globin varlığı yönünden araştırıldı ve 268 bp'lik (base pair; baz çifti) beta-globin geni pozitif bulunan örnekler HPV-DNA yönünden test edildi.^{6,7} Örnekler önce HPV genomunun L1 geninde bulunan 450 baz çifti uzunluğundaki bölgeye yönelik konsensus HPV primerleri olan MY09 ve MY11 primerleri (MY09: 5'-CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC- 3', MY11: 5'-GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG-3') kullanılarak amplifiye edildi.^{8,9} HPV DNA negatif bulunan örnekler, GP5+/6+ primerleri (GP5+: 5'-TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC-3', GP6+: 5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C -3') ile HPV DNA'nın 450 bp'lik bölgesinden 150 bp uzunluğundaki bölge tekrar amplifiye edildi.⁸ Amplifikasyon ürünlerinin görüntülenmesinde etidyum bromidli %2'lik agaroz jel kullanıldı.

HPV DNA pozitif bulunan örnekler tip tayini için ilk önce E6 ve E7 bölgesi için konsensus primerleri ile düşük riskli tipler (HPV 6 ve 11) için pU-31B ve pU-2R (HPVpU-31B: 5'-TGC TAA TTC GGT GCT ACC TG -3' ve HPVpU-2R: 5'-GAG CTG TCG CTT AAT TGC TC -3') ve yüksek riskli tipler (HPV 16, 18, 31, 33, 52 ve 58) için ise pU-1M ve pU-2R primerleri (HPVpU-1M: 5'-TGT CAA AAA CCG TTG TGT CC -3', HPVpU-2R: 5'-GAG CTG TCG CTT AAT TGC TC -3') kullanılarak amplifiye edildi.^{10,11} HPVpU-1M ve pU-2R primerleri ile yaklaşık 230-270 bp ve HPV pU-31B ve pU-2R primer çifti ile yaklaşık 230 bp uzunluğunda PCR ürünleri tespit edildi.

Yüksek riskli tipler için pU-1M ve pU-2R primerleri kullanılarak pozitif bulunan örnekler daha sonra HPV 16, 18, 31, 45 tip spesifik primerleri (HPV-16F: 5'-TGT CAA AAG CCA CTG TGT CC -3', HPV-16R: 5'-GAG CTG TCA TTT AAT TGC TC -3', HPV-18F: 5'-TGC CAG AAA CCG TTG

AAT CC -3', HPV-18R: 5'-TCT GAG TCG CTT AAT TGC TC -3', HPV 31F: 5'-GAA ATT GCA TGA ACT AAG CTC G -3', HPV 31R: 5'-CAC ATA TAC CTT TGT TTG TCA A -3', HPV 45F: 5'-GAC CTG TTG TGT TAC GAG CAA TTA -3', HPV 45R: 5'-TGC ACA CCA CGG ACA CAC AA-A G -3') kullanılarak amplifiye edildi. HPV 16 için 237 bp, HPV 18 için 267 bp, HPV 31 için 263 bp ve HPV 45 için 236 bp uzunluğunda PCR ürünleri tespit edildi.¹²⁻¹⁴

İstatistiksel analiz olarak ki-kare ve Fisher'in kesin testi kullanılmıştır. Analizler Epi Info 6.0 programı ile yapılmıştır. Karşılaştırmalarda p<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya katılan toplam 472 kadından servikal sitoloji örneği alındı ve hücrel beta globin varlığı yönünden pozitif bulunan 460 örnek çalışmaya dahil edildi. Toplam 460 örnekten 24'ü HPV DNA yönünden pozitif bulundu. HPV pozitif 24 örnekten 18'i MY09/MY11 primerleri ile pozitif bulunurken, altısı GP5+/6+ nested PCR ile pozitif bulundu.

Değerlendirilmeye alınan hastaların 37 (%8)'si 20-29 yaş arası, 91 (%19.8)'i 30-39 yaş arası, 162 (%35.2)'si 40-49 yaş arası, 116 (%25.2)'si 50-59 yaş arası ve 54 (%11.8)'ü 60 yaş ve üzeri yaş grubunda yer almakta idi.

Çalışmaya katılan popülasyonun yaşları 20-68 yaş, HPV pozitif bulunan kadınların yaşları ise 32-52 yaş arasında idi. HPV DNA pozitif bulunan kadınların hepsi 30 yaşın üstünde idi. En yüksek HPV DNA pozitifliği %9.9 oranla 30-39 yaşları arasındaydı. HPV pozitifliğinin 40-49 yaş arasında %4.3'e düştüğü, ancak 50-59 yaş arasında tekrar %6.8 ile ikinci bir pik yaptığı tespit edildi. Çalışmaya dahil edilen kadınların demografik özellikleri, oral kontraseptif (OKS) kullanımı, HPV DNA pozitiflik oranları ve ilgili serilerdeki anlamlılık düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Toplam 460 önekten 436'sı (%94.8) HPV DNA negatif bulunurken, 24'ü (%5.2) HPV DNA pozitif bulundu. Pozitif bulunan 19 (%4.1) örnekte enfeksiyona sebep olan tek bir HPV tipi, beş (%1.1) ör-

TABLO 1: Çalışmaya dahil edilen kadınların demografik özellikleri.

Özellikler	Çalışma Grubu		HPV DNA Pozitifliği		
	n	%	n	%	
Yaş					p=0.221
≤ 29	37	8.0	-	-	
30-39	91	19.8	9	9.9	
40-49	162	35.2	7	4.3	
50-59	116	25.2	8	6.8	
≥ 60	54	11.8	-	-	
Medeni Hal					p=0.016
Evli	440	95.6	20	4.5	
Boşanmış	20	4.4	4	20	
Eğitim Durumu					p=0.224
Yok	131	28.4	6	4.6	
İlköğretim	164	35.6	7	4.3	
Lise	98	21.3	4	4.1	
Üniversite	67	14.7	7	10.5	
Sigara					p=0.043
Evet	112	24.4	10	8.9	
Hayır	348	75.6	14	4	
OKS* Kullanımı					p=0.644
Evet	27	5.9	2	7.4	
Hayır	433	94.1	22	5	
Toplam	460	100	24	-	

*OKS: Oral kontraseptif.

nekte ise multiple tipler saptandı. HPV DNA pozitif bulunan 24 örneğin 14'ünde (%3) tek veya multiple enfeksiyon şeklinde yüksek riskli HPV tipi ve 10'unda (%2.2) düşük riskli HPV tipi bulundu.

Kadınlardan alınan servikal hücrelerin yapılan patolojik incelemesinde, 457 (%99.4) kadında normal servikal sitoloji, iki (%0.4) kadında ASCUS (Atypical squamous cells of undetermined significance), 1 (%0.2) kadında LSIL (Low grade squamous intraepithelial lesion) tespit edildi. Servikal sitoloji normal ve HPV DNA pozitif bulunan 23 örnekten 13 örnekte HR HPV DNA ve 10 örnekte LR HPV DNA tespit edildi.

HPV DNA pozitif bulunan 24 örnekte tek ve/veya multiple enfeksiyon sebebi olarak sekiz (%33.3) HPV 16, bir HPV 18 (%4.2), bir HPV 31 (%4.2), beş HPV 45 (%20.8) ve bir belirlenemeyen HPV X (%4.2) tanımlandı. HR HPV pozitif bulunan toplam 16 örneğin ise sekizi (%50) HPV 16, biri (%6.3) HPV 18, biri (%6.3) HPV 31, beşi

TABLO 2: HPV tiplerinin sıklığı.

Özellik	HPV16	HPV18	HPV31	HPV45	HPV X*
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
HPV (+) (n=24)	8 (33.3)	1 (4.2)	1 (4.2)	5 (20.8)	1 (4.2)
HR-HPV (+) (n=16)	8 (50.0)	1 (6.3)	1 (6.3)	5 (31.3)	1 (6.3)

*HPV X: Tiplendirilemeyen.

(%31.3) HPV 45 ve biri (%6.3) ise belirlenemeyen (X) tip olarak bulundu (Tablo 2).

Pozitif bulunan HR HPV tipleri yaş aralıklarına göre dağıtıldığında 30-39 yaş arası pozitif bulunan yedi HR HPV tipinin üçü (%42.9) HPV 16, biri (%14.3) HPV 18, ikisi (%28.6) HPV 45 idi ve pozitif bulunan bir (%14.3) örnek tiplendirilemedi. HR HPV pozitif olan üç örnek 40-49 yaş arasında idi,

bunların ikisi (%66.7) HPV 16 ve birii (%33.3) HPV 45 olarak tiplendirildi. HR HPV pozitif olan altı örnek 50-59 yaş arasında bulundu ve bunların 3'ü (%50) HPV 16, birii (%16.7) HPV 31, ikisi (%33.3) HPV 45 olarak tiplendirildi.

Çalışmadaki kadınların bazı demografik özellikleri ile HPV DNA pozitiflik oranlarının ilişkisine bakıldığında, HPV enfeksiyon prevalansı evli kadınlara (%4.5) göre boşanmış kadınlarda (%20) daha fazla (Fisher'in kesin testi $p=0.016$), ve sigara içmeyenlere göre (%4) sigara içenlerde (%8.9) daha fazla ($p=0.043$) bulundu. Farklar istatistiksel olarak anlamlı idi. Yaş grupları arasında, eğitim düzeyleri arasında ve OKS kullanan ve kullanmayanlar arasında HPV DNA prevalansları açısından anlamlı fark bulunamadı. ($p>0.05$).

TARTIŞMA

HPV servikal kanserin primer sebebidir ve HPV enfeksiyonu cinsel yolla bulaşan en yaygın enfeksiyonlardan biridir. Kadınların yaşamları boyunca HPV enfeksiyonuna yakalanma riski %50'den fazladır. Genç kadınlarda görülen HPV enfeksiyonlarının çoğu, %80'den fazlası geçicidir, genellikle klinik belirtiler görülmeden %70-90'ı 1-2 yılda iyileşir. HPV enfeksiyonlarının %10'undan azında ise persisten HPV enfeksiyonu gelişir. Yüksek risk (HR) HPV DNA'nın 12 aydan daha uzun süre tespit edilmesi persisten enfeksiyonun göstergesidir ve persisten HR HPV enfeksiyonu prekanseröz lezyon ve servikal kanser gelişmesi için majör risk faktörüdür. Ancak displaziye ilerleyen enfeksiyonların bile çoğu iyileşir. Düşük grade lezyon CIN1'in (cervical intraepitelial neoplasia) %50-60'ı, yüksek grade lezyon CIN2'nin %30-40'ı geriler. Bu durum HPV enfeksiyonlarının kontrolünde immün cevabın oldukça etkin olduğunu gösterir. HPV enfeksiyonu olan kişilerin sadece %1'inden azında servikal kanser gelişir.²

Genel popülasyondaki kadınlarda HPV prevalans oranları farklı coğrafik bölgelerde büyük farklılıklar göstermektedir. Dünyada kadınlarda HPV enfeksiyon prevalansının %2-44 arasında değiştiği bildirilmektedir. HPV prevalanslarındaki bu farklılıklar çalışılan popülasyonlar ve kullanılan çeşitli HPV DNA testlerinin moleküler sensitivitesindeki

farklılıklar ile açıklanabilir. En yüksek prevalans oranları en sensitif test olan PCR testinin kullanımından gelir. Epidemiyolojik çalışmalar HPV enfeksiyon prevalansının 18-25 arası genç kadınlarda en yüksek olduğunu göstermiştir.¹⁵ Yeni yapılan bir meta analizde 78 çalışmanın verileri kullanılarak normal sitolojisi olan kadınlar arasında global HPV prevalansı %10.4 bulunmuştur ve bölgeye göre önemli varyasyon göstermiştir. En yüksek prevalans Afrika'da %22.1 iken Orta Amerika ve Meksika'da %20.4, Kuzey Amerika'da %11.3, Avrupa'da %8.1 ve Asya'da %8'dir. Afrika, Amerika ve Avrupa'da 45 yaş sonrası veya daha ileri yaşlarda belirgin şekilde ikinci pik gözlenmiştir.¹⁶ Sitolojik olarak normal kadınlarda tip spesifik prevalans verileri olan 48 çalışmaya göre en yaygın beş HPV tipi HPV 16 (%2.5), HPV 18 (%0.9), HPV 31 (%0.7), HPV 58 (%0.6) ve HPV 52 (%0.6)'dir.¹⁶

Avrupa ülkelerinde 18 çalışmanın meta analizinin yapıldığı bir çalışmada 30-64 yaş arası kadınlarda HR HPV prevalansı İspanya'da %2'den Belçika ve Fransa'da yaklaşık %12'ye kadar değişmektedir. Bütün HR HPV pozitifler arasında HPV 16'nın ortalama oranı yaklaşık %30 iken HPV 18 %12 oranında bildirilmiştir.¹⁷

Ülkemizde yapılan çalışmalarda, Rota ve ark.¹⁸ Ankara'da 2004 yılında çeşitli şikayetlerle rutin jinekoloji polikliniğine başvuran 313 kadında MY09/11 primerlerini kullanarak PCR testi ile yaptıkları çalışmada HPV prevalansını %11 (34/313) bulmuştur. HPV pozitif bulunan örneklerin HPV 16 ve 18 tip spesifik primerleri kullanılarak yapılan PCR testinde 13 (%4)'ü HPV 16, dokuzu (%3) HPV 18 ve 12 (%3.5)'si HPV 16 ve 18 dışındaki tipler olarak tespit edilmiştir.¹⁸ İnal ve ark.¹⁹ İzmir'de 2002-2005 yıllarında, servikal intraepitelyal lezyon ile HPV ilişkisinin araştırıldığı 1353 kadında HC II testi kullanılarak yaptıkları çalışmada, HPV DNA pozitifliğini % 2.14 (29/1353) oranında saptamıştır. Pozitif bulunan 19 örneğin %24.1'inde (7/29) HPV 6, %27.5 (8/29)'inde HPV 11, %27.5 (8/29)'inde HPV 16, %10.3'ünde (3/29) HPV 18 ve %10.3'ünde (3/29) HPV 31 tespit etmiştir.¹⁹ Öztürk ve ark.²⁰ Denizli'de 2004 yılında jinekoloji polikliniğine başvuran 18-62 yaş arası 206 kadında HC II testi ile yaptıkları çalışmada HPV DNA prevalansını %4.9,

normal servikal sitolojisi olanlarda %2.1 bulmuştur. HPV prevalansı en yaygın %7.3 ile 30-39 arası yaş grubunda, daha sonra %6.3 ile 15-19 yaş grubunda tespit edilmiştir. Epitelial hücre anomalisi olan kadınlarda HPV DNA pozitifliği %42.9 bulunmuştur.²⁰ Dursun ve ark.²¹ Ankara'da 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada normal ve anormal sitolojili toplam 403 kadında HPV tiplerinin dağılımını tespit etmek için real-time PCR analizini kullanmıştır. HPV genotiplemesi DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham Biosciences Corp., NJ, USA) ile yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 403 kadından 93'ü (%23) anormal, 310'u (%77) normal sitolojiye sahiptir. Genel olarak kadınların %23'ü HPV pozitif bulunmuştur. HPV DNA, normal servikal sitolojili 310 kadının % 20'sinde tespit edilmiştir. Sitolojik olarak normal kadınlarda en yaygın görülen HPV tipleri; HPV16 (%36), HPV6 (%22) ve HPV18 (%13)'dir. Diğer HPV tiplerinin oranı ise HPV11 için %4.4, HPV45 %4.4, HPV90 %4.4, HPV35 %2.2, HPV67 %2.2 ve HPV81 için ise %2.2 olup, multiple HPV enfeksiyonu %8.9 oranındadır.²¹

Çalışmamızdaki kadınlarda HPV DNA prevalansı %5.2 (24/460) olup, ülkemizde yapılan çalışmalarda HPV DNA prevalansı Denizli'de %4.9'luk oranla bizim bulgumuza benzer iken,²⁰ İzmir'de %2.14'lük oranla bizim bulgumuzdan düşük,¹⁹ buna karşılık Ankara'da yapılan iki çalışmada Rota ve ark.nın¹⁸ bulgusu %11 ile Dursun ve ark.nın²¹ bulgusu %20 oranları bizim bulgumuzdan yüksektir. Yine çalışmamızda tek ve/veya multiple enfeksiyon şeklinde HR HPV enfeksiyon prevalansı ise %3 (14/460) olup Dursun ve ark.nın²¹ multiple HPV enfeksiyon bulgusu olan %8.9'dan düşüktür. Birçok ülkede yapılan çalışmalarda genel popülasyondaki kadınlarda HPV prevalansı İngiltere'de %20, Amerika'da %26.8 ve Nijerya'da %26.3 olup bizim çalışma popülasyonunda bulduğumuz %5.2'lik orandan oldukça yüksek.²²⁻²⁴ Çin'den bildirilen %9.6'lık ve Kore'den bildirilen %8.5'lik oranlar ise bizim bulgumuzdan biraz yüksektir.^{25,26} Meksika'daki bir çalışmada tespit edilen %4.8'lik HPV prevalansı bizim bulgumuza benzer olup,²⁷ İspanya'da %3 bulunan HPV prevalansı oranın daha düşüktür.²⁸ Çalışmamızda kadınlarda HR HPV prevalansı %3 olup İngiltere'deki %15.7, Amerika'da-

ki %15.2, ve Nijerya'daki %19.7'lik oranlar bizim bulgumuzdan oldukça yüksek iken,²²⁻²⁴ Çin'de %7.4 oranı biraz yüksek ve Kore'de %4.8'lik oran ise bizim bulgumuza benzerdir.^{25,26}

Çalışmamızda HR HPV pozitif bulunan örnekler arasında HPV 16 %50 (8/16), HPV 18 %6.3 (1/16) ve iki tip toplam %56.3 (9/16) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar aşı tipleri olan HPV 16 ve 18'e yönelik aşılamanın popülasyonumuzda etkili olabileceğini göstermektedir. HR HPV pozitif 16 HPV tipinin %50'si HPV 16, %31.3'ü HPV 45 ve her biri %6.3 oranlarında HPV 18, 31 ve bilinmeyen HPV tipidir. Ayrıca HPV pozitif bulunan 24 kadının beşinde (%20.8) multiple enfeksiyon bulunmuştur. Birçok ülkede multiple HPV enfeksiyonu oranı ise %8.3 ile %43 arasında değişmektedir. HPV pozitif bulunan toplam 24 kadında HR HPV tiplerinin dağılımına bakıldığında ise en yaygın HR HPV tipi %33.3 oranla HPV 16 olup bunu sırasıyla %20.8 oranında HPV 45, %4.2 oranında HPV 18 ve 31 izlemiştir. HPV 16 prevalansı İngiltere'de %31.5 ve Çin'de %31.6 olup bizim %33.3'lük bulgumuza benzer,^{22,25} İtalya'daki çalışmada bildirilen %14.1 ve İspanya'da çalışma popülasyonundaki %20.7'lik oranlar ise düşüktür.^{28,29} Yine çalışmamızda %4.2 bulunan HPV 18 oranı İtalya'dan bildirilen %3.5'lik orana benzerdir.²⁹ Spesifik HR HPV tiplerinin prevalansı da ülkeler arasında farklılık göstermektedir. İspanya'da en yaygın HPV tipi HPV 16 olup bunu HPV 31 izlemektedir.²⁸ Oysa İngiltere'de en yaygın tipler sırasıyla HPV 16 ve HPV 18²² iken, Amerika'da HPV 62 (%3.3), HPV 84 (%3.3) ve HPV 53 (%2.8) bulunmuştur.²³ Ülkemizde kadınlarda tip spesifik HPV prevalansı ile ilgili çalışmalarda en baskın HPV tipleri Ankara'dan Rota ve ark.nın¹⁸ çalışmasında HPV 16 (%4) ve HPV 18 (%3),¹⁸ İzmir'den İnal ve ark.nın¹⁹ çalışmasında sırasıyla HPV 16 (%27.5), HPV 11 (%27.5), HPV 6 (%24.1), HPV 18 (%10.3) ve HPV 31 (%10.3) tipleridir. Yine Ankara'dan Dursun ve ark.²¹ sitolojik olarak normal kadınlarda HPV16 (%36), HPV6 (%22) ve HPV18 (%13) tiplerini en yaygın HPV tipleri olarak bildirmiştir. Çalışmamızda ise ülkemizdeki çalışmalara benzer şekilde HPV 16 (%33.3) en baskın tip iken, farklı olarak ikinci sırada HPV 45 (%20.8) izlemiştir.

Çalışma popülasyonumuzda 460 kadının 457'sinde (%99.3) normal sitoloji, ikisi ASCUS biri LSIL olmak üzere üçünde (%0.7) anormal sitoloji tespit edilmiştir. LSIL pozitif olan örnekte aynı zamanda HPV 18 ve 45 tipleri ile birden fazla enfeksiyon bulunmuştur. Sitolojisi normal olan 457 kadından 444'ü (%97.2) HR HPV negatiftir. Bu popülasyonda; 30 yaş üstü servikal sitolojisi normal HR HPV negatif kadınlarda HPV DNA testinin negatif prediktif değeri %100'e yakın olup servikal kanser tarama aralıklarının bir yıl yerine 3-5 yıla kadar uzatılması öngörülmektedir. Böylece çalışma popülasyonumuzun %97.2'si en az üç yıl sonra izlenebilir. Bu tip strateji ile sitolojik test sayısı azalacağından maliyet etkin olduğu da bildirilmiştir. Çalışma grubunda sitoloji normal olup tek veya multiple HR HPV enfeksiyonu olan hepsi 30 yaş üstündeki 13 kadında ise 12 ay sonra HPV testi ve sitolojik test tekrarlanmalıdır. Tekrarlanan her iki test sonucu negatif ise üç yıl aralarla rutin taramaya dönülür. Sitoloji negatif HPV pozitif ise kolposkopi yapılır. Sitoloji anormal HPV test sonucu ne olursa olsun hasta ASSCP (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology) önerilerine göre izlenir.³⁰ Sitolojik olarak normal kadınlarda HPV bulunma olasılığı yaşla çok güçlü ilişkilidir. Yaş ilerledikçe HPV prevalansı azalmaktadır. HPV enfeksiyonu birçok coğrafi bölgede yapılan çalışmaların çoğunda en yüksek 20-24 yaş grubunda görülmektedir.³⁰ Çalışmamızda yaş grupları arasında, HPV DNA prevalansları açısından anlamlı fark bulunamadı. ($p > 0.05$). Ayrıca 30 yaşın altındaki kadınların hiç birinde HPV DNA tespit edilmedi. Bunun sebebi muhtemelen çalışma grubundaki 30 yaş altı kadınların sayısının düşük, 37 olması ve genç yaş grubundaki HPV enfeksiyonlarının çoğunun geçici olmasından dolayı test sırasında HPV DNA'nın tespit edilememesi olabilir. Yaşla HPV görülme sıklığı ilişkisinin anlaşılmasında her yaş grubundan daha fazla hasta ile yapılacak çalışmalara gereksinim vardır.

Etki mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen yapılan çalışmaların çoğunda, sigara kullanımı ile serviks kanseri gelişimi arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada in situ servikal kanser gelişiminde sigara ve HPV 16 arasındaki potansiyel ilişkiyi incelemişler ve sigara ile

hem HPV 16 pozitifliği hem de HPV 16 viral yükü arasında sinerjik bir etki olduğunu göstermişlerdir.³¹ Sigara ve onkojenik HPV enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için yapılan bir başka çalışmada ise sigara içenlerde HPV enfeksiyonunun önemli şekilde daha uzun sürdüğü ve sigara içmeyen kadınlarla kıyaslandığında onkojenik HPV enfeksiyonunun temizlenme ihtimalinin daha düşük olduğu tespit edildi.³² Yapılan başka bir çalışmada HPV DNA prevalansının sigara kullanımı ile arttığı fakat OKS kullanımı ile azaldığı bildirildi.³³ Çalışmamızda OKS kullananlarda HPV enfeksiyonu daha fazla görüldü. Ancak OKS kullanan ve kullanmayanlar arasında HPV DNA prevalansları açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0.05$). Birçok çalışmada bildirildiği gibi bizim çalışmamızda da HPV enfeksiyonu sigara içmeyenlere göre sigara içenlerde daha fazla bulundu. Fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p = 0.043$). Bu çalışmalar ışığında HPV enfeksiyonun seyri ile sigara kullanımı arasında bir ilişki olduğu görüşündeyiz.

Çeşitli ülkelerde ve ülkemizin birçok bölgesinde HPV DNA pozitiflik oranları farklılıklar göstermektedir. Avrupa'daki birçok ülkede %18.3 ile %23 oranlarda bildirilen HPV DNA pozitifliği ile kıyaslandığında çalışmamızda %5.2'lik daha düşük prevalans saptanmıştır. Bu bulgular Avrupa'daki 9/100.000 ile 14.5/100.000 arasında olan ve ülkemizdeki 4.5/100.000 olan servikal kanser oranlarıyla da uyumludur.³⁴ Çalışmamızda bulunan düşük HPV prevalansı sosyokültürel özellikler ve kadınlarda tek eşliliğin yaygın olmasından kaynaklanabilir.

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran kadınlarda HPV prevalansı (%5.2), HR HPV prevalansı (%3) ve HR HPV tiplerinin prevalansı ile ilgili bulgular servikal kanser taraması için yeni algoritmalar geliştirilmesi ve baskın olan HPV genotipinin mevcut HPV aşılılarıyla uyumlu olduğunu göstermesi yönünden önemli bilgiler sağlamaktadır.

Ülkemizde genital human papillomavirus enfeksiyonunun prevalansı ve epidemiyolojik özellikleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bu proje Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hasta-

nesine başvuran kadınlarda human papillomavirus prevalansının belirlendiği ilk kapsamlı çalışma olup kadınlarda genital human papillomavirus enfeksiyonunun epidemiyolojisi açısından veri sağlayacak ve gelecekte servikal kanser tarama programlarının da HPV DNA testinin kullanılmasının belirlenme-

sine ve HPV aşılarının uygunluğunun gösterilmesine katkıda bulunacaktır.

Teşekkür

Bu çalışmayı Araştırma Fonu TF.2007D6 numaralı proje olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkür ediyoruz.

KAYNAKLAR

1. Yarkin F, Chauvin S, Konomi N, Wang W, Mo R, Bauchman G, et al. Detection of HPV DNA in cervical specimens collected in cytologic solution by ligation-dependent PCR. *Acta Cytol* 2003;47(3): 450-6.
2. Yarkin F, Vardar MA. [Immunology of HPV and natural infection]. *Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst-Special Topics* 2009;2(1):43-7.
3. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)* 2006;110(5):525-41.
4. Petry KU, Menton S, Menton M, van Loenen-Frosch F, de Carvalho Gomes H, Holz B, et al. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. *Br J Cancer* 2003;88(10):1570-7.
5. Wright TC Jr, Schiffman M. Adding a test for human papillomavirus DNA to cervical-cancer screening. *N Engl J Med* 2003;348(6):489-90.
6. Medeiros R, Soares R, Vasconcelos A, Schmitt F, Lopes C. Glutathione S-transferase genotype GSTM1 as a predictor of elevated angiogenic phenotype in patients with early onset breast cancer. *Angiogenesis* 2004;7(1):53-8.
7. Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Déry M, et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* 1999;180(5):1415-23.
8. Siriaunkgul S, Suwiwat S, Settakorn J, Khunamornpong S, Tungsinmunkong K, Boonthum A, et al. HPV genotyping in cervical cancer in Northern Thailand: adapting the linear array HPV assay for use on paraffin-embedded tissue. *Gynecol Oncol* 2008;108(3):555-60.
9. Coutlée F, Voyer H. Effect of nonionic detergents on amplification of human papillomavirus DNA with consensus primers MY09 and MY11. *J Clin Microbiol* 1998;36(4):1164.
10. Chang KC, Su IJ, Tsai ST, Shieh DB, Jin YT. Pathological features of betel quid-related oral epithelial lesions in taiwan with special emphasis on the tumor progression and human papillomavirus association. *Oncology* 2002;63(4):362-9.
11. Neves D, Camara GNL, Alencar TR, Da Cruz MR, Martins CRF, Carvalho LGS. Prevalence of human papillomavirus in penile carcinoma. *Braz J Urol* 2002;28(3):221-6.
12. Hwang T. Detection and typing of human papillomavirus DNA by PCR using consensus primers in various cervical lesions of Korean women. *J Korean Med Sci* 1999;14(6):593-9.
13. Sotlar K, Diemer D, Dethlefs A, Hack Y, Stubner A, Vollmer N, et al. Detection and typing of human papillomavirus by e6 nested multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2004;42(7):3176-84.
14. Gheit T, Landi S, Gemignani F, Snijders PJ, Vaccarella S, Franceschi S, et al. Development of a sensitive and specific assay combining multiplex PCR and DNA microarray primer extension to detect high-risk mucosal human papillomavirus types. *J Clin Microbiol* 2006;44(6):2025-31.
15. Yarkin F. [Virology and epidemiology of human papillomavirus infections]. *Klinik Aktuel Tıp* 2007;12(8):1-6.
16. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;7(7):453-9.
17. De Vuyst H, Clifford G, Li N, Franceschi S. HPV infection in Europe. *Eur J Cancer* 2009;45(15): 2632-9.
18. Rota S, Biri A, Bozdayi G, Dinç B, Güner H. [Screening and genotyping of human papillomavirus by PCR from cervical biopsies and smears in different patient groups]. *Journal of the Turkish Microbiological Society* 2004;34(3):185-9.
19. Inal MM, Köse S, Yıldırım Y, Ozdemir Y, Töz E, Ertopçu K, et al. The relationship between human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in Turkish women. *Int J Gynecol Cancer* 2007;17(6):1266-70.
20. Öztürk S, Kaleli I, Kaleli B, Bir F. [Investigation of human papillomavirus DNA in cervical specimens by hybrid capture assay]. *Mikrobiyol Bul* 2004; 38(3):223-32.
21. 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.
22. Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW, Seagar AL, Arends MJ, Moore C, et al. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J Clin Pathol* 2004;57(1):68-72.
23. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007;297(8):813-9.
24. Thomas JO, Herrero R, Omigbodun AA, Ojemakinde K, Ajayi IO, Fawole A, et al. Prevalence of papillomavirus infection in women in Ibadan, Nigeria: a population-based study. *Br J Cancer* 2004; 90(3):638-45.
25. Dai M, Bao YP, Li N, Clifford GM, Vaccarella S, Snijders PJ, et al. Human papillomavirus infection in Shanxi Province, People's Republic of China: a population-based study. *Br J Cancer* 2006;95(1): 96-101.
26. Shin HR, Lee DH, Herrero R, Smith JS, Vaccarella S, Hong SH, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Busan, South Korea. *Int J Cancer* 2003;103(3):413-21.
27. Sánchez-Anguiano LF, Alvarado-Esquivel C, Reyes-Romero MA, Carrera-Rodríguez M. Human papillomavirus infections in women seeking cervical Papanicolaou cytology of Durango, Mexico: prevalence and genotypes. *BMC Infect Dis* 2006;6:27.
28. de Sanjosé S, Almirall R, Lloveras B, Font R, Diaz M, Muñoz N, et al. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. *Sex Transm Dis* 2003;30(10): 788-93.
29. Verteramo R, Pierangeli A, Calzolari E, Patella A, Recine N, Mancini E, et al. Direct sequencing of HPV DNA detected in gynaecologic outpatients in Rome, Italy. *Microbes Infect* 2006;8(9-10):2517-21.
30. Wright TC Jr, Massad LS, Duntun CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D; 2006 ASCCP-Sponsored Consensus Conference. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis* 2007;11(4):201-22.
31. Gunnell AS, Tran TN, Torràng A, Dickman PW, Sparén P, Palmgren J, et al. Synergy between cigarette smoking and human papillomavirus type 16 in cervical cancer in situ development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15(11): 2141-7.
32. Giuliano AR, Sedjo RL, Roe DJ, Harri R, Baldwi S, Papanfuss MR, et al. Clearance of oncogenic human papillomavirus (HPV) infection: effect of smoking (United States). *Cancer Causes Control* 2002;13(9):839-46.
33. Davidson M, Schnitzer PG, Bulkow LR, Parkinson AJ, Schloss ML, Fitzgerald MA, et al. The prevalence of cervical infection with human papillomaviruses and cervical dysplasia in Alaska Native women. *J Infect Dis* 1994;169(4):792-800.
34. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2):74-108.