



Servikal İntraepitelyal Neoplazilerde HPV Varlığı ve p16 Ekspresyonu

Evaluation of HPV And p16 Expression in the Cervical Intraepithelial Neoplasia

Elife KIMILOĞLU¹, Özgecan GÜNDOĞAR¹, Feyza DEMİR², Zuhale ÖZCAN³, Merve CİN¹, Nusret ERDOĞAN¹

¹ GOP Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Bölümü, İSTANBUL

² Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, VAN

³ Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, İSTANBUL

ÖZET

Amaç: Serviks kanseri, önleme programlarına rağmen dünya genelinde kadın ölümlerinin önde gelen nedenlerindedir. Bu çalışmanın amacı, servikal intraepitelyal neoplazi ve skuamöz hücreli karsinom olgularında, HPV-HR ve p16 değerlendirilmesi ile sitolojik ve histopatolojik sonuçların karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Hastanemiz Patoloji Kliniğinde histopatolojik olarak servikal intraepitelyal neoplazi ve skuamöz hücreli karsinom tanısı almış 51 olgu daha önceki servikal smear sonuçları ile uyumluluk açısından değerlendirildi. Silver in situ hibridizasyon yöntemi ile servikal intraepitelyal neoplazi ve skuamöz hücreli karsinom olgularında HPV-HR varlığı ve aynı doku biyopsilerinde immünohistokimyasal olarak p16 ekspresyonu değerlendirildi.

Bulgular: Smear sonuçlarına göre servikal intraepitelyal neoplazi düzeyinin farklılık gösterdiği saptandı. Mevcut bulgulardan smearlerinde yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon ile ayrılamayan atipik skuamöz hücreler ve yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon saptanmış olan olguların, doku biyopsilerinde CIN I'e nazaran daha çok CIN II ve CIN III tanısı aldıkları saptanmıştır. Aynı test ile değerlendirildiğinde HPV-HR düzeyine göre histolojik tanı tiplerinin farklılık gösterdiği saptandı. Histopatolojik incelemede CIN I olarak değerlendirilen olguların %35'inde, CIN II olarak değerlendirilen olguların %93.3'ünde, CIN III olarak değerlendirilen olguların %92.3'ünde ve skuamöz hücreli karsinom olarak değerlendirilen olguların %100'ünde p16 ile pozitif boyanma görülmüştür.

Sonuç: Servikal smear testi, in situ hibridizasyon yöntemi ile HPV-HR değerlendirilmesi ve immünohistokimyasal olarak p16 uygulanması, servikal intraepitelyal neoplazilerin erken tanı ve tedavisinde oldukça önemli ve gereklidir.

Anahtar Sözcükler: Serviks, Sitoloji, Histopatoloji, HPV-HR, p16

ABSTRACT

Aim: Cervical carcinoma is still one of the leading causes of mortality in women worldwide despite the preventing programmes. The aim of this study is to evaluate the comparison of results of the cytology and histopathology in cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma cases and to confirm the presence of HPV-HR and p16.

Materials and Methods: We evaluated fifty one cases of cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma cases with their cytology results. HPV-HR was assessed by silver insitu hybridization and p16 immunohistochemical expressions in cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma cases.

Results: The level of CIN showed a significant difference for cytological results. Cases with a cytological diagnosis of atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion and high-grade squamous intraepithelial lesion had more CIN II and CIN III diagnosis in their histological materials. Histopathological types showed statistically significant difference for HR-HPV levels. p16 positive staining was detected in 35% of CIN I, 93.3% of CIN II, 92.9% of CIN III, and 100% of squamous cell carcinoma cases.

Conclusion: For the early diagnosis and treatment of cervical intraepithelial neoplasia; HPV-HR which is assessed by silver in situ hybridization and expression of p16 immunohistochemistry and the cytological results are important and necessary.

Key Words: Cervix, Cytology, Histopathology, HPV-HR, p16

GİRİŞ

Serviks kanseri, dünyada kadınlar arasında en sık görülen ikinci kanser türüdür ve mortalitenin önde gelen nedenlerindedir (1). Human Papilloma Virus (HPV) servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) ve servikal kanser gelişiminde ana etiyolojik faktördür.

Olguların yaklaşık %97'sinde viral DNA tespit edilmiştir (2,3). Neoplastik yeteneklerine göre HPV tipleri yüksek riskli ve düşük riskli olarak sınıflandırılmıştır. Tip 16, 18, 31 ve 33 gibi yüksek riskli HPV türleri (HPV-HR) sitolojik olarak yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlar olarak tanımlanan servikal kanser veya ileri evre prekanseröz olgular (CIN II ve III) ile ilişkilidir. Diğer taraftan, Tip 6, Tip 11 gibi düşük risk HPV tipleri (HPV-LR) çoğunlukla kondiloma aküminatum gibi benign genital lezyonlarla ilişkili olup, nadiren yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlara ilerleme gösterebilir (1).

Sağlık sistemlerinin ana amacı mortalite ve morbiditeyi azaltmaktır. Serviks kanseri insidansı son on yılda servikal skuamöz hücreli karsinom ve prekürsörlerini azaltmayı amaçlayan "Papanicolaou" smear testi ile azalma göstermiştir (2). Servikal sitoloji tanısal bir test değildir ve özgüllüğü %97, duyarlılığı ise %51 gibi düşük oranlarda rapor edilmiştir. Sitopatolojide hata standardı mevcut değildir. Yalancı pozitif ve yalancı negatiflik oranları birçok faktöre bağlı olarak tanımlanmıştır (2). Bu çalışmada amacımız kolposkopik olarak CIN, serviks kanseri tanısı almış 51 olguda sitoloji ve histopatoloji sonuçlarını karşılaştırmak, bu olgulara ait parafine gömülü biyopsi materyallerinde silver in situ hibridizasyon yöntemi ile HPV-HR sonuçlarını, immunohistokimyasal olarak da p16 varlığını değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hastanemiz Patoloji Kliniği'nde histopatolojik olarak servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) ve skuamöz hücreli karsinom (SHK) tanısı almış 51 olgu daha önceki smear sonuçları ile uyumluluk açısından değerlendirildi. 51 olguya ait patoloji raporları ve bu olgulara ait parafin bloklar ve H&E boyalı lamalar ile smearleri değerlendirildi. HPV-HR in situ hibridizasyon; Ventana BenchMark XT cihazı ile ISH IVIEW Blue Plus Detection Kiti kullanılarak çalışıldı. Nükleer diffüz sinyal tipi epizomal HPV-DNA patern, nükleer punktat sinyal tipi ise integre HPV-DNA patern olarak değerlendirildi. Çalışmamızda olgular nükleer saptanma şekline göre epizomal, integre ve mikst patern olarak üç gruba ayrıldı. İmmünohistokimyasal çalışma için parafin bloklar 4 mm kalınlığında kesilerek pozitif şarjlı lamlara alındı. P16 immünohistokimyasal boyası (CINtec p16 Histology V-Kit, Mouse anti-human antibody) Ventana otomatik boyama cihazında (BenchMark XT Staining Module, Ventana Medical Systems) boyandı. CIN ve SHK olgularına ait parafin gömülü biyopsi materyallerinde silver in situ hibridizasyon yöntemi

ile HPV-HR varlığı ve immunohistokimyasal olarak p16 ekspresyonları değerlendirildi.

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows 17,0) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (sayı ve yüzde dağılım) yanı sıra verilerin karşılaştırılmasında gruplar arası karşılaştırmalarda Ki-Kare testi (Pearson Chi-Square Test ve Fisher's Exact Test) kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p \leq 0.05$ düzeyinde değerlendirildi. Power analiz yapıldı. HPV-HR için post hoc power: %81, Fisher testi: $p=0.002$; p16 ekspresyonu için post hoc power %97, Fisher testi $p < 0.001$ olarak değerlendirildi.

SONUÇLAR

51 olgunun 46'sından (%90.2) smear alınmıştır. Bu olguların 6 (%13) tanesi servikal intraepitelyal lezyon açısından negatif, 4 (%8.7) tanesi önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler (ASCUS), 5 (%10.9) tanesi ASC-H, 17 (%37) tanesi düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon (LSIL), 14 (%30.4) tanesi HSIL tanısı almıştır. Biyopsi sonuçları değerlendirildiğinde 20 (%39.2) olgu CIN I, 15 (%29.4) olgu CIN II, 13 (%25.5) olgu CIN III, 3 (%5.9) olgu SHK tanısı almış olup, p16 immünohistokimyasal incelemesi 15 (%29.4) olguda negatif, 36 (%70.6) olguda pozitif olarak değerlendirildi. HPV-HR paterni ile 9 (%17.6) olguda epizomal, 11 (%21.6) olguda integre, 31 (%60.8) olguda mikst olarak belirlendi (Şekil 1-6) (Tablo I).

Smear patolojik tanısı ASCH-HSIL olarak sınıflanan olguların, biyopsi sonrası %21,1'i (n=4) CIN I, %36,8'i (n=7) CIN II, %42,1'i (n=8) CIN III olarak tanı aldığı gözlemlendi. Smear patolojik tanısı ASCUS-LSIL olan olguların ise %55'i (n=11) CIN I, %35'i (n=7) CIN II, %10'u (n=8) CIN III olarak tanı aldığı saptandı. Smear sonucuna göre CIN düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p=0,033$) (Tablo II). Smear sonucu ASCH-HSIL olan hastaların doku biyopsilerinde daha yüksek oranda CIN II - III tanısı aldıkları saptanmıştır. Patolojik olarak CIN I tanısı alan olguların HPV-HR düzeyi 9 (%45) olguda epizomal, 6 (%30) olguda mikst, 5 (%25) olguda integral; CIN II tanısı alan olguların HPV-HR düzeyi 2 (%13.3) olguda mikst, 13 (%86.7) olguda integral; CIN III tanısı alan olguların HPV-HR düzeyi 3 (%23.1) olguda mikst, 10 (%76.9) olguda integral ve SHK tanısı alan olguların HPV-HR düzeyi 3 olguda (%100) integral olarak saptanmış olup gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($p=0,01$) (Tablo III). CIN I olarak değerlendirilen olguların %35'inde (n=7), CIN II olguların %93.3'ünde (n=14), CIN III olguların %92.3'ünde (n=12) ve SHK olarak değerlendirilen olguların %100'ünde (n=3) p16 ile pozitif boyanma görüşmüştür ($p < 0,001$) (Tablo III). (HPV-HR için post hoc power %81, Fisher testi: $p=0.002$ p16 ekspresyonu için post hoc power %97, Fisher testi: $p < 0,001$).

Tablo I: İncelenen patolojik özellikler.

Özellikler	n (%)
Smear	
Yapıldı	46 (90.2)
Yapılmadı	5 (9.8)
Smear sonuç	
Negatif	6 (13.0)
Pozitif	40 (87.0)
Smear sonuç detay	
Negatif	6 (13.0)
ASCUS	4 (8.7)
ASC-H	5 (10.9)
LSIL	17 (37.0)
HSIL	14 (30.4)
Biyopsi sonuç	
CIN I	20 (39.2)
CIN II	15 (29.4)
CIN III	13 (25.5)
SHK	3 (5.9)
Hr-HPV	
Epizomal	9 (17.6)
İntegre	11 (21.6)
Mikst	31 (60.8)
P16	
Negatif	15 (29.4)
Pozitif	36 (70.6)

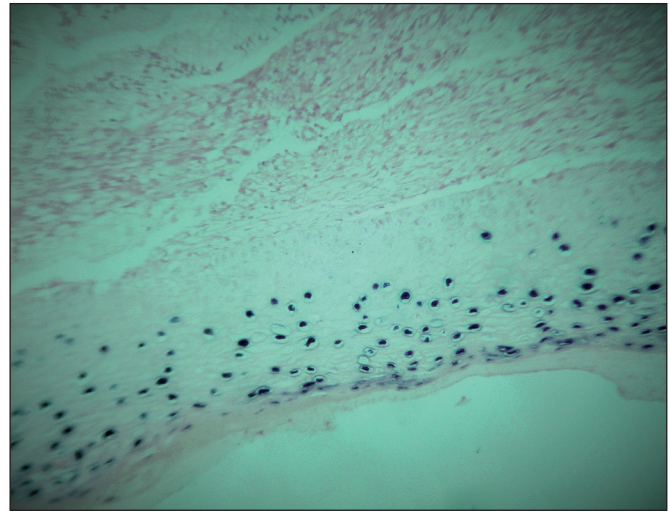
HPV-HR düzeyi epizomal olan olguların %33.3'ünde (n=3), mikst olan olguların %90.3'ünde (n=28) ve integral olan olguların ise %45.5'inde (n=5) p16 ekspresyonu pozitif boyandığı saptanmıştır (Tablo IV). HPV-HR düzeyi ile p16 ekspresyon boyanma düzeyi arasında anlamlı ilişki olduğu saptanmıştır (p=0,01). HPV-HR mikst tipte daha yüksek oranda p16 pozitifliği görülmüştür.

TARTIŞMA

Servikal sitolojinin duyarlılık ve özgüllüğü konusunda değişen farklılıkların rapor edilmesine rağmen, smear halen servikal kanser tarama programları içerisinde en maliyet etkin ve koruyucu yöntemlerden biridir (2). Servikal smear testi kullanılmakla birlikte silver in situ hibridizasyon yöntemi ile HPV çalışılması

Tablo II: Smear sonucuna göre histopatolojik tanı, HPV-HR paterni ve p16 immünohistokimyasal ekspresyonu.

	Smear sonuç		X	p
	ASCH-HSIL	ASCUS-LSIL		
	n (%)	n (%)		
Biyopsi sonuç			6,846	0,033
CIN I	4 (21,1)	11 (55,0)		
CIN II	7 (36,8)	7 (35,0)		
CIN III	8 (42,1)	2 (10,0)		
HPV-HR			0,748	0,688
Epizomal	3 (15,8)	4 (19,0)		
İntegral	2 (10,5)	4 (19,0)		
Mikst	14 (73,7)	13 (61,9)		
p16 ekspresyonu			-	0,089
Negatif	3 (15,8)	9 (42,9)		
Pozitif	16 (84,2)	12 (57,1)		

**Şekil 1:** CIN I lezyonda insitu yüksek dereceli HPV epizomal patern (HR-HPV, x100).

ve p16 immünohistokimyasal olarak uygulanması güvenilirliği arttırmakta ve öncül lezyonlar için sık takip, kolposkopik inceleme ve aşı seçeneklerini ortaya koymaktadır.

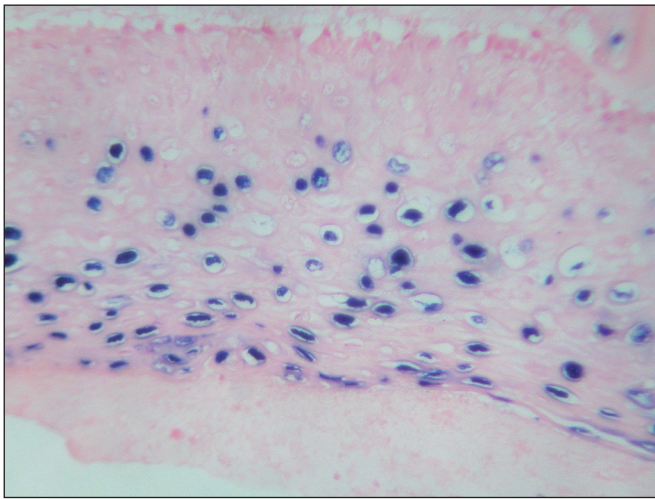
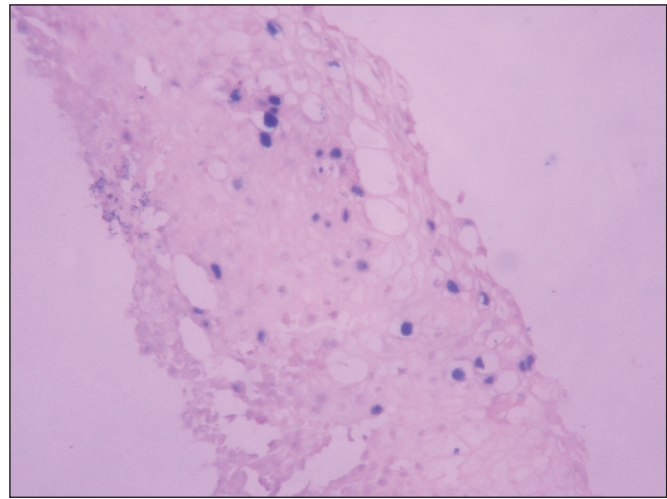
Bu çalışma ile smear sitoloji bulguları, kolposkopi sonuçları, doku kesitlerinde silver in situ hibridizasyon yöntemi ile HPV-HR sonuçları ve immünohistokimyasal olarak da p16 immünohistokimyasal incelemesi değerlendirilmiştir. Smear sonucuna göre CIN düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gösterdiği saptanmıştır. Smear sonucu

Tablo III: Servikal intraepitelyal lezyon derecesi ile HPV-HR paterni ve p16 immünohistokimyasal ekspresyonu karşılaştırılması.

	CIN I	CIN II	CIN III	SHK	X	p
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
HPV-HR					22,924	0,01
Epizomal	9 (45.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		
Mikst	6 (30.0)	2 (13.3)	3 (23.1)	0 (0.0)		
İntegral	5 (25.0)	13 (86.7)	10 (76.9)	3 (100.0)		
P16 ekspresyonu					20,142	<0,001
Negatif	13 (65.0)	1 (6.7)	1 (7.7)	0 (0.0)		
Pozitif	7 (35.0)	14 (93.3)	12 (92.3)	3 (100.0)		

Tablo IV: p16 ekspresyonu ile HPV-HR oranlarının karşılaştırılması.

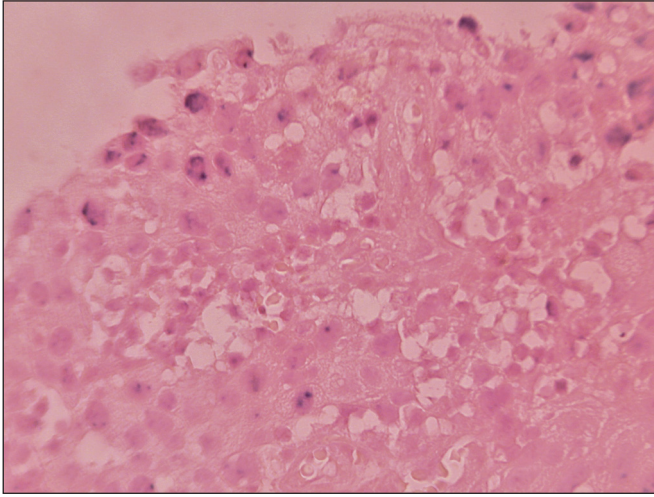
	HPV-HR			X	p
	Epizomal	İntegral	Mikst		
P16	n (%)	n (%)	n (%)		
Negatif	6 (66.7)	6 (54.5)	3 (9.7)	15,179	0,01
Pozitif	3 (33.3)	5 (45.5)	28 (90.3)		

**Şekil 2:** CIN I lezyonda insitu yüksek dereceli HPV epizomal patern (HR-HPV, x200).**Şekil 3:** CIN II lezyonda insitu yüksek dereceli HPV mikst patern (HR-HPV, x100).

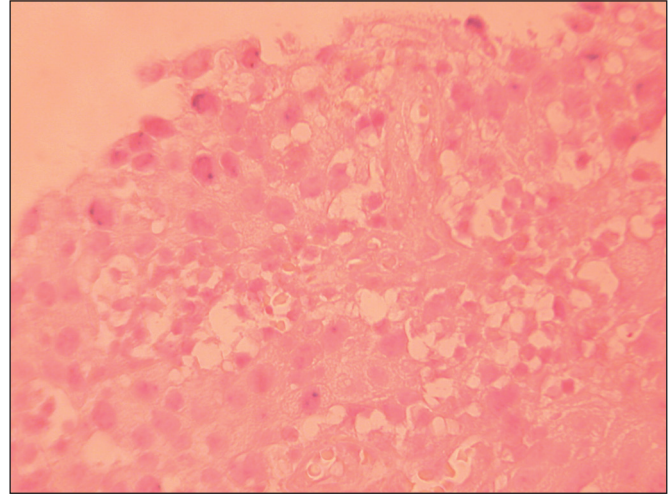
ASCH – HSIL olan hastaların doku biyopsilerinde daha yüksek oranda CIN II-III tanısı aldıkları saptanmıştır. HPV-HR düzeyine göre histolojik tanı tiplerinin anlamlı derecede farklılık gösterdiği saptanmıştır.

Yüksek riskli HPV tipleri serviks skuamokolumnar bileşkede bazal epitel hücrelerini infiltre eder ve genomu entegre olarak kanser progresyonunda rol oynar (4). HPV DNA'nın konak hücrede taşınma şekline göre epizomal ve integral

olarak ayrılır. Kanser, yüksek dereceli servikal intraepitelyal neoplazilerde konak genomuna entegre olurken, kondilom ve çoğu prekanseröz lezyonda serbest DNA (epizomal) şekilde bulunur (5). Omori ve ark. HPV ISH sinyallerinin epizomal olanları diffüz, integral olanları punktata, epizomal ve integral birlikte olanları mikst patern ile tanımlamıştır. Yüksek risk HPV punktata sinyali CIN I olgularında saptanmazken, CIN II tanısı alanlarda %21, CIN III'de %60,



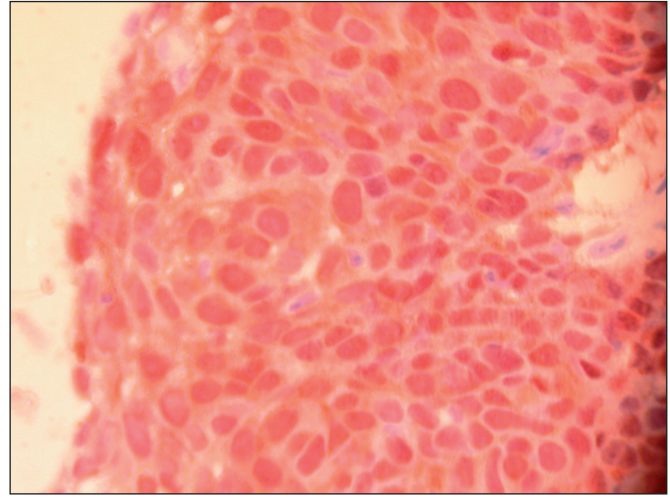
Şekil 4: CIN III lezyonda insitu yüksek dereceli HPV mikst patern (HR-HPV, x400).



Şekil 5: SHK'da in situ yüksek dereceli HPV ile integral patern (HR-HPV, x400).

SHK'da %90 oranında görülmüştür. Ayrıca HPV punktat sinyal varlığının p16 ekspresyonu ile korele olarak CIN seviyesi ve sınıflandırmasında rol oynadığı belirtilmiştir. Aynı zamanda CIN II olgularının progresyon veya regresyonunun belirlenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (6). Bu bilgi ile uyumlu olarak çalışmamızda HPV-HR düzeyi CIN I tanısı alanların %45'i epizomal, CIN II tanısı alanların %86.7'si integral, CIN III tanısı alanların % 76.9'u integral, SHK tanısı alanların 100'ü integral olarak saptanmış olup bu fark anlamlı bulunmuştur. Feyza ve ark.nın yaptığı çalışmada CIN I olgularında %50 integral patern, %27.3 mikst patern, %22.7 epizomal patern saptanmıştır (7). Epizomal HPV-16'nın servikal karsinomlarda rol oynadığı bilinmektedir (8). Epizomal form HPV enfeksiyonu varlığında bile erken dönemlerde sitolojik ve histolojik bulguların negatif olabileceği gösterilmiş, bu nedenle HPV'nin dokuya integrasyonunu göstermede in situ hibridizasyonun PCR yöntemine üstünlüğü vurgulanmıştır. CIN II lezyonların tanınmasında birbiri ile korele görünmekle birlikte, daha düşük dereceli displazilerde ISH PCR yönteminden daha duyarlı bulunmuştur (9).

Heng ve Sirichaisutdhikorn çalışmalarında smear sonucu ASCUS olarak rapor edilen 187 olgu incelemiş ve 92 (%49.2) tanesinde servikal intraepitelyal neoplazi saptamıştır. Bu olguların % 32.6'sına CIN I ve %16.6'sına CIN II-III tanısı verilmiştir. İnvaziv kanser tanısı alan olgu olmamıştır (10). Çalışmamızda servikal sitoloji sonucu ASCUS-LSIL olan olguların %55'i CIN I, %35'i CIN II, % 10'u CIN III tanısı almış, ASCH-HSIL olarak tanı almış olanların doku tanısında %21.1 CIN I, %78.9 CIN II-III saptanmış olup, servikal sitoloji sonuçları doku tanıları ile korele ve anlamlı bulunmuştur. Heng ve Sirichaisutdhikorn'un çalışmalarındaki bulgulara benzer şekilde servikal sitolojisi ASCUS-LSIL olan olgulardan doku incelemesinde invaziv karsinom tanısı alan olgu olmamıştır.



Şekil 6: SHK'da p16 immünboyama ile diffüz kuvvetli p16 boyanma paterni (p16, x100).

HPV DNA'da transformasyon ve replikasyondan sorumlu erken bölgelerden E6 ve E7 onkoproteinleri CDK inhibitörlerini (p21,p27) inhibe ederek hücre siklus kontrolünü bozarlar. E6 p53'ü inaktive ederken, E7 serbest E2F'yi arttırarak pRb'yi inaktive eder ve siklin dependent kinaz inhibitör p16 (p16INK4a) proliferasyonuna neden olur. E6 ve E7'nin kontrolsüz ekspresyonu HPV ilişkili karsinogenez için gerekli bir basamaktır (11-13). Bu nedenle p16'nın immünohistokimyasal olarak artmış saptanması HPV enfeksiyonu viral onkogen saptanması amacıyla kullanılır (5).

Murphy ve ark.nın 20 normal skuamöz epitel, 38 CIN I, 33 CIN II, 46 CIN III, 10 SHK olgusunu inceledikleri çalışmalarında normal skuamöz epitelde p16 ekspresyonu saptanmazken, CIN I, CIN II, CIN III ve SHK tanısı alan olguların tamamında p16 ekspresyonu tespit edilmiş, ve p16'nın servikal

displazilerde en güvenilir belirteç olduğu belirtilmiştir (14). Çalışmamızda histolojik derecesi CIN I olarak değerlendirilen olguların %35'inde (n=7), CIN II olguların %93,3'ünde (n=14), CIN III olguların %92,3'ünde (n=12) ve SHK olarak değerlendirilen olguların %100'ünde (n=3) p16 ile pozitif boyanma görülmüştür. Buna göre lezyonun displazi derecesi arttıkça p16 boyanmasının yaygınlığının arttığı sonucuna varılmıştır.

Hariri ve ark. 100 CIN I, 50 CIN II-III ve 50 non-displastik lezyon içeren olguyu 5-7 yıl takip etmiş ve CIN I tanısı alıp immünohistokimyasal olarak p16 ekspresyonu saptanmayan olguların spontan regrese olduğunu, p16 pozitif olanların progresyon gösterdiğini veya takiplerinde CIN I olarak sebat ettiğini göstermiştir. Bu çalışma ile CIN I tanısı alıp p16 ekspresyonu gösteren olguların progresyon için daha fazla risk taşıdığı gösterilmiştir (15). Olgularımızdan CIN I tanısı alan olguların %65'i (n=13) p16 ekspresyonu göstermemiştir. Cheah ve ark.nın servikal intraepitelial neoplazilerde p16 ve in situ hibridizasyonla HPV inceledikleri çalışmalarında HPV pozitifliği LSIL'e göre (%37), HSIL (%76.2) ve SHK'da (%88.2) daha yüksek oranda saptanmıştır. p16 ekspresyonu LSIL'de (%3.7), HSIL'de (%95.2) SHK'da (%90.2) olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda CIN I olgularında %35 oranında p16 ekspresyonu saptanmış olup, bu oran Cheah ve ark.nın çalışmasına göre yüksektir. CIN II-III tanısı almış olgulardaki p16 ekspresyon oranı (%92.8) olup, Cheah ve ark.nın çalışması ile uyumludur (16).

Mirasoli ve ark.nın yaptıkları çalışmada HPV DNA in situ hibridizasyon ile çalışılmış normal dokuda sinyal saptanmazken, CIN I tanısı almış olguların yarısında HPV-HR DNA sinyali saptanmış, ayrıca yüksek dereceli lezyonlarda düşük dereceli lezyonlara göre daha yüksek sinyal izlenmiştir (17). Song ve ark.nın çalışmasında 12 aylık takipte HPV pozitif, smear testi negatif hastalarda %0.8-4.1 oranında HSIL gelişmiş ve bu hastalar için 12 ayda smear tekrarı, HPV 16-18 genotip çalışması, HPV 16-18 pozitif ise kolposkopik inceleme önerilmiştir (18).

Son yıllarda PCR ile HPV-HR tespiti, p16 immünohistokimyasal uygulaması ve histomorfolojik bulgulardaki eksiklikler nedeniyle HPV ilişkili neoplazilerin tespitinde HPV-HR mRNA in situ hibridizasyon yöntemi (RISH-HR) kullanılmaya başlanmıştır (5). HPV ilişkili karsinogenezde rolü olan E6 - E7 mRNA'nın ISH ile tespiti PCR, DNA ISH, p16 immünohistokimyasal sonuçları ile karşılaştırılmış ve RISH-HR yönteminin PCR negatif olan %18 olguda pozitif olduğu ve CIN I tespitinde daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Ayrıca anogenital ve orofarengial bölgelerdeki HPV'nin tespiti içinde %97 oranında duyarlı olduğu gösterilmiştir (11).

Adamopoulou ve ark. çalışmalarında sitoloji, kolposkopi, HPV tiplendirme ve immünohistokimya (p16,p53,bcl-2) birlikte incelemesinin duyarlılık ve özgüllüğüne vurgu yapmışlar, servikal kanser tarama programlarında kullanılabileceğini

söylemişlerdir (1). Bizim sonuçlarımız da benzer özellikler göstermektedir. Tüm bu çalışmaların bir arada uygulanması duyarlılık ve özgüllüğü artırmaktadır. Böylece yüksek risk grupları ortaya çıkarılarak daha yakın takip edilebilecek ve gerekli olgularda ileri cerrahi girişim uygulanmış olacaktır.

Servikal kanserler önemli kompleks global bir sağlık sorunudur. Primer ve sekonder koruma önlemleri alınmalıdır (19). Hastalıktan ölümlerin azalması ve erken tanı amacıyla en önemli etiyolojik faktör olan HPV varlığının gösterilmesi önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Adamopoulou M, Kalkani E, Charvalos E, Avgoustidis D, Haidopoulos D, Yapijakis C. Comparison of cytology, colposcopy, HPV typing and biomarker analysis in cervical neoplasia. *Anticancer Res.* 2009;29;3401-3410. PMID: 19661364
2. Mete Ö, Yavuz E, Tuzlali S, İlhan R, Özlük Y, Topuz S, İlyoçkurt C, İplikçi A. Retrospective study of 112 patients who had colposcopy-guided biopsy: comparison of the cytology results with histology. *Turk Patol Derg.* 2007;23:33-7.
3. zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:342-50. PMID: 12044010 DOI:10.1038/nrc798
4. Senapati R, Senapati NN, Dwibedi B. Molecular mechanism of HPV mediated neoplastic progression. *Infect Agent Cancer.* 2016;11:59. PMID:27933097 DOI: 10.1186/s13027-016-0107-4
5. Kumar V, Abbas A, Aster J. Neoplasia. 10th ed. Perkins JA, editor. Robbins Basic Pathology. Philadelphia, Pennsylvania; 2018.189-242.
6. Omori M, Hashi A, Nakazawa K, Yuminamochi T, Yamane T, Hirata S, Katoh R, Hoshi K. Estimation of prognoses for Cervical Intraepithelial Neoplasia 2 by p16INK4a immunorexpression and high-risk HPV in situ hybridization signal types. *Am J Clin Pathol.* 2007;128:208-17. DOI: 10.1309/0UP5PJ9RYF7BPHM
7. Demir F, Kimiloğlu E, İgdem AA, Ayanoğlu YT, Erdoğan N. Hr HPV in situ hybridization, p16 INK 4A and survivin expressions in cervical carcinomas and intraepithelial neoplasms: evaluation of prognostic factors. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2014;35:708-717. PMID:25556279
8. Fujii T, Masumoto N, Saito M, Hirao N, Niimi S, Mukai M, Ono A, Hayashi S, Kubushiro K, Sakai E, Tsukazaki K, Nozawa S. Comparison between in situ hybridization and real-time PCR technique as a means of detecting the integrated form of human papillomavirus 16 in cervical neoplasia. *Diagn Mol Pathol.* 2005;14:103-8. PMID: 15905694.
9. Kelesidis T, Aish L, Steller MA, Aish IS, Shen J, Foukas P, Panayiotides J, Petrikos G, Karakitsos P, Tsiodras S. Human papillomavirus (HPV) detection using in situ hybridization in histologic samples: correlations with cytologic changes and polymerase chain reaction HPV detection. *Am J Clin Pathol* 2011;136:119-27. PMID: 21685039. DOI 10.1309/AJCP03HUQYZMWATP

10. Heng S, Sirichaisuthikorn D. Incidence of high grade squamous intraepithelial lesions in patients with atypical squamous cells of undetermined significance papanicolaou smears at Naresuan University Hospital. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17:2411-4. PMID: 27268606
11. Mills AM, Dirks DC, Poulter MD, Mills SE, Stoler MH. HR-HPV E6/E7 mRNA in situ hybridization: validation against PCR, DNA in situ hybridization, and p16 Immunohistochemistry in 102 samples of cervical, vulvar, anal, and head and neck neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2017;41:607-15. PMID: 28403015. DOI 10.1097/PAS.0000000000000800
12. Stoler MH, Rhodes CR, Whitbeck A, Wolinsky SM, Chow LT, Broker TR. Human papillomavirus type 16 and 18 gene expression in cervical neoplasias. *Hum Pathol.* 1992;23:117-28. PMID: 1310950.
13. Hudelist G, Manavi M, Pischinger KI, Watkins-Riedel T, Singer CF, Kubista E, Czerwenka KF. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. *Gynecol Oncol.* 2004;92:873-80. PMID: 1498495 DOI 10.1016/j.ygyno.2003.11.035
14. Murphy N, Ring M, Heffron CC, King B, Killalea AG, Hughes C, Martin CM, McGuinness E, Sheils O, O'Leary JJ. p16INK4A, CDC6, and MCM5: predictive biomarkers in cervical preinvasive neoplasia and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2005;58:525-34. PMID: 15858126 DOI: 10.1136/jcp.2004.018895
15. Hariri J, Oster A. The negative predictive value of p16INK4A to assess the outcome of cervical intraepithelial neoplasia 1 in the uterine cervix. *Int J Gynecol Pathol.* 2007;26:223-8. PMID: 17581402 DOI: 10.1097/01.pgp.0000236942.51840.56
16. Cheah PL, Koh C, Nazarina AR, Teoh KH, Looi LM. Correlation of p16INK4a immunoeexpression and human papillomavirus (HPV) detected by in-situ hybridization in cervical squamous neoplasia. *Malays J Pathol.* 2016; 38 :33 -8. PMID: 27126662
17. Mirasoli M, Guardigli M, Simoni P, Venturoli S, Ambretti S, Musiani M, Roda A. Multiplex chemiluminescence microscope imaging of P16(INK4A) and HPV DNA as biomarker of cervical neoplasia. *Anal Bioanal Chem.* 2009;394:981-7. DOI: 10.1007/s00216-009-2707-y. PMID: 19263042
18. Song JS, Kim EJ, Choi , Gong G, Sung CO. Significance of HPV-58 Infection in Women Who Are HPV-Positive, Cytology-Negative and Living in a Country with a High Prevalence of HPV-58 Infection. *PLoS One.* 2013; 8:e58678. DOI: 10.1371/journal.pone.0058678 PMID:23505548
19. Small W Jr, Bacon MA, Bajaj A, Chuang LT, Fisher BJ, Harkenrider MM, Jhingran A, Kitchener HC, Mileskin LR, Viswanathan AN, Gaffney DK. Cervical cancer: A global health crisis. *Cancer.* 2017; 123:2404-12. DOI: 10.1002/cncr.30667.