

İmmünohistokîmyasal Olarak HPV İnfeksiyonu-CİN Birlikteliğinin Araştırılması

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON HPV INFECTION-CIN COEKİ TENÇE

Dr.Selda SEÇKİN*, Doç.Dr.Fehmi AKSOY*, Dr.İlkan DÜNDER**,
Yrd.Doç.Dr.Fırat ORTAÇ**, Prof.Dr.Sevgi TEZCAN**, Prof.Dr.Hikmet YAVUZ'

* Ankara Numune Hastanesi Patoloji Bölümü

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, ANKARA

ÖZET

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine vajinal akıntı ve postkoital kanama şikayetleri ile başvuran ve kolposkopik inceleme yapılan 29 hasta bu çalışmaya alınmıştır. Kolposkopı altında lezyonlarından alınan biopsi ve smear örnekleri Ankara Numune Hastanesi Patoloji Bölümünde değerlendirilmiştir. CİN ile birlikte koilositik atipi-HPV infeksiyonu ile uyumlu bulgular olarak değerlendirilen 29 hastaya ait biopsi materyalleri immünohistokimyasal olarak da incelenmiştir. Bu hastaların smear ve biopsi örneklemeleri ile yapılan takiplerinde izlenen özellikler üzerine HPV infeksiyonunun etkisi ve rolü tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Servikal intraepitelyal neoplazi,
Human papillomavirus infeksiyonu,
Papillomavirus antijen

T Klin Jinekoloj Obst 1992, 2:182-184

Son yıllarda Human Papillomavirusların (HPV) serviks epiteline oluşturduğu lezyonlar, Servikal intraepitelyal Neoplaziler (CİN) ve aralarındaki ilişkiyi belirlemeye yönelik çok çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Kolposkopi altında alınan serviks punch biopsi materyallerinde epiteldeki patolojinin varlığı ve şiddetinin histolojik olarak değerlendirilmesi serviksin premalign lezyonlarının tedavi ve takip protokollerinin belirlenmesinde önemli yer tutmaktadır (1). Sitolojik ve histolojik

Geliş Tarihi: 1.1.1992

Kabul Tarihi: 25.1.1992

Yazışma Adresi: Dr.Selda SEÇKİN
23.Sokak 7/8

Bahçelievler-ANKARA

Bu çalışma Jinekolojik Onkoloji Kongresinde
(26-28 Eylül 1991, Antalya) serbest tebliğolarak sunulmuştur.

SUMMARY

The patients admitted to University of Ankara, Faculty of Medicine Department of Gynecology and Obstetrics, with the complaints of vaginal discharge and postcoital bleeding were evaluated colposcopically. Colposcopically directed smears and biopsy specimens were taken from these patients and diagnosed at Ankara Numune Hospital, Department of Pathology. Out of these patients 29, who were diagnosed as koilocytotic atypic findings consistent with HPV infection with or without CIN were included in the present study. Immunohistochemical staining for papillomavirus antigen was carried out on these 29 cervical biopsy specimens. The patients were reviewed by follow up smears and biopsies. The role and effect of HPV infection on the features determined by follow ups were discussed.

Key Words: Cervical intraepithelial neoplasia,
Human papillomavirus infection,
Papillomavirus antigen

Anatolian J Gynecol Obst 1992, 2:182-184

olarak HPV infeksiyonu ve CİN birlikte görülebildiği gibi sadece servikal HPV infeksiyonu bulguları olan bütün hastaların da CİN tanısı alanlar gibi değerlendirilip, tedavi edilmeleri gerektiği belirtilmektedir (1). Ancak hem değerlendirmedeki farklılıklar, hem de HPV genomunun kolposkopik, sitolojik ve/veya histolojik olarak normal serviklerde görülebilmesi, HPV infeksiyonlu hastaların değerlendirilmesinde zorluklar yaratabilmektedir (2).

Bu çalışmada, konvansiyonel metoda ek olarak, immünohistokimyasal yöntemle de HPV infeksiyonu bulgularının varlığı ve CİN ile birlikteliği araştırılmıştır.

MATERYEL VE METOD

Vajinal akıntı ve postkoital kanama yakınmaları ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran hastalar klinik ve kolposkopik olarak incelendi. Bu hastalardan kolposkopi altında

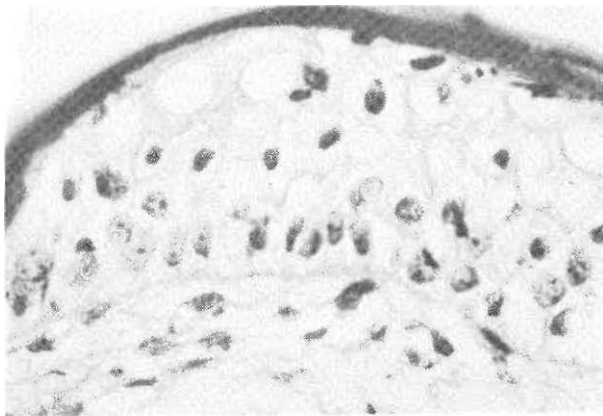
alınan servikal smear ve punch biopsi materyalleri ise Ankara Numune Hastanesi Patoloji Bölümünde değerlendirildi. Servikal smearler PAP ile, punch biopsi materyalleri ise rutin takipten sonra kesit alınıp HE ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Bunlar arasında koilositik atipi ya da HPV infeksiyonu ile uyumlu bulgular olarak veya CIN-HPV infeksiyonu ile uyumlu buğular şeklinde tanı alan 29 olgu bu çalışmaya dahil edildi. Bu olgulara ait biopsi materyallerinden immün histokimyasal boyama için yeniden kesit alındı. Avidin biotin tekniği ile human papillomavirus antijenine karşı tavşandan elde edilen antikor ile (Lipshavv P 1060) boyandı. Laser ablasyon tedavisi uygulanan hastalardan 6 ay sonraki kontrollerinde yeniden kolposkopi altında servikal smear ve punch biopsi örnekleri yapıldı. Onaltı olgudan elde edilen kontrol smear ve biopsi materyelleri aynı tekniklerle incelendi.

BULGULAR

Yirmi dokuz hastanın serviks smear ve biopsi örneklerinin değerlendirilmesine ait sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir. Rutin yöntem ile biopsi materyali koilositik atipi ya da HPV infeksiyonu ile uyumlu bulgular olarak tanı alan 11 hastanın 4'ünde sitolojide de koilositik atipi saptandı, 11 olgunun 2'sinde immün boyama ile pozitif sonuç elde edildi. CIN I ve HPV infeksiyonu ile uyumlu bulgular olarak tanı alan 12 hasta vardı. Bunların 6'sında sitolojide de koilositik atipi belirlendi. İmmün boyama ile 4 vakada boyama olduğu görüldü. CIN II ve HPV infeksiyonu ile uyumlu bulgular

Tablo 1. Servikal smear ve biopsi örneklerinin değerlendirilmesi

| TANI | PAP smear | HE | immün boyama |
|---------------------------|-----------|----|--------------|
| Koilositik atipi | 4 | 11 | 2 |
| Koilositik atipi + CIN I | 6 | 12 | 4 |
| Koilositik atipi + CIN II | 2 | -Q | - |



Şekil 1. Perinükleer halolu koilositik hücreler içeren serviks epiteli (HE boyası).

Anatolian J Gynecol Obst 1992, 2

koilositik atipi ile uyumlu idi. İmmün boyama ile vakamız hiçbirinde boyanma elde edilemedi.

Laser ablasyon tedavisi üzerinden 6 ay geçen 16 hasta aynı yöntemlerle incelendi. Sonuçlar şöyledir:

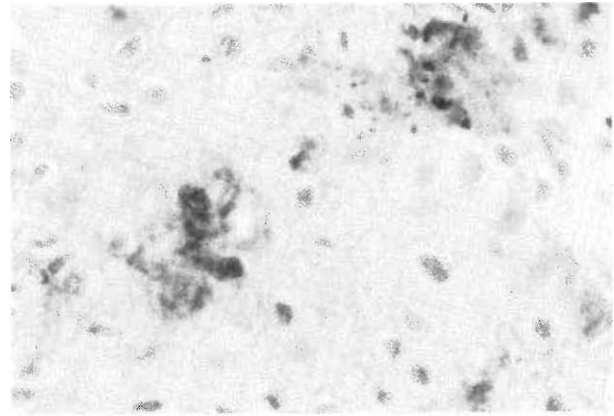
HPV immün boyama (—) olan 7 vakanın kontrol smear ve/veya biopsi değerlendirmeleri HPV infeksiyonu bulguları yönünden (—) idi. Ancak bunların 4'ünün kontrol biopsilerinden HPV immün boyama (+) olarak saptandı.

Sekiz olgunun kontrol biopsilerinde lezyonların CIN ve/veya HPV infeksiyonu şeklinde devam ediyordu. Bunlardan sadece birinde ilk biopside anti Papillomavirus antikoruna boyanma vardı. Kontrol biopsilerinde ise farklı 2 olguda immün boyama sonucu (+) idi.

Bir olguda ise kontrol biopsisinde CIN seviyesinde ilerleme saptandı. Ancak bu hastaya ait her iki biopsi materyalinde de immün boyama (—) idi.

TARTIŞMA

HPV infeksiyonu bulguları konvansiyonel yöntemle saptanabilmektedir. Ancak, bazı vakalarda tanıyı kesinleştirmek, bazı şüpheli olanlarda ise tanıyı koyabilmek için, çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Papillomavirus için immün boyama bunlardan biridir. Bu teknikle literatürde elde edilen değişik sonuçlar vardır (1,3,4,5). Çünkü, HPV antijen boyaması sadece matür virus partikülleri üretiliyorken, ortaya çıkan geç faz kapsid antijenini belirler. Bu aşama ise, epitelyal hücrelerin diferansiyasyonuna bağlı olmak üzere, HPV infeksiyonunun sadece bir fazıdır (1). Çalışmalar viral proteinlerin ancak epitelyal hücreler matür iken sentez edildiğini ve bu nedenle (+) boyanma verebileceklerini ortaya koymuştur (6). Çalışmamızda 29 vakanın 6'sında immün boyama (+) bulunmuştur. Virüsün özelliklerine bağlı boyanma oranının düşüklüğü yanında, boyanma özellikleri gösterebilecek partiküllerin fokal olarak bulunması ve immün boyama yapılan kesitte yer almaması düşük boyanma oranını açıklayabilir. Zaten boyanma olan vakalarda da pozitiflik hep fokal ve dar alanlarda izlenmiştir. Geliştirilen kitler ve antikorlar ile uygun bilinen



Şekil 2. Anti Papillomavirus antikoruna pozitif boyanma gösteren koilositik hücreler.

kontroller ile internal (—) ve (+) kontrol kesitleri kullanıldığında, sensitivitesi az olan bu yöntemle spesifik sonuçlar elde edilebileceği bilinmektedir.

Kontrol biopsilerinin değerlendirildiği olguların immünohistokimyasal boyanma sonuçları daha anlamlıdır, ilk biopsilerinde hiçbirinde boyanma yokken, 7 vakanın 4'ünde 6 ay sonraki biopsilerinde anti papillomavirus antikoruna boyanma olmuştur. Bu olgular rutin yöntem (HE boyası) ile incelendiklerinde parakeratoz, birinde kronik servisitit, birinde normal serviks dokusu görülmüştür. Bu sonuç, HPV immün boyamasının, HPV infeksiyonu bulgularını belirlemedeki önemini ortaya koymaktadır. Histolojik olarak normalden parakeratoz gibi minör değişikliklere kadar uzanan bir spektrumda prodüktif HPV infeksiyonu bulunabilir ve saptanabilir (1).

İlk biopsi CİN ve/veya koilositik atipi şeklinde tanı alan 8 olguda da kontrol biopsilerinde lezyonlarının devam ettiği saptanmıştır. Bunlardan sadece birinde ilk biopside anti Papillomavirus antikoruna boyanma varken, kontrol biopsilerinde farklı 2 olguda HPV infeksiyonu bulgusu immünohistokimya ile de saptanmıştır. CİN ve/veya HPV infeksiyonunun lokal tedavisi sonucunda tedavi edilmeyen epitelde rezidüel HPV genomu kalabilmekte ve daha sonra eksprese olabilmektedir (2). Tedavi edilmiş CİN'li hastalarda alt genital yapının başka bir bölümünde yassı epitel lezyonu saptanması morfolojik olarak belirgin lezyonun tedavisinden sonra HPV'nin o bölgede kalmasına bağlanmaktadır (2). Bir çalışmada konizasyondan sonra serviks veya vulvada %85 oranında HPV infeksiyonu bulguları saptanmıştır (7).

HPV kapsid antijenlerinin boyanma oranları değişiktir. Bir araştırmada, kondilomlarda %36-80, CİN I'de %28-61, CİN II'de %16-64, CİN III'de %3-52 oranlarında immün boyama saptanan çalışmalar olduğu belirtilmektedir (3). Epitelyal lezyonun derecesi arttıkça HPV infeksiyonu bulgularını saptamak konvansiyonel ve immünohistokimyasal yöntemle zorlaşmaktadır. Bir vakaımızda kontrol biopsisinde CİN seviyesinde artma saptanmış ancak rutin yöntem ve immün boyama ile HPV infeksiyonu yönünde bulgu görülmemiştir. HE ile boyanan preparatlarda koilositik atipi, binükleer ve multinükleer hücreler, diskeratoz gibi özelliklerin görülmesi HPV infeksiyonu tanısı koydurur. Bu özelliklerin immünohistokimyasal yöntemle elde edilen pozitif boyanmadan

3 kez daha sık görüldüğü belirtilmektedir (3). Ancak, literatürde de belirtildiği gibi, virüs tedaviden sonra epitelde kalabilir ve önceden saptanmamış olsa da uygun fazında immün boyama ile ortaya çıkarılabilir.

Çalışmalarda immün boyama ile rutin yöntem ile olduğu gibi, HPV'nin alt gruplarını saptamanın mümkün olmadığı belirtilmektedir (5,8). DNA hibridizasyon yöntemleri ile alt grup tayinleri yapıp, progresyon eğilimi gösteren lezyonlardaki etken saptanabilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Jenkins D, Tay SK, Maddox PH. Routine Papillomavirus Antigen Staining of Cervical Punch Biopsy Specimens. *J Clin Pathol* 1987; 40:1212-16.
2. Coigan TJ, Percy ME, Surl M, Shier RM, Andrews DF, Lickrish GM. Human Papillomavirus Infection of Morphologically Normal Cervical Epithelium Adjacent to Squamous Dysplasia and Invasive Carcinoma. *Hum Pathol* 1989; 20:316-9.
3. Sato S, Okagaki T, Clark BA, Twigg LB, Fukushima M, Ostrow RS, Faras AJ. Sensitivity of Koilocytosis, immunohistochemistry, and Electron Microscopy as Compared to DNA Hybridization in Detecting Human Papillomavirus in Cervical and Vaginal Condyloma and Intraepithelial Neoplasia. *Int J Gyne Pathol* 1987; 5:297-307.
4. Dyson JL, Walker PG, Singer A. Human Papillomavirus Infection of the Uterine Cervix: Histological Appearances in 28 Cases Identified by Immunohistochemical Techniques. *J Clin Pathol* 1984; 37:126-30.
5. Jenkins D, Tay SK, McCance DJ, Campion MJ, Clarkson PK, Singer A. Histological and Immunocytochemical Study of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) with Associated HPV 6 and 16 Infections. *J Clin Pathol* 1986; 39:1177-80.
6. Boon ME, Kok LP. Koilocytotic Lesions of the Cervix: The Interrelation of Morphometric Features, the Presence of papillomavirus Antigens and the Degree of Koilocytosis. *Histopathol* 1985; 9:751-63.
7. Bistoletti P, Zellbi A, Moreno Lopez J, Hjerpe A. Genital Papillomavirus Infection After Treatment for Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) III. *Cancer* 1988;62:2056-59.
8. Kadish AS, Burk RD, Kress Y, Calderin S, Romney SL. Human Papillomaviruses of Different Types in Precancerous Lesions of the Uterine Cervix. *Hum Pathol* 1986; 17:384-92.