

Servikal Kanserli Hastalarda *Chlamydia trachomatis* Seropozitifliğinin Araştırılması*

Investigation of *Chlamydia trachomatis* Seropositivity in Patients with Cervical Cancer

Mustafa ÖNEL¹, Seden KÜŞÜCÜK², Gökhan TÖRE², Ali AĞAÇFIDAN¹

¹ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

¹ İstanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

² İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Onkoloji Enstitüsü, İstanbul.

² İstanbul University Faculty of Medicine, Institute of Oncology, Istanbul, Turkey.

* Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği (Proje No: T-1128/18062001) tarafından desteklenmiştir.

Geliş Tarihi (Received): 24.04.2013 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 29.05.2013

ÖZET

Chlamydia trachomatis dünyada en sık rastlanan cinsel temasla bulaşan bakteriyel patojendir. Klamidya enfeksiyonlarının, yüksek riskli insan papillomavirus tipleri ile oluşan servikal kanserlerde kofaktör olarak rol oynayabileceği ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmada, servikal kanserli kadınlarda klamidya enfeksiyonu sıklığının belirlenmesi amacıyla *C.trachomatis*'e özgül antikor pozitifliği araştırılmıştır. Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsünde servikal kanser tanısı ile tedavi gören opere edilmiş 77 kadın hasta ile kontrol grubu olarak 20 sağlıklı kadın olgu dahil edilmiştir. Çalışma gruplarına ait serum örneklerinde *C.trachomatis*'e özgül IgG, IgA ve IgM tipi antikorların varlığı, mikroimmünofloresan yöntemiyle ticari kit (Orgenium Laboratories, Finlandiya) kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmamızda, 20 sağlıklı kontrol bireyin (yaş ortalaması: 30.25 ± 6.4 yıl) hepsi seronegatif bulunmuş, buna karşın servikal kanserli hastalarda seropozitiflik oranı %9.1 (7/77) olarak tespit edilmiştir. Serolojik verilere göre, dört olgu sadece IgG pozitifliği ile (titreler: 3 olguda 1/16, bir olguda 1/32) geçirilmiş enfeksiyon; iki olgu IgG + IgM pozitifliği ile (titreler: her iki hastada da IgG 1/64 ve IgM 1/64) akut enfeksiyon; bir olgu ise IgG + IgA pozitifliği ile (titreler: IgG 1/128 ve IgA 1/20) kronik enfeksiyon olgusu olarak yorumlanmıştır. Seropozitif hastaların yaş ortalaması 53.88 ± 12.1 yıl olup, üç olgunun FGK, üç olgunun BDE ve bir olgunun CHIJ serogrubuna karşı antikor içerdiği tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan olguların hepsi daha önceden cinsel yolla bulaşan bir hastalık geçirmediğini ifade etmişlerdir. *C.trachomatis*'e özgül IgG, IgA ve IgM tipi antikorlar açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (IgG için p= 0.339, IgA için p= 1.000, IgM için p= 1.000). Ancak çalışma gruplarımıza ait olgu

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Ali Ağaçfidan, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 212 635 2459, **E-posta (E-mail):** aagacidan@hotmail.com

sayılarının az olması nedeniyle istatistiksel değerlendirmenin yol gösterici olmayabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak, servikal kanser gelişiminde klamidya enfeksiyonlarının rolü ile ilgili verilerin, geniş olgu gruplarını içeren ileri çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *Chlamydia trachomatis*; servikal kanser; seropozitiflik; mikroimmünofloresan (MIF).

ABSTRACT

Chlamydia trachomatis is the most frequent bacterial pathogen causing sexually transmitted diseases worldwide. Many studies emphasize that chlamydial infections may play role as a cofactor in cervical cancers caused by high risk human papillomavirus types. The aim of this study was to investigate the presence of antibodies specific for *C.trachomatis* in patients with cervical cancer in order to detect the frequency of chlamydial infections. A total of 77 patients diagnosed as cervical cancer who have undergone surgery and on treatment at Oncology Institute of Istanbul Faculty of Medicine were included in the study, together with 20 healthy women as the control group. Serum samples obtained from patient and control groups were investigated by a commercial microimmunofluorescence kit (Orgenium Laboratories, Finland) for the detection of *C.trachomatis* IgG, IgA and IgM antibodies. All of the control subjects (mean age: 30.25 ± 6.4 years) were found seronegative, however the seropositivity rate detected in patients with cervical cancer was 9.1% (7/77). Serological data were interpreted as previous infections in four patients with single IgG positivity (titers: 1/16 in three and 1/32 in one patient), acute infections in two patients with IgG + IgM positivity (titers: IgG 1/64 and IgM 1/64 for both patients), and chronic infection in one patient with IgG + IgA positivity (titers: IgG 1/128 and IgA 1/20). The mean age of seven seropositive patients was 53.88 ± 12.1 years, and three of them had antibodies against FGK, three against BDE and one against CHIJ serogroups of *C.trachomatis*. None of the cases had the history of sexually transmitted disease. No statistically significance was found between patient and control groups regarding *C.trachomatis* IgG, IgA and IgM seropositivity (for IgG; p= 0.339, for IgA; p= 1.000, for IgM; p= 1.000). However, it was thought that the statistical evaluations may not be conclusive due to the small number of study groups. In conclusion further studies with large numbers of cases are needed to understand the role of chlamydia infections in the development of cervical cancer.

Key words: *Chlamydia trachomatis*; cervical cancer; seropositivity; microimmunofluorescence (MIF).

GİRİŞ

Chlamydia trachomatis dünyada en sık rastlanan cinsel temasla bulaşan bakteriyel patojen olarak bilinmektedir¹. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre her yıl 92 milyon *C.trachomatis* olgusu rapor edilmektedir². Klamidya enfeksiyonları kadınlarda sıklıkla asemptomatik seyirli olduğundan gözden kaçırılmakta ve çoğu zaman tedavi edilememektedir.

Günümüzde servikal kanserlerin yaklaşık %70'inden insan papillomavirusu (HPV) tip 16 ve 18'in sorumlu olduğu iyi bilinmektedir³. Yapılan çalışmalarda, dünyada normal servikal sitolojiye sahip kadınların yaklaşık %12'sinin HPV yüksek risk grubu tipleriyle enfekte olduğu vurgulanmaktadır⁴. Yüksek onkogenik HPV tipleri ile servikal neoplazi oluşumu sırasında, olgularda cinsel yolla bulaşan diğer enfeksiyonların varlığı risk faktörü olarak kabul edilmektedir⁵. Bunlardan biri olan klamidya enfeksiyonlarının da servikal kanserlerde kofaktör olarak rol oynayabileceği ile ilgili son yıllarda yapılan çeşitli moleküler biyolojik ve seroepidemiyolojik çalışmalar mevcuttur⁶⁻¹³. Bu çalışmalarda değişik görüş-

lerin ve çelişkili bulguların rapor edildiği dikkati çekmektedir. Bu çalışmada, servikal kanserli kadınlarda klamidy enfeksiyonu sıklığının belirlenmesi amacıyla *C.trachomatis* IgG, IgA ve IgM antikor pozitifliği araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı ile gerçekleştirildi ve hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alındı. Çalışmaya, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsünde servikal kanser tanısı ile tedavi gören opere edilmiş 77 kadın hasta ile kontrol grubu olarak 20 sağlıklı kadın olgu dahil edildi. Hasta ve kontrol olgulardan alınan kan örnekleri santrifüj edilip serumları ayrıldıktan sonra çalışılncaya kadar -20°C'de saklandı.

Çalışma gruplarına ait serum örneklerinde *C.trachomatis*'e özgül IgG, IgA ve IgM tipi antikorların varlığı, mikroiimmünofloresan (MIF) yöntemiyle ticari kit (Orgenium Laboratories, Finlandiya) kullanılarak üretici firmanın önerilerine göre araştırıldı. Bu test ile *C.trachomatis*'in BDE, CHII, FGK serogrupları ve LGV suşuna karşı hasta ve kontrol olguların serum örneklerinde IgG, IgA ve IgM antikorları kantitatif olarak belirlendi. Pozitif sonuçlar, örneklerde parlak yeşil renkte floresan veren elementer cisimcik (EC)'lerin görülmesi, negatif sonuçlar ise örneklerde floresan veren görüntülerin olmaması ile değerlendirildi. Ayrıca kitin açıklamasında belirtildiği gibi; IgG, IgM ve IgA titrelerinde ≥ 4 kat artış olması ve/veya IgM titresinin $\geq 1/20$ pozitif olması akut *C.trachomatis* enfeksiyonu olarak kabul edildi.

Verilerin istatistik analizleri Fischer's ki-kare testi ve yüzde oran kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda, 20 sağlıklı kadının (yaş ortalaması: 30.25 ± 6.4 yıl) hiçbirisinde *C.trachomatis*'e özgül IgG, IgA ve IgM antikor pozitifliği saptanmamış, buna karşın servikal kanserli 77 hastanın 7 (%9.1)'inde seropozitiflik belirlenmiştir. Yaş ortalaması 53.88 ± 12.1 yıl olan seropozitif hastalarda antikor tipleri, titreleri, *C.trachomatis* serogruplarının dağılımı ve sonuçların olası yorumu Tablo I'de gösterilmiştir. Çalışmaya alınan hastaların

Tablo I. Seropozitif Hastaların Antikor Tipi, Titresi, Serogrup Dağılımları ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Hasta no	<i>C.trachomatis</i> antikor titresi (Serogrup)			Sonuçların olası yorumu*
	IgM	IgG	IgA	
1	-	1/128 (BDE)	1/20 (BDE)	Kronik enfeksiyon
2	-	1/32 (CHII)	-	Geçirilmiş enfeksiyon
3	-	1/16 (BDE)	-	Geçirilmiş enfeksiyon
4	-	1/16 (BDE)	-	Geçirilmiş enfeksiyon
5	-	1/16 (FGK)	-	Geçirilmiş enfeksiyon
6	1/64 (FGK)	1/64 (FGK)	-	Akut enfeksiyon
7	1/64 (FGK)	1/64 (FGK)	-	Akut enfeksiyon

* Test, prospektüsündeki önerilere göre yapılmıştır.

%98.7 (76/77)'si ve kontrollerin %70 (14/20)'i evli olup, çalışma kapsamındaki olguların hepsi, daha önceden cinsel yolla bulaşan bir hastalık geçirmediğini ifade etmişlerdir.

Yapılan değerlendirmede, *C. trachomatis*'e özgül IgG, IgA, ve IgM tipi antikorların dağılımı açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (IgG için $p = 0.339$, IgA için $p = 1.000$, IgM için $p = 1.000$).

TARTIŞMA

Cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBH) tüm dünyada önemli halk sağlığı sorunlarından birisidir. CYBH içinde en sık görülen enfeksiyonlar bakteriyel bir patojen olan *C. trachomatis* ile viral bir patojen olan HPV tarafından oluşturulmaktadır. Yüksek riskli onkogenik HPV tipleri ile oluşan servikal kanser ise, her yıl yaklaşık 274.000 kadının hayatını kaybetmesine neden olmaktadır^{14,15}. Son yıllarda özellikle gelişmiş ülkelerde uygulanan düzenli tarama programları ve HPV aşısı uygulamaları sayesinde servikal kanser sıklığının azalması beklentisi mevcuttur¹⁶. Ancak gelişmekte olan ülkelerde ve ülkemizde, tarama programlarının düzenli olmaması ve aşılamanın yaygınlaşmaması nedeniyle servikal kanserin ciddi bir sorun oluşturmaya devam edeceği öngörülebilir. Dolayısıyla servikal kanserlerle ilişkili risk faktörlerinin belirlenmesi ve etyopatogenezin araştırılması giderek daha büyük bir önem taşımaktadır⁸.

Servikal kanser gelişimi ile ilişkili olan kofaktörler arasında; sigara içimi, uzun süreli oral kontraseptif kullanımı, yüksek parite sayısı, düşük sosyoekonomik düzey ve HIV, herpes simpleks virus (HSV) ve *C. trachomatis* gibi etkenlerle enfekte olmak sayılabilir^{5,14,15}. Yapılan büyük ölçekli seroepidemiolojik ve PCR temelli çalışmalar, *C. trachomatis*'in HPV'ye bağlı servikal karsinogenezde kofaktör rolü oynayabileceğini ve her iki etken arasında bir sinerji olduğunu desteklemektedir^{6,10,17-20}. *C. trachomatis* gerek immün yanıtın etkisi değiştirerek (proinflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunu artırmak, hücreler arası adezyonu değiştirmek, hücre farklılaşmasını bozmak vb.) gerekse servikal metaplaziyi uyarak, yüksek riskli HPV tiplerinin o bölgeye yerleşmesi için uygun ortam sağlamaktadır^{8,19}.

Anttila ve arkadaşları²¹ servikal kanserli 128 hastada yaptıkları çalışmada, MIF yöntemiyle *C. trachomatis* IgG antikor pozitifliğini %31 olarak bildirmişler; en sık saptanan serogrubun BDE (%56.5) olduğunu, bunu CHIJ (%26) ve FGK (%17.5)'nin izlediğini ifade etmişlerdir. Bu araştırmacılar, farklı *C. trachomatis* serotipleri ile karşılaşmanın, servikal kanser ile önceden geçirilmiş genital klamidy enfeksiyonu arasındaki bağlantıyı desteklediğini savunmuşlar ve HPV tip 16, 18 ve 33'e karşı antikor bulunan kişilerde servikal kanser riskinin *C. trachomatis* antikorlarının varlığında 2.5 kat arttığını öne sürmüşlerdir²¹. Smith ve arkadaşlarının²² yaptıkları çalışmada ise, yine MIF yöntemiyle, servikal kanserli 455 hastanın %47.7'sinde ve 539 kontrol olgunun %22.1'inde *C. trachomatis* IgG pozitifliği bildirilmiş; servikal kanser gelişiminde esas rolü HPV'nin üstlendiği, *C. trachomatis*'in ise HPV'nin bir kofaktörü olduğu belirtilmiştir. Brezilya'da yapılan bir çalışmada da, servikal neoplazisi olan 131 hastada *C. trachomatis* IgG pozitifliği ELISA yöntemiyle %26 olarak bulunmuş; 31 (%27.4) hastada *C. trachomatis* IgG ile HPV-DNA birlikte saptanmış ve

C.trachomatis seropozitifliğinin yüksek düzey (grade) neoplazi ile anlamlı ilişkili gösterdiği ifade edilmiştir¹⁰.

Bizim çalışmamızda, servikal kanserli olgularda *C.trachomatis* seropozitifliği %9.1 (7/77) olarak saptanmış; üç olgunun FGK, üç olgunun BDE ve bir olgunun CHIJ serogrubuna karşı antikor içerdiği tespit edilmiştir. Verilerimize göre, dört olgu sadece IgG pozitifliği ile geçirilmiş enfeksiyon; iki olgu IgG + IgM pozitifliği ile akut enfeksiyon ve bir olgu da IgG + IgA pozitifliği ile kronik enfeksiyon olgusu olarak yorumlanmıştır (Tablo I). Kontrol grubundaki bireylerin hiçbirisinde (0/20) *C.trachomatis* seropozitifliği izlenmemiştir. Hasta grubumuzda elde edilen seropozitiflik oranının diğer çalışmalardan daha düşük olmasının, hasta sayıları ve çalışma gruplarının cinsel davranış modellerindeki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızın en önemli sınırlamaları, hasta ve kontrol grubu sayılarının düşük olması ve hastaların tamamı önceden opere olduğundan, hastalara ait doku örneklerinde *C.trachomatis* ve HPV-DNA'larının araştırılamamış olmasıdır. Çalışma gruplarımızdaki olgu sayısının az olması nedeniyle istatistiksel değerlendirmenin de anlamlı olmayabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak, servikal kanser gelişiminde klamidya enfeksiyonlarının rolü ile ilgili verilerin, geniş olgu gruplarını içeren prospektif, randomize, klinik, moleküler ve serolojik çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Mylonas I. Female genital *Chlamydia trachomatis* infection: where are we heading? Arch Gynecol Obstet 2012; 285(5): 1271-85.
2. World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_HIV_AIDS_2001.02.pdf
3. Roset Bahmanyar E, Paavonen J, Naud P, et al; HPV PATRICIA Study Group. Prevalence and risk factors for cervical HPV infection and abnormalities in young adult women at enrolment in the multinational PATRICIA trial. Gynecol Oncol 2012; 127(3): 440-50.
4. Konopnicki D, Manigart Y, Gilles C, et al. High-risk human papillomavirus infection in HIV-positive African women living in Europe. J Int AIDS Soc 2013; 16: 18023.
5. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. Vaccine 2006; 24 (Suppl 1):S1-15.
6. Finan RR, Tamim H, Almawi WY. Identification of *Chlamydia trachomatis* DNA in human papillomavirus (HPV) positive women with normal and abnormal cytology. Arch Gynecol Obstet 2002; 266(3): 168-71.
7. Tamim H, Finan RR, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis*. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 43(4): 277-81.
8. Simonetti AC, Melo JH, de Souza PR, Bruneska D, de Lima Filho JL. Immunological's host profile for HPV and *Chlamydia trachomatis*, a cervical cancer cofactor. Microbes Infect 2009; 11(4): 435-42.
9. Deluca GD, Basiletti J, Schelover E, et al. *Chlamydia trachomatis* as a probable cofactor in human papillomavirus infection in aboriginal women from northeastern Argentina. Braz J Infect Dis 2011; 15(6): 567-72.
10. da Silva Barros NK, Costa MC, Alves RR, et al. Association of HPV infection and *Chlamydia trachomatis* seropositivity in cases of cervical neoplasia in Midwest Brazil. J Med Virol 2012; 84(7): 1143-50.
11. de Abreu AL, Nogara PR, Souza RP, et al. Molecular detection of HPV and *Chlamydia trachomatis* infections in Brazilian women with abnormal cervical cytology. Am J Trop Med Hyg 2012; 87(6): 1149-51.
12. Farivar TN, Johari P. Lack of association between *Chlamydia trachomatis* infection and cervical cancer--Taq Man realtime PCR assay findings. Asian Pac J Cancer Prev 2012; 13(8): 3701-4.

13. Bhatla N, Puri K, Joseph E, Kriplani A, Iyer VK, Sreenivas V. Association of *Chlamydia trachomatis* infection with human papillomavirus (HPV) & cervical intraepithelial neoplasia - a pilot study. *Indian J Med Res* 2013; 137(3): 533-9.
14. Bosch FX, de Sanjosé S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers* 2007; 23(4): 213-27.
15. Brankovic I, Verdonk P, Klinge I. Applying a gender lens on human papillomavirus infection: cervical cancer screening, HPV DNA testing, and HPV vaccination. *Int J Equity Health* 2013; 12: 14.
16. Vaccarella S, Lortet-Tieulent J, Plummer M, Franceschi S, Bray F. Worldwide trends in cervical cancer incidence: impact of screening against changes in disease risk factors. *Eur J Cancer* 2013; pii: S0959-8049(13)00358-4.
17. Gopalkrishna V, Aggarwal N, Malhotra VL, et al. *Chlamydia trachomatis* and human papillomavirus infection in Indian women with sexually transmitted diseases and cervical precancerous and cancerous lesions. *Clin Microbiol Infect* 2000; 6(2): 88-93.
18. Paavonen J. *Chlamydia trachomatis* infections of the female genital tract: state of the art. *Ann Med* 2012; 44(1): 18-28.
19. Lehtinen M, Ault KA, Lyytikäinen E, et al. *Chlamydia trachomatis* infection and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Sex Transm Infect* 2011; 87(5): 372-6.
20. Arnheim Dahlström L, Andersson K, Luostarinen T, et al. Prospective seroepidemiologic study of human papillomavirus and other risk factors in cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20(12): 2541-50.
21. Anttila T, Saikku P, Koskela P, et al. Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA* 2001; 285(1): 47-51.
22. Smith JS, Muñoz N, Herrero R, et al. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 2002; 185(3): 324-31.