

Üst Solunum Yolları Malign Lezyonlarında HPV Tip 16, 18, 31 ve 33 DNA Prevalansının Araştırılması

Investigation of the Prevalence of HPV DNA Types 16, 18, 31 and 33 in Malignant Lesions of the Upper Respiratory Tract

Dr. Ebru KORKMAZ,^a
Dr. Yasemin BULUT,^a
Dr. Adnan SEYREK,^a
Dr. İ. Hanifi ÖZERCAN,^b
Dr. Zülal Aşçı TORAMAN^a

^aMikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD,
^bPatoloji AD,
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ

*Mevcut çalışma,
3. Ulusal Viroloji Kongresi
(9-13 Aralık 2007, Uludağ)'nde
poster olarak sunulmuştur.*

Geliş Tarihi/Received: 17.04.2009
Kabul Tarihi/Accepted: 13.01.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Yasemin BULUT
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD,
Elazığ,
TÜRKİYE/TURKEY
ygoncbulut@hotmail.com

ÖZET Amaç: Bu çalışmanın amacı, üst solunum yolları malign lezyonlarında Human papillomavirus (HPV) görülme sıklığının ve genotiplerini belirlenmesidir. **Gereç ve Yöntemler:** HPV varlığının araştırılması için vaka grubu olarak üst solunum yollarında epidermoid karsinom tanısı konulmuş olan yetmiş beş hastanın arşivlenmiş parafinize doku örneği polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle analiz edilmiştir. Kontrol grubu olarak ise üst solunum yolları benign lezyonlu yirmi beş hastanın arşivlenmiş parafinize doku örneği kullanılmıştır. HPV tip 16, 18, 31 ve 33'ün saptanması, tipe özgül primerler kullanılarak yapılmıştır. **Bulgular:** Yetmiş beş üst solunum yolu kanseri örneğinin yirmi beş tanesi (%33) HPV DNA yönünden pozitif olarak belirlenmiştir. HPV pozitif olan örneklerin on biri (%44) HPV 16, sekizi (%32) ise HPV 18 DNA yönünden pozitif olarak kaydedilmiştir. Bir olguda ise HPV 16 ve HPV 18 birlikteliği tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise yirmi beş benign dokunun dördü (%16) HPV pozitif olarak kaydedilmiştir. Bu pozitif doku örneğinin birinde (%25) HPV 16 DNA, birinde de (%25) HPV 18 DNA pozitifliği tespit edilmiştir. **Sonuç:** Bu çalışmadan elde edilen bulgular, üst solunum yolları malign lezyonlarında HPV tip 16 ve 18'in yüksek sıklıkta varlığına rağmen, HPV DNA varlığı ile tümoral oluşumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını göstermiştir. Ancak, Türkiye'deki HPV enfeksiyonlarının epidemiyolojisinin daha iyi aydınlatılabilmesi için bu konuda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Human papillomavirus, polimeraz zincir reaksiyonu, epidermoid karsinom

ABSTRACT Objective: The aim of the present study was to determine the frequency and types of human papillomavirus (HPV) in malignant lesions of the upper respiratory tract. **Material and Methods:** As case group, the paraffinized tissue samples from 75 patients diagnosed as epidermoid carcinoma of the upper respiratory tract were analyzed with the polymerase chain reaction (PCR) method for the detection of the presence of human papillomavirus. Samples from 25 patients with benign lesion of the upper respiratory tract were used as the control group. HPV type 16, 18, 31 and 33 were determined by using type-specific primers. **Results:** Twenty-five (33%) of 75 tissue samples from patients with carcinoma of the upper respiratory tract were found positive for HPV DNA. Among these HPV positive samples, 11 (44%) were HPV DNA type 16 positive, and eight samples (32%) were HPV DNA type 18 positive. In one patient, HPV DNA type 16 and HPV DNA type 18 positivity were found together. Four (16%) of 25 samples with benign lesions were found positive for HPV DNA. Among these samples, one (25%) was HPV DNA type 16 and one (25%) was HPV DNA type 18 positive. **Conclusion:** The results of this study suggest that, although HPV DNA type 16 and HPV DNA type 18 are often found in the malignant lesions of the upper respiratory tract, there was not statistically significant difference between the presence of HPV DNA and tumor ($p > 0.05$). However, more comprehensive studies are required to elucidate the epidemiology of HPV infections in Turkey.

Key Words: Human papillomavirus, polymerase chain reaction, epidermoid carcinoma

Deri ve müköz membranların benign ve malign lezyonlarından sıklıkla saptanmakta olan human papillomavirus (HPV)'un yüz yirmiden fazla farklı genotipi bulunmaktadır. Bu papillomavirus genotipleri hem değişik anatomik bölgelere yerleşme eğilimi hem de oluşturdıkları lezyon tipleri açısından farklılık göstermektedir. Servikal kanserlerde yapılan çalışmalara göre 16, 18, 45, 56 ve 58 tipleri yüksek riskli; 31, 33, 35, 39, 51, 52, 59, 67, 68 ve 70 tipleri orta riskli ve 6, 11, 42, 43, 44, 53, 61, 72, 74, 81, 83 ve 84 tipleri ise düşük riskli gruplar olarak değerlendirilmektedir.¹⁻³

Human papillomavirus spektrumunun çeşitliliği, genotiplerin farklılığına göre prognozun farklı seyretmesi ve tiplere göre olgulara tedavi yaklaşımının farklılık arz etmesi, HPV tiplerinin belirlenmesinde güvenilir metotların kullanıma sokulmasını gerekli kılmıştır. Human papillomavirus genotiplerinin belirlenmesi epidemiyolojik açıdan da oldukça önemlidir. Özellikle son yıllarda koruyucu aşılama çalışmalarının hız kazanması ile birlikte, genotipe spesifik aşuların seçilebilmesi bakımından, ülkesel ve bölgesel bazda genotiplerin belirlenmesi daha da önemli hâle gelmiştir.⁴

Oral kavite ve orofarinks kanserleri dünyadaki önemli toplum sağlığı problemlerinden birisidir. Etiyolojik faktörlerin başında %90 oranında tütün ve alkol kullanımı yer alırken beslenme yetersizlikleri ve kötü ağız hijyeni de risk faktörleri arasındadır. Human papillomavirus, tüm servikal kanserlerde etiyolojik ajan olarak gösterilmiştir. Baş ve boyunda gözlenen kanserler içerisinde orofarinks ve oral kavite kanserlerinde HPV daha sık saptanmıştır. Ancak HPV enfeksiyonunun baş ve boyun kanserlerinde prognostik bir faktör olarak kullanılıp kullanılmayacağı konusu hâlâ tartışmalıdır. Yapılan çalışmalar, HPV pozitifliği ile klinik hastalık sıklığının bağlantılı olduğunu, HPV varlığının prognoz açısından ek olarak kullanılabilir bir marker olabileceğine işaret etmektedir.^{4,5}

Ülkemizde üst solunum yolu kanserlerinde bu virusun belirlenmesi ve genotiplendirilmesine yönelik sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır.⁶⁻⁸ Güngör ve ark.nın 99 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada HPV DNA prevalansı %7.36 olarak saptanırken, tespit edilen HPV genotipleri tip 6, 11 ve

16 olarak kaydedilmiştir.⁶ Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada in situ hibridizasyon tekniği ile larinksin papillomları, prekanseröz lezyonları ve kanserlerinde HPV DNA araştırılmış ve skuamöz hücreli karsinom olgularında HPV DNA pozitifliği %69.2 olarak tespit edilmiştir.⁷ Başka bir çalışmada da 21 larinks ve 26 akciğer karsinomunda HPV DNA varlığı in situ hibridizasyon tekniği ile araştırılmış ve HPV DNA pozitiflik oranı sırasıyla %47, 6 ve %11.5 olarak bulunmuştur.⁸

Bu çalışmada bölgemizde görülen üst solunum yolları malign lezyonlarında HPV varlığının tespit edilmesi ile tüm dünyada en sık rastlanan ve orta-yüksek risk grubu içinde yer alan HPV genotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

HASTALARIN SEÇİMİ VE ÖZELLİKLERİ

Çalışma projemiz için, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onay alındıktan sonra, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında 1998-2006 yılları arasında üst solunum yollarında (oral kavite, nazal kavite, orofarinks, nazofarinks, larinks) epidermoid karsinom tanısı konmuş 75 hastaya ait doku örnekleriyle vaka grubu, farklı hastaların aynı anatomik bölgelerinden ekzizyon yolu ile alınmış 25 benign lezyonun seçilmesiyle de kontrol grubu oluşturuldu.

Çalışmaya dahil edilen toplam 100 örneğin 87'si erkeklerden, 13'ü ise kadınlardan alındı. Hastaların yaşları 30 ilâ 82 arasında değişmektedir. Malignant grubu oluşturan örneklerin 57'si larinks, sekizi oral kavite, altısı nazofarinks ve dördü nazal kavite dokularından elde edildi. Benign grubu oluşturan örneklerin ise 13'ü larinks, dördü oral kavite, altısı nazofarinks ve ikisi nazal kavite dokularındır.

Parafine gömülü dokulardan mikrotom ile 5-10 µm kalınlığında beş kesit alınarak 1.5 ml'lik steril ependorf tüplerine konuldu. Elde edilen örnekler HPV yönünden incelenmek üzere Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderildi ve DNA izolasyonu yapıncaya kadar 4°C'de saklandı.

PARAFİN BLOK KESİTLERİNDEN DNA İZOLASYONU

Tüm örneklerden, AbsoGene DNA izolasyon kiti ile, üretici firmanın (RTA Lab., Ltd., Koceli, Türkiye) önerileri doğrultusunda, DNA izolasyonu yapıldı. Bu işlemler bittikten sonra, DNA izolasyonunun ve PZR yönteminin kontrolü amacıyla, elde edilen total DNA'ların miktarı, önce spektrofotometrede OD280/OD260'da ölçüldü. Daha sonra elde edilen DNA'ların sulandırılması steril nükleaz free-dH₂O ile gerçekleştirildi.

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Human papillomavirus tiplerine spesifik PZR kurulmadan önce HPV pozitifliğini belirlemek amacıyla konsensus primerlerle (MY09/MY11 ve GP5+/GP6+) nested PZR gerçekleştirildi. MY09/ MY11 primerleri HPV genomunun L1 bölgesinin dışsal primerleri olarak değerlendirilmekte ve genomun 450 bç'lik bölümünü saptamaktadır. İçsel primer olan GP5+/GP6+ primerleri kullanılarak kurulan nested PZR'de ise, birinci PZR'de saptanan bu 450 bç'lik bölümün iç kısmından 143 bç'lik olan bölümün saptanması hedeflenmektedir (Tablo 1).⁹

Daha sonraki aşamada nested PZR ile HPV pozitif tespit edilen tüm örnekler HPV 16, 18, 31 ve 33 tiplerine ait primerler kullanılarak HPV tiplendirilmesi yapıldı (Tablo 1).^{10,11}

Yukardaki her bir primer çifti ile ayrı ayrı gerçekleştirilen PZR'de her bir örnek için 5 µl MgCl₂ (2 µM), 5 µl 10X PZR buffer, 4 µl dNTP (her birinden

200 mM), her bir ileri ve geri primerden 3 µl (her birinden 20 pM), 0.5 µl *Taq* DNA polimeraz (1U) ve 27.5 µl dH₂O'dan oluşan PZR karışımı ve 5 µl template DNA konularak, toplam 50 µl'lik bir karışım hazırlandı. Polimeraz zincir reaksiyonu işlemi 94°C'de dört dakikalık bir ısıtmayı takiben sırasıyla 94°C'de 1 dk, 56°C'de 1 dk, 72°C'de 1 dk olmak üzere toplam otuz altı döngü üzerinden gerçekleştirildi. Örnekler son uzatma periyodu için 72 °C'de 10 dk tutuldu. Tüm PZR çoğaltma ürünleri etidyum bromit içeren %2'lik agaroz jelde yürütüldü ve ultraviyole transilluminatörde incelenip resmedildi.

Çalışmanın her aşamasında pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Pozitif kontrol olarak laboratuvardaki daha önceki rutin çalışmalarda HPV 16, 18, 31 ve 33 tipleri yönünden pozitif olduğu tespit edilen vajinal sürüntü örneklerine ait DNA'lar tercih edildi. Negatif kontrol olarak ise, hem DNA izolasyonu, hem de PZR aşamalarında steril DEPC'li (diethylpyrocarbonate) nükleaz free-su (Applchem, Germany) kullanıldı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Bu çalışmada verilerin istatistiksel analizinde ki-kare testi (Fisher's Exact Test) kullanıldı.¹² P <0.05 olması istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmadaki vaka grubunu oluşturan 75 malign örneğin 25'i (%33) ve 25 benign doku örneğinin

TABLO 1: Çalışmada kullanılan HPV primerleri.

	Primer adı	Primer sekansı (5'-3')	PZR ürün boyutu (baz çifti; bç)
1	MY09 MY11	CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG	450
2	GP5+ GP6+	TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT	143
3	HPV 16F HPV 16R	TCG ATG TAT GTC TTG TTG CAG GGT TAC AAT ATT GTA ATG GGC	225
4	HPV 18F HPV 18R	AAA CTA ACT AAC ACT GGG TTA TAC ATG GCA CTG GCC TCT ATA GT	143
5	HPV 31F HPV 31R	GAA ATT GCA TGA ACT AAG CTC G CAC ATA TAC CTT TGT TTG TCA A	263
6	HPV 33F HPV 33R	ACT ATA CAC AAC ATT GAA CTA GTT TTT ACA CGT CAC AGT GCA	398

(W:A ya da T, M: A ya da C, R: A ya da G) , (Y:C ya da T)

TABLO 2: PZR pozitiflik oranları.

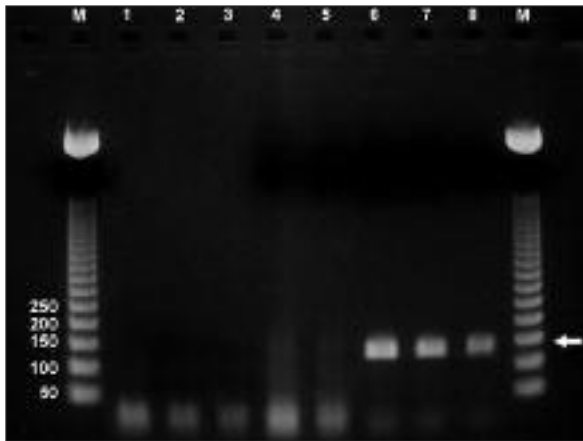
	Tümöral Doku (n: 75)	Kontrol Doku (n:25)
HPV pozitif	25 (%33)	4 (%16)
HPV 16 DNA	11 (%44) ^a	1 (%25) ^b
HPV 18 DNA	8 (%32) ^a	1 (%25) ^b
HPV 16+ 18 DNA	1 (%4) ^a	—
HPV 31 DNA	—	—
HPV 33 DNA	—	—
Tiplendirilemeyen	5 (%20) ^a	2 (%50) ^b

^a; HPV pozitif tümöral dokular içinde (n:25) belirlenen genotiplerin yüzde oranı.

^b; HPV pozitif kontrol dokular içinde (n:4) belirlenen genotiplerin yüzde oranı.

dördü (%16) genomun L1 bölgesine yönelik konsensus MYO9/MY11-GP5+/ GP6+ primerleri ile kurulan nested PZR sonrasında pozitif olarak bulunmuştur (Tablo 2). HPV pozitif PZR ürünleri Şekil 1'de gösterilmiştir.

HPV pozitif örnekleri ve HPV tiplendirme primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR'de 25 malign örneğin 11'inde (%44) HPV 16 DNA'sı, sekizinde (%32) HPV 18 DNA'sı ve bir örnekte (%4) ise HPV 16 ve 18 DNA'sı birlikte pozitif bulunurken, dört kontrol doku örneğinin birinde (%25) HPV 16 DNA, birinde de (%25) HPV 18 DNA pozitifliği tespit edilmiştir (Şekil 2, 3). Tiplendirilen hiçbir örnekte HPV 31 ve HPV 33 DNA varlığı tespit edilememiştir. Malign grupta beş örnek (%20) ve kontrol grubunda ise iki (%50) örnek HPV pozitif bulunmalarına rağmen, bu çalışmada test edi-



ŞEKİL 1: MYO9/MY11- GP5+/GP6+ pozitif PZR ürünleri (143 bp) M: 50 bp'lik DNA markeri, 1: DNA izolasyonu negatif kontrol, 2-3: PZR negatif kontrol, 4-5: negatif örnek, 6, 7, 8: HPV pozitif örnekler.

len primerlerin hiçbiri ile çoğalmamış ve bu nedenle 7 bu çalışmada test edilenlerden farklı bir genotip olarak kabul edilmiştir (Tablo 2).

HPV DNA'nın tümöral grupta oldukça yüksek düzeylerde varlığına rağmen, kontrol grubuna kıyasla, HPV DNA varlığı ile tümöral oluşumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($P>0.05$). Ayrıca, kontrol grubuna kıyasla, HPV 16 ve HPV 18 pozitiflikleri ile tümöral oluşumu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($P>0.05$).

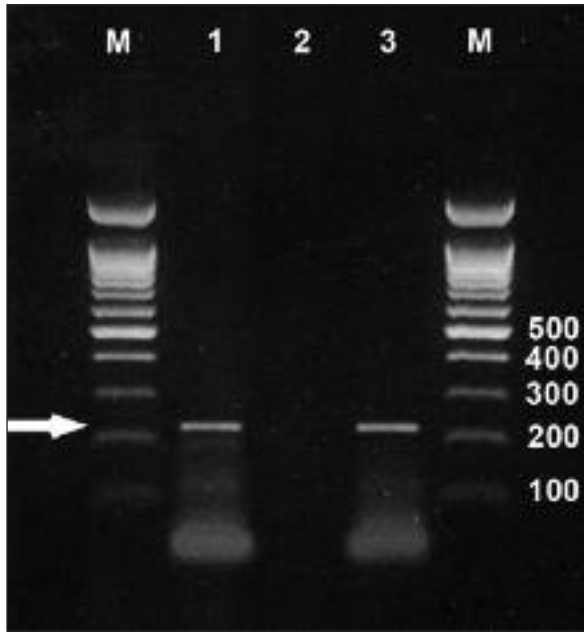
Çalışmada HPV DNA varlığı tespit edilen ve edilmeyen olgularda yaş ortalamaları sırasıyla 58.4 ve 54.6 olarak belirlenmiştir. HPV DNA tespit edilen toplam 29 olgunun 24'ü erkek hastalardan beşi ise kadınlardan alınan örneklerden oluşmaktadır. Ayrıca, HPV DNA tespit edilen toplam 29 olgunun 21'i larinks, dördü oral kavite, üçü nazofarinks ve biri de nazal kavite dokularından elde edilmiştir. İstatistiksel olarak HPV DNA tespit edilen ve edilmeyen olgular arasında yaş, cinsiyet ve doku lokalizasyonu açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$).

TARTIŞMA

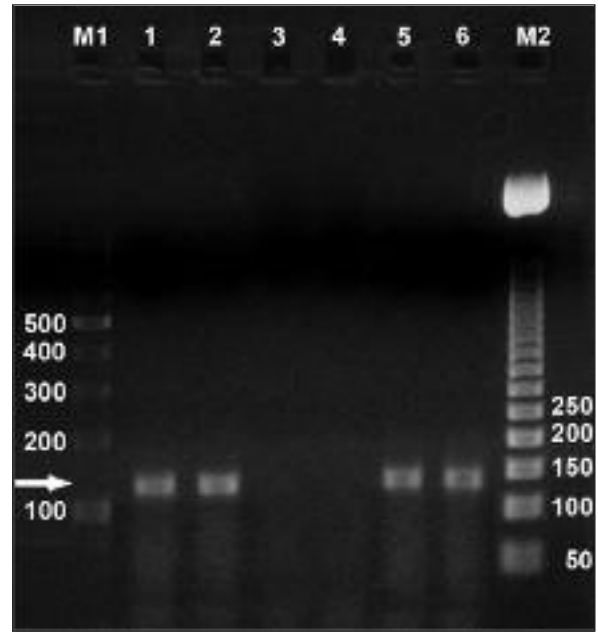
Human papillomavirusun onkojenik potansiyele sahip bir virüs olduğu ilk kez epidermodysplasia verruciformis tanısı almış olan hastalar vasıtasıyla ortaya konulmuştur. Bu hastalarda spesifik HPV tipleri tarafından oluşturulan deri lezyonlarının güneşe maruz kalındığında malign transformasyona uğradığı görülmüştür.^{13,14}

Yüksek riskli HPV tipleri dünyanın her yerinde sıklıkla tespit edilmekle beraber HPV 16 ve 18 tüm dünyada servikal kanserlerin en az %70'inden sorumlu tutulmaktadır. Serviks kanseri tanısı almış hastaların %93'ünden fazlasında özellikle tip 16, 18, 31 ve 45 başta olmak üzere, yüksek riskli HPV genotiplerine ait DNA tespit edilmiştir. Aynı HPV tipleri prekanseröz lezyonlar ve servikal intraepitelyal neoplazilerde de saptanmıştır.¹⁵

Human papillomavirusun kadınlarda servikal kanser gelişimindeki patojenik rolü kesin olarak bilinmesine rağmen, anogenital bölge dışındaki kanserlerdeki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır.



ŞEKİL 2: HPV 16 pozitif PZR ürünleri (225 bç) M: 100 bç'lik DNA markeri, 1, 3: HPV 16 pozitif örnekler, 2: PZR negatif kontrol.



ŞEKİL 3: HPV 18 pozitif PZR ürünleri (143 bç). M1: 100 bç'lik DNA markeri, 1, 2, 5, 6: HPV 18 pozitif örnekler, 3: DNA izolasyonu negatif kontrol, 4: PZR negatif kontrol, M2: 50 bç'lik DNA markeri.

Epidemiyolojik çalışmalarda elde edilen bulgular ve laboratuvar kanıtları, tütün ve alkol kullanımı yanında HPV'nin de baş ve boyun kanserlerinde etiyolojik bir ajan olabileceği yönünde güçlü kanıtlar sunmaktadır. Laringial skuamöz hücreli papillom ve rekürren respiratuvar papillomatozis HPV ile birlikteliği iyi bilinirken HPV'nin laringial kanserlerdeki rolü hâlâ tartışmalıdır.¹⁶

Human papillomavirus ile oral kavite karsinogenezi arasındaki ilişki, sınırlı sayıda epidemiyolojik ve moleküler çalışma ile ortaya konulmaya çalışılmış ve HPV'nin anogenital kanserlerin yanı sıra baş ve boyun kanserlerinde de rol oynadığı gösterilmiştir. Human papillomavirus baş ve boyun kanserleri içinde, orofarinks ve oral kavite kanserlerinde daha sık saptanmış, saptanan subtipler arasında da HPV 16 predominant tip olarak belirlenmiştir.⁴

Human papillomavirusun baş ve boyun kanserlerinde etiyolojik bir faktör olarak rol oynayabileceği, rekürren juvenil respiratuvar papillomatozis hastalığının invaziv epidermoid karsinoma dönüşebilmesinin anlaşılmasıyla ortaya konulmuştur.¹⁵ Ayrıca, tonsil, larinks, hipofarinks, dil ve nazofarinksin primer tümörlerinde ve epidermoid

karsinoma dönüşen papillomlarda HPV DNA'sı gösterilmiştir.^{17,18}

Baş ve boyun kanserleri ile HPV arasındaki ilişki, 1985 yılında Löning ve ark. tarafından ileri sürülmüş ve bu birlikteliğe yönelik güçlü veriler elde edilmiştir.¹⁹ Larinks karsinomlarında HPV'nin tipik sitopatik bulgularının görülmesiyle human papillomavirusun laringial karsinomlar ile birliktelik gösterebileceği ihtimalinin farkına varılmıştır.²⁰ Farklı hibridizasyon teknikleri ve PZR kullanılarak kanserli dokularda HPV DNA'sının gösterilmesi, HPV'nin laringeal kansere yol açabileceği görüşünün en güçlü kanıtıdır.¹⁶ Sigaranın neden olmadığı laringeal kanser vakalarında papillomavirus enfeksiyonu sıklığının yüksek bulunması, bu grup hastalarda gelişen kanserin etiyolojisinde HPV enfeksiyonunun rol oynadığını düşündürmektedir.²¹

Kreimer ve ark. 2005 yılında baş ve boyun kanseri tanısı almış 5046 hastayı kapsayan bir rapor sunmuşlar ve bu hasta grubunda HPV prevalansını %25.9 olarak göstermişlerdir.²² Bu çalışmada HPV prevalansı oral (%23.5) ve laringeal (%24) yassı hücreli karsinoma oranla orofaringial yassı hücreli karsinomlarda (%35.6) daha yüksek

bulunmuştur. En yaygın olarak saptanan HPV tipi, vakaların %16.6'sında saptanmış olan HPV tip 16'dır. Ayrıca bu çalışmada, Kuzey Amerika'da yapılmış çalışmalarda HPV prevalansının Avrupa ve Asya ile kıyaslandığında daha yüksek bulunduğu da görülmüştür.²²

Ülkemizde 1998 yılında yapılan bir çalışmada in situ hibridizasyon tekniği ile larinksin papillomaları, prekanseröz lezyonları ve kanserlerinde HPV DNA araştırılmış ve skuamöz hücreli karsinom olgularında HPV DNA pozitifliği %69.2 olarak tespit edilmiştir.⁶ Diğer bir çalışmada ise 21 larinks ve 26 akciğer karsinomunda HPV DNA varlığı in situ hibridizasyon tekniği ile araştırılmış ve HPV DNA pozitiflik oranı sırasıyla %47.6 ve %11.5 olarak bulunmuştur.⁷ Türk popülasyonunda larinks karsinomlu hastalarda HPV sıklığını tespit etmek için PZR tekniği kullanılarak 99 hasta üzerinde yapılmış bir çalışmada HPV DNA prevalansı %7.36 olarak saptanırken, tespit edilen HPV genotipleri tip 6, 11 ve 16 olarak kaydedilmiştir.⁸

Baş ve boyun kanseri olan 61 hasta üzerinde yapılmış olan bir çalışmada HPV DNA bulunma sıklığı %61 olarak tespit edilmiş, HPV DNA pozitif bu olguların %84'ü HPV tip 16 olarak rapor edilmiştir.²³ Hobbs ve ark. ise yaptıkları geniş kapsamlı bir çalışmada HPV 16 pozitiflik oranının baş ve boyun kanserlerinde %0-86, kontrol grubunda ise %0-38 arasında değiştiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada HPV tip 16 pozitifliğinin anatomik bölge olarak en sık tonsil karsinomunda, orta düzeyde orofarinkste ve en az olarak da larinkste saptandığı rapor edilmiştir.²⁴

Human papillomavirusun baş ve boyun kanserleri içinde özellikle oral kavite ve orofarinks kanserleri üzerindeki prognostik etkisini araştırmak için çok çeşitli çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalardan farklı sonuçlar alınmıştır.²⁵⁻²⁶ Bazı araştırmacılar HPV ile orofarinks kanserleri prognozu arasında düşük bir ilişki bulmuş,²⁶ bazıları ise HPV'nin prognoza etkisinin bulunmadığı görüşüne varmıştır.²⁷

Human papillomavirusun üst solunum yolları malign lezyonlarıyla ilişkisininin araştırıldığı bu çalışmada, kontrol grubuna kıyasla malign lezyonlarda HPV'nin ve özellikle HPV 16 ile 18 tiplerinin yüksek oranda varlığına rağmen, HPV DNA varlığı ile tümoral oluşum arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir.

Sonuç olarak; mevcut çalışmada HPV DNA varlığı ile tümoral oluşum arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiş olmasına rağmen, örnek sayıları, özellikle kontrol örnek sayıları daha yüksek tutularak yapılacak olan yeni araştırmalar, ülkemizde üst solunum yolları kanserlerinde HPV sıklığını ortaya koyma fırsatı sunacak, daha güvenilir bir istatistiksel kıyaslama yapma imkanı tanıyacak ve eldeki verilere epidemiyolojik anlamda daha önemli katkılar sağlayacaktır. Ayrıca, HPV enfeksiyonları ile üst solunum yolları kanserleri arasındaki ilişkiyi saptamaya yönelik olarak yapılacak moleküler çalışmalar, virüsün malign dokulardaki fiziksel durumunun ve karsinogenezdeki potansiyel rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlayacak ve güncel tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Chan SY, Delius H, Halpem AI, Bernard HU. Analysis of genome sequences of 95 human papillomavirus types: Uniting typing filogeny and taxonomy. *J Virol* 1995;69(5):3074-83.
2. Onan MA. 3Virology and epidemiology of HPV and relationship with cancer. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst-Special Topics* 2009;2(1):1-8.
3. Ferris RL, Martinez I, Sirianni N, Wang J, Al-baitero AL, Gollin SM, et al. Human papillomavirus -16 associated squamous cell carcinoma of the head and neck: A natural disease model provides insights into viral carcinogenesis. *Eur J Cancer* 2005;41(5):807-15.
4. Herrero R, Castellsague X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P, et al. Human papillomavirus and oral cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(23):1772-83.
5. Hoffmann M, Görögh T, Gottschlich S, Lohrey C, Rittgen W, Ambrosch P, et al. HPV in head and neck cancer. *Cancer Lett* 2005;218(12):199-206.
6. Gungor A, Cincik H, Baloglu H, Cekin E, Dogru S, Dursun E. Human papilloma virus prevalence in laryngeal squamous cell carcinoma. *J Laryngol Otol* 2007;121(8):772-4.
7. Yalçın Ö, Bilgi S, Candan L, Kutlu K, Adalı MK. [Detection of HPV DNA in larynx precancerous lesions and carcinomas by in situ hybridization method]. *Turkish J Pathol* 1998;15(2):5-9.
8. Kaya H, Kotiloglu E, Inanlı S, Ekicioglu G, Bozkurt SU, Tutkun A, et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in larynx and lung carcinomas. *Pathologica* 2001;93(5):531-4.

9. Sotlar K, Diemer D, Dethleffs 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.
10. Ahn WS, Bae SM, Chung JE, Lee HK, Kim BK, Lee JM, et al. Evaluation of adenoassociated virus 2 and human papilloma virus 16 and 18 infection in cervical cancer biopsies. *Gynecol Oncol* 2003;89(1):105-11.
11. Soultz N, Sourvinos G, Dokianakis DN, Spandidos DA. p53 codon 72 polymorphism and its association with bladder cancer. *Cancer Lett* 2002;179(2):175-83.
12. Akgül A. [Chi-square (χ^2) test]. Akgül A, editor. *Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri*. 1. Baskı. Ankara: YÖK; 1997. p. 303-13.
13. Orth G, Jablonska S, Jarzabek CM, Obalek S, Rzeska G, Favre M, et al. Characteristics of the lesions and risk of malignant conversion associated with the type of human papillomavirus involved in epidermodysplasia verruciformis. *Cancer Res* 1979;39 (2):1074-82.
14. Yarkin F, Vardar MA. [Immunology of HPV and natural infection]. *Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst-Special Topics* 2009;2(1):43-7.
15. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. International Agency for Research on Cancer Multi-center Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348(6):518-27.
16. Syrjänen S. Human papillomavirus in head and neck cancer. *J Clin Virol* 2005;32(1):59-66.
17. Paz B, Cook N, Odom-Maryon T, Xie Y, Wilczynski SP. Human papillomavirus in head and neck cancer. *Cancer* 1997;79(3):595-604.
18. Snijders PJ, Cromme FV, Van den Brule AJC, Schrijnemakers HJF, Snow GB, Walboomers JMM. Prevalence and expression of human papillomavirus in tonsillar carcinomas: indicating a possible viral etiology. *Int J Cancer* 1992;51(6):845-50.
19. Löning T, Ikenberg H, Becker J, Gissman L, Hoepfer I, zur Hausen H. Analysis of oral papillomas, leukoplakias and invasive carcinomas for human papillomavirus type related DNA. *J Invest Dermatol* 1985;84(5):417-20.
20. Syrjänen K, Syrjänen S, Pyrhönen S. Human papilloma virus (HPV) antigens in lesions of laryngeal squamous cell carcinomas. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1982;44(6):323-34.
21. Fouret P, Monceaux G, Temam S, Lacourreye L, StGuily JL. Human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinomas in non-smokers. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;123(5):513-6.
22. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Bio-markers Prev* 2005;14(2):467-75.
23. Koskinen WJ, Chen RW, Leivo I, Makitie A, Back L, Kontio R, et al. Prevalence and physical status of human papillomavirus in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Int J Cancer* 2003;107(3):401-6.
24. Hobbs CG, Sterne JAC, Bailey M, Heyderman RS, Birchall MA, Thomas SJ. Human papillomavirus and head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Otolaryngol* 2006;31(4):259-66.
25. Koch WM, Lango M, Sewell D, Zahurak M, Sidransky D. Head and neck cancer in non-smokers: a distinct clinical and molecular entity. *Laryngoscope* 1999;109(10):1544-51.
26. Clayman GL, Stewart MG, Weber RS, El-Naggar AK, Grimm EA. Human papillomavirus in laryngeal and hypopharyngeal carcinomas: relationship to survival. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;120(7):743-8.
27. Pintos J, Franco EL, Black MJ, Bergeron J, Arella M. Human papillomavirus and prognoses of patients with cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer* 1999;85 (9):1903-9.