



**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DÜŞÜK RİSKLİ, YÜKSEK RİSKLİ HPV POZİTİF HASTALAR VE HPV  
SONUCU NEGATİF GELEN HASTALARDA NATURAL KİLLER  
AKTİVİTE DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. MURAT GÜNENÇ**

**GAZİANTEP  
2023**



**T.C.**  
**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DÜŞÜK RİSKLİ, YÜKSEK RİSKLİ HPV POZİTİF HASTALAR VE HPV  
SONUCU NEGATİF GELEN HASTALARDA NATURAL KİLLER  
AKTİVİTE DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. MURAT GÜNENÇ**

**TEZ DANIŞMANLARI**  
**DOÇ. DR. NESLİHAN BAYRAMOĞLU TEPE**

**GAZİANTEP**  
**2023**

**TEZ ONAY SAYFASI**

**T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**DÜŞÜK RİSK YÜKSEK RİSK HPV POZİTİF VE NORMAL HASTALARDA NATURAL  
KİLLER AKTİVİTE DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

**DR MURAT GÜNENÇ**

10.07.2023

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Şevki Hakan EREN

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Doç. Dr. Özge Kömürcü KARUSERCİ

Kadın hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Neslihan BAYRAMOĞLU TEPE

Tez Danışmanı

**TEZ JÜRİSİ:**

1. Prof. Dr. Ali İrfan KUTLAR
2. Doç. Dr. Neslihan BAYRAMOĞLU TEPE
3. Prof. Dr Murat BAKACAK ( KSÜ Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı )
4. Doç. Dr Seyhun SUCU
5. Doç. Dr Muhammed Hanefi BADEMKIRAN

## I. TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitim süresi boyunca deneyim ve bilgilerinden faydalandığım, değerli tez hocam Doç. Dr. Neslihan BAYRAMOĞLU TEPE'ye,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bu yolculukta bize kılavuz olan, bizleri iyi, etik ve ahlaki değerlere bağlı hekim olma bilinci kazandırma yönünde teşvik eden ve destekleyen başta Sayın Doç. Dr. Seyhun SUCU'ya olmak üzere tüm hocalarıma,

Asistanlığımın başından bu yana kliniğimizin severek çalıştığım birbirimize destek olarak, keyifli anılar biriktirdiğimiz sevgili asistan arkadaşlarıma,

İhtisasım süresince yardım, anlayış ve sevgilerini bizden esirgemeyen değerli hemşirelerimiz, ebelerimiz ve personellerimize,

Hayatım boyunca en büyük hazinem olan, her zor anımda desteklerini yanımda hissettiğim, sevginin, merhametin ve şefkatin, iyi insan olma bilincinin ne demek olduğunu bana öğreten, bu günlere gelmemde en büyük emeğin sahibi olan sevgili annem Fikriye GÜNENÇ ve sevgili babam Selahattin GÜNENÇ, canım ablalarım, canım abim ve canım kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi, sevgi ve saygılarımı sunarım.

**Dr. Murat GÜNENÇ**  
**Gaziantep 2023**

## II. ÖZET

**GÜNENÇ M., Düşük Riskli, Yüksek Riskli HPV Pozitif Hastalar ve HPV Sonucu Negatif Gelen Hastalarda Natural Killer Aktivite Düzeyinin Belirlenmesi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Gaziantep, 2023.**

Yüksek riskli HPV pozitif (16,18),diğer yüksek riskli HPV pozitif (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68 ) ve HPV negatif hastalarda natural killer düzeyinin belirlenmesi aralarında anlamlı kantitatif fark olup olmadığının belirlenmesidir.

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve doğum polikliniğine 2022-2023 yılları arasında başvuran reproduktif yaş gurubu kadınlardan kronik hastalığı olmayan kronik ilaç kullanımı olmayan immunsupresif tedavi almayan kadınlardan rutin HPV taraması yapıldı eş zamanlı hastalardan venöz 8cc kan örnekleri alınarak sarı jelli tüplere alındı. Yeni tanı alan yüksek riskli (16,18), diğer yüksek riskli HPV (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) ve HPV negatif çıkan hastalar 3 ayrı guruba ayrıldı. HPV test sonuçları ve kan örneği sonuçları raporlandı. Bu sonuçlar yapılan istatistiksel analizde Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılan değişkenlerin üç grupta karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD testleri, normal dağılmayan değişkenlerin üç grupta karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Dunn testleri kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile test edilmiştir. NK değişkenine kesim noktası belirlemek için ROC curve analizi yapılmıştır. Analizlerde SPSS 22,0 Windows versiyon paket programı ve Med Calc 19.7.1 paket programı kullanılmıştır.  $P<0,05$  anlamlı kabul edilmiştir.

NK sonuçları bakımından HPV 16, 18 + olan grup ile HPV diğer yüksek pozitif (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) olan grup (D+) arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p=0,544$ ). HPV Negatif olan grubun NK sonuçları HPV pozitif olan (HPV 16,18+ ve diğer yüksek HPV+ 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) D+

grupların sonuçlarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sigara içme durumu bakımından gruplar arasında farklılık bulunmuştur ( $p=0,021$ ).

NK laboratuvar düzeyleri HPV enfeksiyonunda, ucuz ve kullanışlı belirteçler olabilir. Bu konuda yapılacak daha geniş ölçekli ve yüksek katılımlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmada HPV enfeksiyonuna karşı adaptif yanıtta NK hücrelerinin önemli bir rol oynadığına dair yeni bulgular saptanmış oldu. Bu fikir, NK hücre immün gözetimi ile ilgili boylamsal çalışmaların, serviks kanseri onkolojik sonuçlarını geliştirmeye yönelik potansiyel olarak yeni immünoterapötik stratejilere yol açacak.

**Anahtar Kelime:** HPV, natural killer aktivitesi, yüksek riskli pozitif HPV, diğer yüksek riskli HPV, HPV negatif hastalar

### III. ABSTRACT

**GÜNENÇ M., Determination of Natural Killer Activity Level in High-Risk HPV Positive Other High-Risk HPV Positive and HPV Negative Patients, Gaziantep University Faculty of Medicine, Thesis in Obstetrics and Gynecology, Gaziantep 2023.**

Determination of natural killer levels in high-risk HPV positive (16,18), other high-risk HPV positive (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) and HPV negative patients to determine whether there is a significant quantitative difference between them.

Among the reproductive age group women who applied to Gaziantep University Faculty of Medicine, Obstetrics and Gynecology outpatient clinic between 2022 and 2023, routine HPV screening was performed from women with no chronic disease, no chronic drug use, no immunosuppressive treatment, venous 8cc blood samples were taken from the patients simultaneously, and they were taken into yellow gel tubes. Patients with high risk (16,18), other high risk HPV (31,33,35,39,45,51,52,56, 58,59,66,68) and HPV negative patients were divided into 3 groups. HPV test results and blood sample results were reported. In the statistical analysis, the conformity of numerical variables to normal distribution was tested with the Shaphiro Wilk test. ANOVA and LSD tests were used to compare normally distributed variables in three groups, and Kruskal Wallis and Dunn tests were used to compare non-normally distributed variables in three groups. Relationships between categorical variables were tested with the chi-square test. ROC curve analysis was performed to determine the cutoff point for the NK variable. SPSS 22.0 Windows version package program and MedCalc 19.7.1 package program were used in the analysis.  $P < 0.05$  was considered significant.

In terms of NK results, no significant difference was found between the HPV 16, 18+ group and the HPV other high positive (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) group (D+)(  $p=0.544$ , HPV Negative NK results of HPV positive (HPV 16.18+ and other high HPV+ 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) D+ groups was found to be



significantly higher than the results. There was a difference between the groups in terms of smoking status ( $p=0.021$ ).

NK laboratory levels can be inexpensive and useful markers for HPV infection. There is a need for larger-scale and high-participation studies on this subject. This study identified new findings that NK cells play an important role in the adaptive response to HPV infection. This idea will potentially lead to novel immunotherapeutic strategies to improve the cervical cancer oncologic outcomes of longitudinal studies of NK cell immune surveillance.

**Key Words:** HPV, natural killer activity, high risk positive HPV, other high risk HPV, HPV negative patients



## IV. İÇİNDEKİLER

|                                                      |      |
|------------------------------------------------------|------|
| I. TEŞEKKÜR .....                                    | i    |
| II. ÖZET .....                                       | ii   |
| III. ABSTRACT .....                                  | iv   |
| IV. İÇİNDEKİLER .....                                | vi   |
| V. KISALTMALAR .....                                 | viii |
| VI. ŞEKİLLER .....                                   | ix   |
| VII. TABLOLAR .....                                  | x    |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                               | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                              | 4    |
| 2.1. HPV .....                                       | 4    |
| 2.2. Mikrobiyoloji .....                             | 5    |
| 2.3. İmmün Sistemden Kaçış .....                     | 7    |
| 2.4. Genotip ve Doku Tropizmi .....                  | 7    |
| 2.4.1. Kütanoz .....                                 | 8    |
| 2.4.2. Anogenital Epitel .....                       | 8    |
| 2.4.3. Genital siğiller (condyloma aküminatum) ..... | 8    |
| 2.4.4. Diğer Mukoza Yüzeyleri .....                  | 9    |
| 2.5. Kadınlarda HPV ile İlişkili Hastalıklar .....   | 9    |
| 2.5.1. Rahim Ağzı Kanseri .....                      | 9    |
| 2.5.2. Vulvar ve Vajinal Kanser .....                | 10   |
| 2.5.3. Genital Olmayan Siğiller .....                | 10   |
| 2.5.4. Genital Siğiller .....                        | 10   |
| 2.5.5. Anal kanser .....                             | 11   |
| 2.5.6. Orofaringeal Kanser .....                     | 11   |
| 2.5.7. Tekrarlayan Respiratuar Papillomatoz .....    | 11   |
| 2.6. Erkeklerde HPV ile İlişkili Hastalıklar .....   | 11   |

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6.1. Penil Kanser ve Prekürsör Lezyonlar .....                 | 11 |
| 2.7. HPV Tespiti.....                                            | 12 |
| 2.8. HPV den korunma Yönetimi:.....                              | 12 |
| 2.8.1. Proflaktik HPV Aşıları .....                              | 12 |
| 2.9. Bulaşma Şekli.....                                          | 12 |
| 2.9.1. Sünnet Olmamak .....                                      | 13 |
| 2.9.2. Sigara Kullanımı.....                                     | 13 |
| 2.9.3. Alkol Kullanımı.....                                      | 13 |
| 2.9.4. Oral Kontraseptif Kullanımı.....                          | 14 |
| 2.9.5. İmmüsupresyon .....                                       | 14 |
| 2.9.6. Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar.....                   | 14 |
| 2.10. Doğal Öldürücü Hücreler ( Natural Killer ) .....           | 15 |
| 2.10.1. Viral enfeksiyonlardaki rolü.....                        | 15 |
| 2.10.2. NK Hücre Efektör Fonksiyonları .....                     | 16 |
| 2.10.3. NK Hücrelerinin İşlevlerini Kontrol Etme .....           | 17 |
| 2.10.4. HPV Enfeksiyonunda Bağışlık Sisteminin Aktivasyonu ..... | 20 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                         | 24 |
| 3.1. Yöntem.....                                                 | 24 |
| 3.2. Örnek Seçimi, Zaman, ve İncelenen Değişkenler.....          | 25 |
| 3.3. İstatiksel Analiz.....                                      | 26 |
| 3.3.1. İstatistiksel Yöntem.....                                 | 26 |
| 4. BULGULAR .....                                                | 27 |
| 4.1. Çoklu Karşılaştırmalar .....                                | 28 |
| 4.2. ROC analizi .....                                           | 29 |
| 5. TARTIŞMA.....                                                 | 31 |
| 6. SONUÇ .....                                                   | 33 |
| 7. KAYNAKLAR.....                                                | 33 |

## V. KISALTMALAR

|        |                                                                     |
|--------|---------------------------------------------------------------------|
| HPV    | :Human papilloma virus                                              |
| NK     | :Natural killer                                                     |
| DC     | : Dentritik hücre                                                   |
| LC     | : Langerhans hücresi                                                |
| MHC    | : Majör histokompabilite kompleksi                                  |
| VLP    | : Virüs benzeri partikül                                            |
| TLR    | : Toll like reseptör                                                |
| CDC    | : Center for disease kontrol                                        |
| CTL    | : Sitotoksik T lenfosit                                             |
| APC    | : AntigenPresentingCells(AntijenSunanHücreler)                      |
| MCMV   | : Fare sitomegalovirüs                                              |
| HİV    | : İnsan immün yetmezlik virüsü                                      |
| VKİ    | :Vücut-Kitleİndeksi                                                 |
| INF-g  | : İnterferon gamma                                                  |
| TNF-a  | : tümör nekrozis faktör-a                                           |
| FasL   | : Fas ligandı                                                       |
| TRAIL  | :TNF ilişkili apoptoz indükleyen ligand                             |
| Ly49   | : Killer cell lectin-like receptor subfamily A                      |
| NKG2D  | : Killer cell lectin like receptor-2D                               |
| NKG2A  | : Killer cell lectin like receptor-2A                               |
| HLA-E  | : İnsan lokosit antijen-e                                           |
| MICA-A | : MHC class I polypeptide-related sequence A                        |
| MICA-B | : MHC class I polypeptide-related sequence B                        |
| NKp44  | : Natural cytotoxicity receptor44 (Doğal sitotoksisite reseptörü44) |
| NKp46  | : Natural cytotoxicity receptor46 (Doğal sitotoksisite reseptörü46) |
| Fc     | : Fragment crystallizable region                                    |
| NKA    | : Natural killer aktivitesi                                         |
| PCa    | :Prostat kanseri                                                    |

## VI. ŞEKİLLER

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. HPV genomu.....                                                                       | 5  |
| Şekil 2.2. HPV doğal seyir.....                                                                  | 6  |
| Şekil 2.3. Doğal öldürücü (NK) hücreler .....                                                    | 22 |
| Şekil 4.1. ROC analizi NK sonuçlarına göre test sensitivite ve spesifite karşılaştırması.. ..... | 29 |



## VII. TABLOLAR

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 2.1. HPV-DNA tiplerinin risklere göre sınıflandırılması.....                              | 4  |
| Tablo 2.2. HPV türleri ve neden olduğu hastalıklar.....                                         | 8  |
| Tablo 2.3. NK hücre reseptör ligandları.....                                                    | 23 |
| Tablo 4.1. Gruplar arasında sosyodemografik sonuçlar.....                                       | 27 |
| Tablo 4.2. Gruplar arasında sosyodemografik sonuçlar.....                                       | 27 |
| Tablo 4.3. NK Sonuçlar .....                                                                    | 28 |
| Tablo 4.4. ROC analizi, NK sonuçlarına göre test sensitivite ve spesifite karşılaştırması. .... | 30 |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serviks kanseri, dünyada üzerinde kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci en sık görülen ve her iki dakikada bir kadın ölümüne neden olan kanserdir. Serviks kanserinin oluşumu için, insan papilloma virüsü (HPV) var olması gerekir ama tek faktör değildir (1). Bugün, servikal kanser gelişimi için HPV'nin mutlaka var olması gerektiği, diğer risk faktörlerinin ya virüsle karşılaşma oranını arttırdığı ya da viral persistansın karsinojenik süreci hızlandırmada önemli olduğu düşünülmektedir (2). HPV ile enfekte olan kadınların yaklaşık %90'ında 3-5 yıl içinde virüs vücuttan tamamen elimine edilmektedir. Bu eliminasyonu sağlayan hücresel ve humoral immün yanıtın beraber çalışması sonucu oluşmaktadır. İmmün sistem yetersizliği olan bireylerde HPV enfeksiyonu persiste edebilmektedir. Bağışıklık sistemi bu durumda HPV gibi yabancı maddeleri ortadan kaldırır. HPV enfeksiyonu nasıl biter? HPV bazal epitel tabakasına ulaştığında, defensinler, mukoproteinler ve virüsün keratinositlere girmesini önleyen asidik bir pH nedeniyle fiziksel engeller enfeksiyonu önlemede önemli bir rol oynar. Buna rağmen HPV'ler sıklıkla bu mekanizmalardan kaçır ve hedef hücreleri enfeksiyona neden olurlar. HPV hedef hücreleri enfekte ettiğinde, doğal öldürücü (NK) gibi doğuştan gelen bağışıklık tepkisi hücreleri tarafından elimine edilebilmektedir. Enfeksiyon bölgesinde daha fazla NK hücresi, makrofaj, dendritik hücre (DC), Langerhans hücresi (LC) ve NK T hücresi (NKT) alımını sağlamak için enflamatuar bir bağışıklık tepkisini indükleyen hücrelerdir. Bu hücreler ayrıca CD4, TCD8 ve LcB T hücrelerinin katıldığı enflamasyonu şiddetlendirmeye ve adaptif bağışıklık tepkisi hücrelerini aktive etmek için katkıda bulunurlar.

HPV'ler doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık yanıtından kaçmak için çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir. Bunlardan bazıları anti-enflamatuar sitokinler salgılayarak viral enfeksiyon sırasında enflamatuar süreçten kaçınmayı, hasarla ilişkili moleküllerin ekspresyonunu azaltmayı, MHC Sınıf I moleküllerinin ekspresyonunu azaltmayı, interferon yolunu baskılamayı içerir (3–7).

HPV enfeksiyonu için önleyici tedbirler arasında Gardasil (HPV 6,11,16 ve 18) gibi dört değerlikliler, Cervarix (HPV 16,18) iki değerlikli ve Gardasil 9 (HPV 6, 11,16,18,31,33,45,52 ve 58) gibi dokuz değerlikli profilaktik aşılamanın yapılmasıdır. Bu faydanın yanı sıra, bağışıklık koruması belirli HPV türleri ile sınırlıdır ve HPV enfeksiyonuna karşı evrensel bir koruma sağlamamaktadır. Mevcut HPV enfeksiyonu için bir tedavi seçeneği olarak düşünülemez. Son zamanlarda, HPV'ye karşı CD4 ve CD8 T hücrelerinin aracılık ettiği adaptif bağışıklığı güçlendirmek için olası terapötik aşilar üzerinde klinik çalışmalar yapılmaktadır. İmmünoterapinin büyük ilgi gören bir yönü, NK hücrelerinin kullanılmasıdır. Bu çalışmalar çeşitlidir ve aktiveleştirilmiş otolog veya allojenik NK hücrelerinin aktarılması, sitokinler veya analoglar kullanılarak NK hücrelerinin aktivasyonunun ve sitolitik aktivitesinin iyileştirilmesi ve özgüllüğü artırmak için kimerik antijen reseptörlerinin modifiye edilmesi ve NK hücrelerinin hedeflenmesi gibi birçok stratejiyi barındırmaktadır (8–10). NKA (natural killer aktivitesi)'nin, sürveyansta ve tümör hücrelerinin eliminasyonunda önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır (11). Çalışmalar, düşük NKA'nın yüksek düzeyde tümör oluşumuna ve metastaza yol açtığını ve derecesinin malignitenin invazivliği ile korele olduğunu göstermektedir (12) aksine, yüksek NKA'nın tümörlerin daha düşük insidansı ile korele olduğu gösterilmiştir ve bunların belirli tümörlerde, yani melanom, baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomlarda infiltrasyonunun daha iyi bir onkolojik sonuç için bir gösterge olduğu tespit edilmiştir (13,14). Prostat kanseri ve natural killer aktivite ve disfonksiyonu çalışmasının sonucunda NK disfonksiyonundan önce natural killer C56 parlak alt gurubunda sayısal düşüklük saptanmıştır. NK hücreleri işlevsel olarak  $CD16^{+} CD56^{dim}$  VE  $CD16^{-} CD56^{parlak}$  alt kümeleri halinde sınıflandırılır  $CD16^{+} CD56^{dim}$  hücreleri, tümör hücrelerine karşı güçlü sitotoksiste ifade eden yüksek miktarlarda sitolitik granül içeren efektör hücrelerdir (15).  $CD16^{+} CD56^{parlak}$  hücreler, tümörün başlamasını, immüno-kaçınmayı, hayatta kalmayı ve büyümeyi düzenleyen inflamatuvar mekanizmaları harekete geçiren IFN- $\gamma$  gibi proinflamatuvar sitokinleri salar (16,17). NK hücre disfonksiyonu, çeşitli tümörlerle birlikte PCA'da suçlanmıştır bozulmuş NKA'dan önce muhtemelen  $CD56^{parlak}$  hücrelerinde bir azalma olduğunu ve NKA seviyesinin PSA için destekleyici bir teşhis belirteci olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.



Yapmış olduğumuz çalışmamızda HPV enfeksiyonu olan ve HPV enfeksiyonu olmayan hastalarda doğal bağışıklık hücreleri olan natural killer aktivite oranı sayısal değişimleri ile değerlendirerek HPV negatif olan bireyler, HPV yüksek risk pozitif bireyler (16,18) HPV diğer yüksek bireyler (31,33,35,39,45,51,52,56,58, 59,66,68) aralarındaki kantitatif farkı araştırdık.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. HPV

Papillomavirüsler, Papillomaviridae ailesinden olup çift sarmallı deoksiribonükleik asit (DNA) virüsleridir. Bu virüsler çoğunlukla türe özgüdür; insan papilloma virüsleri (HPV'ler) sadece insanları enfekte etmektedir. Günümüzde yaklaşık 200'den fazla HPV türü tespit edilmiştir. Bunlardan yüksek riskli olan HPV tipleri 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,69 ve 82, düşük riskli HPV tipleri 6,11,40,42,43,44,54,61,72,81 olarak gruplandırılmaktadır (tablo 2.2). HPV DNA, altı erken proteini (E1, E2, E4, E5, E6 ve E7) ve iki geç proteini (L1 ve L2) kodlayan erken ve geç genleri içerir. E1 ve E2 proteinleri, virüsün replikasyonu ve translasyonu için gereklidir. E2 ayrıca E6 ve E7'nin ifadesini de düzenler; Geç L1 ve L2 proteinleri küçük ve büyük kapsid proteinlerini oluştururken, E4 ve E5 viral toplanma ve büyüme uyarımına yardımcı olur. HPV proteinleri ayrıca çekirdek ve aksesuar proteinlere ayrılabilir. Çekirdek proteinler (E1, E2, L1, L2), viral genomun (E1, E2) replikasyonunda ve virüsün (L1, L2) birleştirilmesinde doğrudan yer alır ve genellikle viral yaşam döngüsü sırasında transkripsiyonun ne zaman gerçekleştiğini yansıtır. Aksine, yardımcı proteinler (E4, E5, E6 ve E7) ifade anlarında ve fonksiyonel özelliklerinde daha belirgin değişiklik gösterirler. Yardımcı proteinleri kodlayan genler, enfekte olmuş hücreyi, viral replikasyonu kolaylaştırmak için birbirlerinin farklı hastalık ilişkileriyle ilişkili şekillerde değiştirirler (18–20).

**Tablo 2.1.** HPV-DNA tiplerinin risklere göre sınıflandırılması

**İnsan papilloma virüsü: Rahim ağzı kanserine neden olmak için yüksek ve düşük riskli tipler**

| <b>Yüksek riskli (onkojenik veya kanserle ilişkili) tipler</b>             |
|----------------------------------------------------------------------------|
| Yaygın türleri: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 69, 82 |
| <b>Düşük riskli (onkojenik olmayan) tipler</b>                             |
| Yaygın tipler: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81                       |

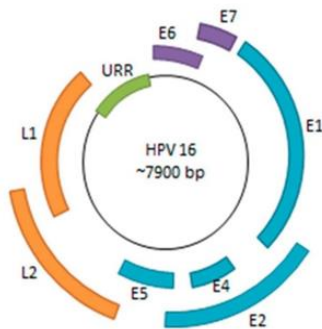
## 2.2. Mikrobiyoloji

**Replikasyon döngüsü:** HPV'ler, iki kapsülleyici yapısal protein, L1 ve L2 (21) de dahil üzere sekiz geni kodlayan sekiz kilobaz dairesel genomlu küçük, zarfsız, kapsid virüsleridir (21). Bir hücre kültürü sisteminde rekombinant olarak eksprese edilen L1 proteini, virüs benzeri bir partikül (VLP) oluşturmak için viral genomun yokluğunda kendi kendine birleşirler. L1 VLP, HPV aşısı yapımında kullanılan immünojendir. L2, L1 ile birlikte HPV enfektivitesine aracılık eden minör kapsid proteinidir (21,22).

Virüsün replikasyonu, epitelial farklılaşmaya (yani, keratinositin olgunlaşması) entegre bir şekilde bağlıdır. Bazal kök hücrede ilk enfeksiyon, epiteliumdaki mikroskobik kırılmalarla oluşur (23,24).

Enfeksiyon yapan HPV viryonlarının, dokuya has heparan sülfat proteoglikanlar yoluyla bazal kök hücreye bağlanır (25–27).

Skuamöz keratinositin her farklılaşma seviyesinde spesifik gen ürünleri kopyalanır (3). En yüzeysel düzeyde, L1, L2 ve E4 genlerinin kopyası, içine HPV genomunun paketlenildiği viral kapsidin montajı için kopyalanır. Bu kısa ömürlü hücre soyulduktan sonra, enfeksiyöz HPV viryonları bir sonraki enfeksiyon turu için salınmaktadır.



- E-1: Viral DNA replikasyon ve transkripsiyonu
- E-2: Viral DNA replikasyonu, Apoptoz , represyon E6,E7
- E-4: Viral DNA replikasyonu
- E-5: Hücre proliferasyonu, EGFR simnyal yolak değişimi, İmmün tanıma (MHC) ve apoptoz
- E-6: P53 parçalanması, hücre siklus regülasyonunda değişiklik, apoptozis direnci, kromozomal instabilite
- E-7: pRB parçalanması, hücre siklusunda S fazına yeniden giriş, p16 saptanması ve overekspresyonu, kromozomal instabilite
- URB: Replikasyon ojini, transkripsiyon faktörü bağlama noktası ve gen ekspresyon kontrolü

(de Sanjose ve ark.,2018)

**Şekil 2.1.** HPV genomu HPV 16 viral yapısı ve eksprese edilen proteinler

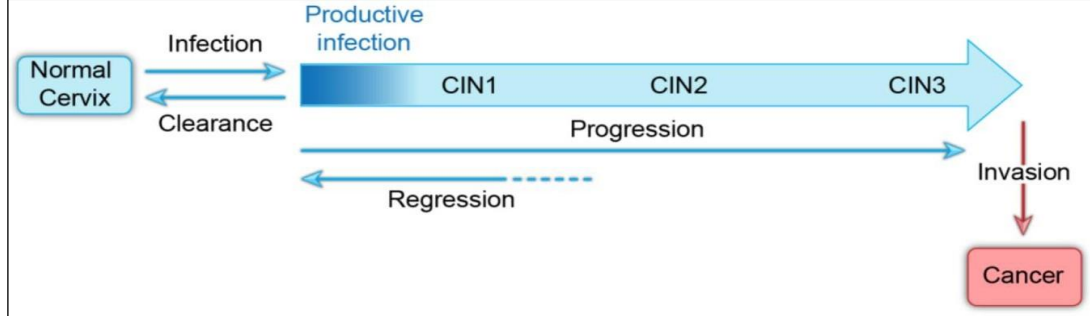
6 erken (E1, E2, E4, E5, E6, ve E7) ve iki geç (L1 ve L2) gen, ek olarak bir de kodlama yapmayan genlerden erken genlerin çoğu viral replikasyon, genom devamlılığı, transkripsiyonun düzenlenmesi, immün sistemin tahrip edilmesi görevleri vardır, içlerinden E6 ve E7; p53 ve pRB genlerine ilgisine bağlı olarak

onkojenlerin immün sistem tarafından tanınıp inaktive edilmesini engeller. URR bölgesi çeşitli promoter ve güçlendirici elementler içermektedir.

**Doğal seyir:** HPV enfeksiyonlarının çoğu tipik olarak 12 ay içinde kendiliğinden düzelmektedir buna kanserojen HPV genotileri dahildir (28,29). 12 aydan uzun süre devam eden kanserojen HPV enfeksiyonları, hepsi kalıcı enfeksiyonlara ilerlemese de, prekanseröz veya kanserli lezyon ihtimalini artırmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, sitolojik olarak saptanan kanser öncesi servikal lezyonlarda medyan yaşı, cinsel ilk çıkış medyan yaşından yaklaşık 10 yıl sonra ortaya çıkmaktadır (30).

Hpv gizli durumda kalabilmektedir (31–33). İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) taşıyan kadınlar ve yaşlı kadınlar da dahil bazı toplumlarda servikal viral reaktivasyona dair kanıtlar saptanmıştır (31,34,35).

HPV enfeksiyonlarının hepsi mi yoksa yalnızca bir alt kümesinin mi gizli hale geliyor ve yeniden ortaya çıkan HPV enfeksiyonlarının önemli bir kanser riski taşıyıp taşımadığı bilinmiyor.



**Şekil 2.2.** HPV doğal seyir

İnsan onkojenik HPV virüsünün doğal seyri. Modelde HPV enfeksiyonun kansere ilerleyişi gösterilmiştir. HPV enfeksiyonu birkaç yıl içerisinde immün sistem tarafından çoğunlukla temizlenir. Persistan enfeksiyona maruz kalan hücreler de zamanla regrese olur ancak bazen kansere de dönüşebilir (36).

### 2.3. İmmün Sistemden Kaçış

HPV'nin vücutta kalıcı olabilmesi için konağın immün sisteminden kaçması gereklidir. HPV hayat döngüsü tamamen intraepitelyaldır. HPV kanda dolaşım evresi yoktur bu nedenle viremi yapamaz. Ayrıca hücreleri lizise uğratmaz, böylece viral antijen sunumunu azaltır, hücre ölümüne neden olmamaktadır. Virüsün replikasyonu sonucu Tip 1 interferon gibi pro-inflamatuar hücreler aktive olmaz. İçerisinde viral proteinler bulunan enfekte hücreler desirküle olan immün sistem hücrelerinden uzakta, epitel yüzeyinden dökülürler (37,38). Tüm bunlar doğal ve kazanılmış immün sistem cevabını azaltan etmenlerdir. Ayrıca virüsün vücuttan temizlenmesini de yavaşlatmaktadır. Düşük riskli HPV'ler yaklaşık 10 ayda Yüksek riskli HPV'ler ise 18 aydan kısa bir sürede vücuttan temizlenebilmektedir (38,39). HPV üzerine yapılan çalışmalar da enfekte kişilerin yaklaşık %15'i HPV-HR'yi temizleyemediği tespit edilmiştir (37).

HPV E6 ve E7 proteinlerinin erken dönem beraber çalışması sayesinde de konağın immün sisteminden kaçabilmektedir. Bu proteinler MHC-1 ekspresyonunu azaltır ve Tip-1 interferonun ekspresyonunu bozmaktadır (38,39). Bunlara ek olarak onkoproteinler konakta patojenlerin fark edilmesini ve yakalanmasını sağlayan TollLike Reseptörlerinin (TLR) ekspresyonunu da bozmaktadır (40). Enfeksiyon sonrası HPV DNA bazı epitel hücrelerinde inaktive bir şekilde yıllarca kalıp yıllar sonra invaziv kansere dönüşebilmektedir (41). Konağın immün sisteminin enfeksiyonu tanıyamaz hale gelirse enfeksiyon “persistan” durumda halış olur (39). Kansere dönüşmenin en temel sebebi persistan enfeksiyon olarak gözüксе de her zaman yeterli değildir. Kanser gelişebilmesi için başka faktörlere de ihtiyaç vardır.

### 2.4. Genotip ve Doku Tropizmi

HPV farklı tipleri vücutun farklı bölgelerini enfekte etmektedir. İnsan vücudunda farklı hastalıklarla neden olmaktadır.

**Tablo 2.2.** HPV türleri ve neden olduğu hastalıklar

| Hastalık                          | Sıklıkla ilişkili HPV tipi        |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| deri siğiller                     |                                   |
| Yaygın ve plantar siğiller        | 1, 2 ve 4                         |
| Düz siğil                         | 3, 10                             |
| kasap siğili                      | 7, 2                              |
| Bowen hastalığı                   |                                   |
| genital                           | 16                                |
| Ekstragenital                     | 2, 3, 4, 16                       |
| Epidermodysplasia verruciformis   | 2, 3, 5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17 |
| Condyloma acuminata               | 6, 11                             |
| Skuamöz intraepitelyal lezyonlar* |                                   |
| Düşük dereceli                    | 16, 31, 6, 11                     |
| Yüksek sınıf                      | 16, 31, 52, 18                    |
| orofaringeal kanser               | 16                                |
| anal kanser                       | 16                                |
| Solunum papillomatozu             | 6, 11                             |

2023 UpToDate

**2.4.1. Kütanoz**

Bazı HPV türlerinin kutanoz epitel için bir eğilimi göstermekte ve plantar siğiller, yaygın siğiller, yassı siğiller ve kasap siğillerinde (et, kümes hayvanları ve balık işleyicilerinde meydana gelme eğiliminde olan yaygın siğiller) saptanmaktadır (42). Plantar ve yaygın siğillere HPV türleri, tip 1, 2 ve 4 sebep olur. Kasap siğilleri genellikle HPV tip 7 ve 2, Düz siğillerin sıklıkla nedeni HPV tip 3 ve 10 sebep olmaktadır.

**2.4.2. Anogenital Epitel**

Anogenital keratinize deri ve mukoz membranı enfekte eden HPV tipleri de mevcuttur. Enfeksiyon sıklıkla penis, skrotum, perine, anal kanal, perianal bölge, vajinal introitus, vulva ve servikte meydana gelmektedir. 40'tan fazla mukozal HPV genotipi genital sistem enfeksiyonuna neden olmaktadır. Anogenital hastalık belirtileri HPV tipine göre değişmektedir:

**2.4.3. Genital siğiller (condyloma aküminatum)**

HPV tip 6 ve 11'in neden olduğu iyi huylu anogenital siğillerdir (43,44). Vajina, vulva, serviks, anüs veya penisin skuamöz intraepitelyal lezyonları ve/veya

karsinomu yaklaşık 15 HPV tipi kanserle ilişkilidir ve yüksek riskli, kanserojen veya kanserle ilişkili olarak bilinmektedir (45).

HPV 16 kansere ilerleme riski en yüksek olan ve diğer türler içinde en yaygın saptanan türdür (43,46–49).

Onkojenik HPV türlerinin kadın genital sisteminde enfeksiyona neden olması için servikal transformasyon bölgesinin olması şart değildir. Sonuç olarak, vajinadaki onkojenik HPV alt tiplerinin prevalansı, histerektomi geçirmiş ve geçirmemiş kadınlarda benzer saptanmıştır (50).

HPV sadece anal kanalda transformasyon bölgesindeki anal kanalı değil, aynı şekilde perianal bölgenin keratinize cildinde enfekte edebilir (51,52).

#### **2.4.4. Diğer Mukoza Yüzeyleri**

HPV tip 16, ağız mukozasını enfeksiyona neden olabilmekte ve ağız boşluğunun skuamöz hücreli karsinomu ile ilişkili bulunmuştur. HPV tip 6 ve 11 küçük çocuk ve bebeklerde solunum mukozasında enfeksiyona neden olmaktadır (43).

### **2.5. Kadınlarda HPV ile İlişkili Hastalıklar**

#### **2.5.1. Rahim Ağzı Kanseri**

Dünya çapında rahim ağzı kanseri, teşhis edilen yaklaşık 570.000 invaziv rahim ağzı kanseri vakası görülmekte, yılda 311.000 rahim ağzı kanseri ölümü ile kadınlar arasında en yaygın görülen dördüncü kanserdir (27).

HPV'yi servikal karsinomla ilişkilendiren kanıtlar kapsamlıdır (46,47,53). Yapılan çalışmalarda rahim ağzı kanseri büyük olasılıkla HPV ile ilişkili saptanmıştır. HPV 16 vakaların yaklaşık yüzde 50'sini ve HPV 18'in yüzde 20'sini neden olmaktadır (54). Yüzde 19 hastalığa da HPV tipleri 31, 33, 45, 52 ve 58'in neden olduğu düşünülmektedir (55).

Dokuz ülke histolojik olarak tanımlanmış skuamöz hücreli rahim ağzı kanseri olan 1918 kadın ve 1928 kontrolü olan 11 vaka-kontrol çalışmasının havuzlanmış analizi, çeşitli HPV genotipleri ile ilişkili riski daha iyi belirlemek için yapılmıştır (56). Rahim ağzı kanseri olan kadınların yüzde 90'ında ve kontrollerin yüzde 13'ünde

HPV DNA bulunmuştur. HPV türlerinden on beşi yüksek riskli olarak sınıflandırılmıştır. (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 69 ve 82).

HPV tipleri 16 ve 18, genel olarak vakaların yüzde 71'ini temsil etmektedir (54).

### **2.5.2. Vulvar ve Vajinal Kanser**

Vulvar ve vajinal kanser dünya çapında nadir görülmektedir. Rahim ağzı kanserinden farkı dış genital organların tüm kanserleri HPV enfeksiyonu ile bağlantılı bulunmamıştır. HPV enfeksiyonuna bağlı fraksiyonun vulvar kanser için yüzde 29 ila 43, vulvar intraepitelyal neoplazi için yüzde 87, vajinal kanser için yüzde 70 ve vajinal intraepitelyal neoplazi için yüzde 69 ila 100 olduğu öngörülmektedir (54,57–60). HPV tipleri 16 ve 18, HPV-pozitif vulvar kanserin yaklaşık yüzde 35 ila 77'sine, HPV-pozitif prekanseröz vulvar lezyonların yüzde 75 ila 80'ine ve HPV-pozitif vajina kanseri ve prekanseröz vajinal lezyonların yüzde 60'ına neden olmaktadır (58,59).

Dış genital organların HPV-negatif kanserler yaşlılarda görülürken, HPV-ilişkili vulva kanserleri daha genç yaşta ortaya çıkmaktadır, keratinize edici patoloji yerine bazaloid gösterir, p53 mutasyonları yoktur ve cinsel risk faktörleri ile ilişkilidir (61,62).

### **2.5.3. Genital Olmayan Siğiller**

Yetişkinlerin yüzde 3,5 kadarı herhangi bir zamanda genital olmayan siğillere meydana gelmektedir (43).

### **2.5.4. Genital Siğiller**

Cinsel olarak aktif bireylerde yapılan araştırmalarda Amerika Birleşik Devletleri'nde yüzde 1'den İskandinav ülkelerinde yaklaşık yüzde 10'a kadar değişen bir yaygınlık göstermektedir (63–66). En yüksek prevalans 17 ila 33 yaşları arasında görülmektedir. En yüksek insidans 20 ila 24 yaş aralığında görülmektedir. Genital siğillerin yaklaşık yüzde 90'ına HPV tipleri 6 ve 11 neden olmaktadır (67). Çocuklarda, anogenital siğillerde (tip 1 ve 2) izole edilmiştir.



### 2.5.5. Anal kanser

Anal kanser, Amerika Birleşik Devletleri de dahil olmak üzere insidansı artmasına rağmen, genel küresel nüfusta nadirdir görülmektedir (68–70). Anal kanserlerin ve prekanseröz anal lezyonların (yani, yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlar) yaklaşık yüzde 90'ına HPV tipleri 16 ve 18 sebep olmaktadır (60,69–72). Kadınlarda anal kanser insidansı erkeklerden daha yüksek saptanmakta, fakat insidans özellikle erkeklerle seks yapan erkeklerde, özellikle de HIV pozitif bireylerde daha yüksektir (73,74).

### 2.5.6. Orofaringeal Kanser

HPV enfeksiyonu, baş ve boyundaki skuamöz hücreli karsinomların patogeneğinde rol oynar. Penil ve vulvar kanser de olduğu gibi, orofaringeal kanserler de iki geniş hastalık gurubundan oluşmakta. HPV ile ilişkili olan kanser ve HPV ile ilişkili olmayan kanser. HPV ile ilişkili orofaringeal kanserler, öncelikle orofarinks ve dil ve bademcik tabanında hastalık yapmaktadır (75–77). HPV aynı zamanda gırtlak kanseri ile de ilişkilendirilmiştir (78). HPV ile ilişkili orofaringeal kanserler, HPV ile ilişkili olmayan kanserlere göre genç bireylerde ortaya çıkarmaktadır (79,80). HPV ile ilişkili olmayan kanserler, alkol ve tütün kullanımı ile ilişkili bulunmuştur. 2015 yılında yapılan araştırma sonucunda orofaringeal skuamöz hücreli karsinom, HPV ile ilişkili en yaygın kanser olduğu tespit edilmiştir (81).

### 2.5.7. Tekrarlayan Respiratuar Papillomatoz

Tekrarlayan respiratuar papillomatozis hastalığı çocuklarda en sık görülen iyi huylu laringeal tümördür ve enfekte bir annenin doğum kanalından geçiş sırasında edinilen HPV'nin sebep olduğu düşünülmektedir (82). Bu hastalıkta en sık HPV 6 ve 11 saptanmaktadır.

## 2.6. Erkeklerde HPV ile İlişkili Hastalıklar

### 2.6.1. Penil Kanser ve Prekürsör Lezyonlar

Afrika, Güney Amerika ve Asya'nın bazı bölgelerinde erkek kanserlerinin yüzde 10'unu görülmekle beraber, penis kanseri yaygın değildir (83). HPV tipleri 16 ve 18, genel olarak penis kanserlerine sebep olma oranı yüzde 35 ila 40 arasında değişmekte ve HPV-pozitif penis kanserlerinin yüzde 70 ila 80'ine neden olmaktadır (84). HPV negatif penis kanserlerine göre daha genç yaşta görülmektedir (61,62).

## 2.7. HPV Tespiti

HPV tespiti klinik uygulaması, uygun evreleme ve prognoz hakkında bilgi vermek amacıyla servikal kanser taramasında servikal numunelerin test edilmesi ve orofaringeal kanser biyopsi numunelerinin test edilmesiyle sınırlıdır. Diğer bölgelerin (vajinal, penil ve anal sürüntüler ve ayrıca oral çalkalama sıvıları) HPV testinin sürveyans ve araştırma amaçlarıyla kullanılmamaktadır. Avustralya ve Hollanda gibi bazı ülkelerde özel durumlarda klinik olarak kullanımı mevcuttur. Servikal sitolojiye HPV DNA testinin eklenmesinin, servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) 2 ve 3 gibi servikal kanser öncüllerinin saptanmasında duyarlılığı artırmıştır.

E6 ve/veya E7 RNA'nın ekspresyonunu arayan HPV ribonükleik asit (RNA) testi, aktif HPV onkogen ekspresyonunun HPV DNA testinden benzer hassasiyet ve biraz daha iyi özgüllük sağlayacağı beklentisiyle yapılabilmektedir (85). RNA bazlı test, servikal HPV testi için FDA onayı mevcuttur (86).

## 2.8. HPV den korunma Yönetimi:

### 2.8.1. Profilaktik HPV Aşıları

HPV 6,11,18 ve 16 tipleri hedefleyen Gardasil HPV hastalık yönetiminde önemli yere sahiptir (87). İmmünolojik korumanın tipe özgün olması nedeniyle Gardasil hem tüm HPV tiplerine karşı koruyucu değildir. Mevcut enfeksiyonun tedavi etmez. Gardasil, prevelansı en yüksek tiplere karşı geliştirdiği etkin koruyuculuğu sayesinde ilişkili hastalıkların tedavi maliyetlerinde istatistiklerde belirgin bir düşüş yaşanmıştır (88). HPV ilişkili kanserlerin %90 kadarının etkenine karşı geliştirilmiş nanovalan aşı (HPV 6,11,16,18,31,33,45,52,58) genç yetişkinlerde kullanılmak üzere onay almıştır (89). Bu aşıların varlığının yanında poulasyon taramaları halen yüksek öneme sahiptir. Mevcut HPV aşılarının tüm tiplere karşı koruma sağlamaması nedeni ile hastaların enfeksiyon sonrası gelişen durumların tedavisi önem arz etmektedir.

## 2.9. Bulaşma Şekli

HPV cilt teması yoluyla bulaşır, dolayısıyla bazal hücrelere erişebilmek için squamoz veya mukozal epitelde mikro kesi, abrazyon veya yırtıklara ihtiyaç duymaktadır. Genital Herpes, Klamidya ve siğiller gibi diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklara bağlı gelişen inflamasyon ve epitel bariyerdeki yırtılmalar HPV'nin

bazal hücrelerle direk temas kurabilmesine imkan yaratmaktadır (90,91). Cilt temasının şekilleri olan cinsel ilişki, anal ve oral seksin homoseksüel veya heteroseksüel varyasyonlarının tamamı lezyonların çıkış bölgesi ve ilişkili neoplazinin tipini belirlemektedir. Biseksüel veya homoseksüel erkekler Heteroseksüel erkekler ile karşılaştırıldığında anal kanser gelişme riski de 17 kat artmıştır (92).

### **2.9.1. Sünnet Olmamak**

Sünnetli erkeklerde penis ve prostat kanseri gelişme riskinin daha az olduğu tespit edilmiştir. Centers for Disease Control (CDC) verilerine göre sünnet derisi penisin shaftına göre cinsel yolla bulaşan enfeksiyon ajanlarına daha duyarlı bulunmuştur. Bu nedeninin cildin yırtılma ve mikrotravmalara daha duyarlı olması olarak tahmin edilmektedir, ayrıca ciltteki katlantıların enfeksiyöz ajanlar için yuva görevi üstlenmesi olarak yorumlanabilir. HPV'nin sünnetli erkeklerde daha kısa sürede temizlendiğini bildiren çalışmalar olmakla beraber erkeklerde HPV insidansı ile sünnet arasında bir ilişki bulunmadığı da bildirilmiştir (93).

### **2.9.2. Sigara Kullanımı**

Sigara kullanımının HPV prevelansı, insidansı ve persistansını artırdığı pek çok çalışmada saptanmıştır (94–96). Sigara içinde biriken onkojenik toksinlerin katkısıyla serviks kanseri riski sigara içen kadınlarda iki kat arttığı tespit edilmiştir. Bu toksinlerin yol açtığı DNA hasarının HPV'nin etkilerini potansiyelize ettiğine düşünülmektedir (97). HPV pozitif erkeklerde de sigara kullanımının persistan enfeksiyon, penis ve anal kanser riskinde artışla bağlantısı olduğu tespit edilmiştir (98). Solunum sisteminde immun mekanizmalara verdiği zarara bağlı olarak sigara HPV ilişkili orofarengeal hastalık riskini de artırdığı bilinmektedir (95).

### **2.9.3. Alkol Kullanımı**

Kronik alkol kullanımı immun fonksiyonlar üzerinde baskın bir negatif modülatördür ve çeşitli kronik inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalığa zemin hazırlamaktadır. Daha da ötesi, akut veya kısa vadeli alkol kullanımının da immun sistem üzerine olumsuzluklara neden olduğu bilinmektedir. Bu etkilerini hem inflamasyon fazına hem de HPV'ye karşı hücresel bağışıklığın geliştiği sitotoksik yanıtı karşı oluşturduğu düşünülmektedir. Buna bağlı olarak alkol kullanan kişilerde

farklı HPV tipleriyle ko-enfeksiyon ve buna bağlı servikal ve anal lezyon görülme olasılığı artmaktadır. Bir çalışmada haftada dört porsiyon alkol tüketiminin 2 kat, beş veya daha fazla tüketiminse 2.4 kat artmış genital siğil varlığıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (99).

#### **2.9.4. Oral Kontraseptif Kullanımı**

HPV pozitif kadınlar arasında uzun süreli oral kontraseptik kullanımı ile artmış serviks kanseri arasında ilişkiye dair kanıtlar mevcuttur. Mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte kontraseptif ajanların transformasyon zonunda ektrapionu uyarmasına bağlı olarak persistan enfeksiyona katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Riskin 4 yıllık kullanım sonrasında artmaya başlayarak, artışın kullanım süresiyle doğru orantı gösterip ilacın kesilmesiyle de sonlandığı tespit edilmiştir (100). Bu nedenle HPV pozitif olduğu bilinen bir kadının kontrasepsiyonunda oral kontraseptif kullanımından kaçınmak daha akılcı olacaktır.

#### **2.9.5. İmmunsupresyon**

HPV enfeksiyonunun eliminasyonunda çok önemli konumdaki hücresel bağışıklığa verdiği hasar nedeniyle HIV ko-enfeksiyonu persistans ve onkojenik transformasyona büyük oranda sebep olmaktadır (101). HIV haricinde immun sistemin baskılandığı diğer durumlar da preinvazif lezyonların neoplaziye ilerleme süreci hızlandığı tespit edilmiştir. Kemoterapötik, monoklonal antikor, glukokortikoidler gibi immunsupresif ajanları kullanan kanser tedavisi gören veya organ transplantlı olanlarda hastalığın hızlı ilerlediği kaydedilmiştir.

#### **2.9.6. Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar**

Gözlemsel yapılan bir çalışma verilerine göre Klamidya enfeksiyonu prevelansı adölesanlarda %30 civarında olup Klamidya antikoru pozitif HPV enfekte kişilerin serviks kanseri riskinin iki kat arttığı tespit edilmiştir (102). HPV enfeksiyonunun enflamatuvar yanıtı artırmadığı bilinmektedir aynı zamanda HPV enfeksiyonuna eşlik eden Klamidya enfeksiyonuna bağlı açığa çıkan sitokinlerin ciddi bir yanıt oluşturduğu ve ortaya çıkan serbest radikallerin anjiogenezi ve onkojenik süreci tetiklediği bilinmektedir (103). Klamidya enfeksiyonuna benzer şekilde Herpes Simplex Virus 1 ve 2' nin kanser riskini artırdığı bildirilmiştir (104).

## 2.10. Doğal Öldürücü Hücreler ( Natural Killer )

### 2.10.1. Viral enfeksiyonlardaki rolü

Bağışıklık sisteminin temel hedefi, enfeksiyonların ve istenmeyen hücrelerin büyümesini kontrol altına almaktır. Bu görevler yapılırken başarılı bir şekilde ve ana yapıya uygun bir şekilde zarar vermeden yapabilmesi için belirli yanıtların doğru şekilde etkinleştirilmesini ve sonlandırılmasını sağlayan gelişmiş bir ağ sistemi gereklidir. Etkili bağışıklık sistemi doğal ve kazanılmış bağışıklık tepkilerinin koordineli aktivasyonu şarttır. Bağışıklık sistemindeki bu çok yönlülük sayesinde, yalnızca konakçının patojenlerden gelen saldırıları etkili bir şekilde kontrol edecek ve maligniteleri frenleyecek şekilde donatılmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda süreç sırasında konakçıya verilebilecek zararı minimum düzeye indirir. Doğal bağışıklığın ana hücresel bileşenlerinden biri doğal öldürücü (NK) hücrelerdir. Özelleşmiş lenfositlerden olan NK hücreleri patojenle enfekte olmuş hücreleri ve tümör hücrelerini hızlı bir şekilde tanıyabilen ve yok edebilen hücrelerdir. NK hücreleri dalak, karaciğer ve periferik kandaki lenfositlerin yaklaşık %5-20'sini oluşturur ve kemik iliği, timus ve lenf düğümlerinde daha düşük miktarda bulunmaktadır (105). NK hücreleri başlangıçta, önceden aktivasyon olmaksızın lösemik hücreleri hızla öldürebilen lenfositler olarak tespit edilmiştir (106). NK hücrelerinin anormal veya düşük seviyelerde majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I molekülleri (107) ve/veya "stres kaynaklı" proteinler (108) ifade eden hedefleri tanıdığı tespit edilmiştir. Sitotoksik T lenfositlerinden (CTL'ler) farklı olarak, NK hücreleri hedeflerini öldürmek için antijene özgü tanımayı şart değildir bunun yerine aktivasyon, proinflamatuvar sitokinlerin aracılık ettiği aktivitelerle kombinasyon halinde hücre yüzeyi reseptörlerinin farklı bağlanmasını gerekmektedir. NK hücreleri, aktivasyonlarını kontrol eden çok çeşitli hücre yüzeyi reseptörleri mevcuttur. Aslında, NK hücre fonksiyonu, immünoglobulin (Ig) benzeri ve C tipi lektin reseptör ailelerine ait çok sayıda hücre yüzey reseptörü tarafından sağlanan, inhibe edici ve aktive edici sinyallerin hassas bir şekilde ayarlanmış dengesi tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir (109–111).

NK hücrelerinin, yabancı (patojenler) veya endojen (tümörler) saldırıların hızlı kontrolünde önemli bir rol oynadığı ve T ve B hücrelerinden farklı olarak, aynı antijenik tehdide yeniden maruz kaldıklarında bir hatırlama veya hafıza tepkisi

oluşturamadığına düşünülmekteydi fakat son kanıtlar, bu fikrin tamamen doğru olmayabileceğini (112) ve doğuştan gelen bağışıklıktaki tartışmasız rollerine ek olarak, NK hücrelerinin, hem doğrudan hem de diğer hücre tipleriyle etkileşimler yoluyla, adaptif bağışıklık tepkilerine önemli katkıda bulunabileceğini kanıtlanmıştır (113).

Fare sitomegalovirüsü (MCMV) ile yapılan çalışmalar, NK hücrelerinin in vivo viral replikasyonu sınırlamadaki rolüne dair önemli kanıtlar tespit edilmiştir. Aynı şekilde, insanlar üzerinde yapılan çalışmalar, NK hücrelerinin herpes virüsü, hepatit ve insanimmün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonlarında (114).NK hücrelerinin viral enfeksiyonları sınırlamada önemli yere sahiptir. Bu aktivite, sitotoksikite ve hem doğrudan anti-viral etkilere sahip hem de bağışıklık sisteminin diğer kollarını aktive eden sitokinlerin ve kemokinlerin (114) salınımını içeren çoklu efektör yolların aktivasyonunu gerektirmektedir. Viral enfeksiyonlar sırasında NK hücrelerinin kritik rolünü destekleyen daha fazla kanıt, birçok virüsün NK hücresine özgü aktiviteleri bloke etmek ve/veya modüle etmek için kapsamlı bir dizi strateji geliştirdiğinin bulunmasıyla sağlanır.

#### **2.10.2. NK Hücre Efektör Fonksiyonları**

NK hücreleri, aktivitelerine sitokinlerin salarak veya hedef hücre sitolizi yaparak gerçekleştirir. Aktivasyon üzerine, NK hücreleri sitokinleri interferon-g (IFN-g), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, granülosit koloni uyarıcı faktör, makro-patojenlerin ve/ veya tümörler (örn. IFN-g, TNF-a). NK hücreleri tarafından salınan sitokinlerin çoğu, adaptif immün yanıtların başlatılmasını ve sürdürülmesini de etkileyebilmektedir.

NK hücreleri, sitokin salma yeteneklerinin yanında, uygun hedeflerin ortadan kaldırılmasında kritik bir öneme sahiptir. Hedef hücre apoptozu, granül ekzositozu (115) veya ölüm reseptörü angajmanını (116,117) içerir. Granül ekzositoz yolu, yapısal olarak ilişkili serin proteazların bir ailesi olan zarı bozan protein perforini ve granzimleri kullanır (118). Bu moleküller, sitotoksik granüllerden efektör ve hedef hücreler arasında oluşan sinapsa salınır ve hedef hücreye girdikten sonra hücre ölümüne neden olmaktadır. NK hücre kaynaklı performansın deneysel tümörleri kontrol etmedeki önemi iyi ortaya çıkarılmıştır (119–121). Bu çalışmanın benzeri

olarak uygun şekilde aktive edilmiş NK hücrelerinin aracılık ettiği viral olarak enfekte olmuş hedeflerin ortadan kaldırılmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Ebola da dahil olmak üzere bir dizi viral enfeksiyon için viral immün sürveyansta NK hücre kaynaklı performansın bir rolü kanıtlanmıştır (122) ve sitomegalovirüs (CMV) (123–125) Ölüm reseptörü yolu, NK hücrelerinin sitolitik aktivitesine katkıda bulunan bir diğer önemli faktördür. Ölüm reseptörü aktivasyonu tarafından indüklenen hücre ölümü, büyük ölçüde TNF üst ailesinin üyelerini, özellikle Fas ligandı (FasL), TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL), TNF-a ve lenfotoksin-a'yı içermektedir. Normalde karaciğer NK hücrelerinin küçük bir alt grubu (yaklaşık %25-35) tarafından eksprese edilen TRAIL özellikle ilgi çekicidir (126,127). Deneysel modellerde TRAIL'in, tümör büyümesini ve spesifik olarak karaciğer metastazlarını kontrol eden NK hücresi aracılı immün yanıtlara katkıda bulunduğu gösterilmiştir. TRAIL ekspresyonu IL-15, IFN-g (127) ve IFN-ab (128,129) gibi sitokinler tarafından düzenlendiğinden, bu molekülün diğer enfeksiyonlarla ilgili olabileceği tahmin edilmektedir. FasL en azından bazı durumlarda tümör büyümesinin kontrolüne katkıda bulunuyor gibi görünse de, diğer TNF ailesi üyelerinin patojenlerin ve tümörlerin NK hücre aracılı immün sürveyansındaki önemi tam belli değildir (130).

### **2.10.3. NK Hücrelerinin İşlevlerini Kontrol Etme**

NK hücrelerinin aktivasyonu, hücre yüzeyi reseptörlerinin farklı angajmanı ile kombinasyon halinde proinflamatuvar sitokinlerin etkisini gerektirmektedir. NK hücre fonksiyonu hücre yüzeyi reseptörleri dizisi tarafından sağlanan pozitif ve negatif sinyaller arasındaki bir denge ile düzenlenmektedir.

Üç inhibitör reseptör ailesi tanımlanmıştır (hem insanlarda hem farelerde ): insan NK hücrelerinde ifade edilen öldürücü Ig benzeri reseptörler, murin NK hücrelerinde ifade edilen Ly49 lektin benzeri homodimerler (109,131–133) ve ifade edilen CD94/NKG2 lektin benzeri heterodimerik reseptörler.

Çok çeşitli NK hücresi aktive edici reseptörler mevcuttur, bunların çoğu kısa sitoplazmik alanlara sahiptir ve NK hücre fonksiyonunu aktive etmek için transmembran sinyalleşme adaptör molekülleri ile etkileşime girerek işlevlerini yerine getirmektedir. NKG2D, lektin benzeri bir hücre dışı alan içeren, ancak diğer

NKG2 ailesi üyeleriyle yalnızca uzaktan akraba olan tip II disülfite bağlı bir dimerdir (134). Son araştırmalar, NKG2D'nin iki izoforma sahip olduğunu göstermiştir; saf NK hücreleri tarafından yüksek oranda eksprese edilen uzun formu NKG2D-L ve aktivasyondan sonra NK hücrelerinde yukarı regüle edilen kısa form NKG2D-S (135) saptanmıştır.

İnhibitör NK hücre reseptörleri, MHC sınıf I (MHC-I) moleküllerini birleştirir. Örneğin heterodimerik CD94/NKG2 reseptörleri, insanlarda klasik olmayan MHC-I molekülleri insan lökosit antijen-E'yi (HLA-E) ve farelerde Qa-1b'yi tanımaktadır. NK hücre inhibitör reseptörlerinin bağlanması, normalde stres altında eksprese edilen ligandlara bağlanan aktive edici reseptörler tarafından sağlanan sinyalden daha baskın olan bir sinyal sağlamaktadır.

Bunun sayesinde normal MHC-I seviyeleri ifade eden sağlıklı hücreler, genellikle NK hücre aracılı lizisten korunmaktadır.

Viral olarak enfekte olmuş ve transforme edilmiş hücreler genellikle düşük MHC-I seviyeleri ifade etmektedir. NK hücresi inhibitör reseptörlerini bağlamanın sonuç olarak yetersiz kalması, bu hücreleri, özellikle aktive edici reseptörler uygun ligandlar tarafından bağlanırsa, NK hücre saldırısına açık bırakmış olur (136). NK hücresini aktive eden reseptörler için hücreli ligandlar normalde sağlıklı hücrelerde bulunmaz ancak enfeksiyon gibi hücreli strese yanıt olarak indüklenmektedir. Örneğin, NKG2D ligandları, hem insanlarda hem de farelerde CMV enfeksiyonunu takiben indüklenir (137–140). Bu bulgular, aktive edici reseptörlerin tetiklenmesinin, genellikle inhibe edici reseptörler yoluyla azaltılmış sinyallemenin eşlik ettiği, NK hücre aktivasyonuna yol açtığı genel bir çerçeve sağlamaktadır. Bazı durumlarda, aktive edici reseptörlerden gelen sinyaller, MHC-I bağlanması tarafından sağlanan inhibitör sinyallerin varlığına rağmen, NK hücrelerini uyarmak için yeterlidir (141). Bu nedenle MHC-I'in azaltılmış ifadesi, NK hücre aktivasyonu için bir ön koşul değildir ve normal MHC-I seviyeleri ifade eden viral olarak enfekte olmuş veya tümör hücrelerinin ortadan kaldırılması meydana gelebilir. NK hücreleri ayrıca antikora bağımlı indüklemek için doğrudan aktive edilebilir. düşük afiniteli hücre yüzeyi FcγRIII reseptörlerinin, hedef hücre ilişkili antijenlere bağlı antikorların Fc kısmı ile birleşmesi yoluyla hücreli sitotoksiste (142) ye neden olmaktadır.



NK hücre reseptörleri ve bunların ligandları arasındaki etkileşimler dinamik bir ortamda meydana gelir, ortam konağın durumuna bağlıdır. IL-12, IL-15, IL-18, IL-21 ve IFN- $\alpha$  gibi sitokinler, NK hücresinin hayatta kalmasını ve çoğalmasını indükleyebilir ve bu sitokinler, sitotoksik fonksiyonu ve/veya in vitro IFN- $\gamma$  üretimini teşvik edebilir (143). Bu sitokinlerin, in vivo olarak NK hücre yanıtlarının aktivasyonuna katılacağı varsayılmaktadır. NK hücre aktivitelerini etkileyen hücreler ve sitokinler yoğun araştırmalara yapılmıştır bu çalışmalar sonucunda NK hücreleri ve DC'ler arasında heyecan verici bir etkileşim gün ışığına çıkmıştır. NK hücre fonksiyonunu arttırdığı bilinen sitokinlerin çoğu, doğal olarak mikrobiyal enfeksiyona yanıt olarak DH'ler tarafından üretilir (144–147) ve gerçekten de, aktive edilmiş DH'lerin NK hücre fonksiyonunu güçlü bir şekilde artırabileceğine dair giderek artan sayı kanıtlar mevcuttur. Viral enfeksiyonda NK hücreleri MHC-I kısıtlamasının keşfi (148,149), viral enfeksiyonları kontrol etmekten sorumlu başlıca efektörler olarak CD8<sup>+</sup> CTL'lerin tanımlanmasına yol açmıştır. O zamanlar NK hücrelerinin, virüsler tarafından indüklenenler de dahil olmak üzere çeşitli tümörlere karşı aktif olduğu gösterilmişti (150–153). Ancak 1978 yılına kadar NK hücrelerinin kendileri viral enfeksiyonları kontrol etmede rol oynamaktadır (154–158). NK hücrelerinin daha sonra arenavirüs lenfositik koriomenenjit virüsü (159), paramiksovirüs Sendai (160), flavivirüs Kunjin (161) ve herpes virüsü, herpes simpleks ile enfeksiyonu sınırlamada kritik önemi olduğu ortaya çıkarılmıştır. Daha yeni araştırmalar, NK hücrelerinin aktivasyonunun hepatit C virüsü (HCV) (162,163), HIV (164), dang virüsü (165) ve sarı humma virüsünün (166) replikasyonunu sınırlamada da önemli olduğunu kanıtlanmıştır. Birkaç virüsün, bu efektörlerin viral patojenlerle evrimsel ilişkisini doğrulayan, NK hücrelerinin işlevine müdahale ettiği bilinmektedir. Kronik olarak enfekte olmuş HCV hastalarından alınan NK hücrelerinin sayısal ve işlevsel olarak bozulduğunu (167) ve aslında, HCV hastalarından izole edilen NK hücrelerinin DC'leri etkili bir şekilde aktive edemediğini kanıtlanmıştır (168). Genel olarak, NK hücreleri, bir dizi virüsün neden olduğu enfeksiyonları kontrol etmek için önemli bir yere sahiptir. Virüsler, evrimsel hayatta kalabilmek için bu etkilere karşı koyabilmek adına stratejiler geliştirmişlerdir.

#### 2.10.4. HPV Enfeksiyonunda Bağışıklık Sisteminin Aktivasyonu

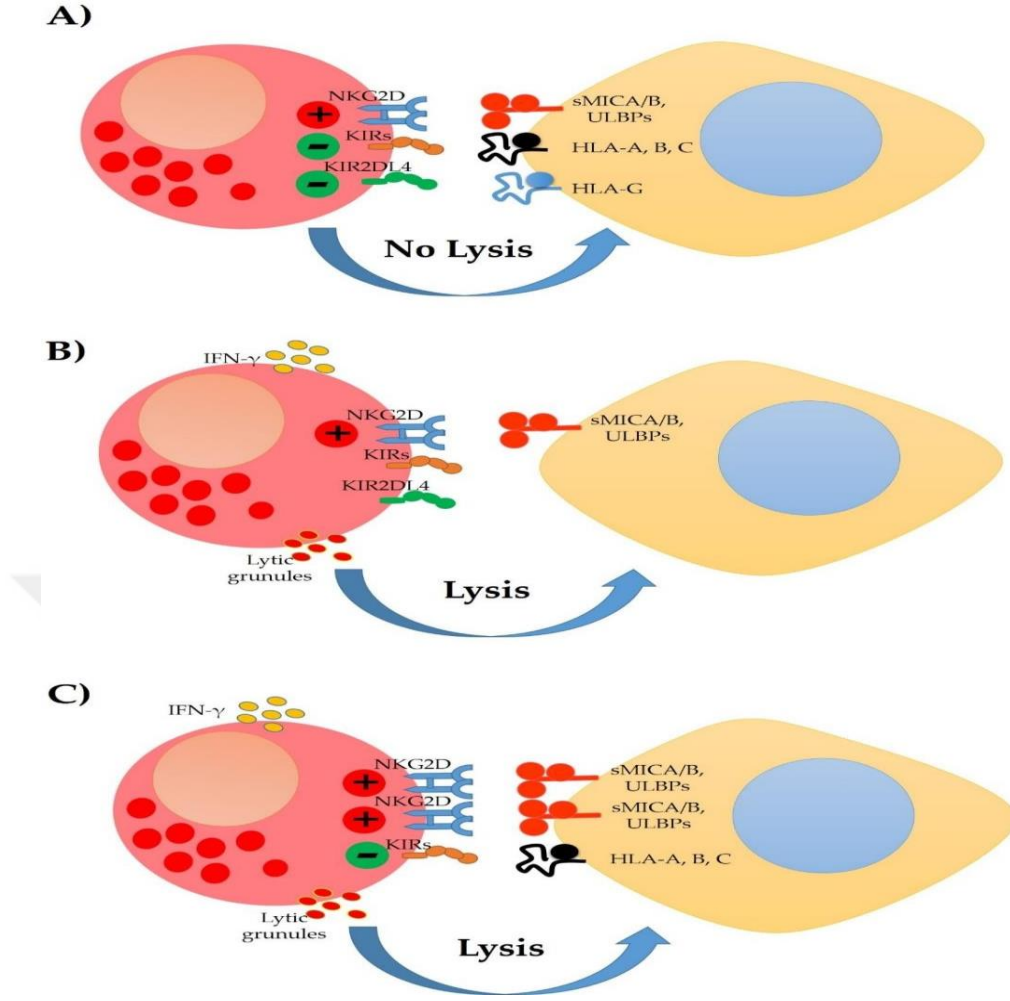
Bağışıklık hücrelerinin bir HPV enfeksiyonuna karşı aktive edici tepkisi, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir parçası olan ve profesyonel olmayan antijen sunan hücreler olarak rol oynayan keratinositlerle başlamaktadır. Keratinositler, HPV lizise neden olmadan bu hücreler içinde çoğaldığından, sınıf I histo-uyumluluk molekülünde (MHC-I) viral peptitler sunabilmektedir. Bunun yanında, keratinositler başlangıçta HLA sınıf II moleküllerini eksprese etmeseler de, interferon gama (IFN- $\gamma$ ) gibi sitokinlerle uyarıldıklarında bunu yapabilirler. MHC sınıf II'yi eksprese etme kapasitesi, Th1 hücrelerinin birikmesinde ve kontrolünde önemli bir yere sahiptir. Aynı zamanda keratinositler, Toll benzeri reseptörler (TLR'ler) gibi farklı örüntü tanıma reseptörlerini eksprese edebilir; örnek olarak, TLR9 çift sarmallı DNA'yı tanıyabilmektedir. Bu tanıma cevap olarak keratinositler, tip 1 interlökin-18 (IL-18), interferon (IFN), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ), gibi sitokinler ve CCL2, CCL20, CXCL9 gibi spesifik kemokinler üretebilmektedir. Bu sitokinler ve kemokinler, bağışıklık sistemini aktive etmede önemli olan diğer hücrelerin yanı sıra NKT, NK, CD8+ ve LCT CD4+ hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar gibi daha fazla bağışıklık sistemi hücresinin toplanmasını ve aktivasyonunu kolaylaştırmaktadır (169–171).

Mukoza epitel tabakaları, aynı zamanda doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir parçası olan ve T hücreleri tarafından elde edilecek bir yanıt için adaptif bağışıklık sisteminin hücrelerini aktive etmek için gerekli olan yerleşik ve geçici profesyonel antijen sunan hücrelere (APC) mevcuttur. Bu mekanizmanın devamında B hücresi aktivasyonu ve antikor üretimi. APC'ler, antijenleri, bu durumda HPV'yi veya daha sonra antijenleri T hücrelerine sunmak üzere HPV ile enfekte olmuş hücreleri yakalayan ve sunan makrofajları ve dendritik hücreleri (DC'ler) içermektedir. APC'ler, HPV'yi tanıyabilen patern tanıma reseptörlerini (PRR'ler) eksprese eder ve patojenleri ve bunların aktivasyonlarını tanıdıktan sonra, CD4 ve CD8 T hücrelerini aktive etmek için gerekli kostimülatör molekülleri ve sitokinleri eksprese etmektedir (3,6,172,173).

NK hücrelerinin aktive edilebileceği ve hedef hücreleri ortadan kaldırabileceği farklı yollar mevcuttur. Bu aktivite, hücre yüzeyinde inhibitör ve aktive edici reseptörlerin varlığı ile düzenlenmektedir (Şekil 2.1). Örneğin, genellikle

tüm çekirdekli hücrelerde bulunan MHC sınıf I molekülleri, NK hücrelerini etkisiz hale getirmek için inhibitör reseptörlere (KIR-L ve NKG2A gibi) bağlanır. MHC molekülleri bol olmadığında (HPV ile enfekte olmuş hücrelerde ve tümör hücrelerinde LcT yanıtından kaçmak için yaygın bir olay), NK hücreleri, inhibe edici sinyallerin olmaması nedeniyle aktive olmaktadır. NK hücrelerini aktive etmenin başka bir yolu, hasarı veya stres reseptörlerini tanımaktan geçer.

Rahim ağzı kanseri hücreleri bu tip reseptörleri eksprese etmektedir. Örneğin, NKG2D reseptörü tarafından tanınan moleküller olan MICA/MICB ve ULBP'leri eksprese etmektedirler. CD95, CD95L'yi tanır, B7-H6, NKp30 ile etkileşime girer, IgG antikorlarının Fc fraksiyonları, NK hücrelerinin sitotoksitesinin yanı sıra DNAM-1 tarafından tanınan CD112 ve CD155'in (genellikle tümör hücrelerinde eksprese edilir) aktive edilmesi için CD16 tarafından tanınmaktadır. (Tablo 2.1), etkileşimi aynı zamanda sitotoksiteyi ve sitokinlerin oluşumunu da desteklemektedir. Ayrıca, NK hücreleri, yabancı patojenler tarafından kodlanan viral hemaglutinin ve nöraminidaz ile etkileşime girebilen NKp46 ve NKp44 gibi aktivasyon belirteçlerini eksprese etmektedir. Reseptör-ligand etkileşimleri, hedef hücrenin müteakip eliminasyonu ile NK hücrelerini aktive etmektedir. Ayrıca, NK hücreleri, doğuştan gelen bağışıklık sistemini aktive etmede ve yardımcı T hücrelerini farklılaştırmada ilgili bir rol oynayan büyük miktarlarda interferon-gama üretmektedir (9,174–176).



Şekil 2.3. Doğal öldürücü (NK) hücreler (Adriana Gutierrez ve ark,2021)

Aktivatör ve inhibitör reseptörleri ifade eder; aktiviteleri, bu etkileşimleri ilgili ligandları ile dengelemeye bağlıdır. (A) İnhibitör reseptörler yoluyla sinyal iletimi, aktive edici reseptörler yoluyla sinyal iletimini aştığında, NK hücrelerinin aktivasyonu inhibe edilir ve tolerans üretilir. (B) Hedef hücreler, inhibe edici ligandların (HLA-A, B, C) ekspresyonunu azalttığında ve uyarıcı moleküllerin (MICA/B, ULBP'ler) ekspresyonunu arttırdığında ve bunlar, NKG2D gibi NK hücrelerinin aktive edici reseptörleri ile etkileşime girdiğinde, sonuç, NK hücrelerinden sitokinleri serbest bırakan reseptör aktivasyonu ve hedef hücreye karşı sitotoksitedir. (C) Hedef hücreler daha fazla miktarda uyarıcı molekül (MICA/B, ULBP'ler) ifade ettiğinde, aktif sinyalleme inhibe edici sinyali aşar ve NK hücrelerinin aktivasyonuna yol açar.

**Tablo 2.3.** NK hücre reseptör ligandları

| Receptor                    | Ligand                                                                                                                                                               |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Activating Receptors</b> |                                                                                                                                                                      |
| NKp30                       | B7-H6, BAG6, Galectin-3, <u>heparan sulfate</u> proteoglycan (HSPG) Viral                                                                                            |
| NKp44                       | <u>hemagglutinin (HA)</u> , <u>haemagglutinin-neuraminidase (HN)</u> , <u>glycoproteins</u> and proteoglycans, nuclear proteins that can be exposed outside the cell |
| NKp46                       | HA, HN, <u>heparan sulfate (HS)</u> , <u>glucosaminoglycans (GAGs)</u>                                                                                               |
| NKp80                       | activation-induced C-type <u>lectin (AICL)</u>                                                                                                                       |
| KIR-3                       | HLA-C, HLA-B                                                                                                                                                         |
| NKG2C                       | HLA-E                                                                                                                                                                |
| NKG2D                       | MICA/B, UBLP1-6                                                                                                                                                      |
| NKG2E                       | HLA-E                                                                                                                                                                |
| CD2                         | CD48                                                                                                                                                                 |
| CD16                        | Fc <u>IgG</u>                                                                                                                                                        |
| CD95L                       | CD95                                                                                                                                                                 |
| CD96                        | CD155                                                                                                                                                                |
| CD226 (DNAM-1)              | CD112, CD155                                                                                                                                                         |
| <b>Inhibiting Receptors</b> |                                                                                                                                                                      |
| KIR-L                       | HLA-A, B, C                                                                                                                                                          |
| NKG2A                       | HLA-E                                                                                                                                                                |
| NKG2B                       | HLA-E                                                                                                                                                                |
| TIGIT                       | <u>Nectin 4</u> , CD112, CD155                                                                                                                                       |
| PD-1                        | PDL1                                                                                                                                                                 |

NK hücre reseptörleri, hücre inhibisyonunu veya aktivasyonunu teşvik edebilir ve bu olaylar, bu reseptörler üzerinde bulunan sitoplazmik alanlara ve ilişkili oldukları kinazlara göre değişmektedir. Örneğin, bazı inhibitör reseptörler (NKG2A ve NKG2B), intrasitoplazmik alanlarında ITIM ( tirozine dayalı inhibitör immünoresptör motifleri) adı verilen motiflere sahiptir. Bu motifler, tirozin fosfatazlarla ilişkili SH2 alanına bağlanabilir ve bu nedenle defosforilasyon yoluyla hücre sel sitotoksitenin inhibisyonunu sağlamaktadır. Aksine, NK hücreleri aynı zamanda ITAM motiflerinden ( tirozin bazlı immünoresptör aktivasyon motifleri) yoksun olan ancak kinazlar gibi tirozin kinazların bağlandığı ITAM sekanslarına sahip olan DAP-12 molekülü ile birleşebilen aktive edici reseptörlere (NKG2D) sahiptir. Syk ailesi ve böylece NK hücrelerinin aktivasyonunu teşvik edebilmektedir (177–179).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Yöntem

Bu çalışma, 2022-2023 yılları arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey eğitim araştırma hastanesi, Kadın hastalıkları ve doğum anabilim dalı ve Sağlık bilimleri araştırma ve uygulama merkezi laboratuvarlarında, merkez laboratuvarları akım sitometri laboratuvarında prospektif olarak yürütülmüştür. Yapılan çalışmada Bilimsel Araştırmalar proje kurulundan 15.03.2023 tarih TF.UT.02 numaralı kararı bap onay almış olup maddi destek alınmıştır. Çalışma planı yapıldıktan sonra üniversite bünyesindeki etik kurul başkanlığına başvuruda bulunulmuş ve onay alınmıştır. Çalışma planı yapılırken belirlenen çalışma grubuna HPV test sonucu pozitif HPV yüksek risk (16,18), HPV diğer yüksek risk pozitif (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) hastalar ve HPV sonucu negatif hastalar dahil edilmiştir. Çalışma grubuna dahil olma kriterleri: reproduktif yaş gurubu kadınlardan kronik hastalığı olmayan kronik ilaç kullanımı olmayan immunsupresif tedavi almayan kadınlardan jinekolojik açıdan asemptomatik olmak, daha önce HPV DNA test pozitifliği tespit edilmemiş olmak olarak belirlenmiştir. Çalışmanın işleyişi ise şu şekilde planlanmıştır. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey eğitim araştırma hastanesi, Kadın hastalıkları ve doğum polikliniğine başvuran, dahil etme ve dışlama kriterlerine uyan hastalar, çalışma ile ilgili bilgilendirilerek, çalışma ile ilgili daha önceden hazırlanmış olan bilgilendirilmiş onam formları hastalara verilerek uygun ortam ve sürede okumaları sağlanmıştır ve ardından çalışmaya katılmayı onaylayan hastalarla gerekli işlemlere geçilmiştir. Örnek toplama süreçleri çalışma ve kontrol grupları için aynı şekilde ilerlemiştir. Hastalardan örnek toplama öncesi anamnez alınmış dışlama kriterlerine uyanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Hastalardan telefon numarası, son adet tarihi, herhangi bir şikayeti olup olmadığı, dahili problemi, alerjik durumu, kronik hastalığı, kullandığı ilaçlar, alkol kullanımı, sigara kullanımı, cinsel aktif olup olmadığı, kaydedildi. Hastalar onamları alındıktan sonra

jinekolojik muayene masasına alındı tek kullanımlık steril spekulum yerleştirildi. Dışlama kriterleri saptanmadı ise ardışık olarak bir adet endoservikal sitobrush ile endoservikal kanala girilerek fırça 360 derece döndürülmek suretiyle

örnek toplandı. Bu sırada görünür düzeyde kan içeren örnekler çalışma dışında bırakılmıştır. Örnekleri içeren fırçalar 5 ml RPMI solüsyonu içeren ve buzlu taşıma ünitesinde bekletilen 15ml lik Falkon tüplerine aktarıldı. Hastalardan alınan sürüntü örnekleri: Hpv DNA genotiplendirme çalışması; QiaSymphony otomatik Dna izolasyon cihazı kullanılarak NovaCyt sıvı bazlı sitoloji örneklerinden elde edilen Dna'ya Qiagen RotorGene Q platformunda yapılan Qiascreen Hpv-Pcr testiyle yapıldı. Bu işlemin ardından hastalardan 8ml'lik ve jelli sarı tüplere periferik venöz kan örneği alındı. Ardından kan buzlu taşıma ünitesinde en geç bir saat içinde laboratuvara ulaştırıldı ve analizlere hemen başlandı. Laboratuvara ulaştırılan örnek 5000\*g hızda 5 dk da santrifüj edildi serum ve plazma ayrıştırıldı. Kanın serum kısmı -80 derece sıcaklıkta toplandı. Numune toplama işlemi bittikten sonra hastaların kan örnekleri. BTLAB ticari kiti kullanılarak yapıldı. Öncelikle tüm solüsyonlar ve numunelerin oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Farklı konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanarak kuyucuklara konuldu. Aynı şekilde numuneler de sırasıyla kuyucuklara konuldu. Numunelerin üzerine özgün antikor eklendi. Daha sonra tüm kuyucuklara Streptavidin HRP çözeltilisi eklenerek 37 oC de 60 dk inkübe edildi. Kuyucuklar 5 defa yıkandı. Sırasıyla A ve B solüsyonları konuldu. Karanlıkta 37 oC de 10 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra stop solüsyonu eklenerek 450 nm de BioTek ELISA reader ile spektrofotometrik ölçüm yapıldı. Sonuçlar nmol/L cinsinden ifade edildi. Serumları nk k kitleri ile çalışıldı ve veriler elde edildi

### 3.2. Örnek Seçimi, Zaman, ve İncelenen Değişkenler

Hastanemizde 2022-2023 yılları arasında başvuran reproduktif yaş gurubu kadınlardan kronik hastalığı olmayan kronik ilaç kullanımı olmayan immunsupresif tedavi almayan kadınlardan rutin HPV taraması alındı, yeni tanı alan yüksek riskli HPV (16,18),diğer yüksek riskli HPV (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) ve ile HPV negatif çıkan hastalar 3 ayrı guruba ayrıldı natural killer aktivitesini hastadan kan örneği alınarak kantitatif değerler belirlendi.

Çalışmada yeni tanı yüksek risk (16,18) HPV, diğer yüksek risk (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) HPV enfeksiyonuna sahip olan ve HPV sonucu negatif gelen hastalar aynı laboratuvarda tanı anında çalışılan natural killer tetkikindeki değerleri alınarak gruplar arasındaki kantitatif oranlamalar yapıldı.

Değerlendirme en az beş yıl biyokimya laboratuvar deneyimi olan uzmanlarınca yapıldı. Kan alma işlemi yapılırken hastaların kronik hastalıklarının olmamasına, kronik ilaç kullanımı olmamasına, immun supresif durumun olmamasına dikkat edildi.

### **3.3. İstatiksel Analiz**

#### **3.3.1. İstatistiksel Yöntem**

Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılan değişkenlerin üç grupta karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD testleri, normal dağılmayan değişkenlerin üç grupta karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Dunn testleri kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile test edilmiştir. NK değişkenine kesim noktası belirlemek için ROC curve analizi yapılmıştır. Analizlerde SPSS 22,0 Windows versiyon paket programı ve MedCalc 19.7.1 paket programı kullanılmıştır.  $P<0,05$  anlamlı kabul edilmiştir.



#### 4. BULGULAR

**Tablo 4.1.** Gruplar arasında sosyodemografik sonuçlar (1)

|                    |              | HPV TİP   |            |            | P      |
|--------------------|--------------|-----------|------------|------------|--------|
|                    |              | 16+ ve18+ | D+         | NEG        |        |
|                    |              | n(%)      | n(%)       | n(%)       |        |
| Sigara +/-         | Var          | 1 (5 )    | 4 (11,4 )  | 9 (33,3 )  | 0,021* |
|                    | Yok          | 19 (95 )  | 31 (88,6 ) | 18 (66,7 ) |        |
| Alkol              | Var          | 0 (0 )    | 1 (2,9 )   | 1 (3,7 )   | 0,557  |
|                    | Yok          | 20 (100 ) | 34 (97,1 ) | 26 (96,3 ) |        |
| Medeni Durum       | B            | 3 (15 )   | 6 (17,1 )  | 2 (7,4 )   | 0,494  |
|                    | E            | 17 (85 )  | 29 (82,9 ) | 25 (92,6 ) |        |
| Eğitim             | Üniversite   | 1 (5 )    | 5 (14,3 )  | 2 (7,4 )   | 0,467  |
|                    |              |           |            |            |        |
|                    | Lise ve altı | 19 (95 )  | 30 (85,7 ) | 25 (92,6 ) |        |
| Aktif Cinsel Hayat | Var          | 16 (80 )  | 29 (82,9 ) | 26 (96,3 ) | 0,135  |
|                    | Yok          | 4 (20 )   | 6 (17,1 )  | 1 (3,7 )   |        |
| Partner            | 1            | 20 (100 ) | 35 (100 )  | 27 (100 )  | -      |

\*p<0,05 düzeyinde anlamlı

(D+ diğer yüksek riskli HPV tip 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68, HPV negatif hastalar)

Sigara içme durumu bakımından gruplar arasında farklılık bulunmuştur(p=0,021).

HPV negatif çıkan bireyler HPV 16,18+ ve D+ ( HPV diğer yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) olan hastalara göre daha yüksek sigara içme oranı izlenmiştir.

Guruplar arası yapılan karşılaştırmada alkol kullanımı, medeni durum, eğitim, aktif cinsel hayat durumu, partner sayısı açısından anlamlı fark bulunamamıştır.

**Tablo 4.2.** Gruplar arasında sosyodemografik sonuçlar (2)

|           | 16+ ve18+ ( n=20 ) | D+ ( n=34 )   | NEG ( n=27 ) | P         |
|-----------|--------------------|---------------|--------------|-----------|
| Yaş (Yıl) | 41,95 ± 8,68       | 42,88 ± 11,18 | 36,3 ± 10,25 | 0,040*†   |
| Gravide   | 4,15 ± 2,11        | 2,8 ± 1,78    | 2,41 ± 1,34  | 0,013*††  |
| Parite    | 3,1 ± 0,97         | 2,6 ± 1,68    | 2,37 ± 1,31  | 0,234††   |
| Abortus   | 1 ± 1,65           | 0,23 ± 0,55   | 0,11 ± 0,42  | 0,034* †† |
| NK SNÇ    | 49,64 ± 9,76       | 51,34 ± 12,07 | 59,45 ± 6,44 | 0,001* †  |

\*p<0,05 düzeyinde anlamlı

(D+:diğer yüksek riskli HPV tip 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68, NEG:HPV negatif hastalar)

Yaş bakımından gruplar arasında farklılık bulunmuştur( $p=0,040$ ).HPV negatif olan gurup HPV 16,18+ ve D+ ( HPV diğer yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58, 59,66,68) guruplarına kıyasla daha küçük yaş ortalaması testip edilmiştir bu sonuç ileri yaş hastalarda HPV pozitif olması olasılığı daha yüksek anlamına gelmektedir.

Gravide bakımından gruplar arasında farklılık bulunmuştur( $p=0,013$ ). HPV negatif olan gurup HPV 16,18+ ve D+ ( HPV diğer yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58, 59,66,68) guruplarına kıyasla daha düşük gravide oranı tespit edilmiştir. Gravide oranı artıka HPV pozitif saptanma oranı artmaktadır.

Parite bakımından gruplar arasında farklılık bulunmuştur( $p=0,234$ ). HPV negatif olan gurup HPV 16,18+ D+ (HPV diğer yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52, 56,58, 59, 66,68) guruplarına kıyasla daha düşük parite oranı tespit edilmiştir. Parite oranı artıka HPV pozitif saptanma oranı artmaktadır.

Abortus bakımından gruplar arasında farklılık bulunmuştur ( $p=0,034$ ). HPV negatif olan gurup.

HPV 16,18+ ve D+ ( HPV diğer yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58, 59,66,68) guruplarına kıyasla daha düşük abortus oranı tespit edilmiştir.Abortus oranı artıka HPV pozitif saptanma oranı artmaktadır.

NK sonuçları bakımından HPV 16,18+ olan grup ile D+ ( HPV diğer yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) olan grup arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır( $p=0,544$ ), HPV negatif olan grubun NK sonuçları HPV pozitif olan grupların sonuçlarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

#### 4.1. Çoklu Karşılaştırmalar

**Tablo 4.3.** NK Sonuçlar

|               | P      |
|---------------|--------|
| NEG-D+        | 0,002* |
| NEG-16+ ve18+ | 0,001* |
| D+-16+ ve18+  | 0,544  |

\* $p<0,05$  düzeyinde anlamlı

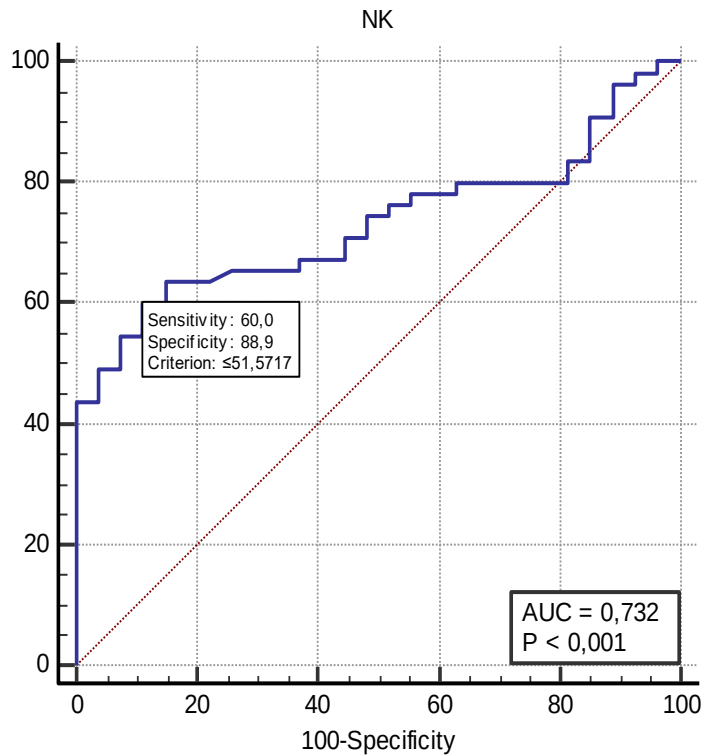
HPV negatif olan grup ile D+ (HPV değeri yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) arasında NK sonuçları açısından anlamlı fark bulunmuştur ( $p= 0,002$ ). HPV negatif olan grubun NK sonuçları D+ ( HPV değeri yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) olan grupların sonuçlarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

HPV negatif olan grup ile HPV 16,18+ grubu arasında NK sonuçları açısından anlamlı fark bulunmuştur ( $p= 0,001$ ). HPV negatif olan grubun NK sonuçları HPV 16,18+ olan grupların sonuçlarına göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

NK sonuçları bakımından HPV 16,18+ olan grup ile D+ ( HPV değeri yüksek pozitif 31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) olan grup arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ( $p=0,544$ ).

Değişkenlerin medyan(%25-%75) değerleri

#### 4.2. ROC analizi



**Şekil 4.1.** ROC analizi, NK sonuçlarına göre test sensitivite ve spesifite karşılaştırması

**Tablo 4.4.** ROC analizi, NK sonuçlarına göre test sensitivite ve spesifite karşılaştırması

| Criterion           | Sensitivity | 95% CI      | Specificity | 95% CI      |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| $\leq 51,571741213$ | 60,00       | 45,9 - 73,0 | 88,89       | 70,8 - 97,6 |

Hastalarda bakılacak olan NK düzeyi 51,571741213 nmol/L değeri cut-off olarak sonuçlanmıştır. HPV taraması yapılan HPV pozitif olarak tespit edilen hastalarda eş zamanlı bakılan NK düzeyi: 51,571741213 nmol/L altında tespit edilmesi halinde hastada tespit edilebilecek preinvaziv hastalıkların takipler esnasında invaziv hastalıklara dönüşmesini engellemek amacı ile ilerde geliştirilecek olan immünoterapi yaklaşımları NK düzeyi yükseltme tedavileri ile desteklenmeleri gerekmektedir.

## 5. TARTIŞMA

Serviks kanseri, dünyada üzerinde kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci en sık görülen ve her iki dakikada bir kadın ölümüne neden olan kanserdir. Serviks kanserinin oluşumu için, insan papilloma virüsü (HPV) var olması gerekir ama tek faktör değildir (1). Bugün, servikal kanser gelişimi için HPV'nin mutlaka var olması gerektiği, diğer risk faktörlerinin ya virüsle karşılaşma oranını arttırdığı ya da viral persistansın karsinojenik süreci hızlandırmada önemli olduğu düşünülmektedir (2). HPV ile enfekte olan kadınların yaklaşık %90'ında 3-5 yıl içinde virüs vücuttan tamamen elimine edilmektedir. Bu eliminasyonu sağlayan hücresel ve humoral immün yanıtın beraber çalışması sonucu oluşmaktadır. İmmün sistem yetersizliği olan bireylerde HPV enfeksiyonu persiste edebilmektedir.

HPV hedef hücreleri enfekte ettiğinde, doğal öldürücü (NK) gibi doğuştan gelen bağışıklık tepkisi hücreleri tarafından elimine edilebilmektedir. Enfeksiyon bölgesinde daha fazla NK hücresi, makrofaj, dendritik hücre (DC), Langerhans hücresi (LC) ve NK T hücresi (NKT) alımını sağlamak için enflamatuvar bir bağışıklık tepkisini indükleyen hücrelerdir. Bu hücreler ayrıca CD4, TCD8 ve LcB T hücrelerinin katıldığı enflamasyonu şiddetlendirmeye ve adaptif bağışıklık tepkisi hücrelerini aktive etmek için katkıda bulunurlar.

Son zamanlarda, HPV'ye karşı CD4 ve CD8 T hücrelerinin aracılık ettiği adaptif bağışıklığı güçlendirmek için olası terapötik aşılar üzerinde klinik çalışmalar yapılmaktadır. İmmünoterapinin büyük ilgi gören bir yönü, NK hücrelerinin kullanılmasıdır. Bu çalışmalar çeşitlidir ve aktifleştirilmiş otolog veya allojenik NK hücrelerinin aktarılması, sitokinler veya analoglar kullanılarak NK hücrelerinin aktivasyonunun ve sitolitik aktivitesinin iyileştirilmesi ve özgüllüğü artırmak için kimerik antijen reseptörlerinin modifiye edilmesi ve NK hücrelerinin hedeflenmesi gibi birçok stratejiyi barındırmaktadır (8–10). NKA (natural killer aktivitesi)'nin, sürveyansta ve tümör hücrelerinin eliminasyonunda önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır (11). Çalışmalar, düşük NKA'nın yüksek düzeyde tümör oluşumuna ve metastaza yol açtığını ve derecesinin malignitenin invazivliği ile korele olduğunu göstermektedir (12).

Kyo Chul Koo ve arkadaşlarının yapmış olduğu NK Hücre Altkümesinin Azaltılması Prostat Kanseriinde NK Hücre İşlev Bozukluğundan Önce Geliyor isimli çalışmasında prostat ca tanı 51 hasta ve 54 sağlıklı kontrol üzerine yapılan çalışmada NK disfonksiyonundan önce natural killer C56 parlak alt gurubunda sayısal düşüklük saptanmıştır.

Yaptığımız çalışma serviks kanser gelişimi öncüsü olarak kabul edilen HPV enfeksiyonlarında immunolojik yanıtta büyük rolü olan NK hücrelerinin HPV pozitif olan gurupların HPV negatif olan guruplara göre sayısal düşüklük saptanmıştır. Çalışmamız literatür taramasına dayanarak yapılan ilk çalışmadır.

Yaptığımız çalışma verilerine dayanarak hastalarda bakılacak olan NK düzeyi 51,571741213 nmol/L değeri cut-off olarak sonuçlanmıştır. HPV taraması yapılan HPV pozitif olarak tespit edilen hastalarda eş zamanlı bakılan NK düzeyi :51,571741213 nmol/L altında tespit edilmesi halinde hastada tespit edilebilecek preinvaziv hastalıkların takipler esnasında invaziv hastalıklara dönüşmesini engellemek amacı ile ilerde geliştirilecek olan immünoterapi yaklaşımları NK düzeyi yükseltme tedavileri ile desteklenmeleri gerekmektedir.

## 6. SONUÇ

NK laboratuvar düzeyleri HPV enfeksiyonunda, ucuz ve kullanışlı belirteçler olabilir. Bu konuda yapılacak daha geniş ölçekli ve yüksek katılımlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmada HPV enfeksiyonuna karşı adaptif yanıtta NK hücrelerinin önemli bir rol oynadığına dair yeni bulgular saptanmış oldu. Bu fikir, NK hücre immün gözetimi ile ilgili boylamsal çalışmaların, serviks kanseri onkolojik sonuçlarını geliştirmeye yönelik potansiyel olarak yeni immünoterapötik stratejilere yol açacak.



## 7. KAYNAKLAR

1. Van Doorslaer K, Li Z, Xirasagar S, Maes P, Kaminsky D, Liou D, et al. The Papillomavirus Episteme: a major update to the papillomavirus sequence database. *Nucleic Acids Res.* 2017;45:D499-506.
2. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004;324:17-27.
3. Manzo-Merino J, Del-Toro-Arreola S, Rocha-Zavaleta L, Peralta-Zaragoza Ó, Jiménez-Lima R, Madrid-Marina V. Immunology of Cervical Cancer. *Rev Investig Clin Organo Hosp Enfermedades Nutr.* 2020;72:188-97.
4. Christensen ND. HPV disease transmission protection and control. *Microb Cell. national Libery of medicine.*2016; 3:476-90.
5. Zhou C, Tuong ZK, Frazer IH. Papillomavirus Immune Evasion Strategies Target the Infected Cell and the Local Immune System. *Front Oncol.* 2019;9:682.
6. Amador-Molina A, Hernández-Valencia JF, Lamoyi E, Contreras-Paredes A, Lizano M. Role of innate immunity against human papillomavirus (HPV) infections and effect of adjuvants in promoting specific immune response. *Viruses.* 2013;5:2624-42.
7. Sasagawa T, Takagi H, Makinoda S. Immune responses against human papillomavirus (HPV) infection and evasion of host defense in cervical cancer. *J Infect Chemother Off J Jpn Soc Chemother.* 2012;18:807-15.
8. Shanmugasundaram S, You J. Targeting Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses.* 2017;9:229.
9. Zhang C, Hu Y, Shi C. Targeting Natural Killer Cells for Tumor Immunotherapy. *Front Immunol.* 2020;11:60.
10. Liu S, Galat V, Galat Y, Lee YKA, Wainwright D, Wu J. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development. *J Hematol OncolJ Hematol Oncol.* 2021;14:7.



11. Kim S, Iizuka K, Aguila HL, Weissman IL, Yokoyama WM. In vivo natural killer cell activities revealed by natural killer cell-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:2731-6.
12. Takeuchi H, Maehara Y, Tokunaga E, Koga T, Kakeji Y, Sugimachi K. Prognostic significance of natural killer cell activity in patients with gastric carcinoma: a multivariate analysis. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:574-8.
13. Schleyden JS, Baur N, Kammerer R, Nelson PJ, Rohrmann K, Gröne EF, et al. Cytotoxic markers and frequency predict functional capacity of natural killer cells infiltrating renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2006;12:718-25.
14. Vivier E, Ugolini S, Blaise D, Chabannon C, Brossay L. Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer. *Nat Rev Immunol*. 2012;12:239-52.
15. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol*. 2001;22:633-40.
16. Harlin H, Hanson M, Johansson CC, Sakurai D, Poschke I, Norell H, et al. The CD16<sup>-</sup> CD56(bright) NK cell subset is resistant to reactive oxygen species produced by activated granulocytes and has higher antioxidative capacity than the CD16<sup>+</sup> CD56(dim) subset. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2007;179:4513-9.
17. Zaidi MR, Merlino G. The two faces of interferon- $\gamma$  in cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2011;17:6118-24.
18. Bansal A, Singh MP, Rai B. Human papillomavirus-associated cancers: A growing global problem. *Int J Appl Basic Med Res*. 2016;6:84-9.
19. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:1-17.
20. Gheit T. Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology. *Front Oncol*. 2019;9:355.
21. Interaction of L2 with beta-actin directs intracellular transport of papillomavirus and infection - PubMed [Internet]. [a.yer 31 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12560332/>

22. Cell surface-binding motifs of L2 that facilitate papillomavirus infection - PubMed.2006 [İnternet]. [a.yer 31 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12610128/>
23. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer - PubMed [İnternet]. [a.yer 31 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16597322/>
24. Prophylactic human papillomavirus vaccines.2006 - PubMed [İnternet]. [a.yer 31 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16670757/>
25. Role of heparan sulfate in attachment to and infection of the murine female genital tract by human papillomavirus.2009- PubMed [İnternet]. [a.yer 31 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19073722/>
26. Inhibition of transfer to secondary receptors by heparan sulfate-binding drug or antibody induces noninfectious uptake of human papillomavirus - PubMed [İnternet]. [a.yer 31 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17686860/>
27. Different heparan sulfate proteoglycans serve as cellular receptors for human papillomaviruses - PubMed [İnternet]. [a.yer 31 Mayıs 2023]. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14645569/>
28. Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucourt-Boulch D, Wheeler CM, ALTS Group. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis.* 2007;195:1582-9.
29. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, et al. Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:513-7.
30. Castle PE, Fetterman B, Akhtar I, Husain M, Gold MA, Guido R, et al. Age-appropriate use of human papillomavirus vaccines in the U.S. *Gynecol Oncol.* 2009;114:365-9.

31. Rositch AF, Burke AE, Viscidi RP, Silver MI, Chang K, Gravitt PE. Contributions of recent and past sexual partnerships on incident human papillomavirus detection: acquisition and reactivation in older women. *Cancer Res.* 2012;72:6183-90.
32. Maglennon GA, Doorbar J. The biology of papillomavirus latency. *Open Virol J.* 2012;6:190-7.
33. Hammer A, de Koning MN, Blaakaer J, Steiniche T, Doorbar J, Griffin H, et al. Whole tissue cervical mapping of HPV infection: Molecular evidence for focal latent HPV infection in humans. *Papillomavirus Res Amst Neth.* 2019;7:82-7.
34. Theiler RN, Farr SL, Karon JM, Paramsothy P, Viscidi R, Duerr A, et al. High-risk human papillomavirus reactivation in human immunodeficiency virus-infected women: risk factors for cervical viral shedding. *Obstet Gynecol.* 2010;115:1150-8.
35. Malagón T, MacCosham A, Burchell AN, El-Zein M, Tellier PP, Coutlée F, et al. Proportion of Incident Genital Human Papillomavirus Detections not Attributable to Transmission and Potentially Attributable to Latent Infections: Implications for Cervical Cancer Screening. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2022;75:365-71.
36. Gravitt PE, Winer RL. Natural History of HPV Infection across the Lifespan: Role of Viral Latency. *Viruses.* 2017;9:267.
37. Stanley MA, Pett MR, Coleman N. HPV: from infection to cancer. *Biochem Soc Trans.* 2007;35:1456-60.
38. Avcı GA, Bozdayı G. Human Papillomavirus. *Kafkas J Med Sci.* 2013;;136-44.
39. Doorbar J. Host control of human papillomavirus infection and disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;47:27-41.
40. Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci Lond Engl 1979.* 2017;131:2201-21.

41. Ren S, Gaykalova DA, Guo T, Favorov AV, Fertig EJ, Tamayo P, et al. HPV E2, E4, E5 drive alternative carcinogenic pathways in HPV positive cancers. *Oncogene*. 2020;39:6327-39.
42. Carr J, Gyorfi T. Human papillomavirus. Epidemiology, transmission, and pathogenesis. *Clin Lab Med*. 2000;20:235-55.
43. Beutner KR. Nongenital human papillomavirus infections. *Clin Lab Med*. 2000;20:423-30.
44. von Krogh G, Lacey CJ, Gross G, Barrasso R, Schneider A. European course on HPV associated pathology: guidelines for primary care physicians for the diagnosis and management of anogenital warts. *Sex Transm Infect*. 2000;76:162-8.
45. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet Lond Engl*. 2007;370:890-907.
46. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 2001;164:1017-25.
47. Sedlacek TV. Advances in the diagnosis and treatment of human papillomavirus infections. *Clin Obstet Gynecol*. 1999;42:206-20.
48. Thomas DB, Ray RM, Koetsawang A, Kiviat N, Kuypers J, Qin Q, et al. Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. I. Risk factors for invasive cervical carcinomas with human papillomavirus types 16 and 18 DNA. *Am J Epidemiol*. 2001;153:723-31.
49. Tilston P. Anal human papillomavirus and anal cancer. *J Clin Pathol*. 1997;50:625-34.
50. Castle PE, Schiffman M, Bratti MC, Hildesheim A, Herrero R, Hutchinson ML, et al. A population-based study of vaginal human papillomavirus infection in hysterectomized women. *J Infect Dis*. 2004;190:458-67.

51. Chaturvedi AK, Madeleine MM, Biggar RJ, Engels EA. Risk of human papillomavirus-associated cancers among persons with AIDS. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101:1120-30.
52. Stier EA, Goldstone SE, Einstein MH, Jay N, Berry JM, Wilkin T, et al. Safety and efficacy of topical cidofovir to treat high-grade perianal and vulvar intraepithelial neoplasia in HIV-positive men and women. *AIDS Lond Engl.* 2013;27:545-51.
53. Sonnex C. Human papillomavirus infection with particular reference to genital disease. *J Clin Pathol.* 1998;51:643-8.
54. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010;11:1048-56.
55. Serrano B, Alemany L, Tous S, Bruni L, Clifford GM, Weiss T, et al. Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease. *Infect Agent Cancer.* 2012;7:38.
56. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:518-27.
57. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine.* 2012;30:F12-23.
58. de Sanjosé S, Alemany L, Ordi J, Tous S, Alejo M, Bigby SM, et al. Worldwide human papillomavirus genotype attribution in over 2000 cases of intraepithelial and invasive lesions of the vulva. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* 2013;49:3450-61.
59. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, Madeleine MM, Franceschi S. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. *Int J Cancer.* 2009;124:1626-36.

60. Smith JS, Backes DM, Hoots BE, Kurman RJ, Pimenta JM. Human papillomavirus type-distribution in vulvar and vaginal cancers and their associated precursors. *Obstet Gynecol.* 2009;113:917-24.
61. Hoevenaars BM, van der Avoort IAM, de Wilde PCM, Massuger LFAG, Melchers WJG, de Hullu JA, et al. A panel of p16(INK4A), MIB1 and p53 proteins can distinguish between the 2 pathways leading to vulvar squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2008;123:2767-73.
62. Chaux A, Cubilla AL. The role of human papillomavirus infection in the pathogenesis of penile squamous cell carcinomas. *Semin Diagn Pathol.* 2012;29:67-71.
63. Allen AL, Siegfried EC. What's new in human papillomavirus infection. *Curr Opin Pediatr.* 2000;12:365-9.
64. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med.* 1997;102:3-8.
65. Kjaer SK, Tran TN, Sparen P, Tryggvadottir L, Munk C, Dasbach E, et al. The burden of genital warts: a study of nearly 70,000 women from the general female population in the 4 Nordic countries. *J Infect Dis.* 2007;196:1447-54.
66. Leval A, Herweijer E, Arnheim-Dahlström L, Walum H, Frans E, Sparén P, et al. Incidence of genital warts in Sweden before and after quadrivalent human papillomavirus vaccine availability. *J Infect Dis.* 2012;206:860-6.
67. Garland SM, Steben M, Sings HL, James M, Lu S, Railkar R, et al. Natural history of genital warts: analysis of the placebo arm of 2 randomized phase III trials of a quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) vaccine. *J Infect Dis.* 2009;199:805-14.
68. Jemal A, Simard EP, Dorell C, Noone AM, Markowitz LE, Kohler B, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus(HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105:175-201.

69. Deshmukh AA, Suk R, Shiels MS, Damgacioglu H, Lin YY, Stier EA, et al. Incidence Trends and Burden of Human Papillomavirus-Associated Cancers Among Women in the United States, 2001-2017. *J Natl Cancer Inst.* 2021;113:792-6.
70. Deshmukh AA, Suk R, Shiels MS, Sonawane K, Nyitray AG, Liu Y, et al. Recent Trends in Squamous Cell Carcinoma of the Anus Incidence and Mortality in the United States, 2001-2015. *J Natl Cancer Inst.* 2020;112:829-38.
71. Alemany L, Saunier M, Alvarado-Cabrero I, Quirós B, Salmeron J, Shin HR, et al. Human papillomavirus DNA prevalence and type distribution in anal carcinomas worldwide. *Int J Cancer.* 2015;136:98-107.
72. Joseph DA, Miller JW, Wu X, Chen VW, Morris CR, Goodman MT, et al. Understanding the burden of human papillomavirus-associated anal cancers in the US. *Cancer.* 2008;113:2892-900.
73. Moscicki AB, Darragh TM, Berry-Lawhorn JM, Roberts JM, Khan MJ, Boardman LA, et al. Screening for Anal Cancer in Women. *J Low Genit Tract Dis.* 2015;19:S27-42.
74. Palefsky JM. Human papillomavirus-associated anal and cervical cancers in HIV-infected individuals: incidence and prevention in the antiretroviral therapy era. *Curr Opin HIV AIDS.* 2017;12:26-30.
75. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2007;356:1944-56.
76. Mork J, Lie AK, Glatre E, Hallmans G, Jellum E, Koskela P, et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 2001;344:1125-31.
77. Gillison ML, Broutian T, Pickard RKL, Tong Z you, Xiao W, Kahle L, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA.* 2012;307:693-703.

78. Li X, Gao L, Li H, Gao J, Yang Y, Zhou F, et al. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis.* 01 Şubat 2013;207(3):479-88.
79. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:407-20.
80. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2011;29:4294-301.
81. Van Dyne EA, Henley SJ, Saraiya M, Thomas CC, Markowitz LE, Benard VB. Trends in Human Papillomavirus-Associated Cancers - United States, 1999-2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2018;67:918-24.
82. Derkay CS, Wiatrak B. Recurrent respiratory papillomatosis: a review. *The Laryngoscope.* 2008;118:1236-47.
83. Medline ® Abstract for Reference 46 of “Human papillomavirus infections: Epidemiology and disease associations” - UpToDate [İnternet]. [a.yer 01 Haziran 2023]. Erişim adresi: <https://www.uptodate.com/contents/human-papillomavirus-infections-epidemiology-and-disease-associations/abstract/46>
84. Backes DM, Kurman RJ, Pimenta JM, Smith JS. Systematic review of human papillomavirus prevalence in invasive penile cancer. *Cancer Causes Control CCC.* 2009;20:449-57.
85. Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, et al. Comparing the performance of six human papillomavirus tests in a screening population. *Br J Cancer.* 2013;108:908-13.
86. M A, M S, E P, L X, Cjlm M, J B, et al. 2020 list of human papillomavirus assays suitable for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* [İnternet]. Ağustos 2021 [a.yer 01 Haziran 2023];27. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33975008/>



87. La Torre G, de Waure C, Chiaradia G, Mannocci A, Ricciardi W. HPV vaccine efficacy in preventing persistent cervical HPV infection: a systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2007;25:8352-8.
88. Christensen ND, Budgeon LR. Vaccines and immunization against human papillomavirus. *Curr Probl Dermatol*. 2014;45:252-64.
89. Pils S, Joura EA. From the monovalent to the nine-valent HPV vaccine. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;21:827-33.
90. Rosa MI da, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. [Human papillomavirus and cervical neoplasia]. *Cad Saude Publica*. 2009;25:953-64.
91. da Silva Barros NK, Costa MC, Alves RRF, Villa LL, Derchain SFM, Zeferino LC, et al. Association of HPV infection and Chlamydia trachomatis seropositivity in cases of cervical neoplasia in Midwest Brazil. *J Med Virol*. 2012;84:1143-50.
92. Marrazzo JM, Koutsky LA, Kiviat NB, Kuypers JM, Stine K. Papanicolaou test screening and prevalence of genital human papillomavirus among women who have sex with women. *Am J Public Health*. 2001;91:947-52.
93. Albero G, Castellsagué X, Lin HY, Fulp W, Villa LL, Lazcano-Ponce E, et al. Male circumcision and the incidence and clearance of genital human papillomavirus (HPV) infection in men: the HPV Infection in men (HIM) cohort study. *BMC Infect Dis*. 2014;14:75.
94. Vaccarella S, Herrero R, Snijders PJF, Dai M, Thomas JO, Hieu NT, et al. Smoking and human papillomavirus infection: pooled analysis of the International Agency for Research on Cancer HPV Prevalence Surveys. *Int J Epidemiol*. 2008;37:536-46.
95. Eldridge RC, Pawlita M, Wilson L, Castle PE, Waterboer T, Gravitt PE, et al. Smoking and subsequent HPV infection: a mediation analysis. *Ann Epidemiol*. 2017;27:724-730.e1.

96. Koshiol J, Schroeder J, Jamieson DJ, Marshall SW, Duerr A, Heilig CM, et al. Smoking and time to clearance of human papillomavirus infection in HIV-seropositive and HIV-seronegative women. *Am J Epidemiol*. 2006;164:176-83.
97. Xi LF, Koutsky LA, Castle PE, Edelstein ZR, Meyers C, Ho J, et al. Relationship between cigarette smoking and human papilloma virus types 16 and 18 DNA load. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. 2009;18(3):490-6.
98. Nielson CM, Harris RB, Dunne EF, Abrahamsen M, Papenfuss MR, Flores R, et al. Risk factors for anogenital human papillomavirus infection in men. *J Infect Dis*. 2007;196:1137-45.
99. Schabath MB, Thompson ZJ, Egan KM, Torres BN, Nguyen A, Papenfuss MR, et al. Alcohol consumption and prevalence of human papillomavirus (HPV) infection among US men in the HPV in Men (HIM) study. *Sex Transm Infect*. 2015;91:61-7.
100. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, et al. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet Lond Engl*. 2007;370:1609-21.
101. Denny LA, Franceschi S, de Sanjosé S, Heard I, Moscicki AB, Palefsky J. Human papillomavirus, human immunodeficiency virus and immunosuppression. *Vaccine*. 2012;30:F168-174.
102. Silins I, Ryd W, Strand A, Wadell G, Törnberg S, Hansson BG, et al. Chlamydia trachomatis infection and persistence of human papillomavirus. *Int J Cancer*. 10 August 2005;116(1):110-5.
103. Smith JS, Muñoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, 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;185:324-31.

104. Zhao Y, Cao X, Zheng Y, Tang J, Cai W, Wang H, et al. Relationship between cervical disease and infection with human papillomavirus types 16 and 18, and herpes simplex virus 1 and 2. *J Med Virol*. 2012;84:1920-7.
105. Lian RH, Kumar V. Murine natural killer cell progenitors and their requirements for development. *Semin Immunol*. 2002;14:453-60.
106. Kiessling R, Petranyi G, Klein G, Wigzel H. Genetic variation of in vitro cytolytic activity and in vivo rejection potential of non-immunized semi-syngeneic mice against a mouse lymphoma line. *Int J Cancer*. 1975;15:933-40.
107. Ljunggren HG, Kärre K. Host resistance directed selectively against H-2-deficient lymphoma variants. Analysis of the mechanism. *J Exp Med*. 1985;162:1745-59.
108. Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, et al. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science*. 1999;285:727-9.
109. Takei F, Brennan J, Mager DL. The Ly-49 family: genes, proteins and recognition of class I MHC. *Immunol Rev*. 1997;155:67-77.
110. Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2001;1:41-9.
111. Borrego F, Kabat J, Kim DK, Lieto L, Maasho K, Peña J, et al. Structure and function of major histocompatibility complex (MHC) class I specific receptors expressed on human natural killer (NK) cells. *Mol Immunol*. 2002;38:637-60.
112. O'Leary JG, Goodarzi M, Drayton DL, von Andrian UH. T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nat Immunol*. 2006;7:507-16.
113. Degli-Esposti MA, Smyth MJ. Close encounters of different kinds: dendritic cells and NK cells take centre stage. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:112-24.
114. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:189-220.

115. Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:735-47.
116. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell*. 1997;88:355-65.
117. Smyth MJ, Takeda K, Hayakawa Y, Peschon JJ, van den Brink MRM, Yagita H. Nature's TRAIL--on a path to cancer immunotherapy. *Immunity*. 2003;18:1-6.
118. Smyth MJ, Trapani JA. Granzymes: exogenous proteinases that induce target cell apoptosis. *Immunol Today*. 1995;16:202-6.
119. van den Broek MF, Kägi D, Zinkernagel RM, Hengartner H. Perforin dependence of natural killer cell-mediated tumor control in vivo. *Eur J Immunol*. 1995;25:3514-6.
120. Smyth MJ, Thia KY, Cretney E, Kelly JM, Snook MB, Forbes CA, et al. Perforin is a major contributor to NK cell control of tumor metastasis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1999;162:6658-62.
121. Street SEA, Hayakawa Y, Zhan Y, Lew AM, MacGregor D, Jamieson AM, et al. Innate Immune Surveillance of Spontaneous B Cell Lymphomas by Natural Killer Cells and  $\gamma\delta$  T Cells. *J Exp Med*. 2004;199:879-84.
122. Warfield KL, Perkins JG, Swenson DL, Deal EM, Bosio CM, Aman MJ, et al. Role of natural killer cells in innate protection against lethal ebola virus infection. *J Exp Med*. 2004;200:169-79.
123. Tay CH, Welsh RM. Distinct organ-dependent mechanisms for the control of murine cytomegalovirus infection by natural killer cells. *J Virol*. 1997;71:267-75.
124. Loh J, Chu DT, O'Guin AK, Yokoyama WM, Virgin HW. Natural killer cells utilize both perforin and gamma interferon to regulate murine cytomegalovirus infection in the spleen and liver. *J Virol*. 2005;79:661-7.
125. van Dommelen SLH, Tabarias HA, Smyth MJ, Degli-Esposti MA. Activation of Natural Killer (NK) T Cells during Murine Cytomegalovirus Infection Enhances the Antiviral Response Mediated by NK Cells. *J Virol*. 2003;77:1877-84.

- 126.Smyth MJ, Cretney E, Takeda K, Wilttrout RH, Sedger LM, Kayagaki N, et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) contributes to interferon gamma-dependent natural killer cell protection from tumor metastasis. *J Exp Med.* 2001;193:661-70.
- 127.Takeda K, Hayakawa Y, Smyth MJ, Kayagaki N, Yamaguchi N, Kakuta S, et al. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells. *Nat Med.* 2001;7:94-100.
- 128.Sato K, Hida S, Takayanagi H, Yokochi T, Kayagaki N, Takeda K, et al. Antiviral response by natural killer cells through TRAIL gene induction by IFN-alpha/beta. *Eur J Immunol.* 2001;31:3138-46.
- 129.Kemp TJ, Elzey BD, Griffith TS. Plasmacytoid dendritic cell-derived IFN-alpha induces TNF-related apoptosis-inducing ligand/Apo-2L-mediated antitumor activity by human monocytes following CpG oligodeoxynucleotide stimulation. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2003;171:212-8.
- 130.Screpanti V, Wallin RP, Ljunggren HG, Grandien A. A central role for death receptor-mediated apoptosis in the rejection of tumors by NK cells. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2001;167:2068-73.
- 131.Foley B, Felices M, Cichocki F, Cooley S, Verneris MR, Miller JS. The biology of NK cells and their receptors affects clinical outcomes after hematopoietic cell transplantation (HCT). *Immunol Rev.* 2014;258:45-63.
- 132.Yokoyama WM, Daniels BF, Seaman WE, Hunziker R, Margulies DH, Smith HR. A family of murine NK cell receptors specific for target cell MHC class I molecules. *Semin Immunol.* 1995;7:89-101.
- 133.Yokoyama WM. Natural killer cell receptors. *Curr Opin Immunol.* 1995;7:110-20.
- 134.Houchins JP, Yabe T, McSherry C, Bach FH. DNA sequence analysis of NKG2, a family of related cDNA clones encoding type II integral membrane proteins on human natural killer cells. *J Exp Med.* 1991;173:1017-20.

135. Diefenbach A, Tomasello E, Lucas M, Jamieson AM, Hsia JK, Vivier E, et al. Selective associations with signaling proteins determine stimulatory versus costimulatory activity of NKG2D. *Nat Immunol.* 2002;3:1142-9.
136. Cerwenka A, Lanier LL. Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat Rev Immunol.* 2001;1:41-9.
137. Groh V, Rhinehart R, Randolph-Habecker J, Topp MS, Riddell SR, Spies T. Costimulation of CD8 $\alpha$ beta T cells by NKG2D via engagement by MIC induced on virus-infected cells. *Nat Immunol.* 2001;2:255-60.
138. Welte SA, Sinzger C, Lutz SZ, Singh-Jasuja H, Sampaio KL, Eknigk U, et al. Selective intracellular retention of virally induced NKG2D ligands by the human cytomegalovirus UL16 glycoprotein. *Eur J Immunol.* 2003;33:194-203.
139. Lodoen M, Ogasawara K, Hamerman JA, Arase H, Houchins JP, Mocarski ES, et al. NKG2D-mediated natural killer cell protection against cytomegalovirus is impaired by viral gp40 modulation of retinoic acid early inducible 1 gene molecules. *J Exp Med.* 2003;197:1245-53.
140. Eagle RA, Traherne JA, Ashiru O, Wills MR, Trowsdale J. Regulation of NKG2D ligand gene expression. *Hum Immunol.* 2006;67:159-69.
141. Chambers BJ, Salcedo M, Ljunggren HG. Triggering of natural killer cells by the costimulatory molecule CD80 (B7-1). *Immunity.* 1996;5:311-7.
142. Lanier LL, Ruitenberg JJ, Phillips JH. Functional and biochemical analysis of CD16 antigen on natural killer cells and granulocytes. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1988;141:3478-85.
143. Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol.* 1999;17:189-220.
144. Granucci F, Zanoni I, Pavelka N, Van Dommelen SLH, Andoniou CE, Belardelli F, et al. A contribution of mouse dendritic cell-derived IL-2 for NK cell activation. *J Exp Med.* 2004;200:287-95.

- 145.Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H, Akira S, Reis e Sousa C. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*. 2004;303:1529-31.
- 146.Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, Kanto T, Groh V, Spies T, et al. Autocrine/paracrine IL-15 that is required for type I IFN-mediated dendritic cell expression of MHC class I-related chain A and B is impaired in hepatitis C virus infection. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2003;171:5423-9.
- 147.Dalod M, Hamilton T, Salomon R, Salazar-Mather TP, Henry SC, Hamilton JD, et al. Dendritic cell responses to early murine cytomegalovirus infection: subset functional specialization and differential regulation by interferon alpha/beta. *J Exp Med*. 2003;197:885-98.
- 148.Zinkernagel RM, Doherty PC. Immunological surveillance against altered self components by sensitised T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature*. 1974;251:547-8.
- 149.Zinkernagel RM, Doherty PC. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature*. 1974;248:701-2.
- 150.Kiessling R, Klein E, Pross H, Wigzell H. "Natural" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur J Immunol*. 1975;5:117-21.
- 151.Kiessling R, Klein E, Wigzell H. "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol*. 1975;5:112-7.
- 152.Killer cells: a functional comparison between natural, immune T-cell and antibody-dependent in vitro systems. *J Exp Med*. 1976;143:772-80.
- 153.Kiessling R, Petrányi G, Klein G, Wigzell H. Non-T-cell resistance against a mouse Moloney lymphoma. *Int J Cancer*. 1976;17:275-81.
- 154.Santoli D, Trinchieri G, Koprowski H. Cell-mediated cytotoxicity against virus-infected target cells in humans. II. Interferon induction and activation of natural killer cells. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1978;121:532-8.

- 155.Santoli D, Trinchieri G, Lief FS. Cell-mediated cytotoxicity against virus-infected target cells in humans. I. Characterization of the effector lymphocyte. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1978;121:526-31.
- 156.Trinchieri G, Santoli D. Anti-viral activity induced by culturing lymphocytes with tumor-derived or virus-transformed cells. Enhancement of human natural killer cell activity by interferon and antagonistic inhibition of susceptibility of target cells to lysis. *J Exp Med*. 1978;147:1314-33.
- 157.Trinchieri G, Santoli D, Dee RR, Knowles BB. Anti-viral activity induced by culturing lymphocytes with tumor-derived or virus-transformed cells. Identification of the anti-viral activity as interferon and characterization of the human effector lymphocyte subpopulation. *J Exp Med*. 1978;147:1299-313.
- 158.Welsh RM. Mouse natural killer cells: induction specificity, and function. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1978;121:1631-5.
- 159.Doyle LB, Doyle MV, Oldstone MB. Susceptibility of newborn mice with H-2k backgrounds to lymphocytic choriomeningitis virus infection. *Immunology*. 1980;40:589-96.
- 160.Anderson MJ. Innate cytotoxicity of CBA mouse spleen cells to Sendai virus-infected L cells. *Infect Immun*. 1978;20:608-12.
- 161.Macfarlan RI, Ceredig R, White DO. Comparison of natural killer cells induced by Kunjin virus and *Corynebacterium parvum* with those occurring naturally in nude mice. *Infect Immun*. 1979;26:832-6.
- 162.Koziel MJ. NK cells: natural born killers in the conflict between humans and HCV. *Hepatol Baltim Md*. 2006;43:395-7.
- 163.Li Y, Zhang T, Ho C, Orange JS, Douglas SD, Ho WZ. Natural killer cells inhibit hepatitis C virus expression. *J Leukoc Biol*. 2004;76:1171-9.
- 164.Fauci AS, Mavilio D, Kottlilil S. NK cells in HIV infection: paradigm for protection or targets for ambush. *Nat Rev Immunol*. 2005;5:835-43.



165. Shresta S, Kyle JL, Robert Beatty P, Harris E. Early activation of natural killer and B cells in response to primary dengue virus infection in A/J mice. *Virology*. 2004;319:262-73.
166. Quaresma JAS, Barros VLRS, Pagliari C, Fernandes ER, Guedes F, Takakura CFH, et al. Revisiting the liver in human yellow fever: virus-induced apoptosis in hepatocytes associated with TGF-beta, TNF-alpha and NK cells activity. *Virology*. 2006;345:22-30.
167. Meier UC, Owen RE, Taylor E, Worth A, Naoumov N, Willberg C, et al. Shared Alterations in NK Cell Frequency, Phenotype, and Function in Chronic Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus Infections. *J Virol*. 2005;79:12365-74.
168. Jinushi M, Takehara T, Kanto T, Tatsumi T, Groh V, Spies T, et al. Critical role of MHC class I-related chain A and B expression on IFN-alpha-stimulated dendritic cells in NK cell activation: impairment in chronic hepatitis C virus infection. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2003;170:1249-56.
169. Lebre MC, van der Aar AMG, van Baarsen L, van Capel TMM, Schuitemaker JHN, Kapsenberg ML, et al. Human keratinocytes express functional Toll-like receptor 3, 4, 5, and 9. *J Invest Dermatol*. 2007;127:331-41.
170. Nasu K, Narahara H. Pattern recognition via the toll-like receptor system in the human female genital tract. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:976024.
171. Tamoutounour S, Han SJ, Deckers J, Constantinides MG, Hurabielle C, Harrison OJ, et al. Keratinocyte-intrinsic MHCII expression controls microbiota-induced Th1 cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116:23643-52.
172. Gonçalves MAG, Donadi EA. Immune cellular response to HPV: current concepts. *Braz J Infect Dis Off Publ Braz Soc Infect Dis*. 2004;8:1-9.
173. Hibma MH. The immune response to papillomavirus during infection persistence and regression. *Open Virol J*. 2012;6:241-8.
174. Mah AY, Cooper MA. Metabolic Regulation of Natural Killer Cell IFN- $\gamma$  Production. *Crit Rev Immunol*. 2016;36:131-47.

- 175.Ferns DM, Heeren AM, Samuels S, Bleeker MCG, de Gruijl TD, Kenter GG, et al. Classical and non-classical HLA class I aberrations in primary cervical squamous- and adenocarcinomas and paired lymph node metastases. *J Immunother Cancer*. 2016;4:78.
- 176.Cho H, Chung JY, Kim S, Braunschweig T, Kang TH, Kim J, et al. MICA/B and ULBP1 NKG2D ligands are independent predictors of good prognosis in cervical cancer. *BMC Cancer*. 2014;14:957.
- 177.Paul S, Lal G. The Molecular Mechanism of Natural Killer Cells Function and Its Importance in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol*. 2017;8:1124.
- 178.Miyazato K, Hayakawa Y. Pharmacological targeting of natural killer cells for cancer immunotherapy. *Cancer Sci*. 2020;111:1869-75.
- 179.Long EO. Negative signaling by inhibitory receptors: the NK cell paradigm. *Immunol Rev*. 2008;224:70-84.