

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**MEME KANSERİ ÖN TANILI HASTALARDA HUMAN
PAPİLLOMA VİRUS ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gizem GÖZAÇAN ERYILMAZ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sinem AKÇALI

Manisa, 2022

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimle ilgili çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, desteğini ve sabrını esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Sinem AKÇALI'ya,

Yine uzmanlık eğitimim süresince bilgi, beceri ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Süheyla SÜRÜCÜOĞLU'na, Prof. Dr. Kenan DEĞERLİ'ye, Prof. Dr. Semra KURUTEPE'ye, Prof. Dr. Hörü GAZİ'ye, Prof. Dr. Nuri ÖZKÜTÜK'e ve Prof. Dr. Talat ECEMİŞ'e,

Örnek toplama sürecinde gösterdiği özveri ve desteğiyle Radyodiagnostik AD'dan Prof. Dr. İ. Şebnem ÖRGÜÇ'e,

Örneklerin histopatolojik değerlendirmelerindeki emeği ve desteğiyle Patoloji AD'dan Prof. Dr. Ali Rıza KANDİLOĞLU'na,

Tüm eğitim hayatım boyunca ilgisi, desteği, sabrı ve sonsuz sevgileri ile hep yanımda olan, beni bu günlere getiren, tez sürecimde de hayatımı kolaylaştıran başta annem Nilüfer GÖZAÇAN'a ve babam M. Ziya GÖZAÇAN'a,

İlgisini, desteğini ve sevgisini her zaman hissettiren kardeşim Ecem GÖZAÇAN'a,

Sabırları, ilgileri ve sonsuz sevgileri ile eğitimim boyunca her zaman yanımda olan sevgili eşim Dr. Mahmut Ali Osman ERYILMAZ ve biricik kızım İnci ERYILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Gizem GÖZAÇAN ERYILMAZ

Manisa 2022

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
I. GİRİŞ	1
II. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. HUMAN PAPİLLOMA VİRUS (HPV).....	4
2.1.1. HPV Tarihçe	4
2.1.2. HPV Epidemiyoloji	6
2.1.3. HPV Bulaş Yolları	8
2.1.4. HPV Yapısı	10
2.1.5. HPV Sınıflandırma	14
2.1.6. HPV Patogenez ve İmmünite.....	16
2.1.7. HPV İlişkili Hastalıklar	20
2.1.7.1. Deri Siğilleri	21
2.1.7.2. Anogenital Siğiller	22
2.1.7.3. Epidermodysplasia Verruciformis.....	22
2.1.7.4. Rekürren Respiratuvar Papillomatozis	23
2.1.7.5. Serviks Kanseri	24
2.1.7.6. Anal Kanseri.....	25
2.1.7.7. Vajinal, Vulvar ve Penis Kanseri	26
2.1.7.8. Baş ve Boyun Kanseri.....	26
2.1.8. HPV Korunma.....	27
2.1.9. HPV Aşıları	27
2.1.10. HPV Tanı Yöntemleri	29
2.1.10.1. Doğrudan Gözle Muayene	30

2.1.10.2. Sitoloji	30
2.1.10.3. Moleküler Yöntemler	31
2.2. MEME KANSERİ	36
2.2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi	36
2.2.2. Meme Kanseri Patogenezi.....	36
2.2.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri.....	38
2.2.4. Meme Lezyonları	42
2.2.4.1. Benign Meme Lezyonları.....	42
2.2.4.2. Premalign Meme Lezyonları.....	44
2.2.4.3. Malign Meme Lezyonları.....	44
2.2.5. Meme Kanserinde Klinik	45
2.2.6. Meme Kanserinde Sınıflama	46
2.2.6.1. İn Situ Karsinomlar	47
2.2.6.2. İnvaziv Karsinomlar	48
2.2.7. Meme Kanserinde Tanı	48
2.2.7.1. Görüntüleme Yöntemleri	49
2.2.7.2. Biyopsi	50
2.2.8. Meme Kanserinde Tarama	51
2.2.9. Meme Kanserinde Tedavi.....	51
2.2.10. Meme Kanserinde Prognoz	52
III. GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1. Örneklerin Alınması	53
3.2. Örneklerin Saklanması.....	53
3.3. Örneklerin Çalışılması.....	54
3.3.1. DNA Ekstraksiyonu.....	54
3.3.1.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	54

3.3.1.2. Solüsyonların Hazırlanması	54
3.3.1.3. Ekstraksiyon Basamakları	55
3.3.2. Amplifikasyon ve Deteksiyon	56
3.3.2.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	57
3.3.2.2. PCR Basamakları.....	58
3.3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	59
3.4. Verilerin Analizi	60
IV. BULGULAR	61
V. TARTIŞMA	68
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	78
VII. ÖZET	79
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	80
IX. EKLER.....	81
EK 1: Meme Tru-Cut Biyopsisi için Aydınlatılmış Bilgilendirme ve Onam Formu	82
X. KAYNAKLAR.....	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACIP	The Advisory Committee on Immunization Practices (Bağıışıklama Uygulamaları Danışma Komitesi)
ASC-H	Yüksek dereceli lezyon dışlanamayan atipik skuamöz hücreler
ASC-US	Önemi saptanamayan atipik skuamöz hücreler
ASH	Antijen Sunan Hücre
Bç	Baz Çifti
BI-RADS	Breast Imaging Reporting and Data Systems
BKİ	Beden Kitle İndeksi
BLV	Bovine Leukemia Virus (Sığır Lösemi Virüsü)
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BPV	Bovine Papillomavirus (Sığır Papillomavirüsü)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri)
CDKI	Cyclin Dependent Kinase İnhibitor
CIN	Cervical İntraepithelial Neoplasia
CRPV	Cottontail Rabbit Papillomavirus
CSF	Colony Stimulating Factor
CypB	Cyclophilin B (Siklofilin B)
DBH	Dot Blot Hibridizasyon
DCIS	Duktal Karsinoma İn Situ
DHEA	Dehidroepiandrostenedion
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EBV	Epstein-Barr Virus
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ELISA	Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay
ER	Östrojen Reseptörü

EV	Epidermodysplasia Verruciformis
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FISH	FloresanIn-situ Hibridizasyon
GLOBOCAN	The Global Burden Of Cancer (Küresel Kanser Yüğü)
GTA	Gluteraldehit
HC2	Hibrid Capture 2
HCV	Hepatitis C Virus
HHV 8	Human Herpes Virus 8
HLA	Human Leucocyte Antigen
HPV	Human Papilloma Virus
HR-HPV	High risk Human papilloma virus
HSIL	High-Grade Squamous İntraepithelial Lesion
HSPG	Heparan Sülfat Proteoglikan
HTLV-1	Human T-Lymphotropic Virus-1
IARC	International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı)
ICTV	International Council On Taxonomy Of Viruses (Uluslararası Virüs Taksonomi Konseyi)
IDC	İnvaziv Duktal Karsinom
IFN	İnterferon
ILC	İnvaziv Lobüler Karsinom
ISH	In-situ Hibridizasyon
KETEM	Kanser Erken Tanı ve Tarama Merkezi
KGFR	Keratinocyte Growth Factor Receptor
KKMM	Kendi Kendine Meme Muayenesi
KMM	Klinik Meme Muayenesi
KSHV	Kaposi Sarcoma Herpesvirus
LCIS	Lobüler Karsinoma İn Situ
LCR	Long Control Region (Uzun Kontrol Bölgesi)
LR-HPV	Low risk Human papilloma virus
LSIL	Low-Grade Squamous İntraepithelial Lesion
MCV	Merkel Cell Polyomavirus

MHC	Major Histocompatibility Complex
MKC	Meme Koruyucu Cerrahi
MMTV	Mouse Mammary Tumor Virus (Fare Meme Tümörü Virüsü)
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NASBA	Nükleik Asit Sekans Bazlı Amplifikasyon
NK	Natural Killer (Doğal Öldürücü)
ORF	Open Reading Frame (Açık Okuma Bölgesi)
pA	Poliadenilasyon
PAFR	Platelet Activating Factor Receptor
Pap	Papanicolaou
PCR	Polymerase Chain Reaction
PI3K	Phosphoinositide 3-Kinases
PR	Progesteron Reseptörü
pRb	Retinoblastom Proteini
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RRP	Rekürren Respiratuvar Papillomatozis
SBH	Southern Blot Hibridizasyon
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
URR	Upstream regulatory region
USG	Ultrasonografi
VLP	Virus like particle
yy	Yüz Yıl
µl	Mikrolitre

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Malign Potansiyeline Göre HPV Tipleri	16
Tablo 2.2. HPV Aşıları ve Etkinlikleri	28
Tablo 2.3. Meme Karsinomlarında DSÖ'nün Histopatolojik Sınıflaması	47
Tablo 3.1. Her bir örnek başına gerekli master mix karışımı miktarları	58
Tablo 3.2. HPV genotiplerinin boyalara göre değerlendirilmesi	59
Tablo 4.1. Hastaların yaş ortalaması	61
Tablo 4.2. Malignite durumuna göre hasta sayı ve yüzdeleri	62
Tablo 4.3. Meme lezyonlarında yaş ve malignite ilişkisi	62
Tablo 4.4. Meme lezyonlarının malignite açısından ve tiplerine göre dağılımı ..	62
Tablo 4.5. Malign ve benign lezyonlar ile HPV DNA ilişkisi	63
Tablo 4.6. Meme HPV DNA pozitiflik sayı ve yüzdeleri	63
Tablo 4.7. HPV DNA pozitifliğinin meme lezyonu tanı yaşına göre analizi	64
Tablo 4.8. Memede saptanan HPV tiplerinin sayı ve yüzdeleri	65
Tablo 4.9. Meme dokusunda pozitif bulunan HPV tiplerinin yaşa göre analizi ..	65
Tablo 4.10. Meme lezyonlarının tiplerine göre saptanan HPV tiplerinin dağılımı	65
Tablo 4.11. Hasta gruplarının sayı ve yüzdeleri	66
Tablo 4.12. Hasta gruplarının yaşa göre analizi	66
Tablo 5.1. Meme Kanseri ile HPV ilişkisini destekleyen çalışmalar	75
Tablo 5.2. HPV-DNA saptanmasına rağmen meme kanseri ile ilişkisi tespit edilmeyen çalışmalar	76
Tablo 5.3. Meme Kanserlerinde HPV-DNA saptanmayan çalışmalar	77

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. ABD'deki kadın ve erkeklerde HPV ile ilişkili kanserlerin oranı	7
Şekil 2.2. Papillomavirüslerin genetik yapısı	11
Şekil 2.3. HPV genomu	14
Şekil 2.4. HPV'nin mikrotravma ile serviks bazal membranına ulaşması.....	17
Şekil 2.5. HPV 16'nın hücre içine giriş mekanizması	18
Şekil 3.1. Cobas z 480 analizör	57
Şekil 3.2. Mikro hazneli plaka	57
Şekil 3.3. Çalışılan örneklerin internal kontrol grafiği	59
Şekil 4.1 A-B. HPV DNA pozitif saptanan örneklerin amplifikasyon eğrileri ..	64

I. GİRİŞ

Human papilloma virus (HPV), *Papillomaviridae* ailesinden ikozahedral simettrili, sirküler çift sarmallı küçük DNA virüsüdür [1]. Papillomaviridae ailesinden papillomavirüs genusu içindeki human papillomavirüsler (HPV), önceden Papovaviridae olarak adlandırılan aile içinde yer almıştır. Daha sonra bu aile, Papillomaviridae ve Polyomaviridae olarak ayrı iki virüs ailesine bölünmüştür. Papillomavirüsler hücre büyümesini arttıran proteinleri kodlarlar; böylece permisif hücrelerde litik viral enfeksiyonlara neden olurken, nonpermisif bir hücreyi onkojenik hale getirebilirler [2]. HPV cinsel yolla bulaşan hastalıkların en sık nedenlerindendir [3].

HPV, kadınlardaki kansere bağlı ölümler içinde tüm dünyada dördüncü sırada görülen servikal kanserin primer etkenidir [3,4]. Kanser öncüsü lezyon ve servikal kanserle ilişkisine göre HPV'ler, yüksek riskli ve düşük riskli HPV tipleri olarak sınıflandırılırlar. Yaklaşık 18 HPV tipi yüksek riskli yani kanserle ilişkili bulunmuştur. Bu yüksek riskli HPV tipleri: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 ve 83'tür. Düşük riskli HPV tipleri ise 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 ve 81'dir [5]. Genel popülasyonda en yaygın olan yüksek riskli HPV tipleri 16 ve 18'dir ve servikal kanserlerin yaklaşık %70'inden bu iki tip sorumludur [6].

HPV'nin en sık neden olduğu lezyon siğiller olmasına karşın ilişkili olduğu malignitelere son yıllarda artan bir ilgi vardır. Yüksek riskli HPV (HR-HPV) tipleri serviks, vajina, vulva, penis, anüs ve baş boyun dahil olmak üzere insanlarda çeşitli kanserlerin etyolojisinde suçlanmaktadır [7, 8]. HR-HPV tipleri, serviks kanseri olgularının tamamında saptanmışlardır. Ayrıca

insanlarda kanserlerin yaklaşık %15-20'sinin sorumlusu olduğu düşünülmektedir [9].

Kadınlarda çoğunlukla, antiviral konakçı immün yanıtı vasıtasıyla kendiliğinden HPV enfeksiyonları temizlenir [10]. HPV'nin sebep olduğu lezyonlar, viral proteinler ve bunlara eşlik eden diğer faktörlerin varlığında, ancak immün sistem mekanizmaları bunlara karşı yetersiz kaldığında kansere dönüşebilirler [11].

Tüm dünyada en sık görülen kanser türü meme kanseridir. Yılda 2 milyondan fazla kadına meme kanseri tanısı konmaktadır. Ülkemizde de kadınlarda en sık görülen kanser türü meme kanseridir. Tüm dünyada ve ülkemizde kadınlarda kanser kaynaklı ölümler içinde meme kanseri yine birinci sıradadır [4].

Meme kanserlerinin %90-95'i sporadiktir, yalnızca %5-10'u aile öyküsü olan kadınlarda ortaya çıkar [12]. Bu yüzden meme kanseri etyolojisinde çevresel etmenler ön plana çıkmaktadır [13].

Bazı virüslerin ise meme kanseri gelişiminde rolü olabileceği düşünülmektedir, ancak bu düşüncüyü destekleyen çalışmalar olsa da henüz kesin kanıt yoktur. İnsan meme kanserinde onkogenik potansiyeli olabileceği düşünülen virüsler; fare meme tümörü virüsü (MMTV), sığır lösemi virüsü (BLV), human papilloma virus (HPV) ve Epstein-Barr virüsüdür (EBV) [14].

HPV'nin meme kanseri ile ilişkili olabileceği düşüncesi, HPV 16 ve 18 genom ürünleri ile insan meme epitelyal hücrelerinin ölümsüzleşmesinin indüklenmesi sonucunda ortaya çıkmıştır [15].

HPV'nin bu malign potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda meme kanserinin patogenezinde de rolü olabileceği düşünülmektedir. Çalışmalar meme kanserinde HPV prevalansının dünya çapında %1.6-86.2 arasında değiştiğini göstermektedir [16]. Meme kanserinde HPV'nin rolünü araştıran önceki çalışmalar büyük tartışmalara neden olmuştur.

Çalışmamızda malign ve benign meme lezyonları olan hastaların meme biyopsi örneklerinde HPV varlığını araştırmak ve HPV ile meme kanseri arasında nedensel bir ilişki olup olmadığını ortaya koymak amaçlanmıştır.



II. GENEL BİLGİLER

2.1. HUMAN PAPİLLOMA VİRUS (HPV)

2.1.1. HPV Tarihçe

HPV'nin neden olduğu siğillerin varlığı ve bunların bulaşıcı oldukları Roma ve Antik Yunan dönemlerinden bu yana bilinmekteydi. Ancak genital siğillerin 19.yy'ın başlarına kadar, sifiliz veya gonorenin bir formu olabileceği düşünülmekteydi [17, 18].

İtalyan fizikçi Domenico Antonio Rigoni Stern 1760-1839 yılları arasında Verona'da uterus kanserinden ölen kadınları incelemiş, bekarlarda ve rahibelerde uterus kanserinin evli ve dul kadınlara göre çok daha nadir olduğunu gözlemlemiştir. 1842'de ise bunun HPV ile ilişkili olduğunu bulmuştur [19]. İnsan siğillerinin viral etyolojisinden ilk kez Giuseppe Ciuffo tarafından bahsedilmiştir. 1907'de hücre içermeyen ve siğil dokusundan alınan ekstraktları kullanarak intradermal olarak kendi eline inoküle etmiş ve yeniden siğil oluşumunu gözlemiştir. Ciuffo bu şekilde siğillerin bulaşıcı olduğunu açıklamıştır [20, 21, 22].

İlk papillomavirus 1933'te tanımlanmıştır. Richard Shope 1933 yılında papillomavirüslerin retrovirüslerden sonra ikinci sırada maligniteye yol açan virüs olduğunu göstermiştir. Papilloma virüsler bakteri filtrelerinden geçtiği gösterilen ilk mikroorganizmalardır. Bunların 1930'lu yıllarda tavşanlarda epitelyum kanserine neden olduğu bulunmuş, 1970'li yıllarda ise insanda servikal kanserle ilişkisi gösterilmiştir [23, 24].

Shope ve Hurst, vahşi tip Kuzey Amerika Pamuk Kuyruklu Tavşanlar'da meydana gelen kutanöz papillomalarda papillomavirusu saptamış ve bu hastalığın bulaşıcı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Daha sonra bu etken

“cottontail rabbit papillomavirus” (CRPV) olarak isimlendirilmiştir. İlk kez Rous ve Beard tarafından 1935’te CRPV’nin evcil pamuk kuyruklu tavşanlarda malign cilt lezyonlarına yol açtığı gösterilmiştir. 1930’lu yıllardan 1940’ların ortalarına kadarki süreçte papilloma modeli olarak pamuk kuyruklu tavşan kültürü uygulanmıştır [24].

Siğillerdeki viral etyolojiyi 1946’da Lutz, 1957’de Jablonska ve Millewski inokülasyon deneyleriyle göstermişlerdir. Siğillerde görülen bu partiküllerin deride skuamöz hücreli kanser gelişimine yol açma potansiyellerinin olduğunu esas olarak Jablonska ispatlamıştır. 1950-1960’lı yıllarda yapılan çalışmaların sayıca azlığına rağmen HPV replikasyonu ile enfekte epitelyumun farklılaşma işlemi arasındaki ilişkinin ispatlanması, HPV virionunun fizikokimyasal analizi gibi bazı önemli ilerlemeler olmuştur [17]. İto ve Evans 1961 yılında karsinomanın infeksiyöz HPV DNA’sı içerdiğini göstermiştir [25]. Crawford tarafından 1963’te viral DNA’nın fiziksel özellikleri ortaya konmuştur. 1976’da Epidermodysplasia verruciformis (EV) ile ilişkili lezyonlara HPV’nin neden olduğu ispatlanmıştır [20]. Ayrıca 1976’da zur Hausen HPV ile servikal kanser arasındaki ilişkiyi göstermiştir [26].

Gissmann ve arkadaşları 1982 yılında, 3 invaziv kondiloma aküminata biyopsisinden HPV’yi izole etmişlerdir. Dürst ve arkadaşları 1983 yılında servikal kanser biyopsilerinde HPV tip 16 varlığını göstermiş, ayrıca HPV tip 16’yı anogenital kanserlerin öncül lezyonlarından da izole etmişlerdir. 1985 yılında Schwarz ve arkadaşları tarafından E6 ve E7 proteinlerinin servikal kanserde selektif transkripsiyonu tanımlanmıştır [27].

Werness ve arkadaşları 1990’da p53 ile E6 proteini etkileşimini, Dyson ve arkadaşları 1989’da pRb ile E7 proteini etkileşimini göstermişlerdir [20]. Lambert ve arkadaşları 1993 yılında transjenik hayvanlarda tümör oluşumunu göstererek HPV’de onkojenik potansiyel olabileceği üzerinde durmuşlardır. HPV ile malign konversiyon, Soto ve arkadaşları tarafından 2000’de tanımlanmıştır. HPV aşıları 1996’da Zur Hausen ve 2006’da Lowy tarafından bildirilmiştir. Ayrıca Zur Hausen servikal kanser ile HPV arasındaki nedensel ilişkiyi gösteren çalışmasıyla 2008 yılında Nobel Tıp ödülünü almıştır [27].

Günümüzde HPV ile servikal kanserin ilişkisi artık tartışılmamaktadır. Ayrıca HPV serviksin dışında anal, penil, vajen, vulvar, baş-boyun, oral gibi diğer malignitelerle de ilişkili bulunmuştur [27].

2.1.2. HPV Epidemiyoloji

Dünya üzerinde en yaygın cinsel temasla bulaşan hastalık HPV'dir. Cinsel aktif kişilerin çoğu, hayatlarının bir döneminde en az bir kez bu etkenle karşılaşmaktadır. Yirmi beş yaşın altı kadınlarda daha yaygın olarak saptanır (%16). HPV DNA serviksin skuamöz hücreli kanserlerinin %99'unda saptanmıştır. Tüm serviks kanserlerinin yaklaşık %70'ini HPV tip 16 ve 18 oluşturmaktadır. HPV tip 18 enfeksiyonu saptanan kadınların yaklaşık %9'unda, HPV tip 16 ise yaklaşık %24'ünde saptanmıştır [28, 29].

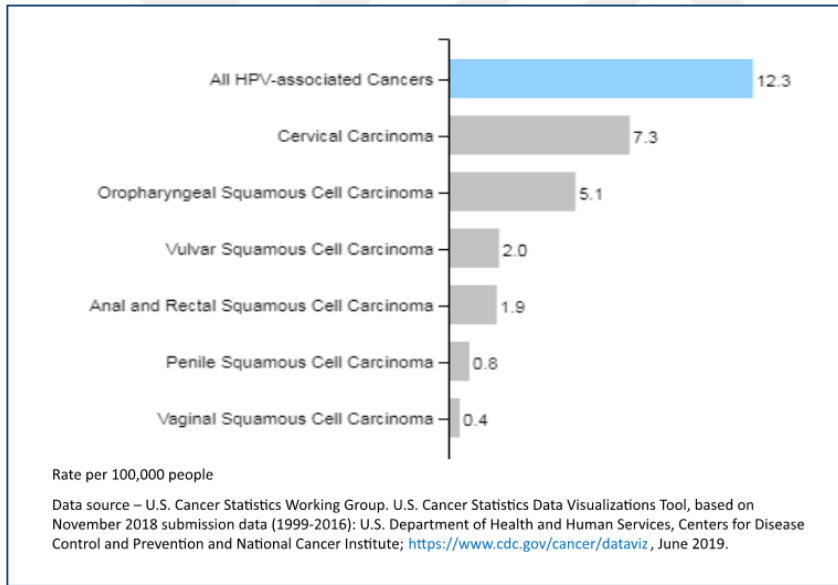
Servikal kanser gelişiminde HPV olguların %99.7'sinde saptanmıştır. Ancak kansere predispozisyon için tek başına yeterli değildir ve bazı risk faktörlerinin eşlik etmesi gereklidir. Bunların en önemlileri HPV'nin tipi ve enfeksiyonun kalıcılığıdır. Enfeksiyon ve kanser gelişimi için diğer risk faktörleri çok sayıda cinsel partner, erken yaşta ilk cinsel aktivite, cinsel yolla bulaşan diğer enfeksiyonların varlığı, yaş, immun supresyon, uzun süreli oral kontraseptif kullanımı, cinsiyet, sigara kullanmak ve ailede serviks kanseri öyküsünün varlığıdır. HPV enfeksiyonlarının %80-90'ı 2-5 yıl içinde, %50'den fazlası 6-18 ay içinde immün sistem tarafından temizlenir [30, 2, 31]. Servikal kanserin görülme ve ölüm oranları, başarılı bir tarama programı yürüten ülkelerde oldukça düşük seyretmektedir. Hiç Pap smear testi yaptırmamak, serviks kanseri gelişiminde en büyük risk olarak karşımıza çıkmaktadır [32]. Hiç Pap smear testi yaptırmamış bir kadında hayat boyu serviks kanseri gelişme riski 1/100'dür [33]. Cinsel partnerin sünnetli olması servikal kanser riskini azaltmaktadır [34].

HPV enfeksiyonu yalnızca serviks kanseri ile ilişkili değildir ve hem erkeklerde hem kadınlarda ciddi hastalıklara yol açar. HPV'nin ilişkili olduğu hastalıklar anogenital siğiller, servikal prekanseröz lezyonlar (servikal intraepitelyal neoplazi), rekürren solunum papillomatozu, orofarengeal

kanser, servikal kanser, anal kanser, vajinal kanser, penis kanseri ve vulvar kanserdir [35]. HPV anal kanserlerde %90, penil kanserlerde %40, vulvar kanserlerde %40 ve orofarenks kanserlerinde %12 civarında saptanmıştır. Tüm kanserlerin %4'ünden HPV'nin sorumlu olduğu tahmin edilmektedir [36].

2010-2014 yılları arasında ABD'de toplanan verilere göre, her yıl 41.000 civarında HPV ilişkili kanser saptandığı görülmüştür. Çalışmalara göre HPV'nin servikal ve anal kanserlerin yaklaşık tamamından, vulva ve vajen kanserlerinin %70'inden, penil kanserlerin de %60'ından sorumlu olduğu saptanmıştır. Baş ve boyun kanserleri çoğunlukla alkol ve tütün kullanımına bağlıdır. Ancak son zamanlarda yapılan birçok çalışma orofarenks kanserinin yaklaşık %70'inin HPV ile ilişkili olabileceğini göstermektedir [37].

ABD'deki kadın ve erkeklerde HPV ile ilişkili kanserlerin oranı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. ABD'deki kadın ve erkeklerde HPV ile ilişkili kanserlerin oranı [37]

Kadınlarda tüm dünyadaki HPV enfeksiyonu prevalansı %2-44 arasında değişmektedir. Onkojenik HPV prevalansı ortalama %15.1 ve >30 yaş kadınlarda onkojenik HPV prevalansı ortalama %9.2 olarak gösterilmiştir. Tüm vakalar arasında en sık görülen tip HPV 16'dır [38].

Genç kadınlarda (<25 yaş) HPV için tüm bölgelerde cinsel aktivite başlangıcından kısa süre sonra ortaya çıkan bir pik görülmüştür. Bu pikin nedeni olarak genellikle düşük viral bağışıklık, yüksek cinsel aktivite düzeyi ve çok sayıda partner gösterilmiştir. Birçok epidemiyolojik çalışma HPV prevalansında ilk pikten sonra yaşa bağlı düşüşü göstermektedir. >45 yaş kadınlar arasında Afrika, Amerika ve Avrupa'da ilkinden daha küçük ikinci bir pik görülmüştür. Bu ikinci pikin nedeni hala net değildir. Ancak olası nedenler olarak premenopoz hormonal değişiklikler, immün sistemde yaşlanma, ileri yaşta HPV'nin kalıcılığının daha yüksek olması, cinsel davranıştaki değişimler veya seçilen grubun etkisi gösterilmiştir [39].

Erkeklerde HPV DNA anal, oral ve genital mukozada saptanmıştır. Erkeklerde örneklem metodları değişkendir ve validasyonu tam değildir. HPV'nin tüm tipleri için %3.5-%45, yüksek riskli HPV tipleri için %2.3-%34.8, düşük riskli HPV tipleri için ise %2.3-%23.9 prevalans bildirilmektedir. En sık görülen tip HPV 16'dır [40].

HPV enfeksiyonları çoğunlukla asemptomatiktir ve 1-2 yıl içerisinde kendi kendine düzelir. Buna karşın enfekte kadınların %10-20'sinde persistan enfeksiyona ilerler. Bu nedenle HPV için epidemiyolojik veriler sınırlıdır[41]. Dünya genelinde beş kıtada farklı ülkelerden, normal sitolojik bulguları olan toplam bir milyon kadının katıldığı çalışmaların verilerinin incelendiği bir meta-analizde, tahmini düzeltilmiş HPV prevalansı %11.7 olarak bulunmuştur. Bu meta-analizde en yüksek prevalans Sahra Altı Afrika'da (%24) saptanmıştır. Diğer yüksek prevalansların görüldüğü bölgeler sırasıyla Karayipler ve Latin Amerika (%16.1), Doğu Avrupa (%14.2) ve Güneydoğu Asya (%14)'dır [42].

Yapılan çalışmalarda ülkemizde 30-65 yaş arası kadınlarda HPV insidansı 100 binde 97-131 olarak bildirilmiştir [43].

2.1.3. HPV Bulaş Yolları

HPV deri ve mukozaların epitelyal yüzeylerini enfekte ederek proliferatif lezyonlara yol açar. Bulaş, havlu gibi kontamine yüzeylerden ve cilt

mukozasındaki çatlaklardan temas yoluyla veya daha nadir olarak doğum kanalından bebeğe olmak üzere direkt veya indirekt olarak meydana gelebilir [44]. Ancak en temel bulaş yolu cinsel temastır. Koitus, seksüel yolla bulaş için şart değildir; bulaş için skrotal, labial, oral veya anal temas olması yeterlidir. Bu yüzden kondom doğru kullanılmış bile olsa koruyucu olmayabilir [45]. Genital HPV'si olan kişilerin el ve tırnaklarında da HPV tespit edilmiştir ve bu kişiler cinsel partnerlerine veya çocuklarına temas yoluyla etkeni bulaştırabilirler [1]. Cinsel ilişki ile bulaşta en önemli faktörler cinsel partner sayısının fazla ve ilk cinsel aktivite yaşının erken olmasıdır [46]. Ayrıca kendinde veya cinsel partnerinde cinsel yolla bulaşan diğer hastalıklar, servikal veya penil kanser öyküsü, genital siğiller, anormal Pap smear testi HPV ile enfekte olma riskini arttıran diğer faktörlerdir [47].

Çocuklarda ve bakirelerde de HPV'nin saptanması cinsel temas dışında bulaşma yollarını düşündürmektedir [48].

Enfekte anneden bebeğe geçiş bir başka bulaş yoludur. Vajinal yolla doğan bebeklerde doğum kanalından temasla etkenin alınması riski daha yüksek olsa da, vajinal olmayan doğumlarda da potansiyel olarak risk olabilir. Servikal sürüntü örneklerinde HPV pozitif saptanan kadınlarda hem amniyotik sıvıda hem de plasentada HPV DNA tespit edilmiştir. Bu da vajinal olmayan doğumlarda da konjenital enfeksiyon riski olabileceğini göstermektedir. Rekürren respiratuvar papillomatozis anneden bulaş sonucu ortaya çıkan ve en sık HPV tip 6 ve 11'in neden olduğu nadir görülen bir hastalıktır [48,49]. Ayrıca anne sütünde HPV varlığı gösterilememiştir. Bu nedenle annenin HPV pozitif olması emzirme için kontrendikasyon değildir [1].

HPV perianal ve kasık kıllarında sık olarak bulunduğu için, travmaya yol açabilen bazı epilasyon yöntemleri HPV enfeksiyonu riskinde artışa neden olabilir [50].

HPV'nin esas hedefi bazal epitelyal hücreler olduğu için bu hücrelere doğru meydana gelen epitel hasarları daha şiddetli enfeksiyonlara zemin hazırlayabilir. HPV bulaşının nispeten sınırlanması, epitel hasarı olmadan

bulaşın zor olacağına ilişkin inanışa bağlanmaktadır [44]. HPV'nin edinilme şekline bakılmaksızın, bütün bulaş yolları arasında en önemli ortak noktanın epiteldeki hasarlanma olduğu tahmin edilmektedir [51].

HPV'ler zarfsız virüslerdir. Fiziksel ve kimyasal olarak inaktive edilmeleri zordur ve hücre dışında en az bir hafta canlı kalabilirler. Sıklıkla hastanelerde kullanılan gluteraldehit (GTA) adenovirüs, parvovirüs ve pek çok enterovirüs gibi diğer zarfsız virüslere etkili iken, HPV'nin dirençli olduğu görülmüştür. HPV, pek çok zarfsız virüse benzer şekilde izopropanol ve etanol gibi alkol bazlı dezenfektanlara dayanıklıdır. HPV'nin alkola karşı bu dayanıklılığı, çoğunlukla güvenle kullandığımız el dezenfektanlarının HPV bulaşını etkili şekilde önlemediğini gösteren bir kanıt sunmaktadır. HPV'nin hipoklorite ve perasetik asite duyarlı olduğu gösterilmiştir. HPV'nin yaygın olarak kullanılan dezenfektanlara dayanıklı olması, bu virüsün yüzeylerle ve fomitlerle (Enfeksiyon etkenlerini taşıyabilen cansız objeler) bulaşabileceğini akla getirmektedir [1, 52].

Eldeki verilere göre, cinsel olmayan bulaşla ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekliliği ortaya konmuştur [52, 53, 54].

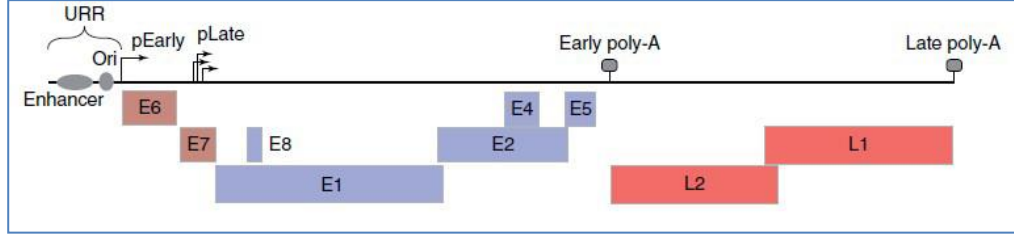
2.1.4. HPV Yapısı

HPV, *Papillomaviridae* ailesi içerisinde yer alır ve 45-55 nm çapında ikozahedral kapsidli, yaklaşık 8000 baz çifti (bç) uzunluğunda, zarfsız, çembersel, çift iplikli küçük DNA virüsüdür. 72 kapsomerden (12 penton ve 60 hekzon) oluşan kapsid, protein yapıdadır. Virion ağırlığının yaklaşık %12'sini viral genom oluşturur [1, 55].

Virion, major ve minor olmak üzere iki yapısal kapsid proteini içerir. Major kapsid proteini HPV cinsine özgüdür; yani tüm HPV tipleri için ortak antijenite gösterir. Ayrıca virion ağırlığının %80'i de major kapsid proteininden oluşur [56].

Viral proteinleri kodlayan tüm dizinler tek bir DNA ipliği üzerinde yer alır. HPV'nin viral genomu üç major fonksiyonel bölge içerir. Bunlar erken genler (E; early), geç genler (L; late) ve uzun kontrol bölgesidir (LCR; long control

region). Viral genom üzerindeki bu üç bölge, iki poliadenilasyon (pA) bölgesi ile ayrılır. Erken bölgede sekiz ve geç bölgede iki açık okuma bölgesi (ORF) vardır [57, 58].



Şekil 2.2. Papillomavirüslerin genetik yapısı [59]

Erken bölge (E; early): Enfeksiyondan hemen sonra üretilir. Viral replikasyon, transkripsiyon, hücresel transformasyon ve onkogenezis için gerekli yapısal olmayan proteinleri (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8) kodlar [47, 60].

E3 ve E8'in fonksiyonu henüz tam anlaşılamamıştır[61].

E1 proteini, DNA replikasyonunun başlamasında görevlidir. Ayrıca replikasyon çatallında, helikaz aktivitesiyle elongasyonda rol alır [62]. Viral epizomun stabilitesini sağlar. E1 proteininin düşük olan replikasyon orijinine (Ori) bağlanma affinitesi, E2 proteini yardımı ile artar ve bunun için E1-E2 kompleksi oluşur. E1 proteini, enzimatik aktivitesi olan tek viral proteindir; bu nedenle yeni tedavilerin geliştirilmesi sürecinde dikkat çeken bir hedef olmaktadır [62, 63].

E2 proteini, viral replikasyonda ve transkripsiyonun düzenlenmesinde rol oynar. E2, erken bölgenin transkripsiyonunu hem baskılayıcı hem de aktive edici rol oynayabilir. Genital HPV tiplerinde transkripsiyonu baskılayıcı, kutanöz HPV tiplerindeyse transkripsiyonu aktive edici fonksiyon göstermektedir. E2'nin aşırı ekspresyonu ile E6 ve E7 proteinlerinin transkripsiyonu baskılanır ve apoptoza neden olur. Servikal kanser gelişim sürecinde sıklıkla E2 bölgesinde kırılma olur. Bunun sonucunda E2'nin, E6 ve E7 proteinleri üzerindeki baskılayıcı aktivitesi ortadan kalkar ve malignite indüklenir [64, 65,63].

E3 proteini son yıllarda tanımlanmıştır ve fonksiyonuyla ilgili hala fazla bilgi yoktur. E3, E8 ile beraber erken gen bölgesinde bulunur. E3 yalnızca birkaç HPV tipinde (HPV 1, 11, 16, 31, 33) bulunur. HPV ilişkili kanserlerde E3 ve ubiquitin ligazın birlikte çalıştığı gösterilmiş ama mekanizması aydınlık kazanmamıştır [57, 66].

E4 proteini enfeksiyonun geç döneminde üretilmektedir. E4 proteini, HPV'nin hayat döngüsü boyunca üretilmesine rağmen en yüksek ekspresyon düzeyleri farklılaşmış suprabazal tabakada görülmektedir [67, 68]. HPV'nin hayat döngüsünde E1-E4 proteinlerinin fonksiyonu hala net olarak bilinmemekle birlikte, bazı çalışmalar suprabazal hücre differansiyonunun baskılanması, bazal hücrelerdeki epizomal yapının korunması ve viral amplifikasyon gibi değişik görevleri olabileceğine işaret etmektedir [69]. E4 proteini yüksek riskli HPV tiplerinde bol miktarda eksprese edilir. İn vitro çalışmalar, hücrenin iskelet yapısını bozarak (sitoskeletal değişim) virüs salınımını kolaylaştırdığını göstermektedir [70, 47]. Ayrıca HPV ilişkili morfolojik değişikliklerden E4 proteini sorumlu tutulmaktadır; bunu da hücresel sitokeratinlerle etkileşim sayesinde yapmaktadır [70].

E5 proteini apoptozisi inhibe etmesi nedeniyle enfeksiyonun erken döneminde oldukça önemlidir. Bu protein Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR), Koloni Stimüle Edici Faktör Reseptörü (CSF)-1 ve Trombosit Aktive Edici Faktör Reseptörü (PAFR) ile kompleks oluşturarak "Major Histocompatibility Complex" (MHC)/ İnsan Lökosit Antijeni (HLA) sınıf I ekspresyonunu ve Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörlerini (CDKIs) baskılayarak hücre proliferasyonunu uyarmasıyla malign dönüşüme katkı sağlar [71,72, 68].

Apoptozu takip eden DNA hasarında da rol oynamaktadır. Servikal kanser lezyonlarında, konak DNA'sı ile viral DNA sıklıkla birbirine entegre olarak bu proteini kodlayan diziyi de içeren genomun önemli bir kısmında delesyon olmaktadır. Bu sebeple HPV ilişkili karsinogenezin geç dönemlerinde E5 proteini şart değildir [67, 72].

E6 ve E7 onkoproteinleri, maligniteyi indükleme yeteneğine sahiptirler. E6 tümör süpresör p53 proteininin parçalanmasını ve dolayısıyla hücre proliferasyonunu uyarır [74]. p53 hücredeki DNA hasarlarını gidermek için hücre döngüsünü durdurur ve gerekli onarımın yapılmasını sağlar veya apoptozu uyarır. E6 proteini p53 ile etkileşime girerek tümör baskılayıcı etkinin ortadan kalkmasına neden olur [74]. E6 apoptoz üzerine inhibisyon etkisini telomeraz enzimini indükleme yoluyla da gerçekleştirebilir; böylece enfekte hücreler sürekli çoğalır [36].

E7 temel hedefi olan Retinoblastom proteini (pRb) ve pRb'nin ilişkili olduğu p107 ve p130 proteinleri ile etkileşime girer. Rb proteini, DNA hasarına bağlı olarak apoptozu uyarır veya hücre döngüsünü durdurur. E7 proteini yüksek riskli HPV'lerde hem hücresel transformasyon hem de viral patogeneze için gereklidir. E7 proteini apoptozisi ve sitokin bağımlı hücre ölümünü inhibe edebilir. Bunun yanısıra tam tersi olarak çeşitli yollarla apoptozisi indükleyebilir [65, 75]. E6 ve E7 proteinlerini içeren HPV tipleri yüksek risklidir [64].

E8 proteini HPV tip 31 (HPV-31), sığır papillomavirus tip 1 (BPV-1) ve birçok tavşan papillomaviruslarında onkogen olarak saptanmıştır. E8^{E2} füzyon proteininin de, replikasyon ve viral transkripsiyonda negatif bir regülatör olduğu gösterilmiştir [76, 77].

E8^{E2} füzyon proteini, E2 geninin C terminal ucuna bağlanarak viral transkripsiyon için alternatif bir yol meydana getirmektedir. E8^{E2C}'nin, viral yaşam siklusunun erken dönemi süresince viral kopya sayısının kontrolüyle ve DNA replikasyonunu sınırlaması sayesinde HPV epizomlarının stabilitesinde etkili olduğu düşünülmektedir [78].

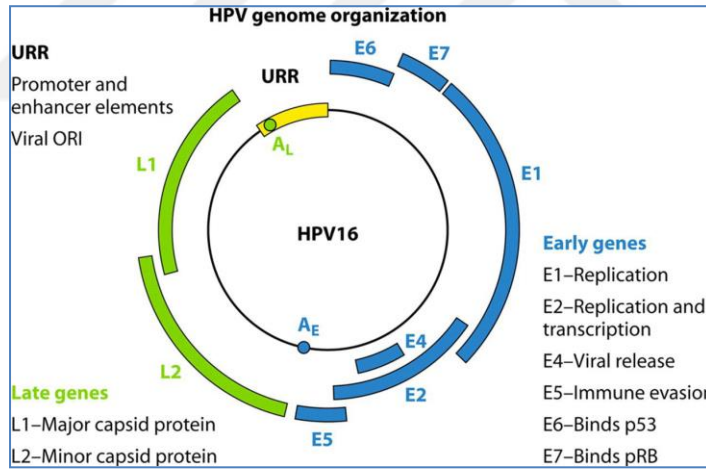
Geç bölge (L; late): Enfeksiyonun sonraki süreçlerinde üretilmektedir. L1 (majör kapsid proteini) ve L2 (minör kapsid proteini) yapısal proteinlerinin sentezinden sorumludur [47].

L1 korunmuş bölgedir; tüm HPV tiplerinde ortaktır ve taksonomik olarak farklılaşmayı sağlar [70].

Virüsün antijenik özelliğinden sorumlu olup, hafif-orta displazilerde ve nadir olarak şiddetli displazilerde saptanabilmektedir. L1 proteini yüzey reseptörlerine bağlanarak hücreye girişte etkin olarak rol almaktadır [79,80]. L2 proteininin enfeksiyon giriş yolunda önemli rolleri vardır. L2 hücre yüzey proteinine bağlanarak virüsün hücre sitoplazmasından çekirdeğe geçmesini sağlar [80].

L1'e karşı oluşan nötralizan antikorlar hücresel immün cevapta etkilidir. L2 ise HPV tipleri arasında antijenite farklılıkları gösterir [23, 24].

Uzun kontrol bölgesi (LCR; long control region): Erken ve geç bölgeler arasında bulunur. Aynı zamanda üst regülatör bölge (URR; upstream regulatory region) olarak da isimlendirilir. Viral replikasyon ve transkripsiyonda görevli düzenleyici dizileri içerir. Bu bölge protein kodlamaz (non-coding region); [71] replikasyon orijinini, transkripsiyon düzenleyici dizileri ve erken proteinlerde ortak olarak bulunan N terminal dizilerini içermektedir [2].



Şekil 2.3. HPV genomu [81]

2.1.5. HPV Sınıflandırma

Papillomavirüsler nükleik asit yapısı, transformasyon yeteneği ve morfolojik yapısıyla polyomavirüslerle benzer özelliklere sahip oldukları için önceleri *Papovaviridae* ailesi içinde sınıflandırılmışlardır. Fakat yakın zamanda Uluslararası Virüs Taksonomi Konseyi (ICTV; International Council on Taxonomy of Viruses) tarafından, replikasyon stratejisi ve genom

yapılarının farklı olmalarına dayanarak *Papovaviridae* ailesi *Polyomavirida* ve *Papillomaviridae* olarak iki ayrı virüs ailesine bölünmüştür. Böylece *Papillomavirüsler* günümüzde *Papillomaviridae* ailesi içinde sınıflandırılmaktadır [82, 83].

Papillomavirüslerde genom içinde en iyi konunan gen bölgesi L1 ORF (Open Reading Frame; açık okuma çerçevesi) olduğu için son 15 yıldır yeni HPV tiplerinin tanımlanmasında bu bölge kullanılmaktadır ve yüzde (%) olarak dizi benzerliği karşılaştırılmaktadır. Tüm genom kopyalanmış ve L1 ORF dizisi bilinen en yakın HPV tiplerinden %10'dan daha fazla farklılık gösteriyorsa "yeni tip" HPV izolatu olarak tanımlanır. Farklılık %2-10 arasında ise "alt tür", %2'den daha az ise bir "varyant" olarak tanımlanmaktadır [84].

İnsanlarda bugüne kadar 230 HPV türünün varlığı bildirilmiş ve bunlar cinslerine göre sınıflandırılmıştır [58]. Bunlar **alfa**, **beta**, **gama**, **mu** ve **nu** olarak isimlendirilmişlerdir. **Alfa** cinsi deri ve mukozalarda lezyonlara neden olan HPV tiplerini içerir. Bu cins içindeki düşük riskli tipler benign yaygın siğillere, yüksek riskli tipler serviks kanserine neden olmaktadır. **Beta** cinsi latent enfeksiyonlara yol açar ve Epidermodisplazia Verrusiformis (EV) ile ilişkili HPV tiplerini içerir. Fakat immunsuprese kişilerde enfeksiyon bölgesinde cilt neoplazilerine de sebep olabilmektedir [84, 85].

Gama, **mu** ve **nu** cinsleri ise genellikle benign cilt lezyonlarına yol açabilmektedir [72]. **Gama** ve **beta** cinsleri yapılan son çalışmalarda oral mukoza gibi farklı bölgelerde de saptanmıştır [86, 5].

Virüsün farklı tipleri, öncelikli olarak enfekte ettiği epitelyum hücresinin tipine göre farklı dokulara yönelim gösterir. Bu yönelime göre de mukozal ve kutanöz tipler olarak iki gruba ayrılmaktadırlar. Anogenital bölgenin malign ve benign lezyonlarından izole edilen HPV tip 6, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 73 "mukozal tipler"i, kutanöz ve plantar siğillerden izole edilen HPV tip 1, 4, 5, 8, 41, 48, 60, 63 ve 65 ise "kutanöz tipler"i oluşturur [87]. HPV tipleri onkogenik risk potansiyellerine göre ise üç grupta sınıflandırılır: Düşük risk, olası yüksek risk, yüksek risk (Tablo 2.1). Bu grupların oluşmasında E6-E7

proteinlerinin tümör supresor proteinlerini bağlayarak malign potansiyele neden olması etkilidir [88].

Tablo 2.1.Malign Potansiyeline Göre HPV Tipleri [5]

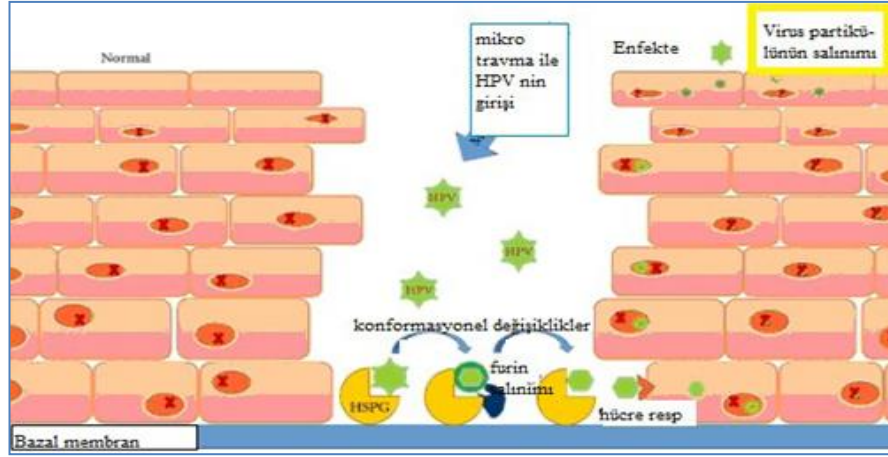
Risk Sınıflaması	HPV Tipleri
Düşük riskli (LR-HPV)	6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81
Olası yüksek riskli	26,53,66
Yüksek riskli (HR-HPV)	16,18,31,33,35,39,45,51,52,55,56,58,59,66,68,73,82,83

Düşük riskli HPV tipleri (sıklıkla tip 6 ve 11), çoğunlukla genital siğil ve respiratuvar papillomatoza yol açabilirler. Dünya genelinde 1.000 serviks kanseri olgusunun incelendiği bir çalışmada, yalnızca bir serviks kanseri olgusunda düşük riskli bir HPV tipi pozitif saptanmıştır [89]. Yüksek riskli HPV tipleri, serviks kanseri olgularının tamamında saptanmışlardır ve insanlarda kanserlerin yaklaşık %15-20'sinden sorumlu tutulmaktadır [9]. Yüksek riskli tiplerden olan HPV tip 16 ve 18, serviks kanseri riskinde 200 kat artışa neden olmaktadır. Ayrıca bu iki tipin, tüm serviks kanserlerinin %71'inin sorumlusu olduğu gösterilmiştir [90]. Çalışmalar, HPV16'nın yüksek riskli (HR) HPV'ler içinde en kanserojen tip olduğunu göstermektedir [91].

2.1.6. HPV Patogenez ve İmmünite

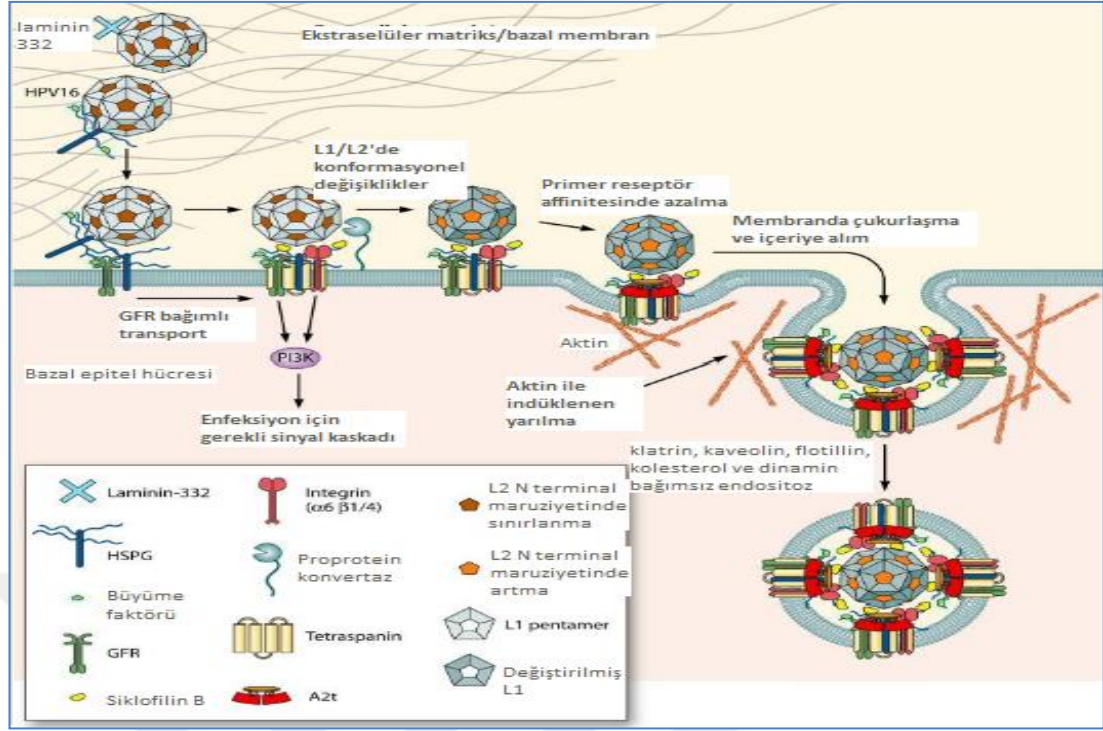
Papillomavirüsler derinin ve mukoz membranların yassı epitelyum hücrelerini hedef alır. Virüs partikülleri epitelyum hücrelerinin bazal membranındaki bazal hücrelere tutunur ve prolifer olurlar [92, 93].

Enfeksiyon için öncelikle epitelde mikroabrazyon olması ve virüsünde bu bölgeden girmesi gerekmektedir. Daha sonra enfekte olan hücrelerde yara iyileşmesi benzeri bir yanıt görülmektedir [94].



Şekil 2.4. HPV'nin mikrotravma ile serviks bazal membranına ulaşması [94]

Enfeksiyonun başlangıç döneminde HPV, hücrenin yüzeyinde bulunan L1 reseptörü veya bazal tabaka ile etkileşime girer. HPV'nin ekstraselüler matrikse bağlanması laminin 332 (HPV'nin hücreye yapışmasını kolaylaştırır) ile gerçekleşir. Heparan sülfat proteoglikan (HSPG) ile L1 etkileşir; kapsid yapısal olarak değişir ve L2 meydana çıkar. Keratinosit Büyüme Faktör Reseptör (KGFR) ve/veya Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü (EGFR), HSPG/Büyüme Faktörü HPV16 kompleksleri yoluyla aktive olur ve fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) yolağının aktivasyonu ile hücre içi sinyal iletim basamakları başlayabilir. Virionda, HSPG'lara bağlanmanın ardından bir konformasyonel değişiklik meydana gelir. Bu değişiklik L2'nin N terminal ucunda daha çok aminoasit açığa çıkaran siklofilin B (CypB) vasıtasıyla kolaylaştırılır. Sonrasında HPV16, ikinci bir hücre içi sinyal iletim kaskadını başlatan $\alpha 6$ integrine bağlanır. HPV16'nın kapsidi konformasyonel değişiklikler ve sinyal iletiminden sonra, anneksin A2 heterotetramerine (A2T) bağlanır. Bu bağlanma HPV16'nın, caveolin-, klatrin-, lipidraft-, flotillin-, kolesterol- ve dynamin- bağımsız endositozunu başlatır [95].



Şekil 2.5. HPV 16'nın hücre içine giriş mekanizması [95]

HPV enfeksiyonlarında etkenin yaşam siklusu bazal hücrelerin diferansiyasyon dinamiği ile orantılıdır ve virüsün proliferasyonu keratinosit olgunlaşmasıyla ilişkilidir. HPV bazal tabaka hücrelerine girdikten sonra bu hücrelerde az miktarda yapısal olmayan erken proteinler olan E1, E2, E6 ve E7'yi (öncelikle E1 ve E2) sentezler. Hücreye giriş ve soyulmadan sonra, viral DNA'nın nükleusa transferi gerçekleşir. L2 viral DNA'nın nükleusa transferini kolaylaştırır. Nükleusa giren viral genomun tek zinciri, konak DNA'sına tutunur ve yeni viral genom sentezi olur. Enfeksiyon süresince enfekte hücreler, hücre başına 50-100 viral genom üretilmesine aracılık eder. Daha sonra diğer erken proteinler ve en son yapısal kapsid proteinleri L1 ve L2 sentezi olur. Bu şekilde önce viral DNA, sonra kapsid sentezi gerçekleşir ve yeni virion oluşumu tamamlanmış olur [96, 97].

Bazal hücreler proliferasyon oldukça epizomal viral DNA'lar yeni hücrelere yayılır ve enfekte hücrelerde diferansiyasyon başlar. Suprabazal bölgedeki diferansiyasyon hücrelerinde E1, E2, E4, E5, E6 ve E7 proteinlerinin yüksek düzeyde ekspresyonu ile viral genom replikasyonunda belirgin artış olur (her

hücre başına >1000 kopya). Son aşamada yeni oluşan virionlar, keratinositlerin yüzeyinden ortama salınır [98, 99].

HPV'nin dokuya etkileri temel olarak üç farklı enfeksiyon şeklinde olabilmektedir: Latent enfeksiyon, prodüktif enfeksiyon ve non-prodüktif enfeksiyon. Latent enfeksiyon döneminde virionlar epitelyal yarıklardan bazal hücrelere ulaşır enfekte eder. Bu dönemde viral genom hücre içinde ayrı bir epizomal DNA olarak kalır. Enfekte hücreler normal hücrelerden histolojik olarak ayırt edilemez [100]. Birkaç hafta veya yıllar sürebilen bir kuluçka dönemi sonrasında virüs replikasyonu başlar [100].

Prodüktif enfeksiyon olarak adlandırılan bu dönemde yüzeyel epitelde perinükleer halo, sitoplazmik vakuolizasyon ve sıklıkla hiperkromatik, büyük nükleus ile karakterize hücresel transformasyon olan “koilositoz” meydana gelir. E6 ve E7'nin konak DNA sentezini uyarmasıyla hiperkromazi ve nükleusta büyüme görülür. Ardından E4'ün de keratin ağlarda bozulmaya yol açmasıyla karakteristik koilositik görüntü ortaya çıkar. Virüs replikasyonu ile epidermisve diğer tabakalarda proliferasyonda aşırı bir artış olur. Hücrelerde hiperkeratoz ve hiperplazi meydana gelir. HPV hücrelerde lizise veviremiye yol açmaz [99]. HPV epitelin bazal tabaka hücrelerinde proliferasyonu aşırı artırır spinöz tabakada hücre sayısında artışa (akantozis) sebep olur. Bunun sonucunda deride kalınlaşma ve keratin üretiminde artma (hiperkeratoz) olur. Sonuçta oluşan epitelyal uzantılara (papillomatozis) “kondilom” adı verilir. Kondilomlar gözle görülebilen aşıkır lezyonlar olabileceği gibi, yalnızca kolposkopi ile görülebilen lezyonlar da olabilmektedir. Bu lezyonlar vajen, vulva ve serviks yerleşimli olabilir. Kimi zaman dev boyutlara ulaşarak Buscke-Lowenstein tümörü olarak adlandırılabilir. Kondilomlara en çok yol açan tipler HPV 6 ve 11'dir [2, 99].

Viral genom, karsinogenezis sürecinin ilk zamanlarında (High-Grade Skuamöz İntraepitelyal Lezyon (HSIL)'a kadar) epizomal olarak kalır. Bu onkojenik süreçte ilerleme olursa epizomal DNA'lar yeniden konak DNA'sına bağlanır (HSIL ve daha ileri lezyonlar gibi). Genellikle de bu bağlanma konak DNA'nın kırılğan bölgelerine yakın olur. Viral DNA'nın bu şekilde konak

DNA'sına bağlanması, süreçte malign dönüşümün başladığını düşündürmektedir. Sonrasında HPV konak hücre içerisinde onkojen proteinler sentezleyerek malign dönüşüme neden olmaktadır. Özellikle de E6 ve E7 proteinleri p53 ve Rb tümör süpresör genlerine bağlanarak hücrede ölümsüzleşme, genomik instabilite, apoptozis inhibisyonu ve kontrolsüz bir proliferasyona yol açmaktadır [101].

Enfeksiyonun temizlenmesinde konağın immün cevabı büyük rol üstlenmektedir. Persistan enfeksiyon gelişmesiyle zayıf immün cevap arasında kuvvetli bir ilişkinin varlığı saptanmıştır [102]. İmmün cevapta başlıca T lenfositler, doğal öldürücü (NK) hücreler ve Langerhans hücreleri rol oynamaktadır. Kondilomalarda ve servikal intraepitelyal neoplazi (CIN)'de, yardımcı/sitotoksik T hücre oranında ve Langerhans hücre sayısında düşme, NK hücrelerinde IL2 ve interferon gama (IFN-gama) üretiminde azalma gösterilmiştir [103]. HPV enfeksiyonuna karşı oluşan immün cevapta lokal hücresel immünite de etkilidir. Bu da nötralizan antikor (L1 proteinine karşı oluşur) gelişimine ve lezyonlarda gerilemeye katkıda bulunur. HPV enfeksiyonları çoğunlukla asemptomatik ve geçicidir. Sağlıklı bir kişide immün sistem tarafından 2 yıl içinde bu enfeksiyonların %90'ı temizlenmektedir. Birçok çalışma HPV enfeksiyonlarında sadece vakaların yarısında serolojik yanıt oluştuğunu bildirmektedir. Enfeksiyon seyrinde antikor düzeyi artar; fakat pik noktasında bile oldukça düşük seviyelerdedir. HPV'ler enfekte ettiği hücrelerin çekirdeği içinde bağışıklık sistemi hücrelerinden kaçabilir. HPV viremi yapmadığı için viral antijen ortaya çıkmaz ve böylelikle enflamasyon sürecine hücresel immün cevap sınırlandırılır. Yüzeyel epiteldeki enfekte hücrelerde viral partiküllerin varlığı antijen sunan hücrelerden (ASH) etkilenmez. Bu şekilde düşük antijen uyarımı nedeniyle B ve T lenfositlerin aktive olması büyük ölçüde engellenir. Fakat seropozitivite düşük olsa da koruyuculuk sağlayabilmektedir [104, 105, 106].

2.1.7. HPV İlişkili Hastalıklar

HPV enfeksiyonları çok çeşitli klinik bulgularla karşımıza çıkabilir. Kimi zaman semptom olmadan iyi huylu giderken, kimi zaman da tedaviye dirençli,

rekürren, proliferasyon ile seyreden, hatta kansere dönüşebilen bir tablo görülebilmektedir. Klinik tablodaki bu değişkenlik kişinin bağışıklık durumuna, lezyonun yerine, epitelin yapısına ve virüsün tipine bağlıdır [107]. Aseptomatik enfeksiyon yalnızca HPV DNA testi ile saptanabilmektedir; herhangi bir klinik bulgu vermez. Genital siğiller birkaç ay içinde gözle görülür hale gelebilirken, serviks kanseri gelişimi klinik bulgu ortaya çıkmadan yıllarca devam edebilir [64]. HPV ilişkili hastalıkların en sık görülen malign formu serviks kanseri, benign formu ise anogenital siğildir [7]. HPV bunların dışında ciltte siğillere, nazofarengeal papillomlara, vajina, vulva, penis, anüs ve baş boyun kanserlerine de yol açmaktadır [8].

2.1.7.1. Deri Siğilleri

Siğiller derinin tüm tabakalarında hipertrofi, akantozis, hiperkeratoz ve papillom oluşumu ile giden benign lezyonlardır. Çoğunlukla spontan iyileşme gösterirler. Genellikle HPV 2 normal siğillerle; HPV 3, 10 ve 28 düz siğillerle; HPV 4 endofitik, punktat ve küçük lezyonlarla; HPV7 ilerleyici ve kırmızı lezyonlarla ilişkili bulunmuştur [108]. Deri siğilleri en sık el ve ayaklarda olmak üzere vücutta herhangi bir bölgede ortaya çıkabilir. Travmaya açık olan dirsek, diz, yüz gibi bölgeler de sıklıkla yerleşim gösterdiği bölgelerdir. Bu yaygın siğiller “verruka vulgaris” olarak isimlendirilir. Sıklıkla neden olan HPV tipleri 1, 2 ve 4 iken, immünsüprese kişilerde HPV tip 75 ve 77 de saptanabilmektedir [109]. Kasaplık gibi et ile uğraşılan meslekler el siğilleri için daha yüksek riske sahiptir (en sık HPV 7 ile ilişkili) [110]. Herhangi bir yaşta deri siğili görülme oranı %10 iken, okul çağında %3-20 civarında ve ergenlik çağında ise en yüksek oranlarda karşımıza çıkar [111].

“Verruka plantaris” yani “plantar siğiller” sadece ayak tabanında ve çoğunlukla çocuklarda görülmektedir. Genellikle 10-14 yaş arası daha sık ve beş yaş altında nadir görülür. Bunlar sıklıkla HPV tip 1 ve 4 ile, daha az sıklıkla da HPV tip 57, 60, 63, 65, 66 ile ilişkili olmaktadır. Cilt yüzeyinden ayak tabanı derinine ilerleyen lezyonlar olduğu için genellikle ağrılıdır. Yüzme havuzlarında, çıplak ayakla yapılan egzersiz ve dans gibi aktivitelerde,

çevreye saçılan enfekte keratinositler vasıtasıyla bulaş riski olabilmektedir [109].

“Verruka planta” yani “düz siğiller” sıklıkla el sırtı, yüz ve bacakta, gruplar halinde, düzgün yüzeyli papüller olarak ortaya çıkmaktadır. Papüller çoğunlukla deriyle aynı renkte olur; ancak nadir olarak açık kahverengi olabilmektedir. Bu siğiller en çok HPV tip 3 ve 10, daha az olarak da HPV tip 26, 29, 41 ile ilişkilidir ve genellikle çocuklarda saptanır [109].

2.1.7.2. Anogenital Siğiller

Anogenital siğiller; vulva, vajen, serviks, anüs, perianal bölge, penis, skrotum ve üretra gibi bölgelerde papüller olarak karşımıza çıkar. Dış genital siğiller ‘kondiloma aküminata’ olarak da bilinirler. Anogenital siğiller çok bulaşıcıdır (enfekte partnerden bulaş yaklaşık %65). 3 hafta - 8 ay arasında değişen kuluçka süresi vardır. Nadir olarak da büyüyürek, malign dönüşüm gösterebilen Buschke-Lowenstein tümörü olarak isimlendirilen deri tümörüne dönüşebilir [112]. Vakaların yaklaşık yarısında birden fazla bölgede yerleşimli lezyonlar vardır. Sıklıkla asemptomatik olsa da kaşıntı, yanma, vajinal akıntı, kanama, ağrılı cinsel ilişki gibi şikayetlere neden olabilirler [113]. Genital siğillerin çoğunun sorumlusu düşük riskli olan HPV tip 6 ve 11’dir [114].

2.1.7.3. Epidermodysplasia Verruciformis

İlk olarak Lewandosky ve Lutz tarafından 1922’de tanımlanmıştır [18]. Kutanöz HPV enfeksiyonlarına duyarlılıkla karakterize, nadir görülen genetik bir hastalıktır [115]. Kalıtım çoğunlukla otozomal resesiftir; ancak bazı olgularda otozomal dominant geçiş ve sporadik mutasyonlar da gösterilmiştir. Hastaların $\frac{3}{4}$ ’ünde, homozigot çerçeve kayması ya da kromozom 17’nin uzun kolunda EVER1 ve EVER2 genlerinde ortaya çıkan bir mutasyon saptanmaktadır. Bu genler intraselüler çinko homeostazisinin korunmasında katkısı olan transmembran proteinlerini kodlar. Epidermodysplasia Verruciformis (EV)’te görülen deri lezyonları genellikle multiple düz siğiller, pitriyazis versikolor benzeri kırmızı-kahverengi maküller ve seboreik keratozu andıran lezyonlar şeklinde olur. Genellikle çocukluk çağında, yerleşim yeri

olarak da boyun, gövde, ekstremiteler ve yüzde karşımıza çıkmaktadır [109, 116].

EV ile ilişkili HPV tipleri β -HPV alt tiplerinden 3, 5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 19, 25, 36, 38, 47 ve 50'dir [117]. Lezyonlar genel olarak iki farklı formda ortaya çıkabilir; aynı hastada farklı formların birlikte görülmesi de mümkündür. Lezyonların bazıları düz siğiller olarak ortaya çıkabilirler; en sık HPV tip 3 ve 10 ile ilişkilidir (genel popülasyondaki düz siğiller ile aynı). Diğer lezyonlar ise pullu yapıdaki siğiller veya kırmızı-kahverengi maküller şeklinde gözlenebilir. Bu pullu yapıdaki siğiller EV'ye özgü HPV tipleri ile ilişkili olup, en sık da HPV 5 ve 8'e rastlanır [115].

EV'li vakaların yaklaşık yarısında, sıklıkla güneşe maruz kalan cilt bölgelerinde Bowen tipi karsinoma in situ ve invaziv skuamöz hücreli karsinoma gelişebilir. Malign dönüşümle en çok ilişkili olan tipler HPV 5 ve 8'dir. Son yıllarda EV, hücrel bağışıklıkta defekti olan hastalarda görülmüştür. HIV enfeksiyonu, Hodgkin hastalığı, transplantasyon hastaları, IgM eksikliği, sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi sebeplerle immün sistemin baskılandığı durumlarda da gözlenmektedir [109, 116].

2.1.7.4. Rekürren Respiratuvar Papillomatozis

Rekürren respiratuvar papillomatozis (RRP) solunum yollarında iyi huylu skuamöz papillomlarla karakterize, kronik bir hastalıktır. RRP'ye HPV tip 6 ve 11'in neden olduğu gösterilmiştir. Hem çocuklarda hem yetişkinlerde hastalık görülebilir. Çocuklarda en sık görülen iyi huylu laringeal tümördür. Ayrıca çocukluk çağında ilerleyici ses kısıklığının en sık ikinci sebebidir. RRP genellikle laringeal bölgeyi tutan iyi huylu bir hastalıktır; fakat klinik seyri değişkendir ve tehlikeli olabilir. Tekrarlama ve yayılma eğilimindedir. Solunum yolunda obstrüksiyona neden olabilir. Malign transformasyon görülebilir [118].

RRP'de bulaş yolu hala net değildir. Çocuklardaki enfeksiyonun genital HPV enfeksiyonu olan annenin doğum kanalından bulaştığı birçok çalışmada

gösterilmiştir. Yetişkinlerde ise oro-genital temas yoluyla bulaş olabileceği düşünülmektedir[119].

2.1.7.5. Serviks Kanseri

Serviks kanseri genellikle endoserviksin kolumnar epitel ve ektoserviksin skuamöz epitel arasında yer alan “servikal transformasyon zonu” olarak adlandırılan bölgeden köken almaktadır. HPV enfeksiyonlarının malign dönüşüme neden olduğu bölgeler serviks, orofarenks, anüs gibi farklı epitel türlerinin dönüşüm bölgeleridir ve bunun nedeni kesin olarak anlaşılamamıştır. Kansere duyarlı olan transformasyon zonunun lokalizasyonu değişkendir ve zaman içinde kademeli şekilde endoservikal bölgeye doğru yer değiştirmektedir.

Servikal kanser gelişimi dört temel basamaktan oluşur. İlk basamak, yüksek riskli HPV ile servikal transformasyon bölgesindeki metaplastik epitelen enfeksiyonudur. İkinci basamak, gelişen HPV enfeksiyonundaki kalıcılıktır. Üçüncü basamak, bir epitel hücre kopyasının kalıcı HPV enfeksiyonundan maligniteye ilerlemesidir. Dördüncü basamak, bazal membrana invazyon ve karsinom gelişimidir [120].

Servikal kanserlerin yaklaşık %80'ini skuamöz hücreli karsinom oluşturur. Kalan %20 civarının çoğu da adenokarsinomdur. Yüksek riskli HPV'ler, tüm histolojik tipler için kuvvetli risk faktörüdür. HPV tip 16 ya da 18 adenokarsinomların %78'inde, skuamöz hücreli karsinomların %74'ünde pozitif olarak bulunmuştur. Sigara skuamöz hücreli karsinom için çok ciddi bir risk faktörü iken, adenokarsinom ile ilişkisi gösterilememiştir. Daha önce Pap smear testi yapılmış olması, serviks kanseri riskini azaltmaktadır (skuamöz hücreli karsinom riskindeki azalma, adenokarsinom riskindeki azalmadan daha belirgindir) [121].

Erken evre servikal kanser çoğunlukla asemptomatik olmakla birlikte en sık görülebilen semptomlar; kötü kokulu vajinal akıntı, postkoital kanama ve düzensiz vajinal kanamadır [122]. Servikte meydana gelen değişiklikler genellikle kanser gelişim sürecinde ileri evrelere kadar belirti vermeyebilir. Görülebilen diğer belirtiler arasında; ağırlı cinsel ilişki, postmenopozal

kanama, pelvik bölgede ağrı, idrar yaparken ağrı, yorgunluk, iştahsızlık, kilo kaybı yer almaktadır.

HPV saptanması erken dönemde servikste prekanseroz değişiklikleri göstermekte ve kanser tanısında kolaylık sağlamaktadır. HPV testleri günümüzde servikal kanser taramasında kullanılmaktadır. Pap smear testi servikte dökülen hücrelerin incelenmesi temeline dayanır. Pap smear ve HPV testleri aynı anda yapılabilir. Anormal Pap smear testi serviks kanserli hastalarda en yaygın saptanan bulgudur [123].

İnvaziv servikal kanserden önce hücresel olgunlaşmada, stratifikasyonda bozukluklar ve nükleer atipi ile karakterize öncül lezyonlar meydana gelmektedir. Bu öncül lezyonlar sitolojik olarak Bethesda terminolojisine göre skuamöz intraepitelyal lezyon (SIL) ve histolojik olarak da servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) şeklinde sınıflandırılmaktadır [124]. **CIN sınıflandırmasında** histolojik olarak lezyonlar; hafif displazi (CIN I), orta displazi (CIN II), şiddetli displazi (CIN III) olacak şekilde derecelendirilmiştir [125]. Skuamöz intraepitelyal lezyonlar, 2001 yılında son şeklini alan Bethesda sisteminde üç gruba ayrılmıştır:

Atipik skuamöz intraepitelyal lezyonlar (ASC)

- Önemi saptanamayan atipik skuamöz hücreler (ASC-US)
- Yüksek dereceli lezyon dışlanamayan atipik skuamöz hücreler (ASC-H)

Yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlar (HSIL)

- Orta ve şiddetli displazi, in-situ karsinom, CIN II ve CIN III

Düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlar (LSIL)

- Hafif displazi, HPV ve CIN I [125, 126].

2.1.7.6. Anal Kanser

Anal kanaldaki HPV spektrumu servikstekine benzerdir. HPV 16 anal kanserlerde en sık saptanan tiptir. Anal örneklerde yaygın olarak izole edilen, servikal örneklerde nadiren bildirilen HPV tipleri ise tip 53, 58, 61 ve 70'tir.

HPV 32 esas olarak oral HPV tipidir ve anal örneklerde saptanması anal-oral ilişki yoluyla bulaşı düşündürmektedir [127].

Hastalar anüsten kanama, akıntı, anüste şişlik hissi, ağrı, kaşıntı, daha sık veya seyrek dışkılama, dışkının incilmesi gibi belirtilerle başvurabilir. Kanama, hemoroid kanaması zannedilip atlanırsa tanıda gecikmeler olur. Rektal tuşe erken tanı için önemlidir [128].

2.1.7.7. Vajinal, Vulvar ve Penis Kanseri

Persistan genital siğillerden (HPV tip 6, 11) nadiren penis ve vulvada verrüköz karsinom gelişimi görülebilmektedir. Yapılan çalışmalarda Bowenoid papüllozunda (vulvada prekanseröz lezyon) HPV tip 16 saptanmıştır [18]. Vulvar skuamöz hücreli karsinomlar 50 yaş ve altı kadınlarda daha sık görülmektedir. Bunların %85'inde HPV DNA saptanmıştır ve en sık HPV tip 16, ikinci sıklıkta ise HPV tip 33 tespit edilmiştir. HPV tip 16 penil karsinomlarında %30-50'sinden sorumlu tutulmaktadır [18, 129].

Genellikle vulvar ve penil karsinomlarda prognoz, HPV DNA pozitif olanlarda negatif olanlara göre daha iyi seyretmektedir [18]. Vajinal kanserlerin %64-91'inde, vulvar ve penil kanserlerin %60-90'nında HPV DNA tespit edilmektedir. Vulvar, vajinal ve penil kanserlerde en sık HPV tip 16 saptanır ve bunu HPV tip 18, 31 ve 33 izlemektedir [129].

2.1.7.8. Baş ve Boyun Kanseri

Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomları oral kavite, orofarenks, nazofarenks, larenks ve hipofarenkste görülmektedir. Bunların %23-35'i HPV ile ilişkili bulunmuştur. En sık (%68-87) HPV 16 olmak üzere, daha az olarak da HPV 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ve 68 saptanabilmektedir. Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomlarında esas risk faktörleri alkol ve sigara kullanımıdır [130].

Son yıllardaki çalışmalarda tütün kullanımında azalmaya rağmen orofarengeal kanserlerde artma görülmesi dil tabanında ve tonsillerde tespit edilen HPV ile ilişkili bulunmuştur. HPV maruziyetinden 10 yıl sonra orofarengeal kanser geliştiği düşünülmektedir [131]. Onkojenik HPV tipleri

saptanan hastalarda orofarenks ve oral kavite kanseri gelişme riski 2-4 kat artmıştır [127].

2.1.8. HPV Korunma

HPV için primer korunma yolları cinsel ilişki yaşının olabildiğince ileri olması, cinsel partner sayısının az hatta tek olması ve sigaradan uzak durulması gibi doğal önlemler olmalıdır. Aktif cinsel hayatı olan kişilerin prezervatif gibi genel önlemleri kesinlikle alması gerekir; ancak prezervatif bazı durumlarda yetersiz kalabilir ve kesin güvenilir bir koruma değildir. Bu yüzden en azından genital siğilleri olan kadın veya erkeğin hiç cinsel temasta bulunmaması çok önemlidir. Ancak yüksek riskli HPV'ler gözle görülür lezyonlara neden olmadığından, kadınların rutin jinekolojik muayenelerini yaptırmaları büyük önem taşır.

Günümüzde HPV DNA testleri Pap smear, kolposkopi gibi HPV'yi erken saptayıp, neden olduğu lezyonları erken tespit edip tedavi etmek, servikal invaziv kanser gelişmesini önlemede uygulanan sekonder korunma şeklidir. Ancak HPV'nin neden olduğu diğer kanserleri de önlemek adına profilaktik aşı uygulanması ile primer korunma sağlanması daha etkili olacaktır [132, 133].

2.1.9. HPV Aşıları

HPV aşıları, HPV enfeksiyonunun bulaşmasına ve buna bağlı ortaya çıkabilecek hastalıklara karşı koruma sağlamak amacıyla geliştirilmiştir [134]. Bu aşılar major kapsid proteini L1'den hazırlanan virüs benzeri partikülleri (VLP: virus like particle) içeren, rekombinant DNA teknolojisiyle geliştirilmiş aşılardır [135, 136].

VLP'ler viral DNA içermediğinden enfeksiyöz değildir [135]. VLP'ler güçlü bir immunojenidir; yüksek titrede nötralizan antikör sentezine neden olur ve hücrel immün yanıtı da uyarırlar [134].

Günümüzde mevcut olan HPV aşıları profilaktik aşılardır. Bu aşılar hastalığı tedavi edemez veya daha önce bulaşan virüsün hastalığa neden olmasını engelleyemez; yalnızca yeni HPV enfeksiyonu bulaşmasına engel olurlar [137]. HPV ilişkili hastalığın tedavi edilmesi, lezyonların gerilemesi

amacıyla geliştirilmekte olan terapötik aşılar da bulunmaktadır; ancak bunlar klinik olarak henüz kullanımda değildir [138].

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA; Food and Drug Administration) onaylı 3 profilaktik aşı bulunmaktadır. Kuadrivalan aşı (Gardasil) 2006 yılında, Bivalan aşı (Cervarix) 2009 yılında, 9 valanlı aşı (Gardasil 9) ise 2014 yılında FDA onayı almıştır [139]. Bivalan ve kuadrivalan aşı, HPV 16 ve 18'e (servikal kanserlerin yaklaşık %70'inin sebebi) karşı etkili bir koruma sağlamaktadır. Kuadrivalan aşı, ek olarak HPV 6 ve 11'e (genital siğillerin %90'ından sorumlu) de etkili olmasıyla genital siğillere karşı da koruyuculuk sağlamaktadır. Dokuz valanlı (nonavalan) aşı ise bu dört tipe ek olarak genital kanserlerin %20'sinin nedeni olan HPV 31, 33, 45, 52 ve 58'e karşı da koruyuculuk sağlamaktadır [140].

Tablo 2.2. HPV Aşıları ve Etkinlikleri [140]

HPV aşıları	Etkili olduğu HPV tipleri	Servikal kanserden koruma oranları
Bivalan aşı (Cervarix)	HPV 16, 18	%70
Kuadrivalan aşı (Gardasil)	HPV 6, 11, 16, 18	%70-75
Nonavalan (9 valanlı) aşı (Gardasil 9)	HPV 6,11,16,18, 31, 33, 45, 52, 58	%90

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) HPV aşı uygulanmasını 2009 yılından bu yana önermektedir [141].

HPV aşılmasına dokuz yaşından itibaren başlanabilmektedir; ancak Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC)'nin Bağışıklama Uygulamaları Danışma Komitesi (ACIP - The Advisory Committee on Immunization Practices), 11- 12 yaşında başlayan HPV aşılmasını (Bivalan aşı sadece kızlara önerilmekte) önermektedir. HPV aşısı üç doz aşılmasını tamamlamamış 13-26 yaş kadın ve 13-21 yaş erkekler için tavsiye edilmektedir. Aşının cinsel temas öncesinde, yani HPV ile karşılaşmadan önce yapılması önerilir. İmmünsuprese ve homoseksüel erkeklerin 26 yaşına kadar aşılama önerilmektedir [142]. 15 yaşın altında aşılama

tamamlanabiliyorsa, 2 doz aşı yeterli bulunmuştur; ilk dozdan 6-12 ay sonra ikinci doz uygulanmalıdır. 15 yaşın üstündeki aşılamalarda ilk dozdan 1-2 ay sonra ikinci doz, ilk dozdan 6 ay sonra da üçüncü doz olacak şekilde üç doz aşılama önerilmektedir [143]. Çalışmalar aşılanmış 25 yaş üstü kadınlarda HPV 16 ve 18 enfeksiyonlarında ve aşıda bulunmamasına rağmen HPV 31 ve 45 enfeksiyonlarında da azalma olduğunu bildirmektedir. Aşının erişkin yaştaki kadınlarda da güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir [144]. Çalışmalar aşılanmanın ilk cinsel temas öncesinde yapılmasının, enfeksiyon ve prekanseröz lezyonlardan koruma oranının %90'dan fazla olduğunu, HPV ile karşılaştıktan sonra aşılanmanın ise koruyuculuğu %50-60'a düşürdüğünü göstermektedir [139].

HPV aşıları gebelik kategorisi B'dir; gebede kullanımı önerilmez. Ancak gebelik bilinmeden aşı yapılmışsa gebeliği sonlandırmaya gerek yoktur. Gebelik sonrası kalan dozlar uygulanır. Kuadrivalan ve nonavalan aşı mayaya karşı, bivalan aşı latekse karşı aşırı duyarlılık öyküsü olanlarda kontrendikedir [145].

Son verilere göre 141 ülkede HPV aşısı ulusal aşılama programı kapsamında uygulanmaktadır. Ülkemizde ise henüz HPV aşısı ulusal aşılama programında yer almamaktadır [146]. Türkiye'de iki tip HPV aşısı mevcuttur. Bunlar bivalan (Cervarix) ve kuadrivalan (Gardasil) aşılardır. Ülkemizde dokuz valanlı (nonavalan) aşı henüz bulunmamaktadır.

2.1.10. HPV Tanı Yöntemleri

HPV tanısı günümüzde genel olarak doğrudan gözle muayene, sitolojik inceleme ve moleküler yöntemlerle yapılabilmektedir. HPV standart hücre kültürlerinde üretilmez. Serolojik testlerin de tanıda yeri çok kısıtlıdır; tercih edilmez. İmmün yanıtta majör kapsid proteinlerine karşı gelişen antikorlar uzun yıllar saptanabilir. Bu yüzden serolojik testler akut ve geçirilmiş enfeksiyonu ayırt edemez [147]. Enfekte hücrelerde viral kapsid antijenlerinin saptanması, Bovine papillomavirus (BPV)'un geç proteinlerine (HPV'nin geç proteinleriyle çapraz reaksiyon verir) karşı oluşturulan antikorların

kullanılmasıyla olabilmektedir. Ancak yalnızca prodüktif enfeksiyon varlığında mümkündür. Ayrıca HPV tiplerinin ayrımı yapılamadığından HPV enfeksiyonu açısından risk belirlenmesinde duyarlılıkları düşüktür [107, 148].

HPV erken proteinlerinin saptanması ise enfekte hücrelerdeki düşük ekspresyon düzeyi nedeniyle zordur. Bunun için E6 ya da E7 proteinlerine karşı oluşturulan antikorlar kullanılabilir. Fakat immunohistokimyasal yöntemle protein ekstratlarında direkt olarak antikorların görüntülendiği testlerin kullanım alanı in vitro deneylerle sınırlıdır [148]. HPV için kesin tanı yalnızca HPV-DNA'nın doğrudan saptanması ile olabilmektedir. Bu amaçla da moleküler yöntemler kullanılmaktadır [149].

2.1.10.1. Doğrudan Gözle Muayene

Doğrudan gözle muayenede asetik asit veya lugol-iyot çözeltisi kullanılır ve serviksin yeterli ışık altında incelenmesi esastır. HPV'ye bağlı gelişen kanser öncülü veya kanser lezyonlarında asetik asit uygulaması sonrası epitelin beyazlaşması ile "asetowhite" görünümü veya lugol uygulaması sonrası kısmen veya hiç boyanmaması klinik açıdan anlamlı kabul edilir[150].

2.1.10.2. Sitoloji

Mikroskopik olarak HPV enfeksiyonlarının muhtemel tanısı için "koilositoz"un gösterilmesi önemlidir. Tarama amacıyla serviko-vajinal hücrelerde Papanicolau boyası, HPV'ye bağlı sitolojik değişiklikleri saptamak için günümüzde kullanılmaktadır [107]. Kısaca Pap smear olarak isimlendirilen bu yöntemin duyarlılığı düşüktür (duyarlılık %53-55.4, özgüllük %96.3-96.8) [151]. Pap smear dökülen normal hücrelerin ve anormal sitolojik değişikliklerin ortaya çıktığı hücrelerin incelenmesi temeline dayanır. Bu test nükleer atipi, gecikmiş maturasyon, hiperkeratozis, parakeratozis ve yüksek dereceli sitolojik değişiklikleri göstererek serviks kanserinde erken tanı olanağı sağlamaktadır. Ancak bu yöntemin HPV duyarlılığının düşük olması, olası yorumlama ve örnekleme hataları gibi dezavantajları vardır [152]. Pap smear sonucu anormal olan hastalarda, onkojenik potansiyeli açısından HPV

tipinin belirlenmesi gereklidir. Bu amaçla yüksek riskli HPV tiplerinin varlığı araştırılır; düşük riskli tipler taranmaz [153].

Ülkemizde 1992'den itibaren Ulusal Kanser Tarama Programı kapsamında rutin olarak Pap smear ile sitolojik inceleme yapılmaya başlanmıştır. HPV-DNA testi de 2014 yılında tarama programımıza eklenmiştir [154].

2.1.10.3. Moleküler Yöntemler

HPV enfeksiyonunun kesin tanısında viral nükleik asitin saptanması, yani HPV DNA'nın doğrudan tespiti gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan moleküler tanı testleri üç başlıkta incelenebilir [149].

1. Direkt hibridizasyon yöntemleri
2. Sinyal amplifikasyon yöntemleri
3. Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri

2.1.10.3.1. Direkt hibridizasyon yöntemleri

Bu direkt prob yöntemleri; Southern Blot Hibridizasyon (SBH), Dot-Blot Hibridizasyon (DBH), İn-Situ Hibridizasyon (ISH) ve Floresans İn Situ Hibridizasyon (FISH)'dur. Bu testler ilk HPV çalışmalarında kullanılmıştır [155]. Bu yaklaşımlar iyi kalitede bilgi sağlamasına karşın prosedürlerin zaman alması, düşük duyarlılık, saflaştırılmış DNA ihtiyacının fazla olması gibi dezavantajlara sahiptir [156].

SBH testinde ilk olarak işleme alınan DNA'nın izolasyonu ve kesimi gerçekleştirilir. Bu DNA parçaları, uzunluklarına göre agaroz jelde ayrılır ve sonra naylon veya nitrosellüloz membrana aktararak özgül DNA dizilerinin yeri, işaretlenmiş genomik HPV problemleri vasıtasıyla belirlenir. Bu yöntem integre ve epizomal DNA ayrımını yapabilmekte ve hücredeki bir viral kopyayı bile saptayabilmektedir. Bu avantajlarıyla yıllarca altın standart olarak uygulanan bu yöntem, zahmetli ve zaman alıcı olması, çok sayıda numune çalışılmasına uygun olmaması nedeniyle rutinde kullanım için uygun değildir ve çoğunlukla araştırma amaçlı kullanılır. Teorik olarak özgüllüğünün yüksek olmasına karşın duyarlılığı PCR'a göre daha düşüktür [155, 157, 158].

DBH testi, SBH yöntemine göre daha kolay, fakat duyarlılığı düşüktür. Çalışma prensipleri benzerdir; ancak elde edilen DNA elektroforez olmadan destek membrana aktarılır ve burada sabitlendikten sonra özgül diziler belirlenir. Çalışılan DNA miktarının fazla olması gereklidir. Günümüzde iki ticari test (Virarap® ve Viratype®) bulunmaktadır [159].

ISH testi ile HPV'nin enfekte hücredeki lokalizasyonu, virüsün hücrede epizomal halde veya hücre genomuna entegre olarak var olup olmadığı saptanabilir. Ancak zaman alıcı ve pahalı bir prosedürü vardır. Hem servikal smearlerde hem de parafine gömülü doku numunelerinde viral antijenlerin ya da nükleik asitin özgül problemler ile birleşmesi esasına dayanır. Rutin olarak biyotinlenmiş problemler, kromojenik substratlar ile tespit edilebilir. Bu amaçla klinik kullanımda mevcut olan ticari test The Ventana INFORM HPV testidir (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA). Yüksek riskli (HR) HPV'ler (13 HR-HPV genotipi içerir) için kromojenik bir tarama yöntemidir. Floresan problemlerin veya minik nanoprobe'ların kullanılması (Nanoprobes, Yaphank, NY), sinyal amplifikasyonu (Catalyzed reporter deposition veya CARD), ayrıca bu tekniklerin kombine edilmesiyle de duyarlılıkta artışlar sağlanmıştır [160, 155].

2.1.10.3.2. Sinyal Amplifikasyon Yöntemleri

HPV tanısında FDA tarafından onay alan iki test bulunmaktadır. Bunlar; Cervista® HPV HR Test (Hologic, Inc., Marlborough, MA, ABD) ve Hybrid Capture 2 (HC2) (Digene, Gaithersburg, Md.)dir [161]. 2003 yılında FDA'dan Qiagen STM (Standard Transport Media) ve ThinPrep Pap Test PreservCyt Solution (Hologic, Marlborough, ABD) ile beraber kullanılmak üzere onay alan HC2 testidir. Bu test solüsyon fazda hibridizasyona dayalı sinyal amplifikasyon yöntemidir [162]. Bu yöntemle 13 yüksek riskli (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ve 68) ve 5 düşük riskli (6, 11, 42, 43 ve 44) HPV tipi saptanabilmektedir. Spesifik HPV DNA'sı ile komplementer RNA prob karışımları solüsyon içinde hibridize olmaktadır. Bu özel RNA problemleri, yüksek riskli tiplerin prob karışımı ve düşük riskli tiplerin prob karışımı şeklinde hazırlanmaktadır. Oluşan DNA-RNA hibridleri özgül antikorlarla kaplı

mikroplaklara aktarılır ve bu antikorlar tarafından yakalanan hibridler de alkalin fosfataz ilavesiyle konjuge hibrid antikorlarına bağlanır. Daha sonra alkalin fosfataz enzimi ile reaksiyona giren kemiluminesan substrat ilave edilmesiyle ortaya çıkan ışık saptanır. Açığa çıkan ışık işaretli antikorlar yardımıyla tanınır ve luminometre tarafından ölçülmesi amacıyla bir takım reaksiyondan geçerek ölçümler sonucunda viral yük semi-kantitatif olarak tespit edilir. Bu şekilde numunedeki HPV'nin yalnızca yüksek veya düşük risk grubunda olduğu bilgisini verir; fakat spesifik HPV tipi ile ilgili bilgi vermez [159]. Prob karışımı içeriğinde olmayan HPV tipleri 53, 66, 67 ve 73 ile çapraz reaksiyona girmesi de yöntemin önemli bir dezavantajıdır [163].

Cervista® HPV HR Test, FDA'den 2009'da 30 yaş altı kadınlarda servikal sitolojiyle beraber değerlendirme ve ASCUS'lu kadınlarda kolposkopi ihtiyacı olup olmadığının saptanması amacıyla kullanım onayı almıştır. Bu test 14 yüksek riskli HPV tipini (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) saptamaktadır [164]. Bu test HC2 testi ile karşılaştırıldığında duyarlılığının CIN II'lerin saptanmasında %98, CIN III'lerin saptanmasında %100 olduğu gösterilmiştir. Bu testin yanlış pozitif sonuçlarının düşük olduğu, ayrıca HPV 16 ve 18'in tespit edilmesinde özgüllük ve duyarlılığın yüksek olduğu gösterilmiştir [165].

2.1.10.3.3. Nükleik asit amplifikasyon yöntemleri

PCR yöntemi HPV araştırmalarında en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntem ile taze doku ve hücrelerden, parafine gömülü veya formalinle fikse edilmiş dokulardan elde edilen DNA'lar ile çalışılabilir. PCR ile az miktarda numunenin çalışıldığı veya viral yükün çok düşük olduğu durumlarda bile sonuç alınabilmektedir (analitik duyarlılığı yüksek). Viral genomda hedef gen bölgelerinin çoğaltılması temeline dayanan bir yöntemdir [149, 163].

Hedef DNA ilk olarak denatüre edilir ve tek zinciri kalıp olarak kullanılır. *Taq* DNA polimeraz enzimi aracılığıyla, çoğaltmak istenilen gen bölgesine özgül oligonükleotid primerleri kalıp zincire bağlanarak çift zincirli

DNA moleküllerini meydana getirir. Her yeni sentezlenen çift zincirli DNA molekülü bir sonraki siklusta kalıp olarak görev almaktadır [149, 163].

PCR yönteminin duyarlılık ve özgüllüğü; kullanılan DNA polimerazın performansı, kullanılan primerler, ürünün boyutu, reaksiyonun koşulları veya çalışılan HPV DNA'nın tipi gibi faktörlerden etkilenebilmektedir. Ayrıca kontaminasyon sonucu da hatalı pozitif sonuçlar elde edilebilmektedir [163].

Klasik PCR testlerinin başlıca 2 tipi vardır; tipe özgül testler ve konsensus testler. Tipe özgül testte tek bir HPV tipinin amplifikasyonu gerçekleştirilir. Bu PCR tipinde her hasta örneği için birden fazla PCR yapılması gerektiğinden, hem tanı süresi gecikir hem de yüksek maliyetlidir. Buna karşın konsensus PCR testleri tek PCR çalışması sonucunda birçok HPV tipinin tespit edilmesine olanak sağlar. Çok sayıda HPV tiplerinin saptanmasında kullanılan konsensus primer sistemleri çeşitlidir. En çok tercih edilen genel ya da konsensus primerler, HPV genomunda iyi korunan bölge olan L1 gen bölgesini hedefleyenlerdir. Neredeyse tüm mukozal HPV genotipleri bu primerlerle saptanabilmektedir. E1 gen bölgesini hedef alan birkaç genel primer de tariflenmiş, fakat klinik kullanımda yaygınlaşmamıştır [155, 166].

HPV DNA saptanmasında en yaygın kullanılan konsensus primer setleri, L1 gen bölgesini hedef alan; MY09/11 ve modifiye edilmiş şekli PGMY09/MY11, GP5/GP6 ve daha uzun şekli GP5+/GP6+ ve SFP'dir. MY09/MY11 primer seti kullanılarak L1 bölgesinin 450 baz çifti (bç), GP5/GP6 primerleri ile 150 bç ve SFP primerleri ile 65 bç'lik bölgesi hedeflenerek çoğaltılabilir [167].

Bu HPV primerleri ile yapılan konsensus PCR sonucunda HPV pozitif saptanan örneklerde hangi tip veya tiplerin olduğunun tanımlanamaması dezavantajdır. HPV pozitifliği sonrasında özgül HPV tipinin saptanması amacıyla dizi analizi, hibridizasyon, tipe özgül PCR ve RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) gibi testler kullanılabilir. Fakat 40'tan fazla mukozal HPV tipi olduğundan her örnek için çok sayıda tipe özgül PCR veya hibridizasyon testinin uygulanması gerekir. Bu da zaman ve iş gücü kaybı

nedeniyle rutin uygulamada tercih edilmemektedir. Bu sebeple PCR sonrası HPV tiplendirmesi için PCR-ELISA (mikroplakta hibridizasyon) ve Line Probe Assay gibi genotipleme sistemleri geliştirilmiştir [167].

Klasik PCR temelli testler sıklıkla ikinci bir tespit ve tiplendirme tekniği gerektirirler [168]. Fakat günümüzde yaygın olan gerçek zamanlı (real time) PCR teknikleri ile HPV-DNA'nın tespiti, tiplendirme ve kantitatif değerlendirmeler tek basamakta yapılabilmektedir [167, 169]. HPV DNA varlığı klinik örneklerden, konsensus veya tipe özgül primerler kullanılarak yapılan PCR analizleri ile saptanabilir [167]. Real time PCR testlerinde amplifikasyon ürünleri, floresan boyayla işaretli tipe özgül problemlerle ya da *SYBR Green* gibi nonspesifik boyalar yardımıyla gösterilebilir [170].

Bu klasik iki yaklaşım dışında, çok sayıda HPV tipinin enfeksiyon etkeni olarak tespit ediliyor olması HPV'nin tespit ve tiplendirmesini zorlaştırdığından, maliyet ve iş yükünü azaltmak için multipleks testler ve tespit duyarlılığını artırmak için nested PCR testleri gibi farklı PCR temelli yöntemler geliştirilmiştir [171, 172, 173]. Real time PCR testlerinin, sonuç verme süresinin kısalığı, çok düşük miktarlarda nükleik asitleri tespit edebilmesi, tekrarlanabilir olması, kantitatif sonuç alınabilmesi, farklı floresan boya kullanıldığı multipleks testler için de uygun olmaları avantajlarıdır [170].

HPV'nin tespiti genellikle DNA temelli olmasına karşın, spesifik viral RNA'ların varlığı da Nükleik Asit Sekans Bazlı Amplifikasyon (NASBA) testleri veya real time ters transkriptaz PCR (RT-qPCR) ile tespit edilebilir [174]. HPV E6/E7 mRNA seviyelerinin saptanmasının, HPV-DNA'nın, viral yükün tespiti ve insan DNA'sına entegrasyonun saptanmasına göre klinikte daha korele sonuçlar verdiği gösterilmiştir [175].

2.2. MEME KANSERİ

Meme kanseri, meme dokusunda hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasdır. En sık süt kanalları (duktus) ve süt salgılayan hücrelerde (lobüler) meydana gelmektedir [176].

2.2.1.Meme Kanseri Epidemiyolojisi

DSÖ'ye bağılı Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) bünyesindeki Küresel Kanser Gözlemevi'nin Küresel Kanser Yüğü istatistikleri (GLOBOCAN)'ın 2020 yılı verilerine göre tüm dünyada (2.261.419 vaka) ve ülkemizde (24.175 vaka) kadınlarda birinci sırada görülen kanser türü meme kanseridir. Bu verilere göre meme kanseri vakalarının dünyada 684.996'sı ve ülkemizde 7.161'i hayatını kaybetmiştir. Dünya genelinde meme kanseri için yaşa göre standardize edilmiş insidans hızı yüz binde 46.3, mortalite hızı ise yüz binde 13.0 olarak bildirilmiştir. Dünya genelinde ikinci sıklıkta görülen kanser kolorektal kanserler olmakla birlikte, ülkemizde ikinci sırayı tiroid kanseri almaktadır [4]. Meme kanseri, kanser türleri arasında yaşam süresi en iyi olanlardan biridir. Tanı konulduktan sonra 5 yıllık sağ kalım oranları %75 olarak gözlenmiştir [177]. Kıtalar arası meme kanserinin yaşa göre standardize insidans oranları en çoktan aza doğru Kuzey Amerika, Okyanusya, Avrupa, Latin Amerika, Afrika ve Asya'dır [178].

2.2.2. Meme Kanseri Patogenezi

Meme kanseri genellikle hem genetik hem de çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Normal hücrelerde hücresel işlevlerin devamından sorumlu olan ve hücreyi apoptotik aktiviteden koruyan PI3K/AKT ve RAS/MEK/ERK yolları mevcuttur. Bu yolları kodlayan genlerin mutasyonu ile apoptoz mekanizması bozulur ve sonucunda da kanser gelişimi tetiklenir. İn vitro olarak östrojen maruziyetinin bu genlerde mutasyonlara yol açtığı gözlemlenmiştir. Ayrıca büyüme faktörleri ile ilişkili yollardaki problemlerin de malign hücrelerde büyümeyle sonuçlandığı tahmin edilmektedir.

BRCA-1, BRCA-2 ve P53 gibi DNA hatalarını düzeltme görevi olan onarıcı genlerde mutasyon ortaya çıkması sonucunda hücrelerde kontrolsüz çoğalma ve uzak organ metastazları görülebilir. BRCA-1 ve BRCA-2 gen mutasyonları nedeniyle DNA çift zincirinde ve çapraz bağlarda kırılmalar ortaya çıkabilir. GATA-3 (epitel farklılaşması ve östrojen reseptörü ile ilişkili)genindemutasyon ile de epitel diferansiyasyonu bozularak invazyon ve uzak metastazlar görülür. Bu genin kaybı kötü prognoz göstergesidir [179].

Bunların dışında meme kanseri patogeneğinde rol oynadığı düşünülen hormonal faktörler de vardır. Östradiol-alfa, östrojen reseptörlerine yüksek bir afiniteyle bağlanır. Bunun sonucunda DNA sentezi, progesteron hormon reseptör proteini, hücre bölünme ve büyüme faktörleri üretimi başlatılır. Östrojen ve progesteron meme bezlerinin gelişimi için, ayrıca da işlevinde gerekli olmasına karşın bu hücrelerin büyümesinde karsinojen öncülü etkiye sahip olabilir. Bu iki hormon, hücre nükleusundaki reseptörlerle etkileşir. Bu sebeple özellikle östrojen, aktif hale dönüşebilmek için sitotoksik ve genotoksik ürünlere metabolize olur. Meme kanseri için gösterilmiş risk faktörlerinin çoğu östrojen, progesteron ve diğer hormonlara maruziyetin etkileriyle açıklanabilmektedir. Bu etkiler azalmış maruziyet ile koruyucu faktörleri, artmış maruziyet ile de risk faktörlerini oluşturabilir [180]. Ayrıca meme yağ dokusunda hücre proliferasyonunu tetikleme etkisiyle yüksek düzeyde leptin hormonu salgılanmasının da malign dönüşüme yol açtığı düşünülmektedir [181].

Meme kanseri ortaya çıkmadan önce duktus epitelinde yıllarca sürebilen karsinom öncülü bir takım evrelerden geçer. Başlangıçta duktus içinde sınırlı olan kanser hücreleri, bazal membran invazyonu sonrası bağ dokuya ulaşırlar. Buradan kan damarları ve lenfatiklere ulaşır ve metastaz yeteneği kazanırlar [182].

Karsinom oluşum sürecinde normal epitelyum hücreleri çeşitli aşamalar geçirir. Öncelikle normal epitel hücrelerinde atipi oluşur. Bu süreçte önce atipik hiperplazi, sonrasında karsinoma insitu gelişimi olur. Son olarak karsinoma in situnun ilerlemesiyle de invaziv karsinom gelişir. Bu sürecin

nedenleri hala tam anlamıyla netlik kazanmamıştır. Ancak meme kanseri gelişmesinde bir takım risk faktörleri gösterilmiştir [183].

2.2.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanserinin ortaya çıkma nedeni hala tam olarak net değildir. Meme kanseri gelişiminde risk faktörleri; ailevi ve genetik faktörler, demografik özellikler, reproduktif süreç, çevresel etkenler ve diğer etmenler şeklinde kabaca gruplandırılabilir [183]. Bilinen bir risk faktörü ile ilişkili meme kanserinin görülme sıklığı, risk faktörlerinin azalıp artmasına göre değişkenlik gösterebilir [184]. Fakat meme kanserli kadınların %66'sında herhangi bir risk faktörü belirlenememiştir [185].

Bilinen risk faktörleri:

Yaş: Meme kanserinde en önemli bağımsız risk faktörü yaştır. Yaş ilerledikçe meme kanseri gelişme riskinde artış olur. Vakaların büyük kısmını 55 yaş ve üstündeki kadınlar oluşturmaktadır [186].

Cinsiyet: Kadın olmak meme kanseri için en büyük risk faktörüdür. Erkeklerle göre kadınlarda bu risk 100 kat daha yüksektir [187].

Etnik Köken: Meme kanseri beyaz kadınlarda siyahilere göre daha sık ortaya çıkmaktadır. Ancak mortalite siyahi kadınlarda daha yüksektir [183].

Genetik: Meme kanserlerinin %5-10 kadarı genetik geçişlidir. Ailesel meme kanseri ile ilişkili bir takım genler saptanmıştır. Bunlardan en önemlisi BRCA1 ve BRCA2 genleri ve diğer önemlileri de TP53 ve PTEN genleridir. BRCA1 ve BRCA2, DNA onarım genleridir. Bu genlerin mutasyonları meme kanseri riskinde artışın yanı sıra over kanseri riskini de arttırmaktadır [188]. BRCA1 gen mutasyonu, kötü diferansiye ve kötü prognozla ilişkilidir. Çoğunlukla bu mutasyonu taşıyan meme kanserleri erken yaşta ortaya çıkar. BRCA2 gen mutasyonunun erkeklerde meme kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [183].

Aile öyküsü: Ailede meme kanseri öyküsü olması, meme kanseri gelişiminde önemli bir risk faktörüdür. Meme kanserli olguların çoğunda aile öyküsü yoktur; ancak aile öyküsünün olması riski önemli ölçüde artırır.

Birinci dereceden yakın akrabada bir meme kanseri öyküsü olması riski 2 kat arttırırken, iki meme kanseri öyküsü olması riskin 3 kata çıkmasına sebep olur. Meme kanserinin birinci derece akrabalarda erken yaşta görülmüş olması da riskte daha fazla artışa neden olur [183].

Menopoz ve Menarş: Östrojen maruziyetinin artmasının meme kanseri riskinde artış nedeni, maruziyetin azalmasının da koruyucu olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden erken menarş (12 yaş altı) ve geç menopoz (55 yaş üstü) östrojen maruziyetini arttırdığı için meme kanserinde risk artışı nedenlerindendir [189].

Reprodüktif Öykü: Term bir gebelik sonrası meme epitelinde meydana gelen farklılaşmanın, meme kanserine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı olarak hiç doğum yapmamış olmak ve ilk canlı doğumun ileri yaşta yapılması meme kanseri riskinde artış nedenidir. Ancak çok doğum yapmanın koruyucu etkisinin olup olmadığı hala net değildir. İnfertilitenin ve infertilite tedavisinin meme kanseri riskine etkileri ile ilgili veriler hala tartışmalıdır. Laktasyonda menstrüasyonun engellenmesine bağlı siklus sayısında görülen azalma nedeniyle meme kanseri riskinde azalma görülür [188].

Kişisel Meme Kanseri Öyküsü: Meme kanseri olan bir kadının hayat boyu tekrar meme kanserine yakalanma riski %25-30'dur. Meme kanseri geçirmiş bir kişide tedavi sonrası aynı memede ve diğer memede kanser riskinde 3-4 kat artış olmaktadır. Bu, önceki kanserin nüks etmesinden farklı bir durumdur [188, 190, 191]. İn situ veya invaziv meme kanseri geçiren kadınlarda diğer memede invaziv kanser saptanma riski daha yüksektir [192]. Daha önce in situ karsinom tanısı alanlarda her iki memede kanser gelişme riski toplumla kıyaslandığında yaklaşık 10 kat daha yüksektir [193].

Dens Meme Yapısı: Dens meme, memedeki glandüler ve fibröz dokunun çok, yağ dokusunun az olması durumudur. Dens karakterde meme yapısına sahip olmak kanser riskini 1.5-2 kat arttırmaktadır. Ayrıca bu hastalarda mamografide kanserin saptanması zorlaşır [194].

Radyasyon Maruziyeti: Memenin gelişim döneminde (10-14 yaş) radyasyona maruz kalması meme kanseri riskinde artışa neden olmaktadır [183]. Herhangi bir kanser nedeniyle genç yaşta göğüs bölgesine radyasyon tedavisi alan kadınlarda meme kanseri riski ciddi ölçüde artmaktadır [187].

Hormon Replasman Tedavisi (HRT): Kombine HRT'nin menopoz sonrası 2 yıl süreyle bile kullanımı meme kanseri riskini arttırmaktadır. Ayrıca varolan bir kanserin, kombine HRT kullanımı ile evresinin ilerleme ihtimali de artar. Meme kanseri riskini arttırdığı gibi, kansere bağlı mortaliteyi de arttırır. Tedavinin sonlandırılmasından sonraki 5 yıl içinde HRT'ye bağlı meme kanseri riskinde azalma görülür [183, 195].

Oral Kontraseptif Kullanımı: Erken yaşta östrojen içeren oral kontraseptiflerin kullanımı, meme kanseri riskini arttırmaktadır. Oral kontraseptifin bırakılmasıyla risk azalarak 10 yılın sonunda normal popülasyonla eşit olur [183].

Tütün Kullanımı: Meme kanseri ve sigara arasındaki ilişki tartışmalıdır. Çalışmalarda çok farklı sonuçlar ve yetersiz kanıtlar olmakla birlikte, diğer risk faktörleri ile sigara kullanımının birlikteliğinin riski arttırabildiği düşünülmektedir [183].

Alkol Tüketimi: Pek çok çalışma alkolün, kullanım süresi ve miktarı ile orantılı olarak meme kanseri için bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Alkol, östradiolün serumdaki düzeyini arttırmaktadır ve günde 1-2 bardak alkol kullanımının meme kanserinde %30-50 civarında artış sağladığı gösterilmiştir [196].

Beslenme: Beslenme ilişkili faktörler, direkt östrojen seviyesini artışı veya dolaylı şekilde obezite üzerinden bir etkiyle meme kanseri riskini arttırdığı tahmin edilmektedir. Çalışmalar işlenmiş et ürünlerinin, yağlı ve glisemik indeksi yüksek yiyeceklerin meme kanseri riskinde artış nedeni olduğunu göstermektedir [197].

Sosyoekonomik Düzey: Sosyoekonomik düzeyin yüksek olması meme kanseri gelişimi açısından 2 kat risk artışına neden olmaktadır. Bu durum,

beslenme biçimlerindeki farklılık ve reproduktif alışkanlık değişiklikleri gibi nedenlere bağlanabilir [198].

Beden Kitle İndeksi (BKİ): Menopoz sonrası meme kanseri riski, beden kitle indeksi $>30 \text{ kg/m}^2$ olan kadınlarda daha yüksektir [196]. Menopoz sonrası östrojenin esas kaynağı, dehidroepiandrosteron (DHEA)'un adrenal bezden salınarak periferik yağ dokusunda metabolize olmasıdır. Bu nedenle menopoz sonrası fazla yağ dokusuna sahip olmak, meme kanseri riskini arttırabilir. İnsülin düzeylerinin yüksek seyretmesi de, meme kanseri ve diğer kanserlerde risk artışı ile ilişkili bulunmuştur [187]. Meme kanseri ile obezite arasındaki ilişkide yağ dokunun vücuttaki dağılımı, kilo almanın başladığı yaş ve obez olarak geçen süre gibi faktörler önemlidir. Yüksek bel/kalça oranı ve abdominal obezite de riski arttıran faktörlerdir. Bununla birlikte obezite, kadınlarda menopoz öncesinde anovuluar siklusa bağlı olarak meme kanseri riskini azaltabilir [199].

Benign Meme Lezyonları: Benign meme lezyonlarının bazıları meme kanserinde risk artışına neden olmaktadır. Ancak tek bir nonproliferatif meme lezyonu risk artışı yapmaz. Nonproliferatif lezyonun birden fazla olması durumunda hafif düzeyde risk artışı olur. Atipi görülmeyen proliferatif meme lezyonları varlığında, 1.5-2 kat meme kanseri riskinde artış saptanmıştır. Atipi saptanan proliferatif meme lezyonları ise, riskte 4-5 kat artış nedeni olmuştur. Birden fazla bölgede atipi olduğunda ise, risk artışı 10 kata çıkmaktadır [200, 201].

Gece Vardiyası: Gece saatlerinde uyanık olmak melatonin sentezini baskılar. Bu yüzden nöbet tutan veya gece saatlerinde çalışan kadınlarda meme kanseri riskinde artış olduğu tahmin edilmektedir [202].

Sedanter yaşam: Özellikle menopoz sonrası dönemde düzenli egzersizin meme kanserinde riski azalttığı tahmin edilmektedir. Egzersiz vücuttaki toplam yağ dokusunu, endojen steroid mekanizmasını, kandaki androjen ve östrojen düzeyini etkileyerek meme kanseri riskini azaltmaktadır. Bu etki menopoz sonrasında daha belirgin olmaktadır; ancak menopoz öncesi dönemle ilgili yeterli kanıt bulunmamaktadır. Egzersizin, anovuluar

siklusların sayısında artış ile meme kanseri riskinde azalmaya neden olduğu tahmin edilmektedir [183].

Uzun Boy: Birçok çalışmada kısa boylu kadınlara göre uzun boylu kadınların meme kanseri riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bunun nedenleri tartışmalı olmakla birlikte büyüme faktörleri, hormonal ya da genetik faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir [187].

2.2.4. Meme Lezyonları

Benign, premalign ve malign lezyonlar şeklinde meme lezyonları sınıflandırılabilir. Bunun için ortak dil oluşturması bakımından BI-RADS sınıflaması (Breast Imaging Reporting and Data Systems) kullanılmaktadır.

2.2.4.1. Benign Meme Lezyonları

Meme lezyonlarının %90'ı benigndir. Meme ile ilgili değerlendirme yapılırken öncelikle semptomların kanser olup olmadığının ayrımı yapılmalıdır [203].

2.2.4.1.1. Memenin Yapısal Lezyonları

2.2.4.1.1.1. Fibroadenom: Memede en sık görülen benign lezyondur. En sık 20-30 yaş kadınlarda saptanır. Etyolojisi henüz netleşmemiştir; ancak lobüler hücrelerde distorsiyon ve hiperplazi ile ortaya çıktığı tahmin edilmektedir [204].

2.2.4.1.1.2. Fibrokistik Değişiklikler: Genellikle reproduktif dönemdeki kadınlarda görülür. Memede sık görülen lezyonlardandır. 4 komponentten oluşmaktadır; adenozis, kist, duktal ektazi ve fibrozis. Meme kanseri riskini arttırmaz (Atipi ve proliferatif değişiklikler yoksa). Tek başına kist olması riski arttırmasa da, kistlerle beraber aile öyküsünün olması meme kanserinde riski üç kata kadar arttırabilir [205, 183].

2.2.4.1.1.3. Radyal Skar: Merkezde elastozis ve fibrozis, çevresinde lobül ve duktusların ışınsal karakterde perifere doğru sıralanmaları ile karakterize yıldızsı benign meme lezyonlarıdır. Spiküler uzanımları dolayısıyla meme kanseri ile karışabilir; ayırıcı tanı yapılmalıdır [183].

2.2.4.1.1.4. Yağ Nekrozu: Meme yağ dokusunda travma sonucu oluşan benign lezyonlardır. Kalsifikasyon içerebilir. Meme kanseri ile ayrımı yapılmalıdır [183].

2.2.4.1.1.5. Sklerozan Adenozis: Sağlıklı lobüldeki asinüs sayısında artma ile ortaya çıkar. Lobül yapısında değişiklik olmaz. Stromada görülen fibrozis nedeniyle invazif karsinomla karışabilir [206].

Lipom, duktal epitelyal hiperplazi ve hamartom memede görülen diğer yapısal benign lezyonlardır.

2.2.4.1.2. Memenin İnflamatuar Lezyonları

2.2.4.1.2.1. Puerperal Mastit (Laktasyon Mastiti): Memede lobüller arasındaki yumuşak dokunun enflamasyonudur. Çoğunlukla postpartum ilk altı hafta içinde ortaya çıkar. Memede unilateral hassasiyet, ateş, eritem ve ağrı ile kendini gösterir [207].

2.2.4.1.2.2. Granülomatöz Mastit: Nedeni hala aydınlatılamayan, olasılıkla idiopatik kronik inflammatuar bir lezyondur. Reprodüktif dönemdeki kadınlarda daha sık görülür. Bulguları meme kanseri ile karışabilir. Sıklıkla sınırları belli, unilateral, sert bir kitle şeklinde ortaya çıkar [208].

2.2.4.1.2.3. Meme Başı Akıntısı: Meme ile ilgili herhangi bir şikayetle gelen hastaların %4.8’de meme başı akıntısı görülmektedir. Bu hastaların %52’sinde sıkma ile, %48’inde kendiliğinden akıntı olmaktadır [209]. Akıntı kendiliğinden olmuyorsa, klinik açıdan önemli olduğu düşünülmez. Sıklıkla tek taraflı, kendiliğinden olan, tek kanal sisteminden gelen ve kanamalı akıntılar patolojik olarak değerlendirilir [210].

2.2.4.1.2.4. Subareolar Abse: Peri/retroareolar alanda ortaya çıkan benign lezyonlardır. Süt taşıyan duktus hücrelerinin fazlaca yassı epitele dönüşmesi nedeniyle duktusun hücre kalıntılarıyla tıkanması ile kistik dilatasyon, rüptür veya fistülizasyon ortaya çıkabilir. İnflamatuar meme karsinomuna benzer [183].

2.2.4.2. Premalign Meme Lezyonları

2.2.4.2.1.İntraduktal Papillom: Merkezinde fibrovasküler doku olan, etrafı epitelyum hücreleriyle çevrili benign duktus içi tümörlerdir. Genellikle 40-50 yaş arası kadınlarda görülür. Meme lezyonlarının %1-2'si intraduktal papillomlardan oluşur [211].

2.2.4.2.2.Atipik Lobüler Hiperplazi: Lobüllerin genişlemesi ve asinüsün yarısından az bölümününmalign hücreler ile kaplanmasıdır. Lobüler karsinoma in situdan farkı, daha az asinüs tutulumu görülmesidir. Meme kanseri riski bulunmaktadır [212].

2.2.4.2.3.Atipik Duktal Hiperplazi: Morfolojik açıdan düşük gradeli duktal karsinoma in situ'ya benzemektedir. Meme kanseri riski bulunmaktadır [212].

2.2.4.2.4.Duktal Karsinoma İn Situ (DCIS): Meme duktusundaki epitelyal hücrelerden kaynaklanan non-invaziv bir meme kanseridir. Düşük veya yüksek dereceli olmak üzere geniş çaplı lezyonları tanımlar. Klinik belirti verebileceği gibi asemptomatik de olabilir [213].

2.2.4.2.5.Lobüler Karsinoma İn Situ (LCIS): Duktal karsinoma in situ'ya göre daha seyrek karşılaşılr. Bilateral ve çok odaklı olması karakteristiktir. Sıklıkla belirti vermeyen non-invaziv bir meme kanseridir [183].

2.2.4.2.6.Filloides tümörü: Stromal ve fibroepitelyal bileşenleri vardır. Sıklıkla orta yaş ve üstü olan kadınlarda görülür. Kliniğe başvuruda ele gelen hızlı büyüyen bir kitle ile gelirler. Benign, borderline veya malign olabilmektedirler. Meme karsinomları içindeki oranları %0.3-1 civarındadır [214, 215]. Duktal neoplazi, lobüler neoplazi, papiller neoplazi ve papillomatozis diğer premalign meme lezyonlarıdır.

2.2.4.3. Malign Meme Lezyonları

2.2.4.3.1.İnvaziv Lobüler Karsinom: Meme kanserlerinin yaklaşık %7-10'unu oluşturmaktadır. İnvaziv duktal karsinoma göre iki kat daha fazla multisentrik ve bilateral olma eğilimindedir. Mamografide ve klinik olarak bulgu vermeyebilir. Bu nedenle gözden kaçabilir [210].

2.2.4.3.2.İnvaziv Duktal Karsinom: İnvaziv meme karsinomları içinde en sık görülen gruptur. Kanama, kistik dejenerasyon ve nekrotik odaklar içerebilir [216]. Mamografide yapısal dejenere alan veya bir kitle şeklinde görülebilir. Mamografide klasik olarak spiküler kitle görüntüsü saptanır; ancak lobüle ya da düzgün bir kitle şeklinde de görülebilir [205].

Metaplastik karsinom, adenoid kistik karsinom, anjiosarkom, medüller karsinom, tübüler karsinom, papiller karsinom, inflamatuvar meme kanseri, müsinöz karsinom, malign filloides tümör de diğer malign meme lezyonlarıdır.

2.2.5. Meme Kanserinde Klinik

Ele gelen yumru yani memede kitle, meme kanserlerinin %70'inde ilk bulgudur. Bu kitlelerin yarısına yakını memenin üst dış kadranında, daha az olarak da sırasıyla santral, üst iç, alt dış ve alt iç kadranda saptanmaktadır [217]. Memedeki yumru/kitle kist veya solid kitle olabilir. Kistler içi sıvı dolu keselerdir; ağrılıdırlar ve menstrüasyon dönemlerinde büyürler. Daha çok 40'lı yaşlarda saptanmaktadır. Memedeki kitlenin içi farklı bir doku ile dolu ise bu solid kitle olarak adlandırılır. Solid kitle ve kisti ayırmanın en güzel yolu ultrasonografi (USG)'dir. Solid kitlelerin kanser olma ihtimali kistlerden daha yüksektir [218]. Kitleler, genellikle sert, ağrısız, hareketsiz olur ve kişinin kendisi tesadüfen saptar. Kitlenin fibroadenomdan ayrımı ise kitle çevresindeki meme dokusunun da beraber hareket etmesiyle yapılabilir [219].

Meme kanserinde görülebilen diğer semptomlar ise;

- Ağrı
- Memede retraksiyon
- Meme başında akıntı
- Memede şişlik
- Lenf bezlerinde büyüme
- Meme cildinde portakal kabuğu görünümü veya ödem

- Meme başında veya cildinde renk değişikliği, pullanma, kuruluk, kalınlaşma
- Kol üst kısmında şişliktir [191, 219].

Meme kanseri ilerledikçe ve metastazlar görüldükçe bazı geç belirtiler ortaya çıkar. Bunlar iştah ve kilo kaybı, bulantı, kaslarda güçsüzlük, kemiklerde ağrı, dispne, öksürük, çift görme, sarılık, baş ağrısı gibi belirtilerdir [191].

2.2.6. Meme Kanserinde Sınıflama

Kanserde sınıflamada etkili olan histopatolojik farklılıklar prognoz ve tedavinin belirlenmesinde büyük öneme sahiptir.

Meme kanserlerinin önemli bir çoğunluğu adenokarsinomlardan oluşmaktadır. Memenin adenokarsinomları lobüllerden ve terminal duktustan gelişir. Bütün meme kanserlerinin ancak %5'ini diğer meme kanser türleri oluşturmaktadır. Bu adenokarsinom dışı türler; skuamöz hücreli karsinom, lenfoma, filloides tümör ve sarkomadır [220].

Meme kanserleri biyolojik ve histolojik özelliklerine göre invaziv ve in situ karsinom şeklinde iki gruba ayrılırlar. İn situ karsinomda stromaya invazyon olmaz; lobül ve duktuslarla sınırlı kalır. İnvaziv karsinom bazal membranı aşarak stromaya invazyon yapar; dolaşım vasıtasıyla lenf bezlerine yayılım ve uzak metastaz yetenekleri vardır. Meme kanserinin histolojik sınıflandırılmasında en çok DSÖ'nün 2003'te revize ettiği sınıflama sistemi kullanılmaktadır [221].

Tablo 2.3. Meme Karsinomlarında DSÖ'nün Histopatolojik Sınıflaması [222]

İn situ karsinom	İnvaziv karsinom
✓ Duktal karsinoma İn situ ✓ Lobüler karsinoma İn situ	✓ İnvaziv duktal karsinom ✓ İnvaziv lobüler karsinom ✓ Müsinöz karsinom ✓ Tübüler karsinom ✓ Malign filloides tümör ✓ Metaplastik karsinom ✓ Medüller karsinom ✓ İnvaziv kribriform karsinom ✓ Adenoid kistik karsinom ✓ Nöroendokrin karsinom ✓ İnvaziv mikropapiller karsinom ✓ Sekretuar karsinom ✓ Apokrin karsinom ✓ İnflamatuvar karsinom

2.2.6.1. İn Situ Karsinomlar

2.2.6.1.1. Duktal Karsinoma İn Situ

Duktal karsinoma in situ (DCIS), duktus etrafındaki epitel hücrelerinin bazal membranı aşmayacak şekilde malign proliferasyon göstermesiyle oluşur. Tedavi edilmezse 5-30 yıl içinde bazal membranı aşarak invaziv karsinoma ilerler. Meme başında kanlı akıntı, palpable kitle ve memenin paget hastalığı gibi belirtilerle ortaya çıkabileceği gibi asemptomatik de olabilir. Mamografide tespit edilen patolojilerin %20-30'u DCIS'dan oluşmaktadır [223]. DCIS tanısı konulan hastalarda uzun dönem yaşam beklentisi %97'den fazladır. Tedavi cerrahi ve radyoterapi ile yapılmaktadır. Ayrıca fayda göreceği tahmin edilen hastalarda anti hormonal tedavi uygulanabilir [224].

2.2.6.1.2. Lobüler Karsinoma İn Situ

Terminal duktus ve lobüllerdeki aynı görünümdeki hücrelerin çoğalıp genişlemesi ve dejenere olması sonucu oluşur; sıklıkla tesadüfen saptanır.

LCIS %30 her iki memede, %70 multisentrik ve %80 menopoz öncesi kadınlarda görülür; bu özellikleriyle DCIS'dan ayrılır. Mamografide tespit edilemezler. LCIS tanısı alan hastada her iki meme için de kanser riski artmıştır [183].

2.2.6.2. İnvaziv Karsinomlar

2.2.6.2.1. İnvaziv Duktal Karsinom

İnvaziv duktal karsinom (IDC) en sık saptanan invaziv meme karsinomu tipidir. Kitlenin sınırları düzensiz ve serttir. Meme dokusuna uzanan yıldızsı çıkıntılar görülür. IDC hücreleri, invaziv lobüler karsinom hücrelerine kıyasla daha büyük, sitoplazması geniş, nükleolü belirgin ve pleomorfiktirler. Sıklıkla kalsifikasyon içerirler. Lenf ve kan dolaşımına invazyon ile metastaz yapabilirler. IDC'ların %15-30'unda HER-2, %60-70'inde Progesteron Reseptörü (PR), 70-80'inde Östrojen Reseptörü (ER) pozitifdir. Hormon tedavisine yanıt bu reseptörler vasıtasıyla belirlenir [225].

2.2.6.2.2. İnvaziv Lobüler Karsinom

İnvaziv karsinomların %15'ini İnvaziv Lobüler Karsinomlar (ILC) oluşturur. IDC'a göre daha multifokal, multisentrik ve bilateral olma eğilimindedirler. Hormon replasman tedavisi alan kadınlarda daha çok saptanır. Klasik tipe göre kıyaslandığında, pleomorfik ve solid tipleri daha kötü prognozlu, tubulolobüler tip ise daha iyi prognozludur. Sıklıkla ele gelen kitleler oluştururlar. ILC hücrelerinin neden olduğu desmoplastik reaksiyon sebebiyle mamografide saptanabilirler. Desmoplastik reaksiyon oluşturmayan az bir grubu ise memede diffüz olarak yayılıp, klinik bulgu olmadan ileri evrelere kadar ilerlerler [225].

ILC'larda HER-2 pozitifliğinden nadiren görülür. %60-70'i PR, %70-95'i de ER pozitifdir. Çoğunlukla over, uterus, BOS, kemik iliği ve seröz membranlara metastaz yapma eğilimindedirler [226].

2.2.7. Meme Kanseri Tanı

Meme kanseri tanısında öncelikle ayrıntılı anamnez alınmalı ve risk faktörleri sorgulanmalıdır. Kendi kendine ve klinik meme muayenesi

yapılmalıdır. Birçok çalışmaya göre tek başına meme muayenesi vasıtasıyla tanı koyma oranı %44 ile %85 arasında farklılık göstermektedir [227].

2.2.7.1. Görüntüleme yöntemleri

2.2.7.1.1. Mamografi: Meme kanserinde hem tarama hem de tanı hem de tedavi takibi için yaygın kullanılan esas görüntüleme yöntemidir. Meme dokusunda yağ oranının az, parankimin fazla olduğu 30 yaş altında kullanımı sınırlıdır. Mamografi sayesinde meme kanseri kitle küçükken invazyon yapmadan, meme dışına yayılmadan ve palpabl hale gelmeden tespit edilmesini mümkün kılar. Aile öyküsü varsa yıllık mamografi taramalarına daha erken yaşta başlanmalıdır [228].

Mamografide memede tespit edilen lezyonlar ve parankimin değerlendirilmesinde Amerikan Radyoloji Derneği'nin geliştirdiği BIRADS sınıflaması kullanılarak kategorizasyon yapılır.

2.2.7.1.1.1. BIRADS Sınıflaması

BIRADS 0: İlave tetkik gerekli

BIRADS 1: Normal

BIRADS 2: Benign lezyon

BIRADS 3: Büyük olasılıkla benign lezyon (sık aralıklarla takip gerekli)

BIRADS 4: Şüpheli malignite bulguları (biyopsi önerilir)

BIRADS 4a: Düşük malignite şüpheli lezyon

BIRADS 4b: Orta malignite şüpheli lezyon

BIRADS 4c: İleri malignite şüpheli lezyon

BIRADS 5: Yüksek olasılıkla malign lezyon (biyopsi önerilir)

BIRADS 6: Bilinen malign lezyon (biyopsi ile kanıtlanmış) [229]

2.2.7.1.1.2. Ultrasonografi (USG): Gebelik ve emzirme dönemindeki hastalarda, kitle ve ağrı ile başvuran 30 yaş altı kadınlarda, mamografide

saptanan lezyonun kistik/solid ayrımının yapılmasında, kitleye iğne biyopsi yapabilmek için ve mamografide saptanamayan bazı lezyonların görüntülenmesinde tercih edilen bir yöntemdir. Değerlendirmenin kişiden kişiye değişiklik gösterebilmesi ve mikrokalsifikasyonları saptayamaması nedeniyle meme kanseri tanısı için tek başına uygulanmamalıdır. Fakat stroma ve parankimden zengin, dens meme dokusunda mamografi ve USG'nin birlikte kullanılmasının kanser saptama oranını arttırdığı çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur [230].

2.2.7.1.1.3. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG): Yüksek meme kanseri riski olan hastalarda tarama amaçlı, USG ve mamografide belirsiz olan lezyonların incelenmesinde, meme implantlarının incelenmesinde, lokal ileri kanserli hastada cerrahi öncesinde neoadjuvan tedavi cevabının değerlendirilmesinde, meme koruyucu cerrahi (MKC) yapılacak hastalarda multifokal tümörlerin saptanmasında, biyopsi ile kesin tanı almış meme kanserinin bölgesel yayılımının tespitinde kullanılır. Meme kanseri riski yüksek olan kadınlarda mamografiye ilave MRG uygulanmasının duyarlılığı %93–100 civarına çıkardığı gösterilmiştir [231].

2.2.7.2. Biyopsi

Meme kanserinde kesin tanı konulabilmesi için biyopsi gereklidir. BIRADS 4 ve 5 kategorisindeki lezyonlara biyopsi yapılması önerilir.

2.2.7.2.1. İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi: İğne ile toplanan hücreler sitolojik olarak incelenir. Aksiler lenf nodu biyopsisi, kist aspirasyonu, derin yerleşimli ve küçük kitleler için tercih edilir. Hızlı, ucuz ve pratiktir. Hastanın yöntemle toleransı iyidir. Ancak incelenen materyalin azlığından tanının netliği etkilenebilir. İn situ-invaziv kanser ayrımı yapılamayabilir [232].

2.2.7.2.2. Tru-Cut (Cor) Biyopsi: Sitolojik inceleme kesici iğne ile doku materyali alınmasıyla yapılır. İnceleme için elde edilen doku miktarı daha fazla olduğundan histolojik olarak kesin değerlendirme yapılabilmesi, ayrıca in situ-invaziv kanser ayrımının, hormon reseptör analizinin yapılabilmesi ve lezyonun derecelendirilebilmesi yöntemin avantajlarıdır [232, 233].

2.2.7.2.3. Cerrahi Biyopsi: Cerrahi olarak memedeki kitlenin tümünün veya bir kısmının çıkarılmasıdır. Kitlenin tümü çevresindeki sağlam doku ile beraber çıkarılıyorsa eksizyonel biyopsi, kitlenin bir kısmı tanı amaçlı çıkarılıyorsa insizyonel biyopsi adını alır. Palpabl olmayan bir lezyon varlığında ise lezyon tel ile işaretleme yapılarak çıkarılır [229].

2.2.8. Meme Kanseri Tarama

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın önerdiği meme kanseri tarama programında;

- 20 yaşından itibaren kendi kendine meme muayenesi (KKMM) hakkında bilgilendirilmesi ve ayda bir KKMM yapılmasının önerilmesi
- 20 yaşından itibaren yılda bir kez klinik meme muayenesi (KMM) yapılması
- 40-69 yaş arasında iki yılda bir mammografi çekilmesi yer almaktadır.

KKMM ve KMM meme kanserinde farkındalığı artırırken, yalnızca mammografi meme kanserinde mortaliteyi azaltmaktadır.

Ulusal meme kanseri taramaları Kanser Erken Tanı ve Tarama Merkez'leri (KETEM) tarafından yürütülmektedir [234].

2.2.9. Meme Kanseri Tedavi

Meme kanserinin evresi ve özellikleri (HER-2 ve hormon reseptörleri), hastanın yaşı (menopoz durumu), genel durumu, seçilecek tedaviye göre risk ve göreceği faydaya göre en uygun tedavi hekim tarafından değerlendirilerek, tedavi kararı hastayla birlikte alınır. Meme kanserinde primer tedavi cerrahi olmakla birlikte çoğunlukla kemoterapi, radyoterapi ve hormon tedavisi de yapılmaktadır [235].

Pertuzumab, lapatinib ve transtuzumab gibi ajanlarla immünoterapi de tedavi seçenekleri arasındadır [236].

2.2.10. Meme Kanserinde Prognoz

Meme kanserinde çeşitli faktörler prognozun seyrinde etkili olur. Genç yaş meme kanserinde daha agresif seyir, yüksek mortalite ve nüks oranları ile ilişkili bulunmuştur.

Meme kanserinde PR ve ER pozitifliği iyi prognoz, HER-2 ekspresyonu ise kötü prognoz göstergesidir. Ki-67 proteini de proliferasyonu göstermektedir; artması nüks ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur [237].

Çalışmalara göre erken evrelerde saptanıp sistemik tedavi almadan yalnızca lokal ileri tedavi gören meme kanserlilerde 5 yıllık yaşam beklentisi %87'den fazladır. 10 yıllık hastalıksız yaşam beklentisi %70-80, 10 yıl içinde meme kanseri nedeniyle ölüm oranı ise %7-10 olarak gösterilmiştir [238].

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma meme kanseri ön tanılı hastalardan alınan doku örneklerinde Human Papilloma Virüs araştırılması ve bu sayede tartışmalı olan meme kanseri-HPV ilişkisini aydınlatabilmek amacıyla planlandı.

Araştırma protokolü Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu tarafından 16.01.2019 tarihli ve 20478486 sayılı karar ile onaylandı. Proje Manisa Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklendi (proje no: 2019-079).

Çalışmaya dahil edilen kişiler “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” ile bilgilendirilip, imzalı onamları alındı.

3.1. Örneklerin Alınması

Çalışmaya Ocak 2019 – Mart 2022 tarihleri arasında Manisa Celal Bayar Üniversitesi Radyodiagnostik ABD’na başvuran ve meme kanseri şüphesi ile meme dokusundan tru-cut biyopsi yapılması planlanan 200 kadın hasta alındı. Bu hastalardan Patoloji için alınan materyale ek olarak, çalışma için ayrı bir biyopsi materyali toplandı. Her bir hasta taze doku örneği, içlerinde koruyucu solüsyon bulunan eppendorflar içine konuldu. Kitlelerin histopatolojik sonuçları hastane bilgi sisteminden takip edilerek not edildi.

3.2. Örneklerin Saklanması

İçlerinde koruyucu solüsyon bulunan eppendorflar içine konulan milimetrik boyuttaki taze meme biyopsi materyalleri, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında -80 derecelik dolaplarda çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü +4°C’ye alınarak örnekler çözündürüldü ve çalışmaya hazır hale getirildi.

3.3. Örneklerin Çalışılması

3.3.1. DNA Ekstraksiyonu

DNA izolasyonu High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics GmbH, Almanya) kullanılarak, ekstraksiyon basamakları ve gerekli çözeltilerin hazırlanması üretici firma talimatlarına göre yapıldı.

3.3.1.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

- Saf etanol
- Saf izopropanol
- 13.000 x g kapasiteli standart masaüstü mikrosantrifüj
- Mikrosantrifüj tüpleri (1.5 ml, steril)
- Doku Lysis Buffer
- Binding Buffer
- Inhibitor Removal Buffer
- Proteinaz K
- Wash Buffer
- Elution Buffer
- High Pure Filtre Tüpleri
- Toplama tüpleri

3.3.1.2. Solüsyonların Hazırlanması

- Proteinaz K
Proteinaz K 4.5 ml çift distile su içinde çözüldü.
- Inhibitor Removal Buffer
İnhibitör removal buffera 20 ml saf etanol eklendi.
- Wash Buffer
Wash buffera 80 ml saf etanol eklendi.

Diğer solüsyonlar kitin içinde kullanıma hazır durumdaydı.

3.3.1.3. Ekstraksiyon Basamakları

3.3.1.3.1. Numune Lizisi ve DNA Bağlanması Protokolü (Memeli solid dokusu için)

- Isı bloğu 55°C'ye ayarlandı.
- 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpü içerisinde yaklaşık 25-50 mg'lık doku parçaları ile birlikte bulunan tampon solüsyonları uzaklaştırılarak, mikrosantrifüj tüpleri içerisinde sadece doku parçaları kalacak şekilde hazırlandı.
- Üzerine 200 µl Doku Lizis Buffer ve 40 µl yapılandırılmış Proteinaz K ilave edildi.
- Elde edilen karışım vorteksenerek önceden 55°C'ye ayarlanmış olan ısı bloğunda 1 saat veya doku tamamen sindirilene kadar inkübe edildi.
- Örnekler ısı bloğundan alınarak ısı bloğu 70°C'ye ayarlandı.
- Isı bloğundan alınan örneklerin üzerine 200 µl Binding Buffer ilave edildi ve vorteksenerek 70°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- Tekrar ısı bloğundan alınan örneklerin üzerine 100 µl izopropanol ilave edilip vortekslendi.
- Daha sonra çözünmeyen doku partiküllerini ortamdan uzaklaştırmak için numunenin bir kısmı 1 ml'lik tek kullanımlık pipet ucuna çekildi ve pipet atıldı.
- Örnek sayısı kadar toplama tüpü spora dizildi.
- High Pure Filtre Tüpleri, toplama tüplerine yerleştirildi ve numaralandırıldı.
- Sıvı numunenin geri kalanı Filtre Tüpünün üst tampon haznesine pipetlendi.
- High Pure Filtre Tüpü düzeneğinin tamamı standart masaüstü santrifüjüne yerleştirilerek 1 dakika boyunca 8000×g'de santrifüjlendi.

3.3.1.3.2. Yıkama ve Elüsyon (Ayrıştırma) Protokolü

- Isı bloğu 70°C'ye ayarlandı ve Elution Buffer (200 µl x örnek sayısı kadar) ependorf tüplerine konularak son aşamada kullanılmak üzere önceden 70°C'ye ısıtıldı.

- Bu sırada yeni boş toplama tüpleri spora dizildi.
- Santrifüjden sonra Filtre Tüpleri altındaki toplama tüpünden ayrılarak, süzülen sıvı ile birlikte toplama tüpleri atıldı.
- Filtre Tüpleri, yeni boş toplama tüplerine yerleştirildi.
- Filtre Tüpünün üst haznesine 500 µl Inhibitor Removal Buffer eklenerek 1 dakika boyunca 8000×g'de santrifüjlendi.
- Tekrar yeni boş toplama tüpleri spora dizildi.
- Filtre Tüpleri altındaki toplama tüpünden ayrılarak süzülen sıvı ile birlikte toplama tüpü atıldı ve Filtre Tüpü yeni boş toplama tüpüne yerleştirildi.
- Filtre Tüpünün üst haznesine 500 µl Wash Buffer eklenerek 1 dakika boyunca 8000×g'de santrifüjlendi.
- Tekrar yeni boş toplama tüpleri spora dizildi.
- Filtre Tüpleri altındaki toplama tüpünden ayrılarak süzülen sıvı ile birlikte toplama tüpü atıldı ve Filtre Tüpü yeni boş toplama tüpüne yerleştirildi.
- Filtre Tüpünün üst haznesine tekrar 500 µl Wash Buffer eklenerek 1 dakika boyunca 8000×g'de santrifüjlendi.
- Süzülen sıvı atıldıktan sonra kalan Wash Bufferı ortamdan uzaklaştırmak için tüm High Pure düzeneği 10 saniye boyunca tam hızda santrifüjlendi ve toplama tüpü atıldı.
- DNA elüsyonu için, Filtre Tüpü steril 1,5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
- Filtre Tüpünün üst haznesine 200 µl -önceden 70 °C'ye ısıtılmış- Elution Buffer ilave edilerek 1 dakika boyunca 8000×g'de santrifüjlendi.
- Bu şekilde mikrosantrifüj tüpü içinde ayrıştırılmış DNA elde edildi.
- Ayrıştırılan DNA +4°C'de saklandı ve kısa süre içinde çalışıldı.

3.3.2. Amplifikasyon ve Deteksiyon

DNA izolasyonu yapılan örnekten amplifikasyon ve HPV 16, HPV 18 ve diğer 12 yüksek riskli HPV tipinin (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve

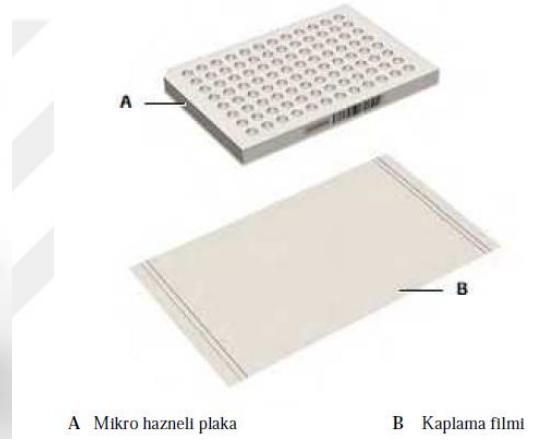
68) tespiti, Cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit ve Controls Kit (Roche Diagnostics GmbH, Germany) kullanılarak, Cobas® z 480 analizöründe real time PCR yöntemiyle üretici firmanın talimatlarına göre yapıldı.

Bu test ile HPV DNA'nın L1 gen bölgesi içindeki yaklaşık 200 nükleotidlik bir dizi amplifiye edilmektedir. İnternal kontrolü olarak insan β -globin geni (330 bp) kullanılmaktadır.

Cobas® z 480 analizör, real time PCR yöntemini kullanarak çoğaltılmış nükleik asitlerin saptanması için floresan sinyallerini kullanır.



Şekil 3.1. Cobas z 480 analizör



Şekil 3.2. Mikro hazneli plaka

Kullanılan mikro hazneli plaka 96 kuyucuk içermektedir. Çalışma başına toplam 94 hasta örneği, 1 pozitif kontrol ve 1 negatif kontrol yüklenebilir.

3.3.2.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

- Cobas® 4800 System AD (mikro kuyucuk) Plate 0.3 mL ve Plate Kapatma Filmi
- Cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit 240 Tests Cobas® 4800 HPV Controls Kit 10 Sets
- Cobas® z 480 analizörü
- Tek kullanımlık pudrasız eldivenler
- 100 μ l'lik pipet ve filtreli pipet uçları

3.3.2.2. PCR Basamakları

- Her örnek için aşağıda gösterildiği gibi master mix karışımı hazırlandı. (Örneğin: 10 hasta örneği çalışılacak bir runda 10 hasta+2 kontrol=12 kuyucuk için 12x20 µl= 240 µl MMX, 12x5 µl= 60 µl Mg/Mn olmak üzere toplam 300 µl master mix karışımı)

Tablo 3.1. Her bir örnek başına gerekli master mix karışımı miktarları

Master Mix karışımı	MMX (Master Mix)	Mg/Mn solüsyonu
25 µl	20 µl	5 µl

- Hazırlanan master mix karışımından her kuyucuğa 25 µl koyuldu.
- Üzerlerine her hasta için ekstrakte edilmiş örnekten 25 µl koyuldu ve pipetle karıştırıldı.
- Bu şekilde her kuyucukta toplam 50 µl'lik reaksiyon volümü elde edildi.
- Her runda mikro hazneli plakanın 2 kuyucuğunda pozitif ve negatif kontrol aynı şekilde çalışıldı.
- Mikro hazneli plakanın üzeri buharlaşmayı önlemek için kaplama filmi ile kaplandı.
- Cobas z 480 analizör üzerindeki yükleme düğmesine basılarak kaplanmış mikro hazneli plaka açık yükleyiciye yerleştirildi.
- Yükleme düğmesine bir kez daha basılarak yükleyici kapatıldı ve LightCycler 480 Software'inde aktifleşen "Start Run" butonuna tıklanarak çalışma başlatıldı.

PCR siklusu aşağıdaki şekilde uygulandı:

1 siklus:

50 °C'de 30 saniye
93 °C'de 10 dakika

50 siklus:

93 °C'de 25 saniye
56 °C'de 30 saniye

1 siklus:

40 °C'de 30 saniye

37 °C'de 10 saniye

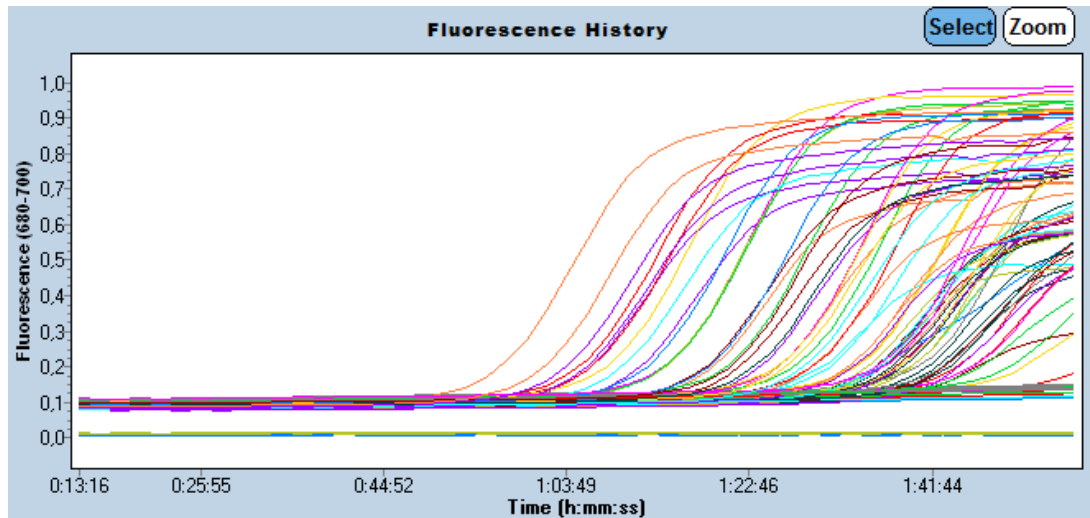
3.3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Sonuçlar üretici firmanın önerilerine göre kalitatif olarak değerlendirildi. Sistemde HPV 16, HPV 18, diğer 12 yüksek riskli HPV tipi (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68) ve internal kontrol amacıyla β -globin geni için dört farklı kanal üzerinden saptama yapılmaktadır. Bu kanallar için kullanılan boyalar ve hedefleri aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Tablo 3.2. HPV genotiplerinin boyalara göre değerlendirilmesi

Kanallar	Boyalar	Hedef
1	FAM	Diğer 12 yüksek riskli HPV
2	HEX	HPV 16
3	JA270	HPV 18
4	Cy5.5	β -globin

- Pozitif ve negatif kontroller her runda kriterlerine uygun çalıştı.
- Çalışılan 200 hastanın 175'inin internal kontrolleri kriterlere uygun çalıştı.



Şekil 3.3. Çalışılan örneklerin internal kontrol grafiği

- İnternal kontrolleri çalışmayan 25 örnek dilüsyon yapılarak tekrar çalışıldı (Elution Buffer ile 1/5 oranında dilüsyon yapıldı).
- Dilüsyonlu çalışılan örneklerden 4'ünün internal kontrolü çalıştı.
- 21 hastanın örneğinde internal kontrol yine çalışmadı.

3.4. Verilerin Analizi

Çalışma sonucunda elde edilen veriler SPSS 22.0 Paket Programı kullanılarak analiz edildi. Veriler tanımlayıcı istatistikler ile (ortalama, $\pm$ standart sapma, ortanca, minimum-maksimum, sayı, yüzde) özetlendi. İstatistiksel analizler için Student's T testi, Fisher's Exact Test, Mann Whitney U ve Kruskal Wallis testleri kullanıldı. Tüm analizlerde kritik p değeri <0.05 olarak kabul edildi.

IV. BULGULAR

Çalışma süresince toplam 200 hastanın meme kitlelerinden tru-cut biyopsi ile alınan doku örnekleri toplandı. Alınan tüm örnekler kadın hastalara aitti (%100). Bu hastaların patoloji raporları incelenerek meme lezyonlarının histopatolojik tipleri ve malignite durumları kaydedildi. Toplanan 200 meme dokusu örneğinden real time PCR yöntemiyle yüksek riskli HPV DNA tipleri araştırıldı.

21 hastanın meme dokusu örneklerinde internal kontrolleri çalışmadı; yani β -globin varlığı açısından yeterli DNA bulunmadığından bu hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya dahil edilen 179 hasta 14-86 yaşları arasında olup, yaş ortalaması 49.92 ± 14.68 olarak saptandı (Tablo 4.1). Hastaların 3 (%1.7)'ü 20 yaş altı, 9 (%5)'u 20-29 yaş, 36 (%20.1)'si 30-39 yaş, 44 (%24.6)'ü 40-49 yaş, 41 (%22.9)'i 50-59 yaş, 28 (%15.6)'i 60-69 yaş arası ve 18 (%10)'i 70 yaş ve üzerinde idi.

Tablo 4.1. Hastaların yaş ortalaması

	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma($\pm$)
Yaş (yıl)	14	86	49.92	14.68

Çalışmaya alınan 179 hastanın 63 (%35.2)'ünde benign, 116 (%64.8)'sında ise malign histopatolojik sonuç saptandı. Benign lezyonlara sahip hastaların yaş ortalaması 39.73 ± 12.031 iken, malign lezyonlara sahip olan hastaların yaş ortalaması 55.45 ± 12.955 olarak bulundu (Tablo 4.3.). Malign lezyonları olan hastaların yaş ortalamasının, benign lezyonları olan hastaların yaş ortalamasından yüksek olduğu saptandı ve bu fark istatistiksel

olarak anlamlı bulundu. (Student's T testi $p<0,001$) Yani yaş arttıkça malignite riskinde de artış olduğu görüldü.

Tablo 4.2. Malignite durumuna göre hasta sayı ve yüzdeleri

	Sayı (N)	Yüzde (%)
Benign	63	35.2
Malign	116	64.8
Total	179	100

Tablo 4.3. Meme lezyonlarında yaş ve malignite ilişkisi

		Ortalama (yıl)	Std. Sapma(±)	p*
Yaş	Benign	39.73	12.031	<0.001
	Malign	55.45	12.955	

* Student's T testi

Hastaların meme lezyon tiplerine göre dağılımı ve malignite durumlarının değerlendirmesi Tablo 4.4'te gösterilmiştir. En çok saptanan meme lezyonu tüm lezyonların 97 (%54.2)'sini oluşturan invaziv duktal karsinomdu. Benign meme lezyonları içinde en çok saptanan ise 36 (%20.1) hasta ile fibroadenomdu.

Tablo 4.4. Meme lezyonlarının malignite açısından ve tiplerine göre dağılımı

		Sayı (N)	Yüzde (%)
MALİGN	İnvaziv duktal karsinom	97	54.2
	İnvaziv lobüler karsinom	6	3.4
	İnvaziv papiller karsinom	1	0.6
	Duktal karsinoma in situ	4	2.2
	Malign filloides tümörü	1	0.6
	Malign melanom metastazı	1	0.6
	Medüller karsinom	1	0,6
	Müsinöz karsinom	3	1.7
	Non-invaziv papiller karsinom	1	0.6
	Pleomorfik karsinom	1	0.6
BENİGN	Fibroadenom	36	20.1
	Granülomatöz mastit	13	7.3
	İntraduktal papillom	5	2.8
	Sklerozan adenozis	5	2.8
	Benign filloides tümörü	2	1.1
	Yangısal alanlar	2	1.1
	Total	179	100

Toplam 179 meme dokusu örneğinin yalnızca 2 (%1.11)'sinde HPV DNA pozitifliği saptandı. Geri kalan 177 örnek HPV DNA açısından negatif bulundu. Meme kanserli örneklerde 1 (%0.86), benign meme lezyonlu örneklerde de 1 (%1.58) HPV DNA pozitifliği saptandı. Meme kanseri ile HPV DNA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Fisher's Exact Test p=1.000). Pozitif bulunan 2 örnekten biri HPV 16 (malign grupta), diğeri ise HPV 16 ve 18 dışı diğerk yüksek riskli bir HPV (benign grupta) tipi idi. HPV 16 ve 18 dışı diğerk 12 yüksek riskli HPV tipi (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68) havuzlanarak bakıldığından bu örnekte spesifik tip belirlenemedi.

Tablo 4.5. Malign ve benign lezyonlar ile HPV DNA ilişkisi

	HPV DNA pozitif	HPV DNA negatif	p*
Malign	1 (%0.86)	115 (%99.1)	1.000
Benign	1 (%1.58)	62 (%98.4)	

*Fisher's Exact Test

Meme dokusunda HPV DNA pozitif bulunan kadınların yaş ortalamaları 55 ± 5.657 olarak saptandı. Meme dokusunda HPV 16 pozitif olan hastanın yaşı 59, diğerk yüksek riskli HPV pozitif olan hastanın yaşı ise 51'di. 50 yaş altındaki tüm hastaların meme dokusunda HPV DNA negatif olarak saptandı. Ancak hastaların yaşı ile HPV DNA pozitifliği arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmadı (Mann Whitney U Testi p=0.497). Yine saptanan HPV tipleri ile de hastaların yaşı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (Kruskal Wallis Testi p=0.719).

Tablo 4.6. Meme HPV DNA pozitiflik sayı ve yüzdeleri

Meme HPV DNA	Sayı (N)	Yüzde (%)
Negatif	177	98.9
Pozitif	2	1.1
Total	179	100

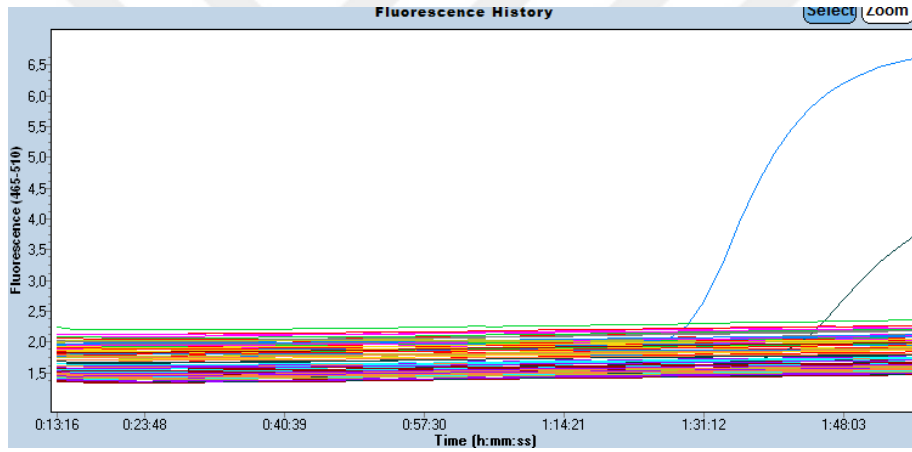
Tablo 4.7. HPV DNA pozitifliğinin meme lezyonu tanı yaşına göre analizi

Meme HPV DNA		Ortanca (min-max)	Ortalama $\pm$ std sapma	p*
Yaş	Negatif	48 (14-86)	49.86 $\pm$ 14.747	0.497
	Pozitif	55 (51-59)	55 $\pm$ 5.657	

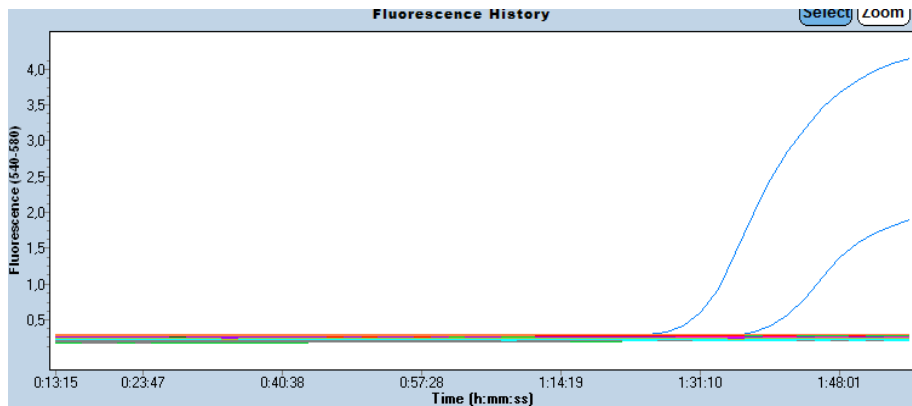
*Mann Whitney U Testi

Şekil 4.1. A ve B’de farklı runlarda HPV DNA pozitif saptanan örneklerin ve o çalışmadaki pozitif kontrolün amplifikasyon eğrileri görülmektedir. İki şekilde de ilk eğriler pozitif kontrole, ikinci eğriler ise pozitif çıkan hastaya aittir.

(A)



(B)



Şekil 4.1 A-B HPV DNA pozitif saptanan örneklerin amplifikasyon eğrileri

Tablo 4.8. Memede saptanan HPV tiplerinin sayı ve yüzdeleri

Meme HPV tip	Sayı (N)	Yüzde (%)
HPV 16	1	0.55
HPV 18	0	0
Diğer Yüksek Riskli HPV	1	0.55
Negatif	177	98.9
Total	179	100

Tablo 4.9. Meme dokusunda pozitif bulunan HPV tiplerinin yaşa göre analizi

Meme HPV Tip		Ortanca (min-max)	p*
Yaş	HPV 16	59	0.719
	Diğer Yüksek Riskli HPV	51	
	Negatif	48 (14-86)	

* Kruskal Wallis Testi

HPV 16 pozitif olan hastanın meme lezyonu patolojik incelemesi invaziv papiller karsinom (malign), diğer yüksek riskli HPV pozitif olan hastanın ise granüloamatöz mastit (benign) olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.10). Sayıların azlığı ve bazı değerlerin sıfır olmasından dolayı saptanan HPV DNA tipleri ile meme lezyonlarının arasında istatistiksel analiz yapılamadı.

Tablo 4.10. Meme lezyonlarının tiplerine göre saptanan HPV tiplerinin dağılımı

		HPV 16	HPV 18	Diğer Yüksek Riskli HPV
Malign	İnvaziv papiller karsinom	1(%0.55)	0	0
Benign	Granüloamatöz mastit	0	0	1(%0.55)

Meme lezyon tipleri tek tek ele alındığında hasta grubu sayısı fazla olduğundan yaşa göre istatistiksel analiz yapılamamaktadır. Bu yüzden malign olanlardan hasta sayısı en fazla olan invaziv duktal karsinom bir grup, geri kalan malign lezyonlar ise beraber ayrı bir grup yapılmıştır. Benign olanlardan da hasta sayısı en fazla olan fibroadenom bir grup, geri kalan benign lezyonlar ise beraber ayrı bir grup yapılmıştır. İnvaziv duktal karsinom

tanılı hastalar 30-86 yaş (ortalama 55.14 ± 12.824) arasında olup, diğer malign lezyon tanısı olan hastalar 39-84 yaş (ortalama 57 ± 13.86) arasındadır. Fibroadenom tanılı hastalar 14-71 yaş (ortalama 39.44 ± 12.079) arasında olup, diğer benign lezyon tanısı olan hastalar 21-68 yaş (ortalama 44.5 ± 12.186) arasındadır. İnvaziv duktal karsinom ile malign diğer grup arasında yaşa göre anlamlı bir fark bulunmamıştır. Aynı şekilde fibroadenom ile benign diğer grup arasında da yaşa göre anlamlı bir fark yoktur. Ancak invaziv duktal karsinom, fibroadenomla veya benign diğer grup ile karşılaştırıldığında yaşların ortanca değeri daha yüksek bulunmuştur; bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Aynı şekilde malign diğer grup, fibroadenomla veya benign diğer grup ile karşılaştırıldığında yaşların ortanca değeri daha yüksek bulunmuştur ve bu farkın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Kruskall Wallis Testi $p < 0.001$).

Tablo 4.11. Hasta gruplarının sayı ve yüzdeleri

	Sayı (N)	Yüzde (%)
İnvaziv Duktal Karsinom	97	54.1
Malign Diğer	19	10.6
Fibroadenom	36	20.1
Benign Diğer	27	15

Tablo 4.12. Hasta gruplarının yaşa göre analizi

		Ortalama $\pm$ Std. Sapma	Ortanca (min-max)	p*
Yaş	İnvaziv Duktal Karsinom (A)	55.14 ± 12.824	55 (30-86)	<0.001 A=B>C=D
	Malign Diğer (B)	57 ± 13.86	58 (39-84)	
	Fibroadenom(C)	39.44 ± 12.079	40 (14-71)	
	Benign Diğer (D)	40.11 ± 12.186	36 (21-68)	

*Kruskall Wallis Testi kullanılmıştır. Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır.

Hastalardan yalnızca 37 (%20.7)'sinin Pap smear testi sonuçlarına ulaşılabilmektedir. Bunların hepsi "Benign Sitoloji" olarak değerlendirilmiştir. Pap

smear sonuçlarına ulaşamayan hastaların 7(%3.9)'si vefat etmiştir. Pap smear sonuçlarına ulaşılabilen hastaların tamamının meme dokularında HPV DNA negatif olarak saptanmıştır. Sayıların yetersizliği ve bazı değerlerin sıfır olmasından dolayı istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Servikal HPV PCR sonucuna ulaşılabilen 13 (%7.3) hasta vardı. Bunlardan 8 (%61.5)'i negatif bulunmuş, 4 (%30.7)'ünde yüksek riskli HPV ve 1 (%7.7)'inde düşük riskli HPV (HPV 6) tespit edilmiştir. Bu hastaların hepsinin meme dokularında HPV DNA negatif olarak saptanmıştır.



V. TARTIŞMA

Kanser, dünyada ve ülkemizde görülen ölüm nedenleri arasında ikinci sıradadır. Küresel olarak giderek artmakta olan, önemli sosyal ve ekonomik kayıplara neden olan zorlu kronik bir hastalıktır [239]. Dünya genelinde kanserden hayatını kaybeden kişilerin sayısı 2020 yılında 9.958 milyondur. Bu sayının 2040 yılı için 16.2 milyon olacağı tahmin edilmektedir. Tüm dünyada ve ülkemizde kadınlarda en sık görülen kanser türü meme kanseridir [4, 240].

Meme kanserlerinin %90-95'i sporadiktir, yalnızca %5-10'u aile öyküsü olan kadınlarda ortaya çıkar [12]. Bu yüzden meme kanseri etyolojisinde çevresel etmenler ön plana çıkmaktadır [13].

Kanser gelişiminde rol oynayan pek çok etmen olmakla birlikte bazı virüsler de onkogeneze katkıda bulunmaktadır. İnsanlarda onkojenik etkili virüsler; Epstein–Barr virus (EBV), hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), human T-lymphotropic virus-1 (HTLV-1), Kaposi sarcoma herpesvirus/ Human herpesvirus 8 (KSHV/HHV8), Merkel cell polyomavirus (MCV) ve human papillomavirus (HPV)'dir [241].

Bazı virüslerin ise meme kanseri gelişiminde rolü olabileceği düşünülmektedir; ancak bu düşüncüyü destekleyen çalışmalar olsa da henüz kesin kanıt yoktur. İnsan meme kanserinde onkojenik potansiyeli olabileceği düşünülen virüsler; fare meme tümörü virüsü (MMTV), sığır lösemi virüsü (BLV), human papillomavirüs (HPV) ve Epstein-Barr virüsüdür (EBV) [14]. Bu konu ile ilgili Tayvan'da meme kanseri ile altı farklı virüsün ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada, HHV-8 ve EBV meme kanseri ile ilişkili bulunmuş, ancak HPV ile meme kanseri arasında bir korelasyon gösterilememiştir [242]. 2021 yılında İran'da yapılan çalışma ise meme kanseri etyolojisinde HPV ve

HSV-1'in rolü olduğunu düşündürmektedir [243]. Yine Gupta ve ark.'larının 2022 yılındaki çalışması HPV, EBV ve MMTV benzeri virüslerin meme kanseri ile ilişkisi olduğunu göstermektedir [244]. HPV'nin meme kanseri ile ilişkili olabileceği düşüncesi, HPV 16 ve 18 genom ürünleri ile insan meme epitelyal hücrelerinin ölümsüzleşmesinin indüklenmesi sonucunda ortaya çıkmıştır [15].

Literatüre bakıldığında meme kanseri ile HPV ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Bu çalışmalar incelendiğinde kabaca üç farklı sonuca vardıkları anlaşılmaktadır. Çalışmalardan bazıları HPV'nin meme kanseri ile ilişkisini desteklerken, bazılarında hiç HPV DNA varlığı gösterilememiş ve bir kısmında da düşük bir HPV DNA pozitifliği saptansa da meme kanseri ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır.

Meme kanserlerinde %29.4'lük HPV DNA pozitifliği saptayarak meme kanseri ile HPV arasındaki ilişkiyi ilk gösteren Di Lonardo ve ark.ları olmuştur [245]. Tayvan'da Atique ve ark.'ları 807.578 HPV DNA pozitif hastayı retrospektif olarak incelemiş ve HPV negatif popülasyona göre meme kanseri insidansının daha yüksek olduğunu raporlamıştır [246].

ABD, Türkiye, Katar, Suriye ve İspanya'da yapılan çalışmalarda meme kanserlerinde sırasıyla %86.2, %74, %64.8, %61.06 ve %51.8 oranlarında çok yüksek HPV prevalansları bildirilmiştir [247, 248, 244, 249, 250].

Buna karşın İran, Çin, Yunanistan, Japonya ve Brezilya'da yapılan, sırasıyla %11.8, %14.8, %15.9, %21 ve %24.7 gibi daha düşük HPV prevalansları bildirilen çalışmalar da meme kanseri ile HPV arasındaki ilişkiyi desteklemektedir [243, 251, 252, 253, 254].

Meme kanseri ile HPV arasındaki ilişkiyi destekleyen çalışmalarda en sık HPV 16 saptandığı bildirilmektedir [255, 250, 256, 252, 257]. Avustralya ve İran'da yapılan çalışmalarda en sık HPV 18 tespit edilmiştir [258, 259, 243]. Bir başka çalışmada Akil ve ark.ları Suriyeli kadınlarda meme kanserinde en sık saptanan tiplerin HPV 33 ve 35 olduğunu, Salman ve ark.ları ise İngiltere'de en yaygın tipin HPV 39 olduğunu bildirmektedirler [249, 260].

Çin'den bildirilen bir çalışmada HPV 33, Fas'ta ise HPV 11 en sık tespit edilen tip olmuştur [261, 262].

Hindistan'dan bir derlemede, HPV'nin meme kanseri gelişiminde önemli bir etyolojik risk faktörü olduğu, ayrıca HPV ilişkili meme kanserinin, diğer HPV ile ilişkili kanserlerden farklı moleküler profile sahip olduğu bildirilmektedir [263].

Bizim çalışmamızda olduğu gibi birçok çalışmada ise HPV DNA varlığı saptanmasına rağmen HPV ve meme kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bunlar Meksika, Danimarka, Tayvan, Kore, Peru, İran, Çin, Avustralya, Katar ve Sudan'da yapılan, %1.6 ile %21.4 arasında değişen HPV prevalansları bildiren çalışmalardır [264, 265, 242, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272].

Antonsson ve ark.ları kanserli örneklerde %50, kontrol örneklerinde %25 gibi yüksek bir prevalans bildirmelerine rağmen bu farkın meme kanseri ve HPV ilişkisi için anlamlı olmadığını belirtmişlerdir [273].

Bununla birlikte meme kanserli dokularda hiç HPV DNA tespit edilmeyen çalışmalar da bulunmaktadır. Yunanistan, Türkiye, ABD, İngiltere, Avusturya, İsviçre, Çin, Fransa, Meksika, Brezilya ve Hindistan'da örnek sayısı 20 ile 228 arasında değişen, PCR yönteminin kullanıldığı çalışmalarda meme kanseri dokularında hiç HPV DNA varlığına rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışmaların hepsi meme kanseri etyolojisinde HPV'nin bir rolü olmadığını ileri sürmektedir [274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286].

Yine Usman ve ark.'larının 2022 yılında, literatürdeki meme kanseri ve HPV'yi ilişkilendiren çalışmaları inceledikleri ve Bradford Hill kriterlerini kullanarak yaptıkları bir meta-analiz sonucunda HPV ve meme kanseri arasında nedensel bir ilişki bulunamamıştır [287].

Konu ile ilgili Türkiye'de yapılan çalışmalara baktığımızda Gümüş ve ark.ları 2006 yılında 50 meme kanserli hastadan aldığı tümöral ve normal meme dokularından PCR yöntemiyle HPV varlığını araştırmışlardır. Meme

tümör dokularının 37 (%74)'sinde, normal meme dokularının ise 16 (%32)'sında HPV DNA'yı pozitif bulmuşlardır. En sık saptanan tipler iki grupta da HPV 33'tür. Bu çalışmada HPV, meme kanseri ile ilişkili bulunmuştur [248].

Balcı ve ark.larının 2019 yılında, meme başı akıntısı olan 27 intraduktal papillom ve 18 meme kanseri hastasından alınan örnekler üzerinde yaptığı çalışmalarında ise, kanserli dokularda 8 (%44.4), papillom dokularında 8 (%29.6) örnekte HPV DNA pozitifliği saptanmış ve bu fark anlamlı bulunmuştur. Her iki grupta en sık HPV 11 tespit edilmiştir. Bu çalışmada patolojik meme başı akıntısıyla başvuran bazı olgularda HPV'nin meme papillom ve karsinom gelişiminden sorumlu bir etken olabileceği bildirilmektedir [288]. Bizim çalışmamızda kullandığımız kit ile yalnızca yüksek riskli HPV'ler arandığı için, düşük riskli HPV tipleri gözden kaçırılmış olabilir. Bunlardan farklı olarak Yavuzer ve ark.'ları, 84 invaziv meme kanserli hastanın meme dokusu ve kontrol grubu olarak 49 invaziv servikal kanser ve CIN'lı hastanın servikal örneklerinden nested PCR yöntemiyle HPV varlığını araştırmışlardır. Servikal örneklerde %69.4 oranında HPV DNA pozitifliği saptanırken, meme kanserli dokularda hiç HPV DNA varlığı tespit edilememiştir [275].

Önceki çalışmalardan bazıları servikal HPV enfeksiyonu ve neoplazisi olan vakaların, virüsün memeye taşınmasında kaynak olabileceği ve benzer bir HPV genotipiyle meme dokusunda HPV enfeksiyonu görülmesi ve kanser geliştirme ihtimallerinin daha yüksek olduğunu göstermişlerdir [289, 290, 291].

Mareti ve ark.larının yaptığı bir meta-analizde, serviks kanseri veya CIN öyküsü olan meme kanserli hastalarda HPV'nin 8 kat daha sık tespit edildiği gösterilmiştir [292]. Buna karşın Lv ve ark.ları memede saptanan HPV enfeksiyonunun kaynağının serviks olmadığını ileri sürmüşlerdir [293]. Bizim çalışmamızda ise hastaların yalnızca 37 (%20.7)'sinin Pap smear testi sonuçlarına ulaşılabilmektedir ve bunların hepsi "benign sitoloji" olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca 13 (%7.3) hastanın servikal HPV sonucuna

ulaşılabilmiştir. Bunların da yalnızca 4 (%30.7)'ü yüksek riskli HPV pozitif olarak bulunmuştur. Bu yüzden meme dokusu ve serviks arasında HPV açısından ilişki değerlendirilememiştir.

Bazı çalışmalar HPV enfeksiyonunun meme dokusuna bulaş yolunu da açıklamaya çalışmıştır. Ana enfeksiyon bölgesinden hematogen yolla transferi destekleyen çalışmalar olduğu gibi [294] virüsün eksternal yolla meme ucuna bulaşını, oradan da süt kanallarıyla meme dokusuna transferini destekleyen çalışmalar [247] da bulunmaktadır. Ayrıca bir çalışma da genital-meme veya oral ilişki gibi cinsel aktivite ile meme başı veya meme cildinde yaralanmalarla bulaş olabileceği üzerinde durmuştur [263]. Ancak bu konudaki tartışmalar hala devam etmektedir.

Yıllar içinde bu konuda birçok çalışma yapılmasına rağmen meme kanseri ile HPV arasındaki ilişki hala tartışmalıdır. Çalışmalar meme kanserinde HPV prevalansının dünya çapında %1.6-86.2 arasında değiştiğini göstermektedir [295].

Bizim çalışmamızda 179 örneğin 116 (%64,8)'sı malign, 63 (%35,2)'ü benign meme lezyonlarından oluşmaktadır. Meme kanserli örneklerde 1 (%0.86), benign meme lezyonlu örneklerde de 1 (%1.58) HPV DNA pozitifliği saptanmıştır. Meme kanseri ve HPV enfeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p=1.000$). Meme kanserlerinde saptadığımız %0.86'lık bu prevalansın ise önceki benzer çalışmalarda bildirilen prevalans aralığının altında kaldığı görülmektedir. Bu düşük prevalans; bulunduğumuz coğrafi bölgedeki demografik özelliklere, genetik altyapıya, cinsel davranışlara, sosyokültürel ve hijyen alışkanlıklarına, örneklerdeki viral yükün düşük olma ihtimaline ve yalnızca yüksek riskli HPV tiplerini araştırmamıza bağlanabilir.

Çalışmalardaki farklı oranların diğer olası nedenleri HPV'nin coğrafi prevalans farklılıkları, kullanılan yöntemlerdeki ve çalışmaya alınan örnek sayılarındaki farklar ve kontaminasyon olabilir. Meme kanseri dokusunda yüksek HPV prevalansı bildiren önceki çalışmalardan bazılarında kontaminasyon kontrolünün kullanıldığı bildirilmemiştir [297]. Bu da yüksek HPV prevalansının kısmen de olsa kontaminasyona bağlı olabileceğini

düşündürmektedir. Çalışmamızda tespit edilen HPV tiplerinin birbirinden farklı olması (HPV 16 ve diğer yüksek riskli HPV) ve pozitif sonuçların farklı PCR çalışmaları sırasında saptanması bulgularımız için oluşabilecek herhangi bir kontaminasyon hipotezine karşı güçlü kanıtlardır.

Ayrıca çalışmaların çoğu sadece meme kanserlerinde HPV prevalansını bildirmektedir. Ancak benign meme lezyonlarından alınan doku örneklerinde de HPV prevalansı bildirilerek sonuçlar desteklenmelidir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi birkaç çalışma da meme kanserindeki HPV prevalansını, benign meme lezyonlarından aldıkları kontrol örnekleriyle karşılaştırmışlardır [297, 298, 288, 307, 299, 273, 300, 301, 250]. İngiltere, Avustralya, Çin ve Türkiye’de yapılan çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da benign meme lezyonlarında yüksek riskli HPV tiplerinin saptanması, meme kanseri gibi benign meme lezyonlarında da HPV varlığının ve ilişkisinin anlaşılabilmesi için daha fazla ve daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir [270, 301, 300, 251, 288].

Ayrıca Li ve ark.ları hazırladıkları meta-analizde parafin blok doku örneklerinden ekstraksiyon yapılan çalışmalarda, taze örneklerle göre daha yüksek HPV DNA prevalansı görüldüğünü bildirmişlerdir [296]. Bizim çalışmamızda taze dondurulmuş örneklerden ekstraksiyon yapıldığı için, düşük pozitiflik oranımız buna bağlı olabilir.

Çalışmamızda malign histopatolojik tanıya sahip olan hastaların yaş ortalamaları, benign tanısı olanlardan daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Yaş arttıkça malignite riskinin arttığı hipotezini destekleyen bu bulgumuz, benzer sonuçlar bulan bazı önceki çalışmalarla uyumludur [269, 250]. Ayrıca çalışmamızda HPV pozitif ve HPV negatif meme lezyonları arasında tanı yaşı açısından herhangi bir fark bulunamamıştır. Benzer sonuçlar Norveç, Brezilya ve Japonya’da yapılan çalışmalarda da bildirilmektedir [254, 289, 253].

Çalışmamızda meme kanserli örneklerde HPV pozitif olarak saptadığımız tek örnek invaziv papiller karsinom olup, bu örnekte HPV 16 tespit edilmiştir. Benzer şekilde Choi ve ark.ları Koreli kadınlar üzerinde yaptıkları

alışmalarında papiller karsinomlarda HPV DNA varlığını göstermişlerdir [266]. Ayrıca Calderon ve ark.larının Peru'da %2.9'luk HPV prevalansı bildirdiği çalışmalarında kanser vakalarından 6'sı (%1.3) invaziv papiller karsinom olup, bunlardan sadece birinde HPV 16 pozitif olarak saptanmıştır [267]. Ancak ne bizim çalışmamızda ne de bu iki çalışmada HPV ile meme karsinomu arasında doğrudan bir ilişki gösterilememiştir.

Benign meme lezyonlarından oluşan kontrol grubumuzda saptadığımız bir pozitif örneğın patolojik tanısı granüloamatöz mastit olup, diğerk yüksek riskli HPV grubu olarak tiplendirilmiştir. Literatürde daha önce granüloamatöz mastitte yüksek riskli HPV varlığını gösteren bir çalışma bulunmamakta olup, çalışmamız bu veriyi bildiren ilk çalışma olma özelliğindedir.

Tablo 5.1. Meme Kanseri ile HPV ilişkisini destekleyen çalışmalar

Çalışma	Ülke	Örnek	Vaka Sayısı	Kontrol Sayısı	Vaka HPV(+) Oranı	Kontrol HPV(+) Oranı
Di Lonardo ve ark.(1992) [245]	İtalya	Parafin Blok	17	-	% 29.4	-
Henning ve ark.(1999) [289]	Norveç	Parafin Blok	41	-	% 46.3	-
Yu ve ark.(1999) [303]	Çin	Parafin Blok	72	-	% 26.3	-
Yu ve ark.(2000) [261]	Çin	Parafin Blok	32	-	% 43.8	-
Liu ve ark.(2001) [304]	Çin	Parafin Blok	17	-	% 35.2	-
Damin ve ark.(2004) [254]	Brezilya	Parafin Blok	101	41	% 24.75	% 0
De Villiers ve ark.(2004) [247]	A.B.D	Parafin Blok	29	29	% 86.2	% 68.9
Windschwendter ve ark.(2004) [294]	Avusturya	Parafin Blok	22	-	% 36.3	-
Kan ve ark.(2005) [258]	Avustralya	Taze doku	50	-	% 48	-
Kroupis ve ark.(2006) [252]	Yunanistan	Taze doku	107	-	% 15.9	-
Gümüş ve ark.(2006) [248]	Türkiye	Taze doku	50	50	% 74	% 32
Khan ve ark.(2008) [253]	Japonya	Parafin Blok	124	-	% 21	-
Akil ve ark. (2008) [249]	Suriye	Parafin Blok	113	-	% 61.06	-
Heng ve ark.(2009) [259]	Avustralya	Parafin Blok	26	17	% 30.7	% 17.6
De Leon ve ark.(2009) [256]	Meksika	Parafin Blok	51	43	% 29.4	% 0
Suarez ve ark.(2013) [305]	Arjantin	Taze doku	61	-	% 26.2	-
Herrera-Goepfert ve ark.(2013) [255]	Meksika	Parafin Blok	20	-	% 40	-
Fu ve ark.(2015) [251]	Çin	Parafin Blok	169	83	% 14.8	% 1.2
Salman ve ark.(2017) [260]	İngiltere	Taze doku	74	36	% 47.2	% 30.5
Delgado- Garcia ve ark.(2017) [250]	İspanya	Parafin Blok	251	186	% 51.8	% 26.3
Khodabandehlou ve ark.(2019) [306]	İran	Taze doku	72	31	% 48.6	% 16.1
Balcı ve ark.(2019) [288]	Türkiye	Parafin Blok	18	27	% 44.4	% 29.6
Charostad j. ve ark.(2021) [257]	İran	Taze doku	36	36	% 33.3	% 5.5
Mofrad ve ark.(2021) [243]	İran	Parafin Blok	59	11	% 11.8	% 0
Gupta ve ark.(2022) [244]	Katar	Parafin Blok	74	14	% 64.8	% 0

Tablo 5.2. HPV-DNA saptanmasına rağmen meme kanseri ile ilişkisi tespit edilmeyen çalışmalar

Çalışma	Ülke	Örnek	Vaka Sayısı	Kontrol Sayısı	Vaka HPV(+) Oranı	Kontrol HPV(+) Oranı
Tsai ve ark.(2004) [242]	Tayvan	Taze doku	62	60	% 12.9	% 3.3
Choi ve ark.(2007) [266]	Kore	Parafin blok	123	31	% 6.5	% 0
Mendizabal-Ruiz ve ark.(2008) [264]	Meksika	Parafin blok	67	40	% 4.47	% 0
Antonsson ve ark.(2011) [273]	Avustralya	Taze doku	54	4	% 50	% 25
Liang ve ark.(2013) [307]	Çin	Taze doku	224	37	% 21.4	% 16.2
Li ve ark.(2015) [269]	Çin	Parafin blok	187	92	% 1.6	% 0
Gannon ve ark.(2015) [270]	Avustralya	Taze doku	80	10	% 16	% 10
Karimi ve ark.(2016) [268]	İran	Parafin blok	70	70	% 2.86	% 0
ElAmrani ve ark.(2018) [262]	Fas	Taze doku	76	12	% 25	% 8.3
Ghaffari ve ark.(2018) [302]	İran	Parafin blok	72	-	% 5.55	-
Afshar ve ark.(2018) [308]	İran	Parafin blok	98	40	% 8.2	% 0
Sher ve ark.(2020) [272]	Katar	Taze doku	50	100	% 10	% 8
Elagali ve ark.(2021) [271]	Sudan	Parafin blok	150	-	% 8.66	-
Calderon ve ark.(2022) [267]	Peru	Taze doku	447	79	% 2.9	% 1.26

Tablo 5.3. Meme Kanserlerinde HPV-DNA saptanmayan çalışmalar

Çalışma	Ülke	Örnek	Vaka Sayısı	Kontrol Sayısı	Vaka HPV(+) Oranı	Kontrol HPV(+) Oranı
Bratthauer ve ark.(1992) [276]	A.B.D	Parafin blok	28	15	% 0	% 0
Wrede ve ark.(1992) [277]	İngiltere	Parafin blok	80	-	% 0	-
Czerwenka ve ark.(1996) [278]	Avusturya	Parafin blok	20	-	% 0	-
Gopalkrishna ve ark.(1996) [281]	Hindistan	Taze doku	26	4	% 0	% 0
Lindel ve ark.(2007) [279]	İsviçre	Parafin blok	81	-	% 0	-
De Cremoux ve ark.(2007) [280]	Fransa	Parafin blok	50	-	% 0	-
Yavuzer ve ark.(2010) [275]	Türkiye	Parafin blok	84	49	% 0	% 0
Silva ve ark.(2010) [285]	Brezilya	Parafin blok	118	-	% 0	-
Hedau ve ark.(2011) [282]	Hindistan	Taze doku	228	-	% 0	-
Chang ve ark.(2011) [283]	Çin	Taze doku	48	30	% 0	% 0
Herrera-Romano ve ark.(2012) [284]	Meksika	Parafin blok	118	-	% 0	-
Zhou ve ark.(2015) [286]	Çin	Parafin blok	77	77	% 0	% 0
Kouloura ve ark.(2018) [274]	Yunanistan	Taze doku	201	-	% 0	-

VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda meme kanseri ile HPV arasında bir ilişki saptanmamıştır. İki örnekte HPV DNA pozitifliği saptanmış olup, biri malign, diğeri de benign histopatolojiye sahiptir. Malign örneğin histopatolojik sonucu invaziv papiller karsinom iken, benign örneğin histopatolojik sonucu granülomatöz mastit olarak tespit edilmiştir. Malign histopatolojiye sahip olan hastaların yaşları, benign histopatolojiye sahip olan hastalardan anlamlı olarak daha yüksektir. Bu da yaş arttıkça malignite riskinin arttığını açıkça göstermektedir. Buna karşın HPV pozitif ve HPV negatif meme lezyonları arasında tanı yaşı açısından herhangi bir fark bulunamamıştır. Ayrıca literatürde daha önce granülomatöz mastitte yüksek riskli HPV varlığını gösteren bir çalışma bulunmamakta olup, çalışmamız bu veriyi bildiren ilk çalışma olma özelliğindedir.

Çalışmamızda, birçok benzer çalışma gibi meme kanseri ile HPV arasında anlamlı bir ilişki saptanamamış olsa da, meme kanserinde HPV için yüksek prevalans bildiren çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda HPV'den primer korunma yollarının (cinsel ilişki yaşının olabildiğince ileri olması, cinsel partner sayısının az hatta tek olması ve sigaradan uzak durulması vb.) ve özellikle aşı çalışmalarının önemini vurgulamak gereklidir.

HPV'nin meme kanseri için bir risk faktörü olup olmadığı hala tartışmalı bir konudur. Türkiye'de ve dünyada HPV'nin meme kanseri gelişimi ve progresyonuna katkısı olup olmadığını netleştirmek için daha ileri epidemiyolojik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte bu çalışmaların, benign meme lezyonlarında HPV ilişkisini bildiren araştırmalarla da daha fazla desteklenmesi gerekir.

VII. ÖZET

MEME KANSERİ ÖN TANILI HASTALARDA HUMAN PAPİLLOMA VİRUS ARAŞTIRILMASI

Meme kanseri tüm dünyada ve ülkemizde kadınlarda kanser kaynaklı ölümlerin en sık nedenidir. HPV serviks kanseri başta olmak üzere birçok kanser türünün etyolojisinde suçlanmaktadır. Çalışmalar meme kanserinde HPV prevalansının dünya çapında %1.6-86.2 arasında değiştiğini göstermektedir. Bu çalışmada malign ve benign meme lezyonları olan hastaların meme biyopsi örneklerinde HPV varlığını araştırmak ve HPV ile meme kanseri arasında bir ilişki olup olmadığını ortaya koymak amaçlanmıştır.

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyodiagnostik AD'nda tru-cut biyopsi ile alınan 116 meme kanseri ve 63 benign meme lezyonu taze doku örneği HPV DNA saptanması, ayrıca HPV 16, 18 ve diğer 12 tip yüksek riskli HPV için havuz olarak tiplendirilmesi amacıyla real time PCR ile araştırılmıştır.

116 meme kanseri dokusunun birinde (%0.86) HPV pozitif olarak saptanırken, benign lezyonlardan oluşan 63 kontrol örneğinin de birinde (%1.58) HPV pozitif olarak tespit edilmiştir ve aradaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=1.000$). Kanserli meme dokunun histopatolojik sonucu invaziv papiller karsinom olup, HPV 16 tespit edilirken, benign örneğin histopatolojik sonucu granümatöz mastit olarak tespit edilmiş ve diğer yüksek riskli HPV olarak belirlenmiştir. Meme kanseri olan hastaların yaş ortalamaları daha yüksek olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$).

Çalışmamızda HPV ile meme kanseri arasında bir ilişki saptanmadı. Yaş arttıkça kanser riskinin arttığı tespit edildi. Ayrıca, literatürde daha önce granümatöz mastitte yüksek riskli HPV varlığını gösteren bir çalışma bulunmamakta olup, çalışmamız bu veriyi bildiren ilk çalışma olma özelliğindedir. Günümüzde meme kanseri etyolojisinde HPV'nin rolünün olup olmadığı hala tartışmalıdır. HPV'nin meme kanseri gelişimi ve progresyonuna katkısı olup olmadığını netleştirmek için daha ileri epidemiyolojik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, bu çalışmaların benign meme lezyonlarında HPV ilişkisini inceleyen araştırmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: HPV, meme kanseri, PCR, etyoloji

VIII. İNGİLİZCE ÖZET

INVESTIGATION OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS IN PATIENTS WITH PREDIAGNOSIS OF BREAST CANCER

Breast cancer is the most common cause of cancer-related death in women all over the world and in our country. HPV has been implicated in the etiology of many cancer types, and primarily of cervical cancer. Studies show that the prevalence of HPV in breast cancer varies between 1.6-86.2% around the world. This study aimed to investigate the presence of HPV in breast biopsy samples of patients with malignant and benign breast lesions and to assess whether there is a relationship between HPV and breast cancer.

Using real time PCR, we investigated 116 breast cancer and 63 benign breast lesion fresh tissue samples taken by tru-cut biopsy in the Radiodiagnostics Department of Manisa Celal Bayar University Faculty of Medicine, in order to detect the existence of HPV DNA and to type HPV 16, 18 and other 12 types of high-risk HPVs as a pool.

While a positive HPV result was detected in one (0.86%) of 116 breast cancer tissues, the HPV result was positive in one (1.58%) of 63 control samples consisting of benign lesions; this difference was not statistically significant ($p=1.000$). The histopathological result of cancerous breast tissue was detected as invasive papillary carcinoma with the presence of HPV 16, while the histopathological result of the benign sample was determined as granulomatous mastitis and other high-risk HPV. The mean age of patients with breast cancer was significantly higher ($p<0.001$).

In this study, we found no relationship between HPV and breast cancer. We found that the risk of cancer increases with age. In addition, there is no previous study in the literature showing the presence of high-risk HPV in granulomatous mastitis, and our study is the first to report this data. Today, the role of HPV in the etiology of breast cancer is still controversial. Further epidemiological and experimental studies are needed to clarify whether HPV contributes to breast cancer development and progression. Furthermore, these studies should be supported by studies examining the role of HPV in benign breast lesions.

Key words: HPV, breast cancer, PCR, etiology

IX.EKLER

EK 1: Meme Tru-Cut Biyopsisi için Aydınlatılmış Bilgilendirme ve Onam Formu



EK 1: Meme Tru-Cut Biyopsisi için Aydınlatılmış Bilgilendirme ve Onam Formu

T.C.

MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL

B İLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU



ÇALIŞMANIN ADI: Meme kanseri şüphesi ile alınan örnekte İnsan Siğil Virüsü'nün araştırılması

Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Eğer isterseniz, bu çalışmaya katılımınızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Çalışma amacıyla yapılan normal muayeneniz sırasında istenilen tetkikleriniz dışındaki tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyicisi tarafından karşılanacak; size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI :

İnsan Siğil Virüsü'nün başta genital bölgede olmak üzere kansere yol açtığı bilinmektedir. Bu çalışma ile memedeki ya da kötü huylu kitlelerden iğne ile alınan örneklerde, İnsan Siğil Virüsü araştırılarak, meme kanserine sebep olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

1.Celal Bayar Üniversitesi Radyoloji Bölümü'nde, bilgilendirildiğiniz ve izin verdiğiniz, iğne ile memeden örnek alma işlemi yapılacaktır.

2. Patoloji Bölümü'ne gönderilmek üzere alınan örneklerle ek olarak alınan örnek, Celal Bayar Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında çalışılacaktır.

3. İğne ile memeden alınan ek örnek, milimetrik büyüklükte olup, işleme ek olarak, memede çökme, ağrı, rahatsızlık hissi gibi yeni bir risk oluşturmamaktadır.

4. Örnekten virüs çalışılması, patoloji raporunda eksik ya da yanlış sonuca neden olmayacaktır.

ÇALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Bu çalışma ile İnsan Siğil Virüsü'nün meme kanserine sebep olup olmadığı belirlenerek kanser sebeplerinden en azından biri ile mücadele etme şansı doğacak olup bundan sonraki çalışmalara da ışık tutacaktır.

GÖNÜLLÜYE UYGULANACAK İŞLEMLERİN OLASI ZARARLARI NELERDİR?

Uygulanacak olan işlemin, iğne ile örnek alımı işleminin belirtilen mevcut riskleri dışında herhangi bir zararı yoktur.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

Bu çalışmada, meme doku örneğinizde insan siğil virüsü olup olmadığı, patoloji sonuçlarınız, yaş ve cinsiyet gibi bilgileriniz kullanılacaktır. Kimlik bilgileriniz hukuki ve adli durumlar dışında kullanılmayacaktır.

SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER :

1. Prof.Dr.Sinem AKÇALI (05055252279)
2. Arş.Gör.Dr. Gizem GÖZAÇAN ERYILMAZ (05062301939)

Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıdaki bilgileri doktorumla ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorum ve bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

<i>Gönüllü Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Veli / Vasinin Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Tanık¹ Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Araştırmacı² Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

1:Gönüllünün bilgilendirilme işlemine başından sonuna dek tanıklık eden kişi

2:Gönüllüyü araştırma hakkında bilgilendiren kişi

X. KAYNAKLAR

1. Patterson BK. *İnsan Papillomavirüsleri*. Kısım 6 Bölüm 106. İç: Klinik Mikrobiyoloji 9th ed, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA eds, Başustaoğlu A (çevr ed). Atlas Kitapçılık, Ankara; 2009: s.1601-1611.
2. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Papilloma ve polyomavirüsler*. Bölüm 6 İç: Tıbbi Mikrobiyoloji 6. Baskı, Eds. Başustaoğlu AC. Çeviri ed. Ankara: Atlas Kitapçılık 2010: s 499-507.
3. Fernandes JV, Araújo JMG, Fernandes TAAM. Biology and natural history of human papillomavirus infection. *Open Access J Clin Trials*, 2013; 5:1-12.
4. G. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide For 36 Cancers In 185 Countries. <https://www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data> Erişim tarihi: 05.04.2022.
5. Nunes EM, Sudenga SL, Gheit T, Tommasino M, Baggio ML, Ferreira, S, et al. HIM Study group. Diversity of beta-papillomavirus at anogenital and oral anatomic sites of men: The HIM Study. *Virology*, 2016;495, 33-41.
6. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M, Franceschi S. Global burden of humanpapillomavirus and related diseases. *Vaccine*, 2012; 30.
7. Borruto, F. andDe Ridder, M. *HPV and cervical cancer: Achievements in prevention and future prospects*. Springer Science & Business Media. 2012: 7-25.
8. Ustaçelebi ŞM, Abacioğlu H, Badur SM. *Klinik ve Tanısal Viroloji*. Ankara; Güneş Kitabevi 2004: 246-7.
9. Giuliani L, Favalli C, Syrjanen K, Ciotti M. Human papillomavirus infections inlung cancer detection of E6 and E7 transcripts and review of the literature M. *Anticancer Res*. 2007 July-Aug;27(4C):2697-704

10. Syrjänen K. Mechanisms and predictors of high-risk human papillomavirus(HPV) clearance in the uterine cervix. *Eur J Gynaecol Oncol* 2007; 28: 337-351.
11. Sellors JW. Anogenital Human Papillomavirus Infections, Canadian Family Physician. 1994; 40:93-101.
12. Palacios J, Robles-Frias MJ, Castilla MA. et al., The molecular pathology of hereditary breast cancer. *Pathobiology* 75 (2008) 85–94.
13. F. Aguayo, N. Khan, C. Koriyama, et al., Human papillomavirus and Epstein-Barr virus infections in breast cancer from Chile, *Infect. Agent Cancer* 6 (1) (2011) 7.
14. Lawson JS, Salmons B, and Glenn WK. Oncogenic Viruses and Breast Cancer: Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV), Bovine Leukemia Virus (BLV), Human Papilloma Virus (HPV), and Epstein-Barr Virus (EBV). *Frontiers in oncology*, 2018: 8, 1. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00001>
15. Band V, Zajchowski D, Kulesa V and Sager R. Human papillomavirus DNA immortalize normal human mammary epithelial cells and reduce their growth factor requirements. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 463–7
16. Blanco R, Carrillo-Beltrán D, Muñoz J, Corvalán A, Calaf G, and Aguayo F. Human Papillomavirus in Breast Carcinogenesis: A Passenger, a Cofactor, or a Causal Agent?. *Biology*, 2021;10(8), 804.
17. Howley PM, and Lowy DR. *Papillomaviruses Fields Virology*. Gç: Papillomaviruses, Knipe DM, Howley PM eds. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia. 2007: s 2231-2264.
18. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*, 2009;384(2):260–265.
19. Löning M, Gissmann Lutz, Diedrich K, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *Dtsch Arztebl* 2007; 104(41): 2806-2810.
20. Syrjänen S, and Syrjänen K. The history of papillomavirus research. *Cent Eur J Public Health*, 2008; 16:7-41.
21. Kalland KH, Ke XS, and Øyan AM. Tumour virology – history, status and future challenges. *APMIS*, 2009;117(5-6):382-399.

22. zur Hausen HQ&A: On the case. Interview by Michelle Grayson. *Nature*, 2012;488(7413):16.
23. Badur S. Human papillomavirüs: virolojik ve immünolojik özellikleri. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*. 2012; 17(1): 1-8.
24. Lowy DR. *History of Papillomavirus Research*. Chapter 2 In: The Papillomaviruses, Garcea RL, DiMaio D eds. Springer Science Business Media, LLC, 2007; s: 13-28.
25. Zur Hausen H. *Historical Review*. Chapter 1 In: Infections Causing Human Cancer. Wiley-VCH. Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim, 2006.
26. Echenique I, and Phillips BR. Anal warts and anal intradermal neoplasia. *Clin Colon and Rectal Surg*, 2011; 24(1):31-38.
27. Zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. *Virology*. 2009; 384: 260-265.
28. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, and Kitchener HC. Humanpapillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2013; 382(9895): 889–99.
29. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7(7): 453–9.
30. Palefsky JM, Hirsch MS, and Bloom A. *Human papillomavirus infections: epidemiology and disease associations*. Waltham: UpToDate, 2018; 1-8.
31. Moscicki AB. HPV vaccines: today and in the future. *J Adolesc Health*, 2008;43(4):26-40.
32. Yılmaz N. *Kliniğimizde Servikal Kanser Tarama Programında HPV sıklığı, Tipleri, Kolposkopi ve Biyopsi Sonuçlarının Değerlendirilmesi*: Binali Yıldırım Üniversitesi 2020.
33. Aydoğdu SGM ve Özsoy Ü. Serviks kanseri ve HPV. *Androl Bul*. 2018;20:25-9.
34. Agarwal SS, Sehgal A, Sardana S, et al. Role of male behavior in cervical carcinogenesis among women with one lifetime sexual partner. *Cancer* 1993; 72:1666.

35. Diseases associated with human papillomavirus infection Heather A. Cubie
HPV Research Group, University of Edinburgh MRC Centre for Reproductive Health, The Queen's Medical Research Institute, 47 Little France Crescent, Edinburgh EH16 4TJ, Scotland, UK.
36. Köse MF, Turan T, ve Naki MM. Human papillomavirüs ile ilişkili hastalıklar. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*. 2012; 17(1): 22-33.
37. United States Cancer Statistics No.2 CS290182-A DATA BRIEF March 2018
Cancers associated with human papillomavirus by state, 2010-2014.
<https://www.cdc.gov/cancer/hpv/statistics/index.htm> Erişim tarihi: Mart 2018.
38. Koyuncu E. *Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine Başvuran Hastaların Servikal Sitolojilerinin Servikal Kanseri Risk Faktörlerine Göre Analizi-normal ve anormal sitolojik sonuçlarda yüksek onkogenik riskli HPV prevalansı*. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006; 14-8.
39. Tota JE, Chevarie-Davis M, Richardson LA, DeVries M, and Franco EL. Epidemiology and burden of HPV infection and related diseases: Implications for prevention strategies. *Prev Med (Baltim)*. 2011; 53: S12–21.
40. Burchell AN, Winer RL, de Sanjosé S, and Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*. 2006; 24:S52–61.
41. Mayeaux Jr EJ, and Cox JT. *Modern Kolposkopi Konu El Kitabı*. Güneş Tıp. 2014; 96-108.
42. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010 Dec 15;202(12):1789-99. doi: 10.1086/657321. Epub 2010 Nov 10. PMID: 21067372.
43. Ozgul N, Tuncer M, Abacioglu M, ve Gultekin M. Estimating prevalence of genital warts in Turkey: survey among KETEM-affiliated gynecologists across Turkey. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2011;12(9):2397-400.

44. Milde-Langosch K, Riethdorf S, Löning T, et al. Association of human papillomavirus infection with carcinoma of the cervix uteri and its precursor lesions: theoretical and practical implications. *Virchows Arch* 2000; 437: 227-33.
45. Koç FU, and Kurugöl Z. Human papillomavirüs epidemiyolojisi. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*. 2012; 17(1): 9-12.
46. Bosch FX, de Sanjose S, and Castellsague X. *Understanding the origin of cervical cancer*. In: Prediville W, Davies P. editors. The Health Professional's HPV Handbook. UK: Taylor and Francis Group; 2004: 41-54.
47. Burd EM. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16(1): 1–17.
48. Ryndock EJ, and Meyers C. A risk for non-sexual transmission of human papillomavirus. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12(10):1165-1170. doi:10.1586/14787210.2014.959497.
49. Hahn HS, Kee MK, Kim HJ, Kim MY, Kang YS, Park JS et al. Distribution of maternal and infant human papillomavirus: risk factors associated with vertical transmission. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013; 169(2): 202–6.
50. Kirchhof MG, and Au S. Brazilian waxing and human papillomavirus: a case of acquired epidermodysplasia verruciformis. *CMAJ*. 2015;187(2):126-128.
51. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*. 2005; 32: 7–15.
52. Meyers J, Ryndock E, Conway MJ, Meyers C, Robison R. Susceptibility of high-risk human papillomavirus type 16 to clinical disinfectants. *J Antimicrob Chemother*. 2014; 69(6): 1546–50.
53. La Rosa G, Della Libera S, Petricca S, Iaconelli M, Briancesco R, Paradiso R, and Semproni M. *First detection of papillomaviruses and polyomaviruses in swimming pool waters: unrecognized recreational water-related pathogens*.
54. La Rosa G, Fratini M, Accardi L, et al. Mucosal and cutaneous human papillomaviruses detected in raw sewages. *PLoS One*. 2013;8(1):e52391.
55. Sanclemente G, and Gill DK. Human papillomavirus molecular biology and pathogenesis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2002; 16: s 231-240.

56. Pfisher H. Virology and pathogenesis. In: Pfisher H. Eds. *Prophylaxis and Early Detection of HPV-Related Neoplasia*, 1st Ed., Germany: Karger, 2012: 1-11.
57. Alp Avcı G. İnsan Papillomavirusunun Genomik Yapısı ve Proteinleri. *Mikrobiyol Bul.* 2012; 46(3): 507–15.
58. Bonnez W, and Douglas J. *Goldman-Cecil Medicine*. Twenty-Six. Elsevier; 2020: 2185-2189. Erişim adresi: <https://www.clinicalkey.com/#!/content/book/3-s2.0-B9780323532662003490>. Erişim tarihi: 02.08.2020.
59. Bodily J, and Laimins LA. Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. *Trends in Microbiology*, 2011;19(1), 33-39.
60. Howley PM, and Lowy DR. Papillomaviruses and their replication. In: Fields BN, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, Knipe DM, Howley PM. Eds. *Field's Virology*. 2, 4th Ed., Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2001:2197–2230.
61. Moody CA, and Laimins LA. *The Life Cycle of Human Papillomaviruses*. In: Damania B, Pipas JM. Eds. *DNA Tumor Viruses*, 1st Ed., Newyork: Springer Science&Business Media, 2009: 75-98.
62. Abramo D, and Archambault J. Small molecule inhibitors of human papillomavirus protein – protein interactions. *Open Virol J*, 2011; 5:80-95.
63. Egawa N, Nakahara T, Ohno S, Narisawa-Saito M, Yugawa T, Fujita M, Yamato K, Natori Y, and Kiyono T. The E1 protein of human papillomavirus type 16 is dispensable for maintenance replication of the viral genome. *J Virology*, 2012; 86(6):3276-3283.
64. Avcı GA, ve Bozdayı G. İnsan papilloma virüsü. *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*, 2013; 3: 136-44.
65. Cai Q, Lv L, Shao Q, Li X, and Dian A. Human papillomavirus early proteins and apoptosis. *Arch Gynecol Obstet*, 2013; 287(3):541-548.
66. Lou Z, and Wang S. E3 ubiquitin ligases and human papillomavirus induced carcinogenesis. *Med Res*. 2014 Apr;42(2):247-60.

67. Hebner CM, and Laiminis LA. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Rev Med Virol*, 2006; 16(2):83-97.
68. Longworth MS, and Laiminis LA. Pathogenesis of human papillomavirus in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004; 68(2):362-372.
69. Ding Q, Li L, and Whyte P. Human papillomavirus 18 E1*E4 protein interacts with cyclin A/CDK 2 through an RXL motif. *Mol Cell Biochem*, 2013; 373(1-2):29-40.
70. Thomison J, Thomas LK, and Shroyer KR. Human papillomavirus: molecular and cytologic/histologic aspects related to cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. *Hum Pathol* 2008; 39(2): 154-66.
71. Venuti A, Paolini F, Nasir L, Corteggio A, Roperto S, Campo MS and Borzacchiello G. Papillomavirus E5: the smallest oncoprotein with many functions. *Mol Cancer*, 2011; 10:140.
72. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)* 2006; 110(5): 525-41.
73. Fehrman F, and Laiminis LA. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. *Oncogene* 2003; 22(33): 5201-7.
74. Hubbert NL, Sedman SA, and Schiller JT. Human papillomavirus type 16 E6 increases the degradation rate of p53 in human keratinocytes. *J Virol* 1992; 66(10): 6237-41.
75. Kiyono T, Foster SA, Koop JI, et al. Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature* 1998; 396(6706): 84-8.
76. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 518-27.
77. Fertey J, Ammermann I, Winkler M, Stöger R, Iftner T, and Stubenrauch F. Interaction of the papillomavirus E8--E2C protein with the cellular CHD6 protein contributes to transcriptional repression. *J Virol* 2010; 84(18): 9505-15.

78. Stubenrauch F, Hummel M, Iftner T, Laimins LA. The E8E2C protein, a negative regulator of viral transcription and replication, is required for extrachromosomal maintenance of human papillomavirus type 31 in keratinocytes. *J Virol* 2000; 74(3): 1178-86.
79. Nakao S, Mori S, Kondo K, Matsumoto K, Yoshikawa H, Kanda T. Monoclonal antibodies recognizing cross-neutralization epitopes in human papillomavirus 16 minor capsid protein L2. *Virology*, 2012; 434(1):110-117.
80. Marusic MB, Ozburn MA, Campos SK, Myers MP, Banks L. Human Papillomavirus L2 Facilitates Viral Escape from Late Endosomes via Sorting Nexin 17. *Traffic*, 2012; 13(3):455-467.
81. Stanley MA. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clinical microbiology reviews*, 2012; 25(2): 215-22.
82. Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, and zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*, 2004; 324(1):17- 27.
83. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, and Morse SA. *Papillomavirus'lar*. Çeviri Editörü: Yenen Oğ, Lange, 1.baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2009: 597-600.
84. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, and Stanley MA. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, 2012; 30(5):F55-F70.
85. White EA, and Howley PM. Proteomic approaches to the study of papillomavirus-host interactions. *Virology*, 2013; 435(1):57-69.
86. Paolini F, Rizzo C, Sperduti I, Pichi B, Mafera B, Rahimi SS, and Venuti A. Both mucosal and cutaneous papillomaviruses are in the oral cavity but only alpha genus seems to be associated with cancer. *Journal of clinical virology*, 2013;56(1), 72-76.
87. Clifford, G., et al., Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *British journal of cancer*, 2003; 89(1): 101-2.
88. La Rosa G, Fratini M, Accardi L, D'Oro G, Della Libera S, Muscillo M, and Di Bonito P. Mucosal and cutaneous human papillomaviruses detected in raw sewages. *PLoS One*. 2013;8(1):e52391.

89. Wallboomers JM, Jacobs MV, Manos MM et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:1-3.
90. Smith JS., et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *International journal of cancer*, 2007; 121(3): 621-32.
91. Gheit T. Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology Front. *Oncol*, 2019.
92. Doorbara J, Quintb Wim, Lawrence Banksc, Ignacio G. Bravod, Mark Stolere, Tom R. Brokerf, and Margaret A. Stanleyg. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F55-70.
93. Kajitani N, Satsuka A, Kawate A, and Sakai H. Productive Lifecycle of Human Papillomaviruses that Depends Upon Squamous Epithelial Differentiation. *Front Microbiol*. 2012;24;3:152.
94. Deligeoroglou, E, Giannouli, A, Athanasopoulos, N, Karountzos, V, Vatopoulou, A, Dimopoulos, K, and Creatsas, G. HPV infection: immunological aspects and their utility in future therapy. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2013; 540850: 1-9.
95. Raff AB, Woodham AW, Raff LM, Skeate JG, Yan L, Da Silva DM, Schelhaas M, and Kast WM. The evolving field of human papillomavirus receptor research: a review of binding and entry. *J Virol*. 2013 Jun;87(11):6062-72.
96. McBride AA, Oliveira JG, and McPhillips MG. Partitioning viral genomes in mitosis: same idea, different targets. *Cell Cycle*, 2006;5(14), 1499-1502.
97. Christy M, Laimonis A. Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Reviews in Medical Virology*. 2006; 16(2): 83-97.
98. Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, and Huh K. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *Journal of virology*, 2004;78(21), 11451-11460.
99. Yarkin F ve Vardar MA. HPV immunolojisi ve natürel enfeksiyonlar. *Türkiye Klinikleri Gynecology Obstetrics-Special Topics*, 2009;2(1), 43-47.
100. Tuncer ZS. Jinekolojik açıdan human papilloma virus enfeksiyonu. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2007; 38: 8-14.

101. Thorland EC, Myers SL, Gostout BS, and Smith DI. Common fragile sites are preferential targets for HPV16 integrations in cervical tumors. *Oncogene*. 2003 Feb 27; 22(8):1225-37.
102. Baseman JG, and Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol*. 2005; 32(Suppl 1): S16-24.
103. Arvas M, ve Gezer A. *Servikal Karsinogeneziste HPV'nin Rolü* (Bölüm 5). Eds.: Arvas M, Gezer A. In: Genital HPV. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2007:29-39.
104. Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. *Nature Reviews Immunology*, 2004; 4(1): 46-7.
105. Arvas M, Gezer A, ve Güralp O. Genital HPV enfeksiyonu ve koruyucu HPV aşıları. *Türk Pediatr Arşivi*. 2008; 43(1): 1–8.
106. Castle P, and Hirsch M. The life cycle, natural history and immunology of human papillomaviruses. Accessed Nov, 2012; 28-9.
107. Tuncer S. İnsan Papillomavirusları. In: (Çelebi Ş. Eds). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Ankara: Güneş Kitabevi, 1999:797-803.
108. Parkin DM, Almonte M, Bruni, L, Clifford, G, Curado MP, and Pineros M. Burden and trends of type-specific human papillomavirus infections and related diseases in the Latin America and Caribbean region. *Vaccine*, 2008; 26, L1-L15.
109. Cardoso JC, and Calonje E. Cutaneous manifestations of human papillomaviruses: A review. *Acta Dermatoven APA*, 2011; 20(3):145-154.
110. Howley PM. Warts, cancer and ubiquitylation: Lessons from the papillomaviruses. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2006; 117:113-127.
111. Proietti I, Skroza N, Bernardini N, Nicolucci F, Tolino E, Viola GL, Orsini D, Zuber S, and Potenza C. Acitretin in management of diffuse common warts: A case report. *Dermatol Ther*, 2011; 24(6):581-583.
112. Patel H, Wagner M, Singhal P, and Kothari S. Systematic review of the incidence and prevalence of genital warts. *BMC Infect Dis*, 2013; 13:39.
113. Monk BJ, and Tewari KS. The spectrum and clinical sequelae of human papillomavirus infection. *Gynecologic Oncology*. 2007; 107(2): 6-13.

114. Petry KU, Luyten A, Justus A, Iftner A, Strehlke S, Schulze-Rath R, and Iftner T. Prevalence of low-risk HPV types and genital warts in women born 1988/89 or 1983/84-results of WOLVES, a population-based epidemiological study in Wolfsburg, Germany. *BMC Infect Dis*. 2012 Dec 21;12:367
115. Ramoz N, Rueda LA, Bouadjar B, et al. Mutations in two adjacent novel genes are associated with epidermodysplasia verruciformis. *Nature Genetics*. 2002; 32(4): 579-581.
116. Zampetti A, Giurdanella F, Manco S, Linder D, Gnarra M, Guerriero G, and Feliciani C. Acquired epidermodysplasia verruciformis: A comprehensive review and a proposal for treatment. *Dermatol Surg*, 2013; DOI: 10.1111/dsu.121351.
117. Kaushal A, Silver S, Kasper K, Severini A, Hamza S, and Keynan Y. Epidermodysplasia verruciformis in an HIV-infected man: A case report and review of the literature. *Top Antivir Med*, 2012; 20(5):173-179.
118. Derkay CS, and Wiatrak B. Recurrent Respiratory Papillomatosis: A Review. *Laryngoscope*. 2008; 118(7): 1236–47.
119. Larson DA, and Derkay CS. Epidemiology of recurrent respiratory papillomatosis. *APMIS*. 2010; 118(6–7): 450–4.
120. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2007; 370(9590): 890–907.
121. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Comparison of risk factors for invasive squamous cell carcinoma and 147 adenocarcinoma of the cervix: Collaborative reanalysis of individual data on 8,097 women with squamous cell carcinoma and 1,374 women with adenocarcinoma from 12 epidemiological studies. *Int J Cancer*. 2007;120(4):885–91.
122. Low EL, Simon AE, Lyons J, Romney-Alexander D, and Waller J. What do British women know about cervical cancer symptoms and risk factors?. *Eur J Cancer*. 2012; 48(16): 3001–8.
123. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kanseri Dairesi Başkanlığı. Rahim Ağzı (Serviks) Kanseri. Erişim adresi:<https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-turleri/kanser-turleri/kanser-dairesi-baskanligi-kanser-turleri-serviks-kanseri.html>Erişim tarihi:21.02.2022

124. Boulet GA, Horvath CA, Berghmans S, and Bogers J. Human papillomavirus in cervical cancer screening: important role as biomarker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008; 17(4):810-817.
125. Dim CC. Towards improving cervical cancer screening in Nigeria: a review of the basics of cervical neoplasm and cytology. *Niger J Clin Pract*, 2012; 15(3):247-252.
126. Apgar BS, Zoschnick L, and Wright TC Jr. The 2001 Bethesda System terminology. *Am Fam Physician*, 2003; 68(10):1992-1998.
127. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, and Jay N. Prevalence and risk factors for human papillomavirus infection of the anal canal in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative homosexual men. *J Infect Dis* 1998; 177:361.
128. Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği. *Anal Kanserler*. Erişim adresi: <https://www.tkrcd.org.tr/anal-kanser2>. Erişim tarihi: 23.02.2022
129. Ramet J, Ezzo D, and Meszner Z. Position paper-HPV and the primary prevention of cancer; improving vaccine uptake by paediatricians. *Eur J Pediatr*, 2011; 170(3):309-321.
130. Zandberg DP, Bhargava R, Badin S, and Cullen KJ. The role of human papillomavirus in nongenital cancers. *Ca Cancer J Clin*, 2013; 63(1):57-81.
131. Haddad RI, Brizel DM, and Fried MP. Epidemiology, staging, and clinical presentation of human papillomavirus-associated head and neck cancer.
132. Ağaçoğlu A. *Cinsel Yolla Bulaşan Viral Enfeksiyonlar*. Bölüm 17 İç: Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji, Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S. eds. Ankara: Güneş Kitabevi; 2004. s.285-292.
133. Yüce K. HPV enfeksiyonu geçiş yolları ve korunma. *Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik-Özel Sayı*, 2009; 2(1): 82-85.
134. Chen J, Ni G, and Liu XS. Papillomavirus virus like particle-based therapeutic vaccine against human papillomavirus infection related diseases: Immunological problems and future directions. *Cell Immunol*, 2011; 269(1):5-9.
135. Schiller JT, Castelsague X, and Garland SM. A Review of Clinical Trials of Human Papillomavirus Prophylactic Vaccines. *Vaccine*, 2012; 30(5):123-138.

136. Jin XV, Lipold L, and Sikon A, Rome E. Human papillomavirus vaccine: Safe, effective, underused. *Cleve Clin J Med*, 2013; 80(1):49-60.
137. Freedman M, Kroger A, and Hunter P, Ault KAJAoim. Recommended adult immunization schedule, United States, 2020. 2020;172(5):337-47.
138. Trimble CL, Morrow MP, Kraynyak KA, Shen X, Dallas M, Yan J, et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. *The Lancet*. 2015;386(10008):2078-88.
139. Cheng L, Wang Y, and Du J. Human Papillomavirus Vaccines: An Updated Review. *Vaccines*. 2020;8(3).
140. Zhang Z, Zhang J, Xia N, and Zhao Q. Expanded strain coverage for a highly successful public health tool: Prophylactic 9-valent human papillomavirus vaccine. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2017;13(10):2280-91.
141. Tayfur Ç, Korkmazer E, Temur M, Karataş S, Özdemir H, Güçlü T, et al. Hastanede çalışan ebe ve hemşirelerin Human Papilloma Virüs aşıları hakkında bilgi ve tutumlarının değerlendirilmesi. *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*. 2018; 52(1):49-52.
142. Markowitz, L.E., et al., Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*, 2014; 63(Rr-05): 1-30.
143. Trina Mansou FL. *Cancer, Cervical Screening*; StatPearls Publishing. January 4, 2019.
144. Wheeler CM, Skinner SR, Del Rosario-Raymundo MR, Garland SM, Chatterjee A, Lazcano-Ponce E, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of the human papillomavirus 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in women older than 25 years: 7-year follow-up of the phase 3, double-blind, randomised controlled VIVIANE study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2016;16(10):1154-68.
145. Petrosky E, Bocchini JA, Jr., Hariri S, Chesson H, Curtis CR, Saraiya M, et al. Use of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccine: updated HPV

- vaccination recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2015;64(11):300-4.
146. Projected and current national introductions, demonstration/pilot projects, gender-neutral vaccination programs, and global HPV vaccine introduction maps (2006-2023) - Updated 17 Aug 2021.
147. Ergünay K (editör). *İnsan papillomavirüsleri*. Kısım 2, Bölüm 20 İç: Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji, Ergünay K, Us AD. Eds. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara, 2011: s 591-605.
148. Villa LL, and Denny L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. *Int J Gynecol Obstet*, 2006; 94(1):71-80.
149. Nishino HT, Tambouret RH, and Wilbur DC. Testing for human papillomavirus in cervical cancer screening. *Cancer Cytopathol*, 2011; 119(4):219-227.
150. Schorge, J.O., et al., *Williams ginecologia*. McGraw-Hill. 2009; 140-8.
151. Brown AJ, and Trimble CL. New technologies for cervical cancer screening. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2012; 26(2):233–242.
152. Bradley J, Barone M, Mahe C, Lewis R, and Luciani S. Delivering cervical cancer prevention services in low-resource settings. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2005;89(S2).
153. Follen, M. and R. Richards-Kortum, Emerging technologies and cervical cancer. *Journal of the National cancer institute*, 2000; 92(5): 363-5.
154. Karasu AFG, Adanir I, Aydin S, Ilhan GK, and Ofli T. Nurses' Knowledge and Opinions on HPV Vaccination: a Cross-Sectional Study from Istanbul. *Journal of cancer education : the official journal of the American Association for Cancer Education*. 2019;34(1):98-104.
155. Hubbard RA. Human papillomavirus testing methods. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 2003; 127(8): 940-945.
156. Zaravinos A, Mammas IN, Sournivos G, and Spandidos DA. Molecular detection methods of human papillomavirus (HPV). *Int J Biol Markers*, 2009; 24(4):215-222.
157. Venuti A, Paolini F. HPV detection methods in head and neck cancer. *Head Neck Pathol*, 2012; 6(1):63-74.

158. Snow AN, Laudadio J. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinomas. *Adv Anat Pathol*, 2010; 17(6):394-403.
159. Kumaraswamy KL, and Vidhya M. Human papilloma virus and oral infections: An update. *J Cancer Res Ther*, 2011; 7(2):120-127.
160. Thomas CJ. Human papillomavirus testing in primary cervical screening and abnormal Papanicolaou management. *Obstetrical Gynecological Survey*, 2006; 61(6): 15-25.
161. Abreu LPA, Souza RP, Gimenes F, and Consolaro MEL. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Virology*, 2012; 9:262.
162. Poljak M, Cuzick J, Kocjan BJ, Iftner T, Dillner J, and Arbyn M. Nucleic acid tests for the detection of alpha human papillomaviruses. *Vaccine*, 2012; 30(5):100-106.
163. Denny LA, Wright TC Jr. Human papillomavirus testing and screening. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2005; 19(4):501-515.s
164. Jarboe EA, Hunt JP, and Layfield LJ. Cytomorphologic diagnosis and HPV testing of metastatic and primary oropharyngeal squamous cell carcinomas: A review and summary of the literature. *Diagn Cytopathol*, 2012; 4(6):491-497.
165. Hogarth S, Hopkins MM, and Rodriguez V. A molecular monopoly? HPV testing, the Pap smear and the molecularisation of cervical cancer screening in the USA. *Sociol Health Illn*, 2012; 34(2):234-250.
166. van Doorn LJ, Kleter B, and Quint WG. Molecular detection and genotyping of human papillomavirus. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2001; 1(4): 394-402.
167. Molijn A, Kleter B, Quint W, and van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *Journal of Clinical Virology*, 2005; 32(1): 43-51.
168. Takács T, Jeney C, Kovács L, Mózes J, Benczik M, and Sebe A. Molecular beacon-based real-time PCR method for detection of 15 high-risk and 5 low-risk HPV types. *J Virol Methods* 2008; 149(1): 153-62.

169. Moberg M, Gustavsson I, and Gyllensten U. Real-time PCR-based system for simultaneous quantification of human papillomavirus types associated with high risk of cervical cancer. *J Clin Microbiol* 2003; 41(7): 3221-8.
170. Dutra I, Foroni I, Couto AR, Lima M, and Bruges-Armas J. Molecular diagnosis of human papillomavirus, pp: 203-46. In: Vanden Broeck D (ed), *Human Papillomavirus and Related Diseases - From Bench to Bedside - Research Aspects*. 2012, InTech, Rijeka, Croatia.
171. Şahiner F, Kubar A, Yapar M, Şener K, Dede M, and Gümral R. Detection of major HPVs by a new multiplex real-time PCR assay using type-specific primers. *J Microbiol Methods* 2014; 97: 44-50.
172. Lee JH, Lee NW, Hong SW, Nam YS, Choi JW, and Kim YS. Establishment of an efficient multiplex real-time PCR assay for human papillomavirus genotyping in cervical cytology specimens: comparison with hybrid capture II. *Cytopathology* 2011; 22(4): 261-8.
173. Fuessel Haws AL, He Q, Rady PL, et al. Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5(+)/6(+) primer sets improves detection of HPV DNA in cervical samples. *J Virol Methods* 2004; 122(1): 87-93.
174. Poljak M, and Kocjan BJ. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8(10): 1139-62.
175. Andersson S, Hansson B, Norman I, et al. Expression of E6/E7 mRNA from 'high risk' human papillomavirus in relation to CIN grade, viral load and p16INK4a. *Int J Oncol* 2006; 29(3): 705-11.
176. Cabioğlu N. *Memenin anatomisi ve fizyolojisi*. Özmen, V, Çelik, V, Güler, N, Kapkaç, M, Koyuncu, A, Utkan, Z, Müslüman oğlu, M(ed), *Meme Hastalıkları Kitabı*(syf: 7-17) Ankara: Güneş Kitap Evi. 2012.
177. Çavdar İ. Meme Kanseri Hastalarda Cinsel Sorunlar. *Meme Sağlığı Dergisi*. 2006;2(2):64-66.
178. Organization, W.H. Graph production: IARC 2021; <https://gco.iarc.fr/today> 05.04.2022.
179. . Kabel AM, and Baali FH. Breast cancer: insights into risk factors, pathogenesis, diagnosis and management. *Journal of Cancer Research and Treatment*. 2015;3(2):28-33.

180. DeBruin LS, and Josephy PD. Perspectives on the chemical etiology of breast cancer. *Environmental health perspectives*. 2002;110(suppl 1):119-28.
181. Kim HS. Leptin and leptin receptor expression in breast cancer. *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association*. 2009;41(3):155.
182. Sayhan E. *Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne 2007-2011 Yılları Arasında Başvuran Meme Kanseri Tanılı Hastaların Değerlendirilmesi* (tez): Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2013.
183. Özmen V, Cantürk Z, Güler N, Koyuncu A, Çelik V, Kapkaç M, et al. *Meme Hastalıkları Kitabı*. 2 ed: Güneş Tıp Kitabevleri; 2012 .
184. Manjer J, et al., Breast cancer incidence in relation to smoking cessation. *Breast cancer research and treatment*, 2000. 61(2): 121-129.
185. Lacey JV., et al., Breast cancer epidemiology according to recognized breast cancer risk factors in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial Cohort. *BMC cancer*, 2009. 9(1): p. 1-8.
186. Eroğlu C, Eryılmaz MA, Cıvık S, ve Gurbuz Z. Meme Kanseri Risk Değerlendirmesi: 5000 Olgu. *International Journal of Hematology & Oncology/UHOD: Uluslararası Hematoloji Onkoloji Dergisi*. 2010;20(2).
187. Society, A.C. *Breast Cancer 2020*; <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/risk-andprevention/breast-cancer-risk-factors-you-cannot-change.html> 07.04.2022
188. Wooster R, Weber BL. Breast and ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(23):2339-47.
189. Casey PM, Cerhan JR, and Pruthi S, editors. *Oral contraceptive use and the risk of breast cancer*. Mayo Clinic Proceedings; 2008: Elsevier.
190. Institute, N.C. Breast Cancer Risk. 2021; <http://www.cancer.gov/> Erişim tarihi: 07.04.2022
191. Society, C.C. Causes of Breast Cancer. 2021; <http://www.cancer.ca/> Erişim tarihi: 07.04.2022
192. Fisher B, Dignam J, Wolmark N, Wickerham DL, Fisher ER, Mamounas E, et al. Tamoxifen in treatment of intraductal breast cancer: National Surgical 84

- Adjuvant Breast and Bowel Project B-24 randomised controlled trial. *The Lancet*. 1999;353(9169):1993-2000.
193. Güllüoğlu BM. Meme hastalıklarına yaklaşım: Meme kanseri için risk değerlendirmesi ve tarama stratejileri. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*. 2008;12(1):9-17.
 194. Boyd NF, Guo H, Martin LJ, Sun L, Stone J, Fishell E, et al. Mammographic density and the risk and detection of breast cancer. *New England journal of medicine*. 2007;356(3):227-36.
 195. Bland KI, Copeland III EM. The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1993;92(5):973-4.
 196. Terry MB, Zhang FF, Kabat G, Britton JA, Teitelbaum SL, Neugut AI, et al. Lifetime alcohol intake and breast cancer risk. *Annals of epidemiology*. 2006;16(3):230-40.
 197. Taylor E, Burley V, Greenwood D, and Cade J. Meat consumption and risk of breast cancer in the UK Women's Cohort Study. *British journal of cancer*. 2007;96(7):1139-46.
 198. Kelsey JL., et al., Exogenous estrogens and other factors in the epidemiology of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 1981. 67(2): p. 327-333.
 199. Mahoney MC, Bevers T, Linos E, and Willett WC. Opportunities and strategies for breast cancer prevention through risk reduction. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2008;58(6):347-71.
 200. Dinçol D. Meme Kanserinde Prognostik Faktörler. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. 1992;12(6):457-9.
 201. Degnim AC, Visscher DW, Berman HK, Frost MH, Sellers TA, Vierkant RA, et al. Stratification of breast cancer risk in women with atypia: a Mayo cohort study. *Journal of clinical oncology*. 2007;25(19):2671-7.
 202. Wang P, Ren F-M, Lin Y, Su F-X, Jia W-H, Su X-F, et al. Night-shift work, sleep duration, daytime napping, and breast cancer risk. *Sleep medicine*. 2015;16(4):462-8.
 203. Morrow M. The evaluation of common breast problems. *American family physician*. 2000;61(8):2371.

204. Arslan M, ve Şahin DA. Kadınların Meme Kanseri ve Kendi Kendine Meme Muayenesi (KKMM) İle İlgili Bilgi Durumlarına Eğitimin Etkisi. *Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Hemşirelik E-Dergisi*. 2013;1(1).
205. Bektaş Onat D. *Malign ve benign meme lezyonlarında difüzyon mr görüntüleme*. [Tıpta Uzmanlık Tezi]: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi; Diyarbakır, 2016.
206. Stricker TP, Kumar V, Maitra A, Schoen FJ, Mitchell RN, and Aster JC. Robbins Basic Pathology. *Neoplasia*. 2007;173:52.
207. Spencer JP. Management of mastitis in breastfeeding women. *American family physician*. 2008;78(6):727-31.
208. Nuralina L, Boztepe G, ve Atakan N. Meme ve Meme Başının İnflamatuvar Hastalıkları. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*. 2006;16(1):14-22.
209. Göksel HA, Yağmurdur MC, Demirhan B, Işıklar İ, Karakayalı H, Bilgin N, et al. Management strategies for patients with nipple discharge. *Langenbeck's archives of surgery*. 2005;390(1):52-8.
210. Polatçı H. *Mastalji Şikayetiyle Başvuran Hastalarda Mamografi, Meme Ultrasonografi, Patoloji ve Hormon Bulguları* [Tıpta Uzmanlık Tezi]: İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi; İzmir, 2015.
211. Arslan S. Malign ve Benign Meme Lezyonlarının Ayırımında Sonoelastografinin Tanıya Katkısı [Tıpta Uzmanlık Tezi]: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi; Ankara, 2014.
212. Erel S. Memenin Benign Proliferatif Lezyonları ve Kanseri Riski. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 2010; 19(3):155-67.
213. Tanas S. *Meme Kanseri Olgularının Demografik Özellikleri* [Tıpta Uzmanlık Tezi]: Atatürk Üniversitesi; Erzurum, 2013.
214. Liberman L, Bonaccio E, Hamele-Bena D, Abramson AF, Cohen MA, and Dershaw DD. Benign and malignant phyllodes tumors: mammographic and sonographic findings. *Radiology*. 1996;198(1):121-124. doi:10.1148/radiology.198.1.8539362
215. Barth Jr. RJ. Histologic features predict local recurrence after breast conserving therapy of phyllodes tumors. *Breast Cancer Res Treat*. 1999;57(3):291-295.

216. Gıynaş NG. *Meme kanserinde prognostik faktörlerin retrospektif olarak değerlendirilmesi ve mamografideki mikrokalsifikasyonların prognostik ve kemik metastazı gelişimindeki prediktif değerlerin araştırılması* [Tıpta Uzmanlık Tezi]: Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi; Konya ,2010.
217. Değerli Ü. *Genel cerrahi*. 2 Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 2002:356-71.
218. Gürbüz C. *Kadınlar İçin Meme Sağlığı Bilgileri*: 1. Baskı, İstanbul: Türkiye Meme Vakfı Yayınları; 2005.
219. Topuz E. *Meme kanseri*: 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003.
220. İlvan Ş. *Meme karsinomu patolojisi*. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Meme Kanseri Sempozyum Dizisi. 2006;54:65-71.
221. Sinn HP, and Kreipe H. A brief overview of the WHO classification of breast tumors. *Breast care*. 2013;8(2):149-54.
222. Makki J. Diversity of breast carcinoma: Histological subtypes and clinical relevance. *Clin Med Insights Pathol*. 2015;8(1):23-31. doi:10.4137/CPath.s31563
223. Ceilley E, Jagsi R, Goldberg S, Kachnic L, Powell S, and Taghian A. The management of ductal carcinoma in situ in North America and Europe: results of a survey. *Cancer*. 2004;101(9):1958-67.
224. Kerlikowske K. Epidemiology of ductal carcinoma in situ. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*. 2010;2010(41):139-41.
225. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, and Aster JC. Robbins and Cotran's pathologic basis of disease. 2010. Philadelphia, Pa. 2014.
226. Lee J-H, Park S, Park HS, and Park BW. Clinicopathological features of infiltrating lobular carcinomas comparing with infiltrating ductal carcinomas: a case control study. *World journal of surgical oncology*. 2010;8(1):1-7.
227. Berg WA, Gutierrez L, Ness Aiver MS, Carter WB, Bhargavan M, Lewis RS, et al. Diagnostic accuracy of mammography, clinical examination, US, and MR imaging in preoperative assessment of breast cancer. *Radiology*. 2004;233(3):830-49.
228. Malya FÜ. and Sİ. *Genel Cerrahi* 4. Baskı Cilt 1 Meme Kanseri. 2013, Güneş Tıp Kitabevi: Ankara

229. Baskan S, Atahan K, Arıbal E, Özaydın N, Balcı P, Yavuz E. Meme kanserinde tarama ve tanı (İstanbul meme kanseri konsensus konferansı 2010). *Meme Sağlığı Dergisi/Journal of Breast Health*. 2012;8(3).
230. Özmen V, Fidaner C, Aksaz E, Bayol Ü, Dede İGE, Güllüoğlu B, et al. Türkiye’de meme kanseri erken tanı ve tarama programlarının hazırlanması “Sağlık Bakanlığı meme kanseri erken tanı ve tarama alt kurulu raporu”. *J Breast Health*. 2009;5:125-34.
231. Özçelik MF. Türk Cerrahi Derneği Yeterlilik (Board) Okulu Ders Notları. Türk Cerrahi Derneği Yayınları, 2018.
232. Mitra S, and Dey P. Fine-needle aspiration and core biopsy in the diagnosis of breast lesions: a comparison and review of the literature. *Cytojournal*. 2016;13.
233. Ernst M, and Roukema J. Diagnosis of non-palpable breast cancer: a review. *The Breast*. 2002;11(1):13-22.
234. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Araştırma, G.v.S.T.D.D.B., *Meme Kanseri Korunma, Tarama, Tanı, Tedavi ve İzlem Klinik Rehberi* 2020.
235. Yaşamak K. *Meme Kanseri*. 2021; <http://www.kanserleyasamak.org/> Erişim tarihi: 12.04.2022
236. Yalçın Ş, and Sarı E, editors. *A General Overview of Personalized Cancer Medicine/Kanserde Bireyselleştirilmiş Tedavilere Genel Bakış*. Nuclear Medicine Seminars; 2015: Galenos Yayınevi Tic. Ltd.
237. Çolpan Öksüz D. *Meme kanserinde prognostik ve prediktif faktörler*. Türkiye Klinikleri J Radiat Oncol-Special Topics. 2015;1:7-12.
238. Bozdoğan A, Özçınar B, Gürdal SÖ, Müslümanoğlu M, İğci A, Keçer M, et al. Evre 1 Meme Kanseri Hastalarda Mortaliteyi Etkileyen Faktörler. *Meme Sağlığı Dergisi/Journal of Breast Health*. 2010;6(3).
239. Çevik BA, ve Pirinççi E. Beslenme ve Kanser. *Fırat Tıp Der/Firat Med J* 2017; 22(1): 1-7
240. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, and Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*.

- 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338. <https://gco.iarc.fr/>.
241. Chang Y, Moore PS, and Weiss RA. Human oncogenic viruses: nature and discovery. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017;372(1732):20160264. doi:10.1098/rstb.2016.0264
 242. Tsai JH, Tsai CH, Cheng MH, Lin SJ, Xu Ş, and Yang CC. Association of viral factors with non-familial breast cancer in Taiwan by comparison with non-cancerous, fibroadenoma, and thyroid tumor tissues. *J Med Virol*. 2005 Feb;75(2):276-81.
 243. Golrokh Mofrad M, Sadigh ZA, Ainechi S, and Faghihloo E. Detection of human papillomavirus genotypes, herpes simplex, varicella zoster and cytomegalovirus in breast cancer patients. *Viol J*. 2021 Jan 22;18(1):25. doi: 10.1186/s12985-021-01498-z.
 244. Gupta I, Al-Sarraf R, Farghaly H, Vranic S, Sultan AA, Al-Thawadi H, Al Moustafa AE, and Al-Farsi HF. Incidence of HPVs, EBV and MMTV-like Virus in Breast Cancer in Qatar. *Intervirology*. 2022 May 31. doi: 10.1159/000525277.
 245. Di Lonardo A, Venuti A, Marcante ML. Human papillomavirüs in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1992;21:95-100.
 246. Atique S, Hsieh CH, Hsiao RT, Iqbal U, Nguyen PAA, Islam MM, Li YJ, Hsu CY, Chuang TW, and Syed-Abdul S. Viral warts (Human Papilloma Virus) as a potential risk for breast cancer among younger females. *Comput Methods Programs Biomed*. 2017 Jun;144:203-207. doi: 10.1016/j.cmpb.2017.03.024.
 247. de Villiers EM, Sandstrom RE, zur Hausen H, Buck CE. Presence of papillomavirussequences in condylomatous lesions of the mamillae and in invasivecarcinoma of the breast. *Breast cancer research: BCR* 2005;7(1):R1e11.
 248. Gumus M, Yumuk PF, Salepci T, Ali Ustaoglu M, Dane F, Ekenel M, Basaran G, Kaya H, Barisik N, and Turhal NS. HPV DNA frequency and subset analysis in human breast cancer patients normal and tumoral tissue samples. *J Exp Clin Cancer Res* 2006, 25(4):515-521.
 249. Akil N, Yasmeen A, Kassab A, Ghabreau L, Darnel AD., and Al Moustafa, A.-E. (). *High-risk human papillomavirus infections in breast cancer in Syrian*

- women and their association with *Id-1* expression: a tissue microarray study. *British Journal of Cancer*, 2008; 99(3), 404-407. doi:10.1038/sj.bjc.6604503
250. Delgado-García S, Martínez Escoriza JC, Alba A, Martín-Bayón TA, Ballester-Galiana H, Peiró G, Caballero P, and Ponce Lorenzo J. Presence of human papillomavirus DNA in breast cancer: a Spanish case-control study. *BMC Cancer*. 2017;17(1):320.
 251. Fu L, Wang D, Shah W, Wang Y, Zhang G, and He J. Association of human papillomavirus type 58 with breast cancer in Shaanxi province of China. *J Med Virol*. 2015 Jun;87(6):1034-40. doi: 10.1002/jmv.24142.
 252. Kroupis C, Markou A, Vourlidis N, Dionvssiou-Asteriou A, and Lianidou ES. Presence of high-risk human papillomavirus sequences in breast cancer tissues and association with histopathological characteristics. *Clin Biochem* 2006, 39:727-731.
 253. Khan NA, Castillo A, Koriyama C, Kijima Y, Umekita Y, Ohi Y, Higashi M, Sagara Y, Yoshinaka H, Tsuji T, Natsugoe S, Douchi T, Eizuru Y, and Akiba S. Human papillomavirus detected in female breast carcinomas in Japan. *Br J Cancer* 2008,99(3):408-414. *Cancer Res* 2006, 25(4):515-521.
 254. Damin AP, Karam R, Zettler CG, Caleffi M, and Alexandre CO. Evidence for an association of human papillomavirus and breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 2004, 84(2):131-137.
 255. Herrera-Goepfert R, Vela-Chávez T, Carrillo-García A, Lizano-Soberón M, Amador-Molina A, Oñate-Ocaña LF, Hallmann RS. High-risk human papillomavirus (HPV) DNA sequences in metaplastic breast carcinomas of Mexican women. *BMC Cancer*. 2013 Oct 1;13:445. doi: 10.1186/1471-2407-13-445. PMID: 24083491; PMCID: PMC3852771.
 256. De Leon DC, Montiel DP, Nemcova J, Mykyskova I, Turcios E, Villavicencio V, Cetina L, Coronel A, and Hes O. Human papillomavirus (HPV) in breast tumors: prevalence in a group of Mexican patients. *BMC Cancer* 2009, 9:26.
 257. Charostad J, Azaran A, Nakhaei M, Astani A, Kaydani GA, Motamedfar A, Makvandi M. Upregulation of Interleukin-6 in HPV-Positive Breast Cancer Patients. *Iran J Immunol*. 2021; 18(4):315-330, doi: 10.22034/IJI.2021.89107.1930.

258. Kan CY, Iacopetta BJ, Lawson JS, and Whitaker NJ. Identification of humanpapillomavirus DNA gene sequences in human breast cancer. *Br J Cancer* 2005;93(8):946-948.
259. Heng B, Glenn WK, Ye Y, Tran B, Delprado W, Lutze-Mann L, Whitaker NJ, and Lawson JS: Human papilloma virus is associated with breast cancer. *British Journal of Cancer* 2009, 101:1345-1350.
260. Salman, N. A., Davies, G., Majidy, F., Shakir, F., Akinrinade, H., Perumal, D., and Ashrafi, G. H. Association of high risk human papillomavirus and breast cancer: a UK based study. *Scientific reports*, 2017;7, 43591.
261. Yu Y, Morimoto T, Sasa M, et al. Human papilloma virüs type 33 DNA in breast cancer in China. *Breast Cancer* 2000; 7(1): 33-36.
262. ElAmrani A, Gheit T, Benhessou M et al. Prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus in Moroccan breast cancer. *Papillomavirus Res* 2018;5: 150-5.
263. Islam MS, Chakraborty B, and Panda CK. Human papilloma virus (HPV) profiles in breast cancer: future management. *Ann Transl Med* 2020;8:650. doi:10.21037/atm-19-2756.
264. Mendizabal-Ruiz AP, Morales JA, Ramirez-Jirano LJ, Padilla-Rosas M, Moran-Moguel MC, and Montoya-Fuentes H. Low frequency of human papillomavirus DNA inbreast cancer tissue. *Breast Cancer Res Treat* 2009, 114:189-194.
265. Bonlokke S, Blaakaer J, Steiniche T et al. Evidence of No Association Between Human Papillomavirus and Breast Cancer. *Front Oncol* 2018;8:209. doi:10.3389/fonc.2018.00209.
266. Choi YL, Cho EY, Kim JH, Nam SJ, Oh YL, Song SY, Kim DS. et al. *Detection of Human Papillomavirus DNA by DNA Chip in Breast Carcinomas of Korean Women. Tumor Biology*, 2007; 28(6), 327–332. doi:10.1159/000124238
267. Calderon G, Castaneda CA, Castillo M, Sanchez J, Bernabe L, Suarez N, Tello K, Torres E, Cotrina JM, Dunstan J, De-La-Cruz M, Abugattas J, Guerra H, Manrique JE, and Aguayo Fahr Gomez HL. Human Papillomavirus, Cytomegalovirus Infection and P16 Staining in Breast Tumors from Peruvian Women. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2022 May 1;23(5):1571-1576. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.5.1571.

268. Karimi M, Khodabandehloo M, Nikkhoo B, and Ghaderi E. No Significant Association between Human Papillomavirus and Breast Cancer, Sanandaj, Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016 Oct 1;17(10):4741-4745. doi: 10.22034/apjcp.2016.17.10.4741.
269. Li, J., Ding, J., & Zhai, K. Detection of Human Papillomavirus DNA in Patients with Breast Tumor in China. *PLOS ONE*, 2015;10(8), e0136050. doi:10.1371/journal.pone.0136050
270. Gannon OM, Antonsson A, Milevskiy M, Brown, MA, Saunders NA, and Bennett, IC. *No association between HPV positive breast cancer and expression of human papilloma viral transcripts.* *Scientific Reports*, 2015; 5(1). doi:10.1038/srep18081.
271. Elagali AM, Suliman AA, Altayeb M, Dannoun AI, Parine NR, Sakr HI, Suliman HS, and Motawee ME. Human papillomavirus, gene mutation and estrogen and progesterone receptors in breast cancer: a cross-sectional study. *Pan Afr Med J.* 2021 Jan 15;38:43. doi: 10.11604/pamj.2021.38.43.22013.
272. Sher G, Salman NA, Kulinski M, Fadel RA, Gupta VK, Anand A, Gehani S, Abayazeed S, Al-Yahri O, Shahid F, Alshaibani S, Hassan S, Chawdhery MZ, Davies G, Dermime S, Uddin S, Ashrafi GH, Junejo K. Prevalence and Type Distribution of High-Risk Human Papillomavirus (HPV) in Breast Cancer: A Qatar Based Study. *Cancers (Basel).* 2020 Jun10;12(6):1528. doi:10.3390/cancers12061528.
273. Antonsson, A. TP. Spurr, AC. Chen et al., High prevalence of human papillomaviruses in fresh frozen breast cancer samples, *J. Med. Virol.* 83 (12) (2011)2157–2163.
274. Kouloura A, Nicolaidou E, Misitzis I, Panotopoulou E, Kassiani T, Smyrniotis, V. et al. HPV infection and breast cancer. Results of a microarray approach. *The Breast*, 2018; 40, 165-169.
275. Yavuzer, D., Salepci, T., Karadayi, N., Baloglu, H., & Kucukodaci, Z. *Human papillomavirus is not associated with breast carcinoma.* *Breast Cancer Research and Treatment*, 2010; 122(3), 899 900. doi:10.1007/s10549-010-0963-3

276. Bratthauer GL, Tavassoli FA, O'Leary TJ. Etiology of breast carcinoma: no apparent role for papillomavirus types 6/11/16/18. *Pathol Res Pract* 1992, 188(3):384-6.
277. Wrede D, Luqmani YA, Coombes RC, Vousden KH. Absence of HPV16 and 18 DNA in breast cancer. *Breast Cancer Research* 1992, 65(6):891-4.
278. Czerwenka K, Heuss F, Hosmann JW, Manavi M, Lu Y, Jelincic D, and Kubista E. Human papillomavirus DNA: a factor in the pathogenesis of mammary Paget's disease? *Breast Cancer Res Treat* 1996, 41:51-57.
279. Lindel K, Forster A, Altermatt HJ, Greiner R, Gruber G. Breast cancer and human papillomavirus (HPV) infection: no evidence of a viral etiology in a group of Swiss women. *Breast* 2007, 16:172-177.
280. de Cremoux P, Thioux M, Lebigot I, Sigal-Zafrani B, Salmon R, and Sastre-Garau X. No evidence of human papillomavirus DNA sequences in invasive breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 2008, 109:55-58.
281. Gopalkrishna V, Singh UR, Sodhani P, Sharma JK, Hedau ST, Mandal AK, Das BC. Absence of human papillomavirus DNA in breast cancer as revealed by polymerase chain reaction. *Breast Cancer Res Treat* 1996, 39(2):197-202.
282. Hedau S, Kumar U, Hussain S, Shukla S, Pande S, Jain N, and Chakraborty S. Breast cancer and human papillomavirus infection: no evidence of HPV etiology of breast cancer in Indian women. *BMC cancer*, 2011;11(1), 27.
283. Chang P, Wang T, Yao Q, Lv Y, Zhang J, Guo W., ... Chen J. *Absence of human papillomavirus in patients with breast cancer in north-west China. Medical Oncology*, 2010;29(2), 521-525. doi:10.1007/s12032-011-9945-5
284. Herrera-Romano L, Fernandez-Tamayo N, Gomez-Conde E, et al (2012). Absence of human papillomavirus sequences in epithelial breast cancer in a Mexican female population. *Med Oncol*, **29**, 1515-7.
285. Silva RG Jr, and Da Silva BB. No evidence for an association of human papillomavirus and breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*, 2011; 125, 261-4.
286. Zhou Y, Li J, Ji Y, et al. Inconclusive role of human papillomavirus infection in breast cancer. *Infect Agent Cancer*, 2015; 10, 36.

287. Usman M, Hameed Y, Ahmad M, et al. Breast Cancer Risk and Human Papillomavirus Infection: A Bradford Hill Criteria Based Evaluation. *Infect Disord Drug Targets*. 2022;22(4):e200122200389. doi:10.2174/1573401318666220120105931
288. Balci FL, Uras C, and Feldman SM. Is human papillomavirus associated with breast cancer or papilloma presenting with pathologic nipple discharge? *Cancer Treat Res Commun*. 2019;19:100122. doi: 10.1016/j.ctarc.2019.100122.
289. Henning EM, Suo Z, Thoresan S, et al: Human Papillomavirus 16 in Breast Cancer Of Women Treat For High Grade Cervikal Intraepitelial Neoplasia. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 53 (2): 121-135.
290. Widschwendter A, Brunhuber T, Wiedemair A, Mueller-Holzner E, Marth C. Detection of human papillomavirus DNA in breast cancer of patients with cervical cancer history. *J Clin Virol* 2004, 31(4):292-297.
291. Hansen B, Nygård M, Falk R, Hofvind S. Breast cancer and ductal carcinoma insitu among women with prior squamous or glandular precancer in the cervix: aregister based study. *Br J Cancer*. 2012; 107(9):1451–3.
292. Mareti E, Chatzakis C, Pratilas GC, Liberis A, Vavoulidis E, Papanastasiou A, Dampali R, Daniilidis A, Zepiridis L, and Dinas K. Human papillomavirus in breast cancer of patients with cervical intraepithelial neoplasia or cervical cancer history. A systematic review and meta-analysis. *J BUON*. 2021 May-Jun;26(3):707-713.
293. Lv YR, Wang JL, Zhang K, Gao HD., Sun JZ., Gong YY., and Ma, R. Human papilloma viruses (HPVs) no co-existence in breast cancer and cervical cells in the same patient. *Chin J Physiol*, 2014;57(2), 105-6.
294. Widschwendter A, Brunhuber T, Wiedemair A, Mueller-Holzner E, and Marth C. Detection of human papillomavirus DNA in breast cancer of patients with cervicalcancer history. *J Clin Virol* 2004, 31(4):292-297.
295. Blanco R, Carrillo-Beltrán D, Muñoz J, Corvalán A, Calaf G, and Aguayo F. (). Human Papillomavirus in Breast Carcinogenesis: A Passenger, a Cofactor, or a Causal Agent?. *Biology*, 2021; 10(8), 804

296. Li N, Bi X, Zhang Y, Zhao P, Zheng T, and Dai M. Human papillomavirus infection and sporadic breast carcinoma risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 126:515–20. doi:10.1007/s10549-010-1128-0
297. Heng B, Glenn WK, Ye Y, Tran B, Delprado W, Lutze-Mann L, et al. Human papilloma virus is associated with breast cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 1345–50. doi:10.1038/sj.bjc.6605282.
298. Lawson JS, Glenn WK, Whitaker NJ. Human papilloma viruses and breast cancer – assessment of causality. *Front Oncol* (2016) 6:207. doi:10.3389/fonc.2016.00207.
299. ElAmrani A, Gheit T, Benhessou M et al. Prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus in Moroccan breast cancer. *Papillomavirus Res* 2018;5: 150-5.
300. Fu L, Wang D, Shah W, Wang Y, Zhang G, He J. Association of human papillomavirus type 58 with breast cancer in Shaanxi province of China. *J Med Virol*. 2015 Jun;87(6):1034-40. doi: 10.1002/jmv.24142.
301. Salman, N. A., Davies, G., Majidy, F., Shakir, F., Akinrinade, H, Perumal D, Ashrafi, G. H. Association of high risk human papillomavirus and breast cancer: a UK based study. *Scientific reports* 2017;7, 43591.
302. Ghaffari H, Nafissi N, Hashemi-Bahremani M, Alebouyeh MR, Tavakoli A, Javanmard D, Bokharaei-Salim F, Mortazavi HS, Monavari SH. Molecular prevalence of human papillomavirus infection among Iranian women with breast cancer. *Breast Dis*. 2018;37(4):207-213. doi: 10.3233/BD-180333. PMID: 30124441.
303. Yu Y, Morimoto T, Sasa M, et al. HPV 33 DNA in premalignant and malignant breast lesion in Chinese and Japanese populations. *Anticancer Res* 1999; 19: 5057-5061.
304. Liu Y, Klimberg VS, Andrews NR, Hicks CR, Peng H, Chiriva-Internati M, Henry-Tollman R, Hermonat PL. Human papillomavirus DNA is present in a subset of unselected breast cancers. *J Hum Virol* 2001, 4(6):329-334.
305. Pereira Suarez AL, Lorenzetti MA, Gonzalez Lucano R, Cohen M, Gass H, Martinez Vazquez P, Gonzalez P, Preciado MV, Chabay P. Presence of human papilloma virus in a series of breast carcinoma from Argentina. *PLoS One*. 2013 Apr 25;8(4):e61613. doi: 10.1371/journal.pone.0061613.

306. Khodabandehlou N, Mostafaei S, Etemadi A, et al. Human papilloma virus and breast cancer: the role of inflammation and viral expressed proteins. *BMC Cancer* 2019;19:61.
307. Liang W, Wang J, Wang C, et al. Detection of high-risk human papillomaviruses in fresh breast cancer samples using the hybrid capture 2 assay. *J Med Virol* 2013;85:2087-92.
308. Malekpour Afshar R, Balar N, Mollaei HR, Arabzadeh SA, Iranpour M. Low Prevalence of Human Papilloma Virus in Patients with Breast Cancer, Kerman; Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018 Nov 29;19(11):3039-3044. doi: 10.31557/APJCP.2018.19.11.3039.

