

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DERMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANOGENİTAL VERRÜLÜ HASTALARDA HUMAN PAPİLLOMAVİRÜS,  
EPSTEİN-BARR VİRÜS VE SİTOMEGALOVİRÜSÜN PARAFİN DOKUDA  
MOLEKÜLER YÖNTEMLE TANIMLANMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Kübranur SORKULU EROĞLU**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Betül DEMİR**

**ELAZIĞ-2025**

**DEKANLIK ONAYI**

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

**DEKAN**

Bu tez uzmanlık tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Betül DEMİR

**Dermatoloji Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Betül DEMİR \_\_\_\_\_ Danışman

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca çalışmaktan, öğrencisi olmaktan onur duyduğum, bilgi ve tecrübesinden faydalandığım, çalışmanın her aşamasında yardımını esirgemeyen tez hocam anabilim dalı başkanı Prof. Dr. Betül DEMİR' e, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, göstermiş olduğu tüm fedakarlık, vermiş olduğu emekleri için Prof. Dr. Demet ÇİÇEK' e;

Asistanlık sürem boyunca beraber çalıştığım uzman ve asistan arkadaşlarıma, klinik hemşire ve personellerine;

Her daim bana güç veren, bu günlere gelmemi sağlayan, hayatımın her noktasında bana destek veren, her türlü fedakarlığı gösteren annem, babam, kardeşlerim ve kıymetli eşim İbrahim EROĞLU'na, her zaman varlığını yanımda hissettiğim sevgili arkadaşım Nagehan ÇEPİK' e teşekkür ederim.

**Dr. Kübranur SORKULU EROĞLU**

## ÖZET

Anogenital verrüer, hastaların anogenital bölgesinde ortaya çıkan insan papilloma virüsünün (HPV) farklı genotiplerinin neden olduğu epidermal lezyonlardır. Bu lezyonların %90'ından fazlasına HPV 6 ve HPV 11 neden olmaktadır. HPV sıklıkla cinsel yolla bulaşmaktadır. Anogenital verrüer neoplastik değişim riski taşımayan benign lezyonlardır. Bununla birlikte immünsupresif hastalarda, hem premalign (vulval, anal ve penil intra-epitelyal neoplazi) hem de malign lezyonlarla bir arada bulunabilir ya da bu lezyonlar verrü zemininde gelişebilir, nadiren de verrü olarak yanlış teşhis edilebilirler. Anogenital verrülü kişilerin yaklaşık %20'sinde cinsel yolla bulaşan başka hastalıklar da görülmektedir. Epstein-Barr virüsü (EBV), dünya çapında yetişkinlerin %90'ından fazlasını enfekte eden yaygın bir gamma herpes virüsüdür. EBV başlıca tükürük yoluyla bulaşır ancak kan veya organ nakli ve cinsel yolla da bulaş bildirilmiştir. İnsan sitomegalovirüsü (CMV), betaherpesvirinae'nin prototip üyesidir. Tüm herpesvirüsleri gibi, latent kalır ve bireyin yaşamı boyunca devam eder. CMV, vücut salgıları, kan veya organ nakli ve cinsel yolla bulaşabilir. HPV, EBV ve CMV cinsel yolla bulaşabilir ve epitel hücrelerinde latent kalabilmektedirler.

Çalışmada 2020 Ocak-2023 Temmuz tarihleri arasında anogenital verrü tanısı ile eksize edilmiş lezyonlardan elde edilen 24 adet doku örneği Fırat Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalına ait biyolojik materyaller kullanıldı.

Anagenital verrülü hasta grubuna ait 24 adet parafin gömülü doku biyopsi örneklerinde Real Time PCR ve pyrosequencing metodu ile HPV, CMV ve EBV araştırıldı. Örneklerden viral DNA eldesi için yapılan ekstraksiyonda DSP virüs patojen kiti (Qiagen, Germany) ve EZ1 Advanced (Qiagen) otomatize nükleik asit izolasyon cihazı kullanıldı.

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için SPSS versiyon 22.0 paket programı kullanıldı. Çalışmadan elde edilen değerler ortalama±SD olarak verilerek, gruplar arası karşılaştırmalar için parametrik veriler student t test ile nonparametrik olanlar ise ki kare testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Yapılan PCR analizinde hastaların 15 (%62.5)'inde HPV tespit edilirken, 9 (%37.5)'unda HPV tespit edilemedi. Kalan 15 hastanın 8 (%53.3)'inde HPV 6, 1 (%6.7)'inde HPV 16, 4 (%26.7)'ünde HPV 40 ve 2 (%13.3)'sinde HPV 87 tespit

edildi. 2 (%8.3) hastada HPV ve EBV birlikteliği mevcuttu. Hastaların 22 (%91.7)'sinde EBV tespit edilemedi. 24 hastanın hiç birinde CMV tespit edilemedi.

Sonuç olarak EBV ve CMV gibi cinsel yolla bulaşabilen enfeksiyonlar HPV enfeksiyonu gelişme riskini artırmaktadır. HPV tespit edilen hastalarda EBV ve CMV'nin birlikteliği araştırılmalıdır. Anogenital verrüler prekanseröz lezyonlarla karışabildiği veya prekanseröz lezyonlara eşlik edebildiği için dirençli hastalarda tanısal eksizyon yapılmalıdır. Çalışmanın amacı koenfeksiyonun tedaviye direli verrüler veya prekanseröz durumlara etkisinin ortaya çıkarılmasıdır. Aynı zamanda anogenital verrülerde koenfeksiyon durumlarında kansere ilerleme şüphesine dikkat çekmektir.

**Anahtar Kelimeler:** Anogenital Verrü, Human Papillomavirüs, Epstein-Barr Virüs, Sitomegalovirüs

## ABSTRACT

### **MOLECULAR IDENTIFICATION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS, EPSTEIN-BARR VIRUS AND CYTOMEGALOVIRUS IN PARAFFIN TISSUE OF PATIENTS WITH ANOGENITAL WARTS**

Anogenital warts are epidermal lesions caused by different genotypes of the human papillomavirus (HPV) that appear in the anogenital region. More than 90% of these lesions are caused by HPV 6 and HPV 11. HPV is primarily transmitted sexually. Anogenital warts are benign lesions that do not carry a risk of neoplastic change. However, in immunosuppressed patients, they may coexist with both premalignant lesions (such as vulvar, anal, and penile intraepithelial neoplasia) and malignant lesions, or these lesions may develop in the context of warts, and they can rarely be misdiagnosed as warts.

Additionally, approximately 20% of individuals with anogenital warts may also have other sexually transmitted infections. Epstein-Barr virus (EBV) is a common gamma herpes virus that infects more than 90% of adults worldwide. EBV is primarily transmitted through saliva, but transmission via blood, organ transplantation, and sexually has also been reported. Human cytomegalovirus (CMV) is the prototype member of the betaherpesvirinae. Like all herpesviruses, it remains latent and persists throughout an individual's life. CMV can be transmitted through body fluids, blood, organ transplantation, and sexually. HPV, EBV, and CMV can all be sexually transmitted and can remain latent in epithelial cells.

In the study, 24 tissue samples obtained from excised lesions diagnosed as anogenital warts between January 2020 and July 2023 were used as biological materials from the Department of Medical Pathology at Firat University Hospital.

In the group of patients with anogenital warts, viral investigations for HPV, CMV, and EBV were performed on 24 paraffin-embedded tissue biopsy samples using Real-Time PCR and pyrosequencing methods. For viral DNA extraction from the samples, the DSP virus pathogen kit (Qiagen, Germany) and the EZ1 Advanced (Qiagen) automated nucleic acid isolation device were utilized.

In the PCR analysis, HPV was detected in 15 patients (62.5%), while 9 patients (37.5%) tested negative for HPV. Among the remaining 15 patients, HPV 6 was

identified in 8 patients (53.3%), HPV 16 in 1 patient (6.7%), HPV 40 in 4 patients (26.7%), and HPV 87 in 2 patients (13.3%). Additionally, 2 patients (8.3%) had co-infection with HPV and EBV. EBV was not detected in 22 patients (91.7%), and none of the 24 patients tested positive for CMV.

In conclusion, infections such as EBV and CMV that can be sexually transmitted may increase the risk of developing HPV infections. The presence of EBV and CMV should be investigated in patients with detected HPV. Since anogenital warts can be confused with precancerous lesions or can coexist with them, diagnostic excision should be performed in resistant patients. The aim of this study is to reveal the impact of co-infection on the treatment of resistant warts or precancerous conditions. Furthermore, it highlights the suspicion of cancer progression in cases of co-infection with anogenital warts.

**Keywords:** Anogenital Warts, Human Papillomavirus, Epstein-Barr Virus, Cytomegalovirus.

## İÇİNDEKİLER

<b>DEKANLIK ONAYI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>viii</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Human Papillomavirüs ile İlgili Genel Bilgiler	3
1.1.1. Tarihçe	3
1.1.2. Epidemiyoloji	4
1.1.3. Sınıflandırma	5
1.1.4. Virüs Yapıları	7
1.1.5. Patogenez ve İmmün Yanıt	8
1.1.6. Klinik	10
1.1.7. Tanı	15
1.1.7.1. Nükleik Asit Tespitine Dayalı Yöntemler	16
1.1.7.1.1. Nükleik Asit Amplifikasyonuna Dayalı Yöntemler	16
1.1.7.1.1.1. Real-time PCR ile HPV Genotiplendirilmesi	16
1.1.7.1.1.2. HPV E6/E7 mRNA Bazlı Tarama Testleri	16
1.1.7.1.2. Sinyal Amplifikasyonu	16
1.1.7.1.3. Nükleotid Hibridizasyona Dayalı Yöntemler	17
1.1.7.2. İmmünbiyokimyasal Temelli Yöntemler	17
1.1.7.2.1. HPV Serolojisi-Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) Testi	17
1.1.7.2.2. HPV Nötralizasyon Testi	18
1.1.8. Tedavi	18
1.1.8.1. Topikal Tedaviler	18
1.1.8.1.1. Podofilotoksin %0.5	18
1.1.8.1.2. İmiquimod %5 Krem	19

1.1.8.1.3. Sinekateşin Krem	19
1.1.8.1.4. Triklorasetik Asit (TCA)	19
1.1.8.1.5. Nitrik-çinko Kompleksi	20
1.1.8.2. Ablatif Tedaviler	20
1.1.8.2.1. Kriyoterapi	20
1.1.8.2.2. Lazer Tedavisi	20
1.1.8.2.3. Elektrocerrahi	21
1.1.8.3. Cerrahi Tedavi	21
1.1.8.4. İntralezyoner Tedaviler	21
1.1.8.5. Önerilmeyen Tedaviler	22
1.1.9. Aş1	22
1.2. Epstein-Barr Virüsü ile İlgili Genel Bilgiler	25
1.2.1. Tarihçe	25
1.2.2. Epidemiyoloji	26
1.2.3. Sınıflandırma	27
1.2.4. Virüs Yapıları	27
1.2.5. Patogenez ve İmmün Yanıt	28
1.2.6. Klinik	29
1.2.7. Tanı	35
1.3. Sitomegalovirüs ile İlgili Genel Bilgiler	38
1.3.1. Tarihçe	38
1.3.2. Epidemiyoloji	39
1.3.3. Sınıflandırma	40
1.3.4. Virüs Yapıları	41
1.3.5. Patogenez ve İmmün Yanıt	41
1.3.6. Klinik	43
1.3.7. Tanı	45
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>48</b>
2.1. PCR Analizleri	48
2.1.1. HPV PCR ve Pyrosequencing	48
2.1.1.1. Çalışma Protokolü	48
2.1.2. EBV PCR	50

2.1.2.1. Çalışma Protokolü	51
2.1.3. CMV PCR	52
2.1.3.1. Çalışma Protokolü	53
2.2. İstatistiksel Analiz	54
<b>3. BULGULAR</b>	<b>55</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>58</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>64</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>77</b>



## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> HPV tiplerine göre enfeksiyonlar	14
<b>Tablo 2.</b> Anogenital verrüelerde uygulanan tedavi yöntemleri	22
<b>Tablo 3.</b> Güncel HPV aşısı çeşitleri	25
<b>Tablo 4.</b> Hastaların demografik özellikleri	56



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> HPV-PCR erime eğrisi analizi.	50
<b>Şekil 2.</b> HPV-PCR pozitif çıkan 6 numaralı hasta örneğinin dizi analizi.	50
<b>Şekil 3.</b> Kantitatif EBV-PCR çalışma sonuçları.	52
<b>Şekil 4.</b> Kantitatif CMV-PCR çalışma sonuçları.	54
<b>Şekil 5.</b> Cinsiyete göre tespit edilen HPV tipleri	56
<b>Şekil 6.</b> Yaş aralığına göre tespit edilen HPV tipleri	57



## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>2vHPV</b>	: Bivalan HPV
<b>4vHPV</b>	: Tetravalan HPV
<b>9vHPV</b>	: Nonavalan HPV
<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ACIP</b>	: Bağışıklama Uygulamaları Danışma Komitesi
<b>BL</b>	: Burkitt lenfoma
<b>CMV</b>	: İnsan sitomegalovirüsü
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>E</b>	: Erken gen bölgesi
<b>EBNA</b>	: EBV nükleer antijenini
<b>EBV</b>	: Epstein-Barr virüsü
<b>EIA</b>	: Enzim immünolojik testleri
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>EM</b>	: Enfeksiyöz mononükleoz
<b>EV</b>	: Epidermodisplazi verrüsiformis
<b>HAb</b>	: Heterofil antikor
<b>HIV</b>	: İnsan immün yetmezlik virüsü
<b>HL</b>	: Hodgkin lenfoma
<b>HPV</b>	: İnsan papillomavirüs
<b>IARC</b>	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
<b>IFA</b>	: İmmünofloresan antikor testleri
<b>L</b>	: Geç gen bölgesi
<b>LMP</b>	: Latent membran proteinini
<b>NK</b>	: Doğal öldürücü hücreler
<b>PCR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>SCC</b>	: Skuamöz hücreli karsinom
<b>VLP</b>	: Virüs benzeri partiküller

## 1. GİRİŞ

Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar (CYBE) genellikle korunmasız cinsel ilişki yoluyla edinilen hastalıklardır. CYBE'lere 30'dan fazla farklı bakteri, virüs ve parazit neden olmaktadır. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar düşük ve orta gelirli ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunudur.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) raporuna göre; her yıl, tedavi edilebilir cinsel yolla bulaşan dört enfeksiyondan biriyle yaklaşık 374 milyon yeni enfeksiyon meydana gelmektedir. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar sonucunda; pelvik inflamatuvar hastalık, infertilite, ektopik gebelik, üretral stenoz, anogenital maligniteler gibi fiziksel sorunlara ek olarak psikososyal ve ekonomik etkilere neden olmaktadır (1).

Anogenital verrüer, etkilenen bireylerin anogenital bölgesinde ortaya çıkan insan papilloma virüsünün (HPV) farklı genotiplerinin neden olduğu epidermal lezyonlardır. Bu lezyonların %90'ından fazlasına HPV 6 ve HPV 11 neden olmaktadır. HPV sıklıkla cinsel yolla bulaşmaktadır. Viral bulaş için 1.6 cinsel ilişki yeterlidir. Enfeksiyon yaygın görülür ve insanların büyük çoğunluğu yaşamları boyunca virüse yakalanır. HPV'nin bulaşması için klinik lezyonların mevcut olması gerekmez de, anogenital verrüerlerin viral yükü genellikle yüksektir ve bu nedenle bulaşmayı kolaylaştırabilir (2). Verrüerler 1-5 mm çapında verrüköz papüler lezyonlar şeklinde görülür. Düz veya pedinküllü, soliter veya multipl olabilirler. Çoklu verrüerler, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde görülür ve tedavi edilmezse daha büyük plaklar oluşturabilir. Verrüerler çoğunlukla deri rengiyle uyumludur ancak deri renginden daha hiperpigmente görünümde olabilirler. Verrüerler genellikle cinsel ilişki sırasında travmatize olan bölgelerde ortaya çıkarlar. Anal kanal verrüerleri, korunmasız anal ilişki bildiren erkeklerle seks yapan erkeklerde daha yaygındır. Bununla birlikte, perianal verrüerler her iki cinsiyette de sık görülür ve anal ilişki öyküsü olmadan da ortaya çıkabilirler (3). Anogenital verrüerler neoplastik değişim riski taşımayan benign lezyonlardır. Bununla birlikte immünesupresif hastalarda, hem premalign (vulval, anal ve penil intra-epitelyal neoplazi) hem de malign lezyonlarla bir arada bulunabilir ya da bu lezyonlar verrü zemininde gelişebilir, nadiren de verrü olarak yanlış teşhis edilebilirler. Kanama, ülserasyon ya da palpe edilebilir dermal infiltrasyon gibi atipik

bir görünüm, neoplastik değişim için klinik olarak şüphe uyandırmalıdır ve histopatolojik inceleme yapılmalıdır (4,5).

Genital verrüler için dermoskopide bazı paternler tanımlanmıştır. Mozaik paterni, plan morfolojisindeki verrülerde görülür. Merkezi normal mukoza adacıkları ile retiküler bir yapı oluşturan düzenli, kümelenmiş beyaz yuvarlak yapıları ifade eder. "Topuz benzeri" olarak adlandırılan ikinci patern, benzer çap ve uzunlukta kümelenmiş polipoid çıkıntıları içermektedir. Üçüncü patern "parmaksı" olarak adlandırılır ve farklı uzunluklarda ayrı parmaksı çıkıntılarla karakterize edilir. Bu iki patern daha çok ekzofitik ve papillomatöz lezyonlarda görülebilir. En yaygın vasküler yapılar glomerüler, noktalı ve toka damarlarını içerir. İlk ikisi en sık mozaik ve toka benzeri paternlerde görülürken, toka damarları parmak benzeri paternlerde daha sık görülür. Diğer dermoskopik bulgular arasında pigmentasyon ve hiperkeratoz varlığı bulunur (6).

Epstein-Barr virüsü (EBV), dünya çapında yetişkinlerin %90'ından fazlasını enfekte eden yaygın bir gamma herpes virüsüdür (7). EBV başlıca tükürük yoluyla bulaşır ancak kan veya organ nakli ve cinsel yolla da bulaş bildirilmiştir (8). 1997'de EBV, Endemik Burkitt lenfoma (eBL), Hodgkin lenfoma (HL) ve Nazofarenks karsinomu (NPC) ile nedensel ilişkisi nedeniyle Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (7).

İnsan sitomegalovirüsü (CMV), Betaherpesvirinae'nın prototip üyesidir. Tüm herpesvirüsleri gibi, latent kalır ve bireyin yaşamı boyunca devam eder. CMV enfeksiyonu dünya genelinde yaygın görülür ve spesifik IgG antikorlarına sahip yetişkinlerin oranı gelişmiş ülkelerde yaklaşık %60 ve gelişmekte olan ülkelerde ise %90'ın üzerine çıkmaktadır. CMV, vücut salgıları, kan veya organ nakli ve cinsel yolla bulaşabilir. Enfeksiyöz mononükleoz, konjenital CMV enfeksiyonu, transplant hastalarda son organ hastalığına neden olmaktadır (9).

HPV, EBV ve CMV cinsel yolla bulaşabilir ve epitel hücrelerinde latent kalabilmektedirler. İmmünsüpresif durumlarda reaktif olabilmeleri özelliklerinden dolayı anogenital verrüsü olan 24 hastadan alınan örneklerde koenfeksiyon olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

## 1.1. Human Papillomavirüs ile İlgili Genel Bilgiler

### 1.1.1. Tarihçe

Milattan önce 4. yüzyılda Asklepiad Hippokrates, ilk olarak kutanöz verrüleri, genital verrüleri ve serviks kanserini tanımlamıştır (10). 1842 yılında İtalyan Dr. Domenico Rigoni-Stern, serviks kanserinin rahibelerde oldukça nadir olduğunu gözlemlemiş ve cinsel yolla bulaşan bir ajanın serviks kanserinin gelişiminde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (11). 1907 yılında İtalya'da Dr. Ciuffo insan verrülerinin virüs kaynaklı olduğunu göstermiştir (12). 1933'te Richard Shope ve E. Weston Hurst papilloma virüsü keşfetmiş ve bu virüslerin bulaşıcı olduğunu ve sağlıklı tavşanlara aşılandığında verrülerin oluştuğunu tespit etmiş ve bu sayede ilk DNA virüsü keşfedilmiştir.

Papillomavirüs enfeksiyonunun kanserle ilişkisi ilk kez 1935'te Rous ve Beard'ın pamuk kuyruklu tavşan papilloma virüsünün evcil tavşanlarda deri karsinomlarına neden olduğunu göstermesiyle rapor edilmiştir (13). 1976 ve 1977'de Meisels ve Fortin, displastik lezyonları olan hastaların servikal yaymalarında bulunan koilositotik hücrelerin, bir papillomavirüs enfeksiyonunun sitopatojenik değişimini temsil ettiğini öne sürmüşlerdir. 1980 yılında Gissmann ve zur Hausen, genital verrülerden human papillomavirüs (HPV) 6'yı izole etmiştir. 1982'nin başlarında invazif olarak büyüyen üç dev anogenital verrü (Buschke-Löwenstein tümörü) biyopsisinde HPV 6 DNA'sı bildirilmiştir. 1982 yılında laringeal papillomlardan HPV 11 izole edilmiştir. 1983 yılında yapılan bir çalışmada HPV 11 prob olarak kullanılarak servikal kanser biyopsilerinden HPV 16 olarak isimlendirilen yeni bir HPV DNA'sı ilk kez izole edilmiştir. 1984 yılında serviks kanseri biyopsilerinden ve çeşitli serviks kanseri türevi hücre hatlarından yeni bir HPV tipi olan HPV 18 DNA'sı izole edilmiş ve kısmen karakterizasyonu yapılmıştır (12). Zur Hausen ise serviks kanseri hastası olan bir kadından alınan örneklerin %70'inin HPV 16 veya HPV 18 DNA'sı içerdiğini ortaya koymuştur (11). 1985 yılında serviks kanserinde E6 ve E7 genlerinin seçici transkripsiyonu ve viral DNA'nın konak hücre DNA'sına entegrasyonu sırasında meydana gelen spesifik delesyonları tespit edilmiştir. 1990 yılında E6 proteininin p53 ile etkileşime girerek gen yapısını bozduğu ve 1992 yılında E7'nin Retinablastom (Rb) geni ile etkileşime girerek Rb'nin işlevini bloke ettiği

ortaya çıkarılmıştır. 1993 yılında yapılan çalışmada transgenik hayvanlarda tümörlerin indüklenmesi bu genlerin onkojenik potansiyelini açıkça göstermiştir (12). Dr. Zur Hausen 2008 yılında serviks kanserlerine neden olan HPV tiplerinin keşfinden dolayı Nobel Tıp Ödülü almıştır (11).

### **1.1.2. Epidemiyoloji**

Anogenital HPV enfeksiyonu dünyada en sık görülen cinsel yolla bulaşan viral enfeksiyondur. Genel prevalansı dünya genelinde bölgesel olarak %1-5 civarındadır (14). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde, HPV enfeksiyonunun genel prevalansının yaklaşık %40 olduğu tahmin edilmektedir. Hastalıkla ilişkili HPV enfeksiyonunun insidansı kadınlar ve erkekler arasında sırasıyla 6.1-6.9 milyondur. Her yıl ergenlerin de dahil edildiği yaklaşık 13 milyon kişinin virüsle enfekte olduğu saptanmıştır (15). Yeni enfeksiyonların kabaca yarısı 15-24 yaş arası genç yetişkinlerde meydana gelmekte olup HPV öncelikle anal ve genital temasla, nadir durumlarda dikey geçiş veya otoinokülasyon yoluyla yayılan oldukça bulaşıcı bir virüsdür. Bulaşımında risk faktörleri korunmasız seks, cinsel yolla bulaşan hastalık birlikteliği, özellikle HIV ile enfekte olan hastalardaki immünsüpresyon, oral kontraseptif ve sigara kullanımınıdır. HPV ile enfekte bir kişiyle korunmasız cinsel ilişki sonucu bulaşma riski yaklaşık %75 olup, cinsel açıdan aktif bireylerde yaşam boyu anogenital verrü gelişme riski %50 olarak tespit edilmiştir (16).

Farklı anatomik bölgelerdeki epitel hücrelerini enfekte eden 200'den fazla insan HPV türü tanımlanmıştır. Genital mukoza epitelini enfekte eden 51 farklı HPV tipi mevcuttur. Bunlardan yaklaşık 14'ü serviks kanseriyle ilişki açısından yüksek riskli olarak sınıflandırılmıştır (17). HPV tiplerinin prevalansı ve dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılık gösterir. Yapılan bir çalışmada dünya çapında 30.848 invazif serviks kanserinde HPV tipleri coğrafi bölgeye ve histolojik tipe göre farklılıklar göstermiştir. Bu virüs gelişmekte olan ülkelerde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Dünya çapında serviks kanseri kadınlarda en sık görülen ikinci kanser türü olup çok sayıda ölüme sebebiyet vermektedir (18). 2020 yılında dünya çapında tahminen 604.000 kadına serviks kanseri teşhisi konmuş ve yaklaşık 342.000 kadın hastalıktan ölmüştür (19).

15-28 yaş arası ergen ve genç yetişkin erkeklerdeki cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların %49.5'ini oluşturur. Her yıl erkekler arasında 16.500'den fazla HPV ile ilişkili kanser teşhis edilir. HPV ABD'de erkeklerde görülen penis kanserinin %60'ından ve anal kanser vakalarının %90'ından sorumlu tutulur. Erkeklerin HPV ile enfekte olma olasılığı kadınlara göre üç kat daha fazladır. Ancak kanser vakalarının gelecekte kadınlarda daha fazla görülmesi beklenmektedir. HPV erkeklerde kadınlara göre daha fazla asemptomatik seyretme eğilimindedir. Bu da popülasyonda HPV'nin bulaşını daha yaygın hale getirir (20). HPV serviks, vajina, vulva, penis, anüs, oral mukoza, orofarinks ve larinks tümörleri dahil olmak üzere tüm kanserlerin yaklaşık %4.5'ine neden olur (21). HPV 16 ve 18 tüm invaziv servikal skuamöz hücreli karsinom (SCC)'nin sırasıyla yaklaşık %55 ve %15'inden sorumlu tutulmuştur. Ayrıca, orofarinks kanserlerinin %10-90'ı, anal bölge tümörlerinin yaklaşık %85'i, vulvar/penil tümörlerin %50'si ve vajinal tümörlerin %70'i HPV enfeksiyonu ile ilişkili bulunmuştur. HPV enfeksiyonuyla ilişkili serviks dışı anatomik bölgelerdeki kanserlerin neredeyse tümünde HPV 16'nın tespit edilmesi ise dikkat çekicidir (22). Gelişmiş ülkelerden elde edilen veriler genital verrü enfeksiyonlarının yıllık görülme sıklığının %0.1-0.2 olduğunu ve sıklıkla ergenlik ve genç yetişkinlik yaşlarında meydana geldiğini gösterir (23). HPV 6 ve 11 her iki cinsiyette de genital verrülerin %90'ından fazlasından sorumludur ve rekürren respiratuvar papillomatozis gelişimi ile de ilişkili bulunmuştur. Düşük riskli olarak sınıflandırılmasına rağmen HPV 6 serviks, vajina, vulva, penis, orofarinks dahil olmak üzere birçok kanserde tanımlanmıştır (22). Normal sitolojiye sahip kadınlarda HPV enfeksiyonunun küresel prevalansı %11-12 civarında olup, en yüksek prevalanslar Afrika (%24), Doğu Avrupa (%21) ve Latin Amerika'da (%16) görülür. Maksimum HPV prevalansı oranları 25 yaşın altındaki kadınlarda gözlenir ve birçok popülasyonda ileri yaşlarda azalır (23).

### **1.1.3. Sınıflandırma**

Papillomaviridae ailesi 7. Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi tarafından taksonomik bir birim olarak belirlenmiştir. Papillomaviridae ailesi, boyutları 5-8.5 kilobaz (kb) arasında değişen dairesel çift sarmallı DNA genomuna sahip çeşitli virüs gruplarından oluşur. Balıklarda, sürüngenlerde ve birçok memelide genetik olarak farklı papillomavirüs tipleri tanımlanmıştır. Papillomaviridae ailesi

içinde sınıflandırma geleneksel olarak nükleotid sekans özdeşliğine dayanır. Spesifik olarak viral L1 açık okuma çerçevesinin nükleotid ikili özdeşliği bu sınıflandırmanın temelini oluşturur (24).

Papillomaviridae ailesinde 12 cins yer alır. Bunlar alfa, beta, gamma, mu ve nu cinsleri ile bunların dışında kalan ve hayvan papilloma virüslerini oluşturan yedi cinsi içerir. Alfa papillomavirüs cinsi en büyük gruptur. Mukozayı enfekte eden tipler ile deride yaygın verrülere sebep olan kutanöz tipleri içerir. Bu virüsler 50-55 nm çapında zarfsız, çift sarmallı, ikozahedral nükleokapsitli ve proteinle çevrili DNA genomunu içerir (25). Alfa papillomavirüsler kanserlerle ilişkilerine göre yüksek riskli ve düşük riskli olarak sınıflandırılır. Düşük riskli HPV'ler (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81) kutanöz enfeksiyonlara neden olur. Yüksek riskli HPV'ler (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66) anogenital ve orofaringeal kanserlerle ilişkilidir. Yüksek riskli HPV enfeksiyonları cinsel açıdan aktif genç kadınlarda ve erkeklerde yaygındır ve genellikle immün sistem tarafından yok edilir ancak latent HPV enfeksiyonu olarak da kalabilirler. Tedavi edilmeyen bazı hastalarda yüksek riskli HPV enfeksiyonları invaziv kansere ilerleyebilir. Diğer alfa papillomavirüsler ise sadece iyi huylu kutanöz enfeksiyonlara neden olur (26). Beta HPV virüsü ise ilk olarak plan verrülerde, maküler, kırmızı, kahverengi veya renksiz lezyonlarda ve epidermodisplazi verrüsiformis (EV)'li hastaların kutanöz SCC'lerinde tespit edilmiş ve başlangıçta EV-HPV'ler olarak adlandırılmıştır. EV'deki SCC, özellikle HPV 5, 8,14, 20 ve diğer birkaç HPV tipinin çoklu genom kopyalarını barındırır. 2009 yılında HPV 5 ve 8, IARC tarafından EV hastalarında "muhtemelen kanserojen" olarak sınıflandırılmıştır. EV ile ilişkili SCC'lerin birçoğunda viral transkriptler tanımlanmıştır. Kutanöz SCC, EV'li hastalarının %30-60'ında, yaşamın 2-4. dekadlarda, benign deri lezyonlarının başlangıcından 10-30 yıl sonra ve sıklıkla derinin güneşe maruz kalan bölgelerinde lokalize olur. Genel popülasyonda, kutanöz SCC'de beta HPV DNA prevalansı EV'dekinden daha düşüktür. Bu pozitif tümörlerde, tümör biyopsilerindeki viral yük hücre başına bir genomdan daha azdır. Buna ek olarak transkriptom dizilimi EV ile ilişkili olmayan SCC'lerin hiçbirinde papillomavirüs ekspresyonunu tanımlayamamıştır. Bu da beta HPV'nin kutanöz SCC'de aktif olmadığını göstermektedir. Dolayısıyla, tümörün devamlılığı için transkripsiyonel olarak aktif HPV DNA'sının gerekli olduğu alfa cinsi HPV ile ilişkili kanserlerin aksine, genel

popülasyondaki SCC'lerde malign fenotipin devamlılığı için bir beta HPV'nin varlığının zorunlu olmadığını ortaya koymuştur. Dolayısıyla SCC'lerde beta HPV'lerin rolü, kanserin sürdürülmesinden ziyade başlatılmasıyla ilişkilendirilmiştir. Prekanseroz aktinik keratozda beta HPV DNA prevalansı SCC'lerden daha yüksektir ve daha yüksek HPV DNA yükleri (50 kopya/hücreye kadar) SCC gelişiminin erken evrelerinde beta HPV'lerin karsinojenik rolü ile uyumlu bulunmuştur (27).

#### 1.1.4. Virüs Yapıları

Papillomaviridae ailesine ait HPV'ler zarfsız virüslerdir. Çapları 50-60 nm arasında olan ikozahedral bir kapside sahiptirler ve bunun içinde 7906 baz çift (bp)'lik histonla ilişkili dairesel bir viral DNA genomu içerirler. HPV genomunun düzenlenmesi ve işlevi papillomaviridae ailesi genelinde aynı kalmaktadır. Erken bölge, geç bölge ve kodlanmayan düzenleyici bölge yani uzun kontrol bölgesi olarak bilinen üç ana bölgeye ayrılmaktadır. "E" ile gösterilen erken bölge, virüs genomunun %50'sinden fazlasını kaplar ve E1, E2, E6, E7, E4 ve E5 gibi altı açık okuma çerçevesini kodlar. "L" ile gösterilen geç gen bölgesi, virüs genomunun neredeyse %40'ını kapsar ve L2 ve L1 açık okuma çerçevelerinden oluşur. İkincisi sırasıyla yapısal proteinleri ve majör ve minör kapsid proteinlerini kodlar. Genomun yaklaşık %10'unu kapsayan uzun kontrol bölgesi kodlanmayan bir bölgedir. Uzun kontrol bölgesi, konakçı ve viral transkripsiyon faktörleri için replikasyon orijinini ve tanıma bölgelerini içerir. E1 viral genom replikasyon olayında merkezi bir rol oynar. E1 replikasyon orijininin açılması ve replikasyon çatallarının ilerlemesi için kritik öneme sahip olan içsel ATPaz ve 3'-5' helikaz aktivitelerine sahiptir. E2 hem replikasyon hem de transkripsiyon süreçleri için gerekli olan bir proteindir. E2'nin birincil işlevi E1'i replikasyon kaynağına bağlamaktır. Konak hücreden replikasyon proteinlerini replikasyon kaynağına almak için birlikte çalışırlar. Yüksek riskli HPV E2 proteininin N-terminali korunmuş işlem alanı, apoptozu indükleyebilir. Ayrıca, bromodomain protein 4'ü bağlayarak HPV genomunun ayrışan mitotik kromozomlarla entegrasyonunu teşvik eder. E4 proteini, L1 ve L2 genlerinin ekspresyonundan önce meydana gelen geç faz ekspresyonu ile karakterize edilen bir fosfoproteindir. Yüksek E4 seviyeleri G2 fazında hücre döngüsünün durmasını tetikler. E4 yeni oluşan virionların serbest bırakılması için gerekli olan sitokeratinlerin düzenlenmesinde temel

bir rol oynar. E5 proteini epidermal büyüme faktörü reseptörü ile etkileşime girerek hücrelerin proliferatif aktivitesini artırır. E5 virüsün CD8 T hücreleri tarafından tanınmasını azaltarak bağışıklık yanıtından kaçınılmasını sağlar. E6 ve E7 proteinleri ise hücrel transformasyonun indüklenmesi ve sürdürülmesinden sorumludur. E6 bir onkoproteindir. Proteolitik yolak aracılığıyla p53 degradasyonunu teşvik ederek hücrelerin G1/S ve G2/M kontrol noktalarını atlatarak kontrolsüz çoğalmasını sağlar. E7 proteini Retinoblastomu bağlayarak hücrelerin S fazına programlanmamış şekilde yeniden girmesine neden olur. L1 ve L2 proteinleri viral kapsidi oluşturur ve sırasıyla majör kapsid proteini ve minör kapsid proteini olarak bilinir. Viral yaşam döngüsünün geç evresinde sitoplazmada sentezlenir, epitel hücrelerinin çekirdeğine aktarılır ve serbest bırakılırlar. Burada viral genomla birleşerek yeni virionlar oluştururlar. L1 kapsid yapısını oluşturabilmekle birlikte, L2 kapsidin stabilitesini artırır ve virüsün giriş fazına izin verir (28). L1 bölgesi yeni virüslerin tanımlanmasında kullanılır. Yeni bir papilloma virüs izolatu, L1 bölgesindeki DNA dizisinde mevcut papilloma virüslerden %10'dan fazla farklılık taşıyorsa yeni bir papilloma virüs olarak tanımlanır. %2-10 arasındaki farklılık veya %2'den az çeşitlilik gösteriyorsa alt tip olarak adlandırılır (25).

### **1.1.5. Patogenez ve İmmün Yanıt**

Human papillomavirüsler hem mukozal hem de kutanöz çok katlı skuamöz epiteli enfekte eder ve tercihen mikrotravmalar yoluyla bazal tabakanın mitotik olarak aktif hücrelerini hedef alırlar. Viral replikasyon süreci, virüsün konakçı hücreye girmesinden kısa bir süre sonra başlar. Bazal epitel hücrelerinde, HPV'ler çekirdeklerin içinde epizomlar olarak kurulur ve DNA replikasyonu için gerekli olan erken proteinlerin ekspresyonu meydana gelir (22). Bazal hücreler virüs genomlarını içerir ancak virüs partiküllerini içermez. Enfekte hücreler epitel yüzeyine doğru göç edip farklılaştığında viral ara ve geç gen ekspresyonu başlar, virüs genom kopya sayısı artırılır ve virüs partikülleri oluşur. Bu süreç viremi, virüs kaynaklı hücre ölümü ve inflamasyon olmaksızın gerçekleşir. Bu da virüsü konakçı immün sistemi için neredeyse görünmez hale getirir (21). HPV ile ilişkili yüksek dereceli servikal neoplazi gelişimi sırasında, virüs replikatif yaşam döngüsünün tamamını azaltır. L1 protein ekspresyonu da azaldığı için olgun viryonların üretimi azalır. Epizomal virüs

replikasyonundan bu geçiş çoğunlukla, virüs konağın hücresel DNA'sı ile entegre olduğunda E2 açık okuma çerçevesinin bozulmasıyla E2 proteininin işlev kaybının bir sonucu olarak gerçekleşir. E2 proteini HPV E6 ve E7 onkogenlerinin transkripsiyonunu negatif olarak regüle eder ve azalmış E2 fonksiyonu E6 ve E7'nin ekspresyonunu artırır (17). E6 ve E7 proteinleri, p53'ü ve retinoblastomu etkisiz hale getirerek kontrolsüz hücre proliferasyonu ve tümör büyümesine neden olur (29). HPV'nin konak hücrelere entegrasyonu hücre enfeksiyonuna ve koilosit adı verilen değişmiş ve atipik morfolojiye sahip keratinositlerin ortaya çıkmasına neden olur. Eksantrik olarak konumlanmış küçük çekirdekler içerirler ve hücreler artmış bir hacme sahiptir. Ek olarak, perinükleer karakteristik bir halo görülür. Artmış epitel hücre hacmi, papillomlar, parakeratoz ve hiperkeratoz görünümünün yanı sıra granüler hücre tabakasının kaybıyla birlikte belirgin bir akantozu sahiptir. Dermis, tromboze kapillerler ile oldukça vaskülarize olmuştur. Virionların bir araya gelmesi epitelin yüzeysel tabakasında gerçekleşir ve buradan kendi dokularını veya yabancı komşu dokuları enfekte etmek üzere elimine edilirler. Anogenital verrü epitelyal yapı üzerindeki bu viral etkiler nedeniyle ekzofitik bir fenotipe sahiptir (16).

Enfekte eden papillomavirüs tipine karşı bağışıklığın henüz gelişmediği immünolojik olarak naif bir konağın enfeksiyonunu takiben lezyon oluşumu oldukça hızlı bir şekilde gerçekleşebilir ve enfeksiyondan sonraki 4. veya 5. haftada görünür lezyonlar ortaya çıkar. Bununla birlikte enfeksiyöz titreler düşük olduğunda süreç üç aydan fazla sürer ve insanlarda yapılan çalışmalarda lezyon oluşumu 3-18 ay arasında değişkenlik gösterir. Düşük enfeksiyon titreleri az sayıda enfekte bazal hücre ile sonuçlanır ve bu enfekte hücrelerin bir lezyon oluşturmak için enfekte olmayan komşularıyla rekabet içinde genişlemesi gerektiğinden, elle hissedilebilir lezyonların görülmesi uzun sürebilir. Buna karşın, yüksek titreli aşılama çok sayıda enfeksiyon odağına ve haftalar içinde lezyonların ortaya çıkmasına neden olur. Bu durum, yakın fiziksel temasla bulaşan genital verrüler neden poliklonal dolaylı olarak bulaşan plantar verrülerin ise neden klonal olduğunu açıklayabilir (30).

Human papillomavirüs enfeksiyonu latent, prodüktif veya nonprodüktif olabilir. Prodüktif HPV enfeksiyonu sırasında düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlar veya servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) 1 gibi düşük dereceli servikal anormallikler taramada klinik olarak tespit edilebilir. Ancak genellikle geçicidir ve

tedavisiz 1-2 yıl içinde geriler. Yeni edinilen HPV enfeksiyonlarının çoğunluğu (~%90) benzer şekilde 1-2 yıl içinde tespit edilemez hale gelir. HPV enfeksiyonlarının az bir kısmı 1 yıldan sonra kalıcı olarak tespit edilir ve tedavi edilmezse potansiyel olarak kansere ilerleme riskini artırır (31). HPV 16 en kalıcı türdür ancak 1 yıla kadar enfeksiyonların %40'ı iyileşir veya preneoplastik yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon veya CIN2/3 nedeniyle tedavi edilir. Bu oran 36 ayda %85'e ulaşır. Çoğunlukla genital verrülele nadiren kanserle ilişkilendirilen HPV 6 için ise bu oranlar sırasıyla %66 ve %98'dir (32). HPV'nin doğal enfeksiyonunun, viral replikasyonun immün sistemi tarafından kısıtlandığı ve HPV gen ekspresyonunun sessiz durumda olduğu bir latent periyodu vardır (33). İmmün yetmezlikli hastalarda HPV prevalansının, latent enfeksiyonların reaktivasyonundan kaynaklandığı düşünülür. Latent enfeksiyonun reaktivasyonu genellikle görünür bir lezyonun yeniden ortaya çıkmasıyla ya da ortaya çıkmadan üretken bir enfeksiyonun oluşmasına izin verir. Düşük riskli HPV tiplerinin (HPV 6, 11) neden olduğu genital papillomların tedavi sonrası reaktivasyon oranı genital dokularda latent enfeksiyonların oluşabileceğini düşündürür. Hastaların klinik olarak normal dokularındaki viral DNA ve RNA transkriptlerinin reaktivasyonu nükslerden sorumlu potansiyel bir faktördür (34).

#### **1.1.6. Klinik**

Kutanöz verrülele kişiden kişiye doğrudan veya kontamine yüzey ve nesnelere temas yoluyla dolaylı olarak bulaşır. Epidermal bariyerdeki mikrotravmalar bulaşmayı kolaylaştırır. Reenfeksiyon ve otoinokülasyon, özellikle çocuklarda, önemli yayılma yollarıdır. Parmak emme ve çiğneme yoluyla ağız bölgesine bulaşım, temas yoluyla çocuklar arasında ve küçük sıyrıklar yoluyla elden diğer bölgelere bulaşım şeklidir. Verrülele genellikle kendiliğinden kaybolur ancak bazen tedaviye dirençli olabilir. Tedaviden sonra lezyonların yeniden oluşması sıklıkla virüsün orijinal verrüyü çevreleyen deride kalıcılığına bağlıdır (35). HPV enfeksiyonlarındaki klinik ve histolojik özellikler bireysel immüniteye, tutulum bölgesine ve HPV tipine göre değişir (36). Ellerde ve yüzde yaygın verrülelele genellikle ekzofitik, çok sayıda, verrüköz papüler lezyonlar şeklidir. Farklı travma bölgelerinde ve aynı zamanda eller, dirsekler ve dizler gibi sıklıkla ovalanan ve aşındırılan diğer deri yüzeylerinde

de çeşitli klinik bulgular görülür. Küçük papüllerden büyük, hiperkeratotik, fissürlü karnabahar benzeri lezyonlara kadar değişirler. Yaygın verrüer genellikle HPV 2'den kaynaklanırken, avuç içlerinde görülen daha küçük, endofitik, noktasal lezyonlar HPV 4 ile ilişkilidir (Tablo 1). Derinin nem ve soğuk nedeniyle kronik olarak yumuşadığı balıkçılarda ve kasaplarda HPV 7 ile ilişkili verrüer yaygındır. Plantar verrüer HPV1, HPV2 ve HPV4 ile ilişkilidir. 10-14 yaşlarında yaygındır ve nadiren 5 yaşından önce ortaya çıkar. Bulaş ise genellikle çıplak ayakla yapılan aktiviteler sırasında olur. Yüzme de derinin maserasyonuna neden olarak ek bir bulaşma riski oluşturur. Derin plantar verrüer ise ayakların ağırlık taşıyan bölgelerinde veya basınç noktalarında meydana gelir. Derin plantar verrüer ağırlıdır ve genellikle verrünün yan kısmına baskı uygulandığında hassaslaşır. Tedavi cevapları ise genellikle iyidir (35,37).

Anogenital verrüer nemli yüzeylerde, küçük papüler veya büyük karnabahar benzeri lezyonlar şeklindedir. Labia gibi kuru yüzeylerde kutanöz verrüere benzeyen keratotik lezyonlar gibidir. Renkleri beyazdan pembe, kırmızı veya kahverengiye kadar değişebilir. Anogenital verrüer ağırlıklı olarak cinsel ilişki sırasında travmatize olan bölgelerde bulunur. Sünnetsiz erkeklerde glans penis, koronal sulkus ve sünnet derisinin iç kısmı bu bölgeler arasında yer alırken, sünnetli erkeklerde enfeksiyon daha az görülür ve genellikle penis shaftı ile sınırlıdır. Kadınlarda labia, klitoris, vulva, vajina ve ektoserviks enfekte olabilir ve vulvar ve vajinal verrüer genellikle açıkça görülebilir. Her iki cinsiyette de HPV pubis, perine, üretra ve perianal bölgede tespit edilebilir. İntraanal verrüer yaygın olmasa da sıklıkla anal ilişkinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Anogenital verrüerlerin çoğunluğu HPV 6 ve 11 ile ilişkilidir ancak HPV 42 ve 81 gibi diğer düşük riskli HPV tipleri de yaygındır. Yüksek riskli HPV de tespit edilebilir ve yaklaşık %10-15'i birden fazla HPV tipi içerebilir (35). Anogenital verrüer oldukça bulaşıcıdır. Enfekte partneri olan bireylerin yaklaşık %65'inde 3 hafta-8 ay içinde anogenital verrü gelişir (14). Anogenital verrü ile ilişkili risk faktörleri korunmasız cinsel ilişki, cinsel yolla bulaşan hastalıklara sahip olmak, immünoşüpresyon (özellikle HIV enfeksiyonu), oral kontraseptif kullanımı ve sigara olarak bildirilmektedir. Çeşitli çalışmalar prezervatif kullanımının viral bulaşmayı azalttığını göstermiştir. Anogenital verrüer genellikle asemptomatiktir ancak bazen kaşıntı, yanma, giysilerle temas veya cinsel ilişki sırasında kanama, idrar yapma veya dışkılama zorluğuna neden olabilir. Erkeklerde lezyonlar penis çevresinde veya hatta

intraüretral olarak görülür ve dizüri, hematüri veya aktif kanama ile ilişkili olabilir. Hastanın değerlendirilmesinde cinsel yolla bulaşan hastalıklar ve HIV için tarama yapılmalı cinsel yolla bulaşan hastalıklar için danışmanlık verilmelidir. Ayrıca olası immünsüpresyon için bazı tetkikler yapılmalıdır (16).

Dev anogenital verrüler komşu dokulara infiltrasyon eğilimi gösteren, yüksek nüks oranı ve malign transformasyon potansiyeli olan ekzofitik karnabahar benzeri büyüme lezyonu ile karakterize nadir bir enfeksiyondur. Nüks ve malign transformasyon fazladır. İmmün yetmezlikler, kötü hijyen, birden fazla cinsel partner ve kronik genital enfeksiyonlar gibi çoklu risk faktörleriyle ilişkilidir. Vakaların %90'ından fazlası HPV 6 ve 11 ile ilişkilidir. Ayrıca sağlam bir bazal membran, polaritenin korunması ve lenf nodlarında lenfatik invazyon veya metastazın olmaması ile SCC'den ayrılır (38).

Bazı HPV tipleri epitelial kanser riskinde artış ile ilişkilidir. Bunlar karsinogenik potansiyellerine göre düşük riskli ve yüksek riskli tipler olarak ikiye ayrılmıştır (36). HPV ile ilişkili prekanseröz lezyonlar intraepitelial neoplazi olarak ortaya çıkar. CIN, vulval intraepitelial neoplazi, vajinal intraepitelial neoplazi, penil intraepitelial neoplazi ve anal intraepitelial neoplazi gibi bölgeye göre adlandırılırlar. Uygun müdahale genellikle invaziv kansere ilerlemeyi önleyebilir. Klinik olarak, kanser öncesi servikal lezyonlar genellikle bir kolposkop yardımıyla ve nükleer materyal içeren subklinik lezyonları ortaya çıkarmak için %5 asetik asit uygulamasıyla görülebilir ve yoğun beyaz retiküler alanlar olarak görülür. Serviksten tahta bir spatula ile kazınan, sabitlenen ve mukokutanöz epitel hücrelerindeki displastik değişiklikleri ortaya çıkarmak için uygun şekilde boyanan deskuame hücrelerin mikroskopik incelemesi 1940'larda Papanicolaou tarafından geliştirilmiştir. Bu teknik 1990'lardan itibaren tarama programlarına dahil edilmiştir

Serviks kanserlerinin çoğu, ektoserviksin skuamöz hücreleri ile endoservikal kanalın kolumnar, glandüler hücreleri arasındaki bağlantı olan transformasyon zonunda gelişir. Yüksek riskli HPV enfeksiyonlarının erken edinilmesi, transformasyon zonunda meydana gelen metaplastik değişiklikleri bozabilir ve gelecekte serviks kanseri riskini artırabilir. Serviks kanserlerinin yaklaşık %80-90'ı SCC ve %10-20'si adenokarsinomdur. Son yıllarda adenokarsinomların yüzdesinin arttığı bildirilmiştir. Bazen serviks kanserleri her iki tipin de özelliklerine sahiptir ve

adenoskuamöz olarak adlandırılır. Erken evre SCC asemptomatik olabilir ancak daha sonraki dönemlerde anormal vajinal kanama ve akıntı, pelvik ağrı veya cinsel ilişki sırasında ağrıya neden olabilir. Belirli yüksek riskli HPV ilişkili oran farklı ülkelerde farklı olsa da, serviks kanserlerinin %99'undan fazlası HPV DNA'sını içerir ve demografik, etnik ve sosyo-ekonomik farklılıklar gösterir. 30.000'den fazla serviks kanseri üzerinde yapılan çalışmada, HPV 16, 18, 58, 33, 45, 31, 52, 35, 59, 39, 51, 56'nın invaziv serviks kanseri ile ilişkili en yaygın tipler olduğu ve HPV 16'nın dünya çapında %50, HPV 16 ve 18'in ise %70'ten fazlasını oluşturduğu gösterilmiştir. HPV 18 ve 45 daha agresif seyirli adenokarsinomlarla ilişkilidir. CIN'de olduğu gibi HPV DNA da tüm derecelerdeki premalign anal lezyonlarda gösterilebilir. Düşük dereceli AIN'de %50'nin üzerinde birden fazla tip bulunur. Kabaca üçte biri HPV 16, üçte biri HPV 6 ve kalanı HPV 18, 33, 58 ve 45'tir. Son yıllarda özellikle homoseksüel erkeklerde ve HIV pozitif bireylerde anal kanserlerde önemli artış dikkat çekmektedir. Anal SCC'de serviks kanserinden daha yüksek bir oranda HPV 16 tespit edilebilir. HPV 16 %70'in üzerinde, HPV 18 yaklaşık %5'te bulunurken, bunu HPV 33, 6 ve 31 takip eder. Anogenital kanserlerle ilişkili risk faktörleri arasında sigara içmek, anal ilişki, HPV'ye ilk maruz kalma yaşı ve cinsel partner sayısı, immünite ve genetik yatkınlık, uzun süreli oral kontraseptif kullanımı ve anogenital verrü geçmişi yer alır.

Penis kanseri sıklıkla 50 yaşın üzerindeki erkeklerde görülür ve yaklaşık %50'si HPV ile ilişkilidir. Çoğu SCC'dir ancak birkaçı Buschke-Lowenstein tipi verrüköz karsinomlardır. Glans peniste ağrısız, düz mavi-kahverengi, kırmızı lezyonlar veya verrüköz papüller görülür. Akıntı ve kanama görülebilir. Vulva kanseri dünyadaki jinekolojik kanserlerin %3'ünü oluşturmaktadır. Vulva kanseri son yıllarda 20 yaşın altındaki kadınlarda da sıklıkla görülmeye başlamıştır. Genç kadınlarda vulva kanseri, genellikle HPV 16 olmak üzere kalıcı yüksek riskli HPV ile ilişkilidir (35).

Oral papillomlar oral mukozanın en yaygın benign tümörleridir. Stratum korneuma sahip olan dil ve sert damakta verrüler oluşabilir. Yaygın verrüler parmak emme ve tırnak yeme yoluyla ellerden dudaklara yayılabilir ve lezyonlarda kutanöz HPV tipleri tespit edilebilir. HPV'nin neden olduğu oral lezyonlar HPV 2 ile ilişkili yaygın verrüler, HPV 13 ve 32 ile ilişkili multiple yumuşak papüllerle seyreden fokal epitelyal hiperplazi (Heck hastalığı) ve bukkal mukozada multiple lezyonlar şeklinde görülen oral florid papillomatozistir. Asetik asit uygulamasından sonra normal

yetişkinlerin ağız mukozasında subklinik lezyonlar tespit edilebilir ve ilişkili HPV tipleri genellikle genital sistemde bulunanlarla aynıdır. Laringeal papillomatozis hem çocuklarda hem de yetişkinlerde görülür. Juvenil başlangıçlı rekürren respratuvar papillomatozis çocuklarda larinksin en yaygın benign tümörüdür. Rekürren respratuvar papillomatozis doğum sırasında, servikte HPV enfeksiyonu veya genital bölgede verrüleri olan anneden bulaşır. HPV 11 ve HPV 6 rekürren respratuvar papillomatozisten sorumlu tutulmuştur. Ekzofitik verrü lezyonlarının varlığı ile karakterizedir. Rekürren respratuvar papillomatozis hayatı tehdit edici olabilir. Nüksleri sık, morbiditesi yüksektir. Cerrahi müdahale gerekli ve hayat kurtarıcı olabilir (35). Rekürren respratuvar papillomatozis cerrahi müdahaleye rağmen nüks eden larinksin iyi huylu papillomları ile ilişkilidir (34).

Orofarengeal SCC'lerin yaklaşık %33'ünün HPV enfeksiyonu ile ilişkilidir. Büyük çoğunluğunu (%85-96) HPV 16 enfeksiyonları oluşturur. HPV (+) orofarengeal SCC'ler HPV (-) formlara göre daha genç yaşta görülme, daha erken teşhis edilme ve tedavilere daha iyi cevap verme eğilimindedir. HPV 16'nın tespiti prognostik gösterge olarak kabul edilebilir (39).

**Tablo 1.** HPV tiplerine göre enfeksiyonlar

<b>Klinik bulgu</b>	<b>HPV tipleri</b>
<b>Deri lezyonları</b>	
Yaygın verrüler	2, 4, 57
Plantar verrüler	1, 2, 4
Epidermodysplazia verruciformis	3, 5, 8, 9,10, 14,17,20-25
<b>Mukozal lezyonlar</b>	
Anogenital verrüler	6, 11 (40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81, 89)
Premalign ve malign anogenital lezyonlar	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52,56, 58, 59,68, 73, 26, 53, 64, 65, 66, 67, 69, 70, 73, 82
<b>Ağız boşluğu lezyonları</b>	
Oral papillom	2,13, 32
Fokal hiperplazi	16 (18)
<b>Laringeal lezyonları</b>	
Laringeal papillom	6,11

### 1.1.7. Tanı

Human papillomavirüs enfeksiyonlarının tanısında moleküler ve moleküler olmayan teknikler kullanılır. Çıplak gözle muayene, kolposkopi, sitoloji ve histoloji gibi moleküler olmayan tekniklerdir. Çıplak gözle muayenede asetik asit veya lugol iyot kullanarak ışık kaynağı altında serviks incelenir. Asetik asit, HPV içeren epitel hücrelerinin beyazlamasını sağlarken, iyot ise hücrelerin koyulaşmasına yol açar. Kolposkopi bir mikroskop ve ışık yardımıyla serviksin görüntülenmesini sağlar. Servikal kolposkopinin amacı, transformasyon zonunda, serviks üzerinde ya da servikal kanalda bulunan lezyonların tanımlanması, prekanseröz serviks lezyonlarının varlığının araştırılması ve anormal pap-smear sonucunda biyopsi yapılacak alanların tespit edilmesidir. Kolposkopi uygulanmadan önce servikse %3-5'lik asetik asit uygulanarak, hücrelerin sitoplazmasında dehidratasyon oluşturulur. Benign, metaplastik veya malign epitelyum gibi daha fazla nükleer yoğunluğu olan bölgeler, pembe veya kırmızı yerine beyaz (asetobeyaz) olarak görünür. Nükleer dansitenin arttığı, yüksek dereceli CIN lezyonlarında epitel, diğer lezyonlarda görüldüğünden daha opak olarak gözlenir. Sitolojik yöntem, hızlı ve kolay tanıma olanağı sağlar, dokuya zarar vermez ve tekrar tekrar hücre örneği alabilme imkanı sağlamaktadır. Sitoloji, servikal kanser için bir tarama aracı olarak kabul edilmiş bir tarama testi olup diğer tekniklerle birlikte (kolposkopi ve histoloji) uygulanmalıdır. Viral enfeksiyonun varlığını gösteren sitolojik değişikliklerin Papanicolau boyası ile saptanması servikovaginal hücrelerde tarama amacı ile günümüzde kullanılır. Dr. Papanicolau tarafından ortaya atılan bu yöntem kısaca Pap smear olarak bilinmektedir. Bu test dökülen normal hücreler ve hastalık nedeniyle sitolojik olarak değişmiş hücrelerin incelenmesine dayanan bir testtir. Gecikmiş maturasyon nükleer atipi, parakeratozis, hiperkeratozisin yanı sıra yüksek dereceli sitolojik değişiklikleri gösterebilir. Histolojik incelemelerde kesin tanı için gerekli olan, tarama ve muayene sonucu şüpheli bölgeden konizasyon, Loop elektrocerrahi eksizyon prosedürü, endoservikal küretaj, transformasyon zonunun geniş eksizyonu, punch biyopsi yöntemleriyle alınan doku örneğinin patolojik olarak incelenmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Ancak bu tekniklerin duyarlılığı düşük olduğundan kesin tanı için immunolojik veya nükleik asit tanı yöntemleri kullanılmaktadır (25).

Moleküler teknikler HPV DNA'sını tespit etmek için kullanılan ana yöntemlerdir. HPV'nin kültür sistemlerinde üretilmesi zordur. HPV genotiplerinin tespiti için E1 geni kullanılmasına rağmen viral kapsid proteinlerini kodlayan L1 ve L2 geç genleri de kullanılmaktadır (40).

### **1.1.7.1. Nükleik Asit Tespitine Dayalı Yöntemler**

#### **1.1.7.1.1. Nükleik Asit Amplifikasyonuna Dayalı Yöntemler**

Bu yöntemler genellikle viral kapsid L1 genini çoğaltmak için MY09/MY11 veya PGMY09/11, GP5+/6+ ve SPF10 dejenere primerlerinin kullanılmasıyla HPV-DNA çoğaltılması, tespit edilmesi ve tiplendirilmesi polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile yapılır.

##### **1.1.7.1.1.1. Real-time PCR ile HPV Genotiplendirilmesi**

Real-time PCR, HPV-DNA tespiti ve genotiplemesinde yüksek doğruluk ve geçerliliğe sahip oldukça güvenilir ve hassas bir yöntemdir. Ayrıca viral yük miktarı ölçümü ve farklı florokromlarla çoklu numune nitelendirme kabiliyeti avantaj sağlar. Bu yöntemde floresan problar PCR primerleri ile birlikte viral genomun miktarının belirlenmesini sağlar ve numunede "viral yük" adı altında sunulur.

##### **1.1.7.1.1.2. HPV E6/E7 mRNA Bazlı Tarama Testleri**

Viral mRNA'nın tespiti, hedef yakalama ile gerçekleştirilen E6/E7 transkriptlerinin transkripsiyon aracılı amplifikasyonuna dayanır. Reverse-transcriptase-PCR, gerçek zamanlı kantitatif PCR'ı takip eden bir revers transkriptaz adımındır. E6 ve E7 onkoproteinleri tanı ve karsinogenez takibi için en önemli transkriptlerdir.

##### **1.1.7.1.2. Sinyal Amplifikasyonu**

Sinyal amplifikasyonu, hedef nükleik asit dizisine hibridize olan ve amplifikasyon oranına bağlı sinyal üreten yöntem tabanlı prob molekülünü tanımlar. Sinyal amplifikasyon teknolojileri arasında dallanmış DNA ve hibrit yakalama testleri bulunur. Hibrit yakalama DNA örneklerinin RNA prob karışımıyla hibritlendiği en yaygın kullanılan sinyal amplifikasyon yöntemidir. RNA-DNA hibridleri HPV-

DNA'nın varlığını gösterir ve daha sonra tespite yardımcı olmak için radyoaktif olmayan sinyal amplifikasyon yöntemi ile ortaya çıkartılır. Dallenmiş DNA testi doğrudan nükleik asit moleküllerini ölçer ve dallanmış DNA insitu hibridizasyon yöntemi gibi şpesifik nükleotid dizilerine bağlı "hedef problemlerin" bağlanması esasına dayanır.

### **1.1.7.1.3. Nükleotid Hibridizasyona Dayalı Yöntemler**

Amplifiye edilmemiş HPV teknikleri arasında in southern/dot blot hibridizasyon ve in situ hibridizasyon bulunmaktadır. Bu yöntem genellikle zaman alıcıdır, daha fazla beceri ve gerekli ekipman gerektirir ve moleküler yöntemler kadar hassas ve güvenilir değildir. Kısaca, southern blot ile HPV DNA tespitinde, örnekten çıkarılan DNA restriksiyon enzimleri ile parçalanır ve ardından parçalanmış DNA'yı boyutuna göre ayırmak için agaroz jel elektroforezinde çalıştırılır. Daha sonra bir nitroselüloz veya naylon membrana aktarılır ve son olarak izotopik (P32) veya izotopik olmayan (digoksinin) tekniklerle etiketlenmiş, klonlanmış HPV genomik problemleri ile hibridize edilir. İn situ hibridizasyonda tespit prosedürü enfekte hücrelerin sabit çekirdekleri üzerinde gerçekleşir ve hibridizasyon reaksiyonu mikroskopik olarak değerlendirilir. PCR ile karşılaştırıldığında, blot hibridizasyon tabanlı yöntem daha yüksek özgülüğe sahiptir ancak daha az duyarlıdır.

### **1.1.7.2. İmmünyokimyasal Temelli Yöntemler**

#### **1.1.7.2.1. HPV Serolojisi-Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) Testi**

HPV virüsünü belirlemeye yönelik serolojik testler virüs benzeri partiküllere dayalı olarak gerçekleştirilir ve duyarlılık yaklaşık %50'dir. ELISA yönteminin üç şekli vardır. Mikroplaka üzerindeki HPV virüs benzeri partiküllerine bağlanan doğrudan testler, anti-VLP antikorları aracılığıyla mikroplaka üzerindeki HPV virüs benzeri partiküllerine bağlanan dolaylı testler ve antijenin numuneye uygulanan floresan tanecikleri (Luminex tabanlı testler) üzerine kaplandığı yarışmalı testler olmak üzere üç şekildedir.

### **1.1.7.2.2. HPV Nötralizasyon Testi**

HPV'ler için tekrarlanabilirliği ve çalışmadan çalışmaya tekrar üretilebilirliği daha yüksek verimli pseudovirion tabanlı nötralizasyon testi (HT-PBNA) geliştirilmiştir. Nötralizasyon deneyleri, deneysel sistemlerde HPV aşılı tarafından indüklenen antikörlerin koruyucu potansiyelini değerlendirmek için altın standart testtir (40).

### **1.1.8. Tedavi**

Tedavinin ana hedefleri görünür klinik lezyonların giderilmesi, semptomların azaltılması ve nükslerin önlenmesidir. Tedavi sonrası HPV viral yükündeki azalma ile gelecekteki HPV bulaşının azalması azalmadığı bilinmemektedir ve HPV enfektivitesinin zamanla azalması beklenmektedir. Tedaviler rahatsız edici olabilir ve lokal cilt reaksiyonları içerebilir. Bu yüzden tedavi kararı hastayla görüşüldükten sonra verilmelidir. Hasta danışmanlığı son derece önemlidir çünkü hastalar tanı konulması ile psikolojik olarak rahatsızlık duyabilirler. Hastaların yaklaşık %30' unda verrüer 1 yıl içinde kendiliğinden gerileyebileceğinden, tedavisiz takip de bir seçenek olabilir. Ancak, çoğu hasta verrüerinin neden olduğu rahatsızlık, endişe, sıkıntı veya sosyal kabul görmeme nedeniyle tedavi olmak istemektedir(41). Seçilen tedavi ne olursa olsun, tedavi tipik olarak zaman alıcı ve rahatsız edicidir. Sonuçta kesin bir birinci basamak tedavi yoktur. Tedavi yöntemlerinden hiçbiri hastalar için tamamıyla ideal değildir. Tedaviye karar verirken sayı, boyut, morfoloji, keratinizasyon derecesi, anatomik konum, hasta tercihi, doktor deneyimi ve yan etkiler dahil olmak üzere çeşitli faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Şu anda mevcut tedavilerde gerileme oranı %60 ila %90 arasında değişmektedir. Bununla beraber bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde tedavi etkinliğinin daha az olması beklenir (42).

#### **1.1.8.1. Topikal Tedaviler**

##### **1.1.8.1.1. Podofilotoksin %0.5**

Topikal podofilotoksin, mikrotübül oluşumunu inhibe eden saflaştırılmış podofilin reçinesinden elde edilen bir antimitotik ajandır. Sitotoksik ajanlar arasında yer almaktadır. Bildirilen klerens oranı %45-88 ve tedavi sonrası nüks oranı %12-60'dır. Hasta tedaviye, haftada üç gün günde iki kez uyguladıktan sonra 4 gün ara

vermelidir ve bu döngü 4-5 kez tekrarlanmalıdır (Tablo 2). Yaygın yan etkiler arasında yanma, ağrı, eritem, ödem, erozyonlar ve kanama bildirilmiştir (43). Gebelerde ve 12 yaş altı çocuklarda kullanılmamalıdır (41).

#### **1.1.8.1.2. İmiquimod %5 Krem**

Lokal antiviral ve antitümör özellikleriyle verrülerin temizlenmesini sağlayan, toll benzeri reseptör-7 (TLR-7) agonisti olarak hareket ederek lokal makrofajları; sitokinler, özellikle interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) üretmeye teşvik eden bir heterosiklik amindir. Tedavi günde bir kez olmak üzere haftada üç kez uygulanır. Lezyon üzerinde 6-10 saat bırakıldıktan sonra yıkanmalıdır. 8-16 haftaya kadar uygulamaya devam edilmelidir. En sık görülen yan etkisi kaşıntı, yanma gibi lokal inflamatuvar reaksiyonlardır. Grip benzeri semptomlar nadiren gözlenir. (43). İmiquimod, geniş alanlardaki çoklu küçük-orta büyüklükteki lezyonlar ve tekrarlayan lezyonlar için endikedir. Hem keratinize hem de keratinize olmayan verrüler için uygun bir tedavidir. Kadınlarda daha etkili bulunmuştur. İmmünsupresyon, imiquimod kullanımı için kontrendikasyon oluşturmaz ve HIV pozitif kişilerde kullanılmıştır ancak daha az etkili bulunmuştur. Gebelikte kullanımı onaylanmamıştır (41). 12 yaş altında FDA kullanım onayı bulunmamaktadır (43).

#### **1.1.8.1.3. Sinecateşin Krem**

Sinecateşinler, yeşil çay yapraklarının (*Camellia sinensis*) özünden elde edilir. Sinecateşinlerin kesin etki mekanizması bilinmemektedir. Sinecateşinler %10 veya %15'lik merhem formunda mevcuttur. Verrülere günde 3 kez 16 hafta süreyle uygulanmalıdır. Lokal yan etkiler imiquimoda göre daha azdır ve daha iyi tolere edilebilmektedir. Gebelerde ve emzirenlerde kullanılmamalıdır (44).

#### **1.1.8.1.4. Triklorasetik Asit (TCA)**

Triklorasetik asit solüsyonu mukoza zarlarını ve deriyi yakan, oksitleyen ve tahrip eden bir kimyasaldır. Genellikle %80-90 konsantrasyonluk solüsyonlar halinde hazırlanır ve bir doktor tarafından uygulanmalıdır. Anogenital verrülerde TCA ile başarılı tedavi genellikle birden fazla uygulama gerektirmektedir. Klerens oranları %70 ila %80 arasında değişirken nüks oranı yaklaşık %36'dır (16). Küçük-orta

büyükteki mukozal verrüler ve intrakaviter verrüler (vajina, rektum) için tercih edilen tedavi yöntemidir. Gebeliğin ilk yarısında etkili ve güvenlidir (41).

#### **1.1.8.1.5. Nitrik-çinko Kompleksi**

Nitrik-çinko kompleksi, nitrik asit, çinko, bakır ve organik asitler içeren bir solüsyondur. Proteinleri denatüre ederek verrülerin mumifikasyonuna yol açar. İki haftada bir 4 kez uygulanmalıdır. Periungual verrü gibi tedaviye dirençli verrülerin tedavisinde etkilidir. Hastalar tarafından iyi tolere edilebilen bir tedavi yöntemidir (45).

#### **1.1.8.2. Ablatif Tedaviler**

##### **1.1.8.2.1. Kriyoterapi**

Kriyoterapi, sıvı nitrojen spreyi ile doğrudan verrülere uygulanan, kullanıcıya bağımlı, ucuz bir tedavi yöntemidir. Dermoepidermal bölgede sitolize neden olarak dokunun nekroze olmasına neden olur. Küçük-orta boy lezyonlar için uygundur ve hızlı bir iyileşme süresine sahiptir. Büyük lezyonlar için genellikle birden fazla tedaviye ihtiyaç duyulur. Üretral meatustaki anogenital verrüler için altın standarttır. Yetişkin hastalarda %54-88 oranında klerens, %21-40 nüks oranı bildirilmiştir. Küçük çocuklarda ağrı nedeniyle iyi tolere edilmez. Yaygın yan etkileri arasında lokal irritasyon gözlenmektedir. Kalıcı iz bırakmaz ancak deri fototipi üç ve üzeri hastalara uygulandığında hipopigmentasyona neden olabilir (41,43)

##### **1.1.8.2.2. Lazer Tedavisi**

Pulsed-dye lazer ve karbondioksit (CO<sub>2</sub>) lazerleri dirençli anogenital verrüleri tedavi etmek için kullanılmaktadır. Tedavi ağrılıdır ve Tedavi sonrasında skar dokusu bırakabilmektedir. Bu nedenle yaygın kullanılmamaktadır (43). Lazer tedavisi, kriyoterapi ve elektrocerrahi gibi diğer tedavilerden daha maliyetlidir ve düzgün bir şekilde gerçekleştirilmesi için özel ekipman ve ek klinik eğitim gerektirmektedir. Bazı uzmanlar lazer tedavisini muayenehane ortamında kullansa da verrüler yaygın ve tedavi alanı genişse muayenehane ortamında tedavi mümkün olmayabilir. Hastanede ve anestezi şartlarında lazer tedavisinin uygulanması gerekebilir (46). Yetişkinlerde

CO2 lazerlerle %40-100 klerens oranı ve %4-77 oranında nüks oranı gözlenmektedir. Bu nedenle, lazer tedavileri ilk basamak tedavi olarak tercih edilmemektedir (43).

### **1.1.8.2.3. Elektrocerrahi**

Elektrocerrahi, elektrokoter veya termal koagülasyon şeklinde yüksek frekanslı elektrik akımları kullanarak verrüleri yakarak yok eden bir yöntemdir. Hasarlı dokuları çıkarmak için küretaj kullanılır. Bu yöntem özellikle vulva, penis veya rektumdaki daha küçük verrülerin tedavisinde faydalıdır. Bu yöntem büyük lezyonlarda kullanılmamalıdır çünkü kalıcı skar dokusuna neden olmaktadır. Ağrılı bir tedavi yöntemi olduğu için lokal veya genel anestezi gerektirmektedir (16).

### **1.1.8.3. Cerrahi Tedavi**

Cerrahi eksizyon anogenital verrülerin bir bisturi veya makasla fiziksel olarak çıkarılmasını ve sağlıklı derinin dikilmesini içerir. Bu tedavi kullanılan en eski yöntemlerden biridir. Bu prosedür geleneksel tedaviye yanıt vermeyen veya obstrüksiyona neden olan büyük verrüler için uygundur. Ayrıca, cerrahi eksizyon, histopatolojik olarak takip edilmesi gereken malign transformasyondan şüphelenilen neoplastik tümörler için birincil tedavi seçeneği olmaya devam etmektedir. Mohs cerrahisi, genital verrülerin çıkarılması için daha gelişmiş bir cerrahi prosedürdür. Bu prosedürün amacı maksimum miktarda sağlıklı deriyi korumak ve minimal yara izi görünümünün oluşmasıdır (16).

### **1.1.8.4. İntralezyoner Tedaviler**

Candida antijeni, tüberkülin/pürifiye protein türevi (PPD), Bacillus Calmette-Guerin (BCG) aşısı ve kızamık, kızamıkçık, kabakulak (MMR) aşısı intralezyonel immünoterapi olarak kullanılmaktadır. HPV enfeksiyonunu ortadan kaldırmak için CD8 sitotoksik T lenfositlerini ve NK lenfositlerini aktive eden Th1 sitokinlerinin (IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) indüklenmiş salınımı nedeniyle enjeksiyon bölgesinde lokalize inflamasyon ve grip benzeri semptomlar dahil olmak üzere sadece hafif ve geçici yan etkilere neden olmaktadır (43).

### 1.1.8.5. Önerilmeyen Tedaviler

İnterferon- $\alpha$ , 5-florourasil, podofilin düşük etkinlik ve yüksek yan etki profilleri nedeniyle bu tedaviler artık önerilmemektedir (16,41)

**Tablo 2.** Anogenital verrülerde uygulanan tedavi yöntemleri

Hasta tarafından uygulanan tedaviler	Hekim tarafından uygulanan tedaviler
Podofilotoksin krem	Eksizyonel cerrahi
Imiquimod %5 krem	Elektrocerrahi
Sinekateşin %10 krem (Avrupa)	Lazer tedavisi
	Kriyoterapi
	Trikoloroasetik asit
	Nitrik-çinko kompleksi
	İntralezyonel tedaviler

### 1.1.9. Aşı

Serviks kanserinin önemli küresel yükü, etkili ve uygun maliyetli birincil ve ikincil önleme fırsatları göz önüne alındığında, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Mayıs 2018'de serviks kanserinin bir halk sağlığı sorunu olarak ortadan kaldırılmasına yönelik eylem için küresel bir çağrı yapmıştır. Serviks kanserinin ortadan kaldırılmasına yönelik küresel bir strateji geliştirilmiş ve Serviks Kanseri Eliminasyon Modelleme Konsorsiyumunu oluşturmuştur. Eliminasyonun mevcut çalışma tanımı, yaşa göre standardize edilmiş serviks kanseri insidansının 100.000 kadın-yılda dört veya daha az vaka olmasıdır(47). DSÖ Kasım 2020'de HPV aşılması yoluyla serviks kanserini önlemeye, prekanseröz lezyonları taramaya ve invazif serviks kanserini yönetmeye ve tedavi etmeye odaklanan serviks kanserinin ortadan kaldırılmasına ilişkin küresel bir stratejiyi resmi olarak ilan etmiştir. Buna göre kız çocuklarının %90'ı 15 yaşına kadar tamamen aşılanmalı, kadınların %70'i 45 yaşına kadar yüksek performanslı bir testle en az iki kez taranmalı ve prekanser veya kanserli kadınların %90'ı palyatif bakım da dahil olmak üzere uygun bakım ve tedaviyi almalıdır (48). HPV aşısı, HPV enfeksiyonu ve HPV ile ilişkili hastalıkların insidansını azaltmada etkilidir ve şu anda üç lisanslı aşı mevcuttur. 2009'da onaylanan bivalan aşı (Cervarix), potansiyel olarak kanserojen olan iki HPV 16 ve HPV 18 tipini hedefler. 2006'da onaylanan tetravalan aşı (Gardasil), HPV 16 ve 18'in yanı sıra genital verrülere neden

olan düşük riskli HPV 6 ve 11 tiplerini hedef alır (Tablo 3). HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58'e karşı nonavalent aşılar (Gardasil 9) 2014 yılında onaylanmıştır (49–51). HPV aşıları, rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak saflaştırılmış L1 proteinlerinden yapılır. L1 proteini, yapısal olarak HPV'ye benzeyen ancak herhangi bir aktif ürün veya DNA içermeyen HPV'ye özgü kapsid (virüs benzeri partiküller) oluşturmak üzere kendi kendine birleşen bir proteindir. Bu nedenle kanserojen ve bulaşıcı olmadığı kabul edilir. HPV aşısı insan vücuduna verildikten sonra, aşı virüs benzeri partiküller antijen sunan hücrelere bağlanır ve antijeni T hücrelerine sunar. Yardımcı T hücreleri de naif B hücrelerini plazma veya hafıza B hücrelerine dönüşmeleri için uyarır. Uzun ömürlü plazma hücreleri aşılama sonrası antijene özgü antikorlar üretir ve salgılar. Böylece dolaşımdaki antikorların kalıcı olmasını sağlar ve ayrıca HPV antijenleriyle tekrar karşılaşıldığında hızlı bir şekilde geri hatırlanmasına yardımcı olur. Sonuç olarak uzun ömürlü plazma hücreleri, hafıza B hücreleri ve T hücreleri, yüksek seviyelerde nötralizan antikorları indükleyerek ve sürdürerek gerçek HPV enfeksiyonunu önler. Bununla birlikte, HPV'ye karşı nötralizan antikorlar mevcut HPV enfeksiyonunu ve/veya transforme olmuş hücreleri kontrol etmez veya ortadan kaldırmaz. HPV aşısının aşılanmamış HPV tiplerine ve daha önce maruz kalmamış diğer HPV suşlarına karşı çapraz koruma sağladığı gösterilmiştir (49). Bağışıklama Uygulamaları Danışma Komitesi, 11 veya 12 yaşında rutin HPV aşılama başlanmasını önerir. Ancak aşılama 9 yaşından itibaren de başlanabilir. Ayrıca 26 yaşına kadar olan kadınlara ve daha önce yeterince aşılanmamış 21 yaşına kadar olan erkeklere aşı yapılmasını önerir. Aşılama 15 yaşından önce başlayan kişiler için önerilen bağışıklama programı 2 doz HPV aşısıdır. İkinci doz ilk dozdan 6-12 ay sonra uygulanmalıdır. Aşılama 15 yaşından sonra başlayan kişiler için önerilen bağışıklama programı 3 doz HPV aşısıdır. İkinci doz ilk dozdan 1-2 ay sonra uygulanmalı ve üçüncü doz ilk dozdan 6 ay sonra uygulanmalıdır. 2vHPV veya 4vHPV ile yeterince aşılanmış kişiler için 9vHPV ile ek aşılamaya ilişkin Bağışıklama Uygulamaları Danışma Komitesi (ACIP) önerisi mevcut değildir. Aşılamaya kesintiye uğrarsa, serinin yeniden başlatılmasına gerek yoktur. Önerilen doz sayısı, ilk dozun uygulandığı yaşa göre belirlenir. Cinsel istismar veya saldırı öyküsü olan çocuklar için 9 yaşından itibaren rutin HPV aşısı önerilir. Homoseksüel erkekler ve transseksüeller için de rutin HPV aşısı önerilir. B lenfosit

antikor defektleri, T lenfosit tam veya kısmi defektleri, HIV enfeksiyonu, malign neoplazmlar, transplantasyon, otoimmün hastalık veya immünsüpresif tedavi gibi hücre aracılı veya humoral bağışıklığı azaltabilecek immünsüpresyon durumunda 9-26 yaş arası kadın ve erkekler için 3 doz HPV aşısı (0, 1-2, 6 ay) önerilir (52). Türkiye’de HPV aşısı ulusal aşı programında yer almaz. HPV aşısı bireylerin kendi temini sonrası sağlık kuruluşlarında yapılır (53). Çeşitli çalışmalar 9-15 yaşındaki kadınların aşılanmış 16-26 yaşındaki kadınlara göre daha yüksek spesifik antikor titrelerine sahip olduğunu göstermiştir. HPV 16/HPV 18 aşısının immünojenitesininin 15-55 yaş arası kadınlardan alınan serumda uzun vadeli bir değerlendirmesinde, ilk aşılamadan 10 yıl sonra tüm yaş gruplarında HPV 16 aşısına karşı yüksek düzeyde seropozitif antikorlar görülmüştür. Buna karşılık, anti-HPV 18 antikorlarının pozitiflik oranı 15-25 yaş grubunda %99.2, 26-45 yaş grubunda %93.7 ve 46-55 yaş grubunda %83.8’dir. Tüm çalışma gruplarında anti-HPV 16 ve anti-HPV 18 antikorları, doğal enfeksiyonun ürettiği antikor titrelerinden daha yüksektir ve aşılamadan sonra 30 yıldan daha uzun süre doğal enfeksiyon seviyelerinin üzerinde kalacağı tahmin edilmektedir. Sonuç olarak 15-26 yaş arasındaki genç kadınlar HPV aşılması için birincil hedefdir. DSÖ Aşı Güvenliği Küresel Danışma Komitesi’ne göre HPV aşıları son derece güvenli olarak sınıflandırılır. En yaygın yan etkiler bölgesinde ödem, ağrı ve eritemdir. Ancak genellikle kısa süreli ve geri dönüşümlüdür. HPV aşısının sistemik reaksiyonları arasında baş ağrısı, baş dönmesi, miyalji, yorgunluk, ateş, kusma, bulantı ve ishal yer almakta olup yorgunluk ve baş ağrısı en yaygın olanlarıdır (%50-60). Birkaç vaka raporunda tetravalan HPV aşısı ile aşılamayı takiben primer over disfonksiyonu tanısı tanımlanmış ancak desteklenmemiştir. Otoimmün hastalıklar, venöz tromboemboli ve nörolojik bozuklukların ilerleyişi açısından aşının güvenliği ile ilgili herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Aşının ciddi yan etkisi ve ölüm bildirilmemiştir (49).

**Tablo 3.** Güncel HPV aşı çeşitleri

	<b>Bivalan (2vHPV)</b>	<b>Tetravalan (4vHPV)</b>	<b>Nonavalan (9vHPV)</b>
<b>Ticari adı</b>	Cervarix	Gardasil	Gardasil 9
<b>VLPs</b>	16, 18	6, 11, 16, 18	6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58
<b>Üretici Firma</b>	Glaxo Smith Kline	Merck and Co., Inc.	Merck and Co., Inc.
<b>Üretim Şekli</b>	L1 kodlayan rekombinant baculovirüs ile enfekte Trichoplusia ni böceğinin hücre dizisi	L1 ekspresyonu yapan saccharomyces cerevisiae (firıncı mayası)	L1 ekspresyonu yapan saccharomyces cerevisiae (firıncı mayası)
<b>Adjuvan</b>	500 µg alüminyum hidroksit, 50 µg 3-O-deaçil-4' monofosforil lipid A	225 µg amorf alüminyum hidroksifosfat sülfat	225 µg amorf alüminyum hidroksifosfat sülfat
<b>Doz hacmi</b>	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
<b>Uygulama</b>	İntramüsküler	İntramüsküler	İntramüsküler
<b>Hedef Kitle</b>	9-25 yaş kadınlar	9-26 yaş kadınlar 9-26 yaş erkekler	9-26 yaş kadınlar 9-15 yaş erkekler
<b>Aşı takvimi</b>	0, 1 ve 6. aylar	0, 2 ve 6. aylar	0, 2 ve 6. aylar
<b>Etkinliği*</b>	%98.1	%100	%99 (HPV tip 6, 11, 16, 18) %96,7 (HPV tip 31, 33, 45, 52, 58)
<b>Onay tarihi</b>	2009	2006	2014

\*daha önce aşılanmamış kadınlarda etkinlik

## 1.2. Epstein-Barr Virüsü ile İlgili Genel Bilgiler

### 1.2.1. Tarihçe

Burkitt ve Gregory O'Connor 1961 yılında çene, abdomen, daha nadiren tükürük bezinde, kemikte veya vertebrada ortaya çıkan ve Orta Afrika genelinde bir "lenfoma bölgesi" şeklinde dağıldığı görülen aşırı hızlı büyüyen tümörlerle karakterize lenfoma sendromunu tanımlamışlardır. O'Connor ayrıca, ineklerde görülen ve viral bir nedeni olduğu bilinen bir hastalık olan lenfositik sığır lösemisi ile klinik benzerliklerine dikkat çekerek lenfoma için viral bir etiyoloji olasılığını da ortaya koymuştur. EBV'nin keşfi 1961 yılında Burkitt'in Birleşik Krallık'ta Middlesex Hastanesi Tıp Fakültesi'nde verdiği bir konferansta yeni tanımlanan lenfomayı sunmasıyla başlamıştır (54). 1964 yılında Dr. Anthony Epstein'in laboratuvarında taze Afrika Burkitt lenfoma, biyopsisinden kültüre alınan hücrelerin büyümesinin ardından elektron mikroskopisi ile keşfedilmiştir (55). EBV'nin karakterizasyonu ve onkojenik potansiyeline ilişkin

ilk araştırmaların çoğu, Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan Werner ve Gertrude Henle isimli virologlara atfedilebilir. 1967 yılında, hücre lizisine ve EBV salınımına neden olan ışınlanmış BL hücrelerinin kontrol lökositleriyle birlikte yetiştirilmesinin sıklıkla hematopoetik hücrelerin çoğalmasına yol ağtığı ve onkojenik bir potansiyele işaret ettiği gösterilmiştir. Henle'ler aynı zamanda EBV DNA'sının BL biyopsilerinden alınan hücrelerde keşfini ilk yayınlayan ekibin bir parçasıydı ve EBV'nin BL ile ilişkisi için güçlü kanıtlar sağladılar. Henle laboratuvarında çalışan bir laboratuvar teknisyeni enfeksiyöz mononükleoz (EM) hastalığına yakalandığında, hastalığı sırasında EBV'ye karşı antikör geliştirdiği kaydedilmiştir. Bu gözlem Henle'lerin EBV'nin EM gelişimindeki rolünü araştırmasını sağlamış ve EBV'nin klinik olarak farklı patolojilere neden olabilme yeteneğini vurgulamıştır. 1970'lerin sonlarına gelindiğinde Werner, Gertrude Henle ve diğer araştırmacıların alışmaları EBV'nin insanlarda kanserojen bir rol oynadığını kesin olarak kanıtlamış ve EBV ilk insan onkovirüsü olarak tarihteki yerini almıştır (54). 1980'lerde EBV, edinilmiş immün yetmezlik sendromu (AIDS) olan hastalarda non-Hodgkin lenfoma ve oral kıllı lökoplaki ile ilişkili bulunmuştur (55). 1997 yılında EBV, Endemik Burkitt lenfoma, Hodgkin lenfoma ve nazofarengeal karsinom ile nedensel ilişkisi nedeniyle Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (7).

### **1.2.2. Epidemiyoloji**

İnsan herpes virüsü 4 olarak da adlandırılan EBV, lenfotropik bir herpes virüsüdür ve enfeksiyöz mononükleozun etkenidir. İlk olarak Afrika Burkitt lenfomasından izole edilen hücrelerde keşfedilmiş, daha sonra dünya çapında oldukça yaygın olduğu anlaşılmıştır. EBV enfekte epitel hücrelerini içeren tükürük yoluyla bulaşır ancak kan ve organ nakli yoluyla da yayılabilir. Enfekte epitel hücreleri servikte veya ejakülatta da bulunabildiğinden EBV'nin cinsel temas yoluyla yayılma olasılığı da vardır. Enfekte bir kişiyle öpüşmek, diş fırçası, yemek takımı gibi kişisel eşyaları paylaşmak veya yiyecek ve içecekleri paylaşmak EBV'nin yayılmasına neden olabilir. Hijyen standartlarının yüksek olduğu gelişmiş ölkelerde EBV serokonversiyonu 2-4 yaş arası çocuklarda ve ayrıca 14-18 yaş arası çocuklarda en yüksek seviyeye ulaşır ve yaşla birlikte artarak çocuklukta %0-70 arasında değişir ve erişkinlikte %90'ın üzerine çıkar. Hijyen standartlarının zayıf olduğu ölkelerde EBV

enfeksiyonu genellikle erken çocukluk döneminde kazanılır ve bu gelişmekte olan ülkelerdeki çocukların neredeyse tamamı 6 yaşına kadar seropozitifdir. Primer enfeksiyon çocukluk döneminde ortaya çıkar ve asemptomatiktir. Ancak yetişkinlerde enfeksiyöz mononükleoza neden olabilir. Ayrıca nakil sonrası lenfoproliferatif hastalıklar, nazofarengeal karsinom, Hodgkin lenfoması ve mide karsinomu gibi çok çeşitli malignitelerle ilişkilendirilmiştir (8). EBV'nin her yıl 200.000'den fazla kanser vakasına ve kansere bağlı ölümlerin %1.8'ine neden olduğu bildirilmektedir. Erkekler kadınlara kıyasla EBV'ye atfedilebilen malignitelerin prevalansı ile daha yüksek oranda karşılaşmaktadır. Coğrafi olarak EBV ile ilişkili malignite tüm dünyada mevcuttur ancak Asya ve Afrika'da Batı dünyasına göre daha yaygındır (56). Dünya nüfusunun %95'ini enfekte eden EBV'nin hem epitelyal hem de B hücrelerine afinitesi vardır. B hücrelerinde hücre başına birden fazla kopya içeren kromatinize bir epizom olarak ömür boyu kalıcı bir enfeksiyon oluşturur (57).

### **1.2.3. Sınıflandırma**

Herpesviridae pek çok konakçı türünü enfekte eden geniş bir DNA virüs ailesidir. Alfa, beta ve gamma herpesviridae olmak üzere üç alt aileden oluşur. Alfa ve beta herpes virüslerinden farklı olarak gamma herpes virüsleri onkogeniktir ve lenfoproliferatif hastalıkların ve lenfomaların yanı sıra birçok başka kanserin gelişimiyle ilişkilidir. İnsanları enfekte ettiği bilinen iki Gama herpesviridae ise EBV ve Kaposi sarkomu ilişkili herpesvirüsüdür (58).

### **1.2.4. Virüs Yapıları**

Epstein-Barr virüsü partikülleri küreseldir ve dıştan içe doğru zarf, tegument ve nükleokapsitten oluşur. Glikoproteinler zarfa bağlıdır ve bunlardan sekizi bir konağı enfekte etmek için kullanılır. Tegument düzensiz dağılmış tegument proteinlerini içerir ve herpesvirüslerde eşsiz bir yapıdır. Nükleokapsid 172 kilobaz çifti (kbp) çift sarmallı DNA genomunu çevreleyen çoklu kapsid proteinlerinden oluşan bir ikosahedrondur. EBV'nin farklı glikoproteinleri B hücrelerinin veya epitel hücrelerinin enfekte edilmesinde rol oynar. Glikoprotein gp350/220, viral bağlanmayı iletirmek için B hücreleri üzerindeki reseptöre (CR2/CD21) bağlanır. Protein bağlayıcı CD21'e ek olarak, başka bir gp350/220 reseptörü olan CR1/CD35 ile de B hücrelerine

bağlanabilir (59). Tegument, herpesvirüs parçacıklarının zarfı ve nükleokapsidi arasındaki yapıdır. Viral proteinler birikerek tegumentin katmanlarını oluşturur. Zarf ve nükleokapsid için arayüz olarak tegument, virion morfogenezinde ve replikasyon sırasında nükleokapsidin tomurcuklanmasında işlev görür (60).

### 1.2.5. Patogenez ve İmmün Yanıt

Epstein-Barr virüsünün bulaşması oral yollarla gerçekleşir. Orofarinkteki epitel hücrelerinin enfeksiyonu ve replikasyonunun ardından B hücrelerine yayılır. EBV ağırlıklı olarak B lenfositleri ve epitel hücrelerini hedef alır. Nadiren T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler gibi diğer insan hücre tiplerini de enfekte edebilir. Yaşam döngüsü karmaşıktır. Latent ve litik enfeksiyonlar oluşturur. Latent enfeksiyon sırasında B hücresi transformasyonuna ve tümör oluşumuna katkıda bulunan yalnızca dokuz protein eksprese edilir. Bunlar altı EBV nükleer antijenini (EBNA-1, -2, -3A, -3B, -3C ve lider protein) ve EBV'nin büyümesini düzenleyen üç latent membran proteinini (LMP-1, -2A ve -2B) içerir. Latent enfeksiyon, immün sisteminden kaçmak için kademeli olarak kısıtlanan viral gen ekspresyon modelleri ile karakterize edilen gecikme III, II, I ve 0 olmak üzere dört modele bölünebilir (61). EBV ile enfekte B hücreleri başlangıçta aktif lenfoblast hücrelerine dönüşerek çoğalır ve lenf nodunun germinal merkezine göç ederek latens III programını oluşturur. EBV nükleer antijenleri ile latent membran proteinlerinin üretimiyle sonuçlanır. Latent II, EBNA1, LMP1 ve LMP2, EBV tarafından kodlanan küçük RNA, viral mikroRNA, BamHI fragman A sağa doğru transkriptleri eksprese eder. Latent I yalnızca EBNA1'i eksprese eder. Bu viral proteinler ve RNA'lar viral immüniteden kaçınma, immünomodülasyon, apoptozun önlenmesi, viral replikasyonun sınırlandırılması ve interferon sinyalini sınırlandırarak hayatta kalmaya katkıda bulunur. EBNA-1, antiapoptotik özellikleri ve LMP-1 gibi transkripsiyonel bir transaktivatör olarak hareket etme kabiliyeti nedeniyle EBV epizomal stabilitesinden, kalıcılığından sorumlu, sekansa özgü çok işlevli bir DNA bağlayıcı proteindir. EBNA-1 viral epizomu konak genomuna bağlar ve daha sonra B hücresi immortalizasyonuna yol açar (62). Latent 0, tüm antijen ifadesini ortadan kaldırır ve böylece T hücresinin tanınmasından kaçınır ve viral bir rezervuar görevi görür. Latent litik geçiş, EBV yaşam döngüsünde mekanizması hala anlaşılamamış önemli bir olaydır. EBV periyodik

olarak litik döngüye geçebilir. Bu da viral replikasyon, dökülme ve ardından bulaşmayla sonuçlanır. HIV enfeksiyonu, immünsüpresif tedaviler, CMV, HPV veya koronavirüs gibi eşzamanlı enfeksiyonlar, hipoksi gibi hücrel dengedeki bozulmalar, psikolojik stres ve sosyo-ekonomik sıkıntılar nedeniyle EBV latent durumdan viral reaktivasyon olarak adlandırılan litik enfeksiyon durumuna geçebilir (61). Doğal öldürücü hücreler (NK), değişmez doğal öldürücü T hücreleri ve gama-delta T hücreleri dahil olmak üzere doğuştan gelen immün hücreleri de EBV'yi tanır. EBV enfeksiyonunda NK hücreleri, litik olarak enfekte olmuş hücreleri tanıyabilir. Plazmositoid dentritik hücreler EBV enfeksiyonuna yanıt olarak interferon üretebilir. Adaptif immün hücrelerinden, hem B hem de T hücreleri, EBV'ye karşı kazanılmış immüntenin bir parçasıdır. CD8+ T hücreleri hem akut hem de kalıcı EBV enfeksiyonu sırasında önemlidir. CD8+ T hücreleri, EBV ile enfekte olmuş hücreleri tanır çünkü viral peptitler, enfekte olmuş hücrelerin yüzeyinde MHC I molekülleri tarafından sunulur. EBV enfeksiyonu B hücresi aktivasyonunu indükleyerek IgM, IgG ve IgA üretimini artırır. Dolayısıyla EM seyrinde hem latent hem de litik viral antijenlere karşı antikorlar tespit edilir (63).

#### **1.2.6. Klinik**

Primer EBV enfeksiyonu küçük çocuklarda çoğunlukla asemptomatikken enfekte ergenlerin ve genç yetişkinlerin %25-79'unda EM'ye neden olabilir. EM semptomları bulaştan 30-50 gün sonra ortaya çıkar. Genellikle ateş, nazofarenjitli veya nazofarenjitsiz anjina, lenfadenopati, splenomegali ve 2-6 haftalık şiddetli yorgunluk görülebilir (64). Hastaların %80'inde hepatit görülür. Karaciğer tutulumu %90-95'inde subklinitir ancak sarılık gelişebilir. Bazı hastalar karın ağrısından şikayetçidir (65). EM çoğunlukla benign bir seyir gösterir ve semptomlar bir ay içinde düzelir. Hastaların yalnızca %10-20'sinde majör yorgunluk, disfaji, hepatik veya hematolojik bozukluk gibi bazı semptomları görülür (64). Kutanöz lezyonlar hastaların yaklaşık %5'inde mevcuttur. Maküler, peteşiyal, skarlatiniform, ürtikeryal veya eritema multiforme benzeri döküntüler olabilir. Önceki 10 gün içinde ampisilin kullanan hastaların %90 ila %100'ünde makülopapüler ekzantem belirgindir (66). %1'inden azında ise yaşamı tehdit eden komplikasyonlar meydana gelebilir (64). Bunlar arasında konjonktivit, hemofagositik sendrom, miyokardit, meningoensefalit dışındaki

nörolojik hastalıklar, pankreatit, parotit, perikardit, pnömoni, psikolojik bozukluklar ve dalak laserasyonu sayılabilir. Dalak laserasyonu nadir fakat çok korkulan bir komplikasyondur. İlk olarak 1940'larda tanımlanan kronik aktif EBV, viral replikasyonun kontrolsüzlüğünden kaynaklanır. Nadir görülmesine rağmen kronik aktif EBV enfeksiyonu olan hastalarda morbidite ve mortalite oranı yüksektir. Dolayısıyla hastalıkta doğru tanı önemlidir. 6 aydan uzun süren kronik EM ateş, lenfadenopati ve hepatosplenomegali gibi EM benzeri semptomlarla karakterizedir. Diğer komplikasyonlar pansitopeni, hipergammaglobulinemi, B/T hücreli malign lenfoma veya lenfoproliferasyonu içerebilir. Dokularda ve periferik kanda virüs bulunur ve viral kapsid antijeni ile erken antijene karşı yüksek düzeyde antikor bulunur. Kronik aktif EBV'nin patogenezi tam olarak bilinmez. Antiviral, kemoterapötik, ve imünomodülatör ilaçlar, EBV'ye özgü sitotoksik T lenfositlerinin kullanıldığı hücre terapisi ve hematopoitik kök hücre nakli dahil olmak üzere çeşitli tedavi stratejileri denenmiştir. Hematopoitik kök hücre nakli bir miktar başarı elde etmiş olsa da, optimal tedavi rejimi konusunda net bir fikir birliği mevcut değildir (65). Ulcus vulvae acutum olarak da bilinen Lipschutz ülserleri, ilk olarak 1913 yılında Alman dermatolog Lipschutz tarafından tanımlanmıştır. Genellikle ortalama yaşı 14,5 olan kız ergenlerde görülen, dış genital organlarda ağrılı ülserlerdir. Kız ergenlerin yaklaşık %10 ila 30'unu etkiler. Etiyoloji ile ilgili olarak, akut genital ülserin EBV'nin birincil enfeksiyon belirtisi olabileceğini gösteren kanıtlar olmasına rağmen, sitomegalovirüs, influenza A virüsü, influenza B virüsü ve adenovirüs, kabakulak virüsü, Salmonella paratyphi, Mycoplasma pneumoniae ve Lyme hastalığı gibi diğer enfeksiyonlarla ilişkilendiren yayınlanmış vakalar vardır. Klinik olarak ergenleri veya cinsel olarak aktif olmayan genç kadınları etkiler ve öncesinde grip semptomları veya ateş, halsizlik, iştahsızlık, baş ağrısı gibi EM'ye benzer semptomlar görülebilir. Bir veya birçok vulvar ülserin aniden ortaya çıkması ile karakterizedir. Ülserler büyük (>1 cm) ve derindir, mor-kırmızı bir hale ve grimsi bir eksudasyon veya gri-siyah yapışık bir eskar ile iyileşen nekrotik bir tabana sahiptir. Genellikle labia minoranın arka komissürünü (frenulum) etkiler ancak labia majora, perine ve vajinanın alt kısmına yayılabilir ve ayna görüntüsü olarak tanımlanan simetrik bilateral tutulum karakteristiktir. Şiddetli ağrı ve dizüri görülebilmektedir. Akut lezyonun iyileşmesi 2 ila 6 hafta sonra gerçekleşir ve iz bırakmaz.(66) EBV enfeksiyonu, sistemik lupus

eritematozus, Sjögren sendromu, romatoid artrit ve multiple skleroz gibi otoimmün hastalıklarla bağlantılıdır. Sistemik lupus eritematozus ve romatoid artritli hastalarda artmış EBV antikör titreleri ve viral DNA görülür. Multiple skleroz da merkezi sinir sisteminin miyelin kılıfı otoreaktif lenfositlerin saldırısı altındadır. EBV enfeksiyonunu multiple skleroz ile ilişkilendirmiştir. Multiple sklerozlu hastalarda EBV enfeksiyonu oranının kontrollere kıyasla arttığı ve EBV ile enfekte bireylerde multiple skleroz gelişme riskinin 32 kat arttığı bildirilmiştir (63). Epstein-Barr virüsünün onkojenik özellikleri uzun zamandır bilinir. EBV ile ilişkili birincil neoplazmlar, B hücreli lenfomalar ve nazofarengeal karsinomdur ve bu da viral enfeksiyonun in vivo B hücreleri ve tonsiller epitel gibi primer hücresel hedeflerini gösterir. Virüs neoplazmı teşvik etmek için B hücresi büyüme programının aktivasyonu, immüniteden kaçınma ve tümör baskılayıcıların inaktivasyonu gibi çoklu mekanizmalar kullanır. Nakil hastalarında lenfoproliferasyon, seropozitif bir bireyde viral reaktivasyona bağlı olabilir veya daha önce seronegatif olan bir bireyin enfekte donör dokusuna birincil maruziyetinden kaynaklanabilir. Kaynağı ne olursa olsun, immünosupresyon immün sisteminin EBV replikasyonu üzerindeki kontrolünü kaybetmesine neden olabilir ve bu da posttransplant lenfoproliferatif bozuklukla sonuçlanabilir. Posttransplant lenfoproliferatif bozukluk kontrolsüz B-hücresi proliferasyonu, plazmasitik hiperplazi ve lenfomadan oluşan genellikle mortal bir hastalıktır (65). Hematopoetik kök hücre nakli alıcılarında %100 ve solid organ nakli alıcılarında %60-80 EBV ile ilişkilidir. Hematopoetik kök hücre nakli alıcılarında donör B lenfositlerinden kaynaklanırken, solid organ nakli alıcılarında greftte yerleşmiş olmaları dışında alıcı B lenfositlerinden gelişir. Posttransplant lenfoproliferatif bozukluk tanısı klinik semptomlara, görüntülemeye ve anatomopatolojik analize dayanır. Semptomlar arasında EM benzeri ateş, halsizlik, poliadenopati, tonsillit veya farenjit, organa özgü disfonksiyon, solid organ naklinde greft disfonksiyonu ve erken dönemde hepatik veya hematolojik bozukluklar yer alabilir. Hastalığın ilerleyen formlarında semptomlar daha şiddetli olup polivisseral tutulum sepsis veya şiddetli graft-versus-host hastalığını taklit eder. Görüntüleme tümörleri veya anormal dokuları tespit etmeyi amaçlar. Tümördeki EBV viral yükünün tanısal bir değeri yoktur. Tam kan veya plazmadaki EBV viral yükü tanıya yararlı değildir. Ancak posttransplant lenfoproliferatif bozukluğun erken tespiti ve tedavisi

için transplant hastalarının izlenmesine yardımcı olabilir, tedavi ihtiyaçlarını öngörebilir ve hastalık prognozunu iyileştirebilir. Tam kan veya plazmada EBV viral yükünün izlenmesi posttransplant lenfoproliferatif bozukluk risk faktörleri tarafından yönlendirilir. Örneğin, EBV-seropozitif donörlerden greft alan EBV-seronegatif hastalar, akciğer veya bağırsak nakli alıcıları ve greft reddi veya graft-versus-host hastalığı olan alıcılar viral yük takibi için uygundur. Avrupa ve uluslararası kılavuzlar, nakilden sonraki ilk haftadan dördüncü aya kadar haftalık takip ve ardından 1 yıl boyunca aylık veya iki ayda bir izleme yapılmasını önermektedir. Hematopoetik kök hücre nakli alıcıları için posttransplant lenfoproliferatif bozukluk riski ilk ay boyunca %0.2'dir. Bu nedenle takip daha sonra başlayabilir. İzleme, risk faktörlerinin gelişimine bağlı olarak güçlendirilir veya uzatılabilir (64).

Diğer EBV ile ilişkili lenfoproliferasyon durumu da X'e bağlı lenfoproliferatif hastalık (XLP)'dir. Sinyal lenfosit aktivasyon molekülü (SLAM)-ilişkili proteini (SAP olarak da bilinir) kodlayan gendeki mutasyonlarla ilişkili nadir bir kalıtsal bozukluktur. SAP proteini, T hücrelerinin ve NK hücrelerinin B hücresi aktivasyonunda önemli olan SLAM reseptörlerinin down regülasyonunda yer alan bir sinyal molekülüdür. EBV ile enfekte B hücreleri T ve NK hücreleri tarafından kontrol altında tutulduğundan, XLP'li bireyler mortal EM ve EBV lenfomaları açısından yüksek risk altındadır. XLP'li hastalarda EBV ile ilişkili hastalığın tedavisi immünosupresif ilaçlar yoluyla yapılır ve anti-CD20'nin dahil edilmesi fayda sağlayabilir. Allojenik transplantasyon tek küratif tedavidir ve tipik olarak mümkün olduğunca erken yaşta gerçekleştirilir (65). Burkitt lenfoma, ilk kez Afrika'da Denis Burkitt tarafından bildirilen oldukça agresif bir B hücreli Hodgkin olmayan neoplazmdır. DSÖ endemik Burkitt lenfoma, sporadik Burkitt lenfoma ve immünsüpresyonla ilişkili (genellikle HIV) Burkitt lenfoma olmak üzere 3 klinik varyant olarak tanımlanmıştır. Endemik BL'nin yaklaşık %95'i, sporadik BL'nin %15'i ve immünsüpresyonla ilişkili BL'nin %40'ı EBV ile ilişkilidir. Endemik BL varyantı sıtmanın endemik olduğu bölgelerde yaygındır ve genellikle baş ve karın boşluğunda büyük tümörlerin varlığıyla karakterizedir. EBV, endemik BL tümörlerinin hemen hemen tüm hücrelerinde tespit edilir. Ancak altta yatan mekanizma net değildir. BL tümörleri tipik olarak kemoterapiye yanıt verir ve erken teşhis edildiğinde tedavi edilebilir (67). Hodgkin lenfoma Batı dünyasındaki en yaygın lenfomalardan biridir ve



doğuştan immünsüpresif bireylerde bulunur. EBV ilişkili düz kas tümörleri visseral bölgeler, merkezi sinir sistemi, vertebra veya periferik yumuşak dokular dahil olmak üzere hemen hemen her organı etkileyebilir. Bu tümörler tek veya birden fazla bölgede aynı anda veya farklı zamanlarda ortaya çıkabilir ancak metastaz yapmazlar. Deyrup ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, multiorgan tutulumu olan 19 hastada EBV ilişkili düz kas tümörleri incelenmiş ve her hastada tümörlerin genetik olarak farklı olduğu bulunmuştur. Bu da multiorgan tutulumunun metastazdan ziyade çoklu primer tümörlerden kaynaklandığını düşündürmektedir. Ayrıca HIV enfeksiyonu ile ilişkili EBV ilişkili düz kas tümörlerinin merkezi sinir sistemi tutulumu olasılığının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Günümüzde EBV ilişkili düz kas tümörleri için evrensel olarak kabul edilmiş standart tedavi protokolleri bulunmaz ancak cerrahi rezeksiyon, immünrekonstrüksiyon, mTOR inhibitörleri, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli yaklaşımlar önerilmiştir (68).

Epstein-Barr virüsü özellikle Güney Çin ve Güneydoğu Asya'daki yüksek insidanslı bölgelerde nazofarengeal karsinomun ana nedenlerinden biridir. DSÖ nazofarengeal karsinomu Tip I (keratinize skuamöz hücreli karsinom), Tip II (nonkeratinize skuamöz hücreli karsinom) ve Tip III (farklılaşmamış karsinom) olmak üzere 3 alt grupta sınıflandırır. Giderek daha düşük farklılaşma dereceleri ve EBV enfeksiyonu ile artan ilişki gösterir. Nazofarengeal karsinomunun erken teşhisi çok zordur çünkü başlangıç genellikle belirgin değildir. Hastaların %70'i ilk doktora başvurduklarında ileri evrededir. Servikal lenf nodu metastazı, nazofarengeal karsinomun en yaygın klinik belirtisidir ve kanlı tükürük veya burun akıntısı, burun tıkanıklığı, kulak rahatsızlığı ve baş ağrısı ile birlikte görülebilir (59). Gastrik karsinom dünya genelinde tüm popülasyonları etkileyen önemli bir malignitedir. Dünya genelinde her yıl 80.000'den fazla EBV-pozitif gastrik karsinom görülür ve EBV ile ilişkili gastrik karsinom oranı %10 olarak tahmin edilir. EBV ile ilişkili gastrik karsinom önemli bir lenfoid infiltrat ile diğer gastrik karsinomlardan ayrılır. EBV ile ilişkili gastrik karsinomda, tümör içindeki tüm malign hücreler aynı klonal EBV genomunu taşır. Her tümör EBV ile enfekte olmuş tek bir progenitör hücreden gelişir ve malign aşamadan sonra enfekte olmamıştır. EBV-pozitif gastrik karsinom EBV- negatif gastrik karsinom ile karşılaştırıldığında daha iyi bir prognoza sahiptir. Çünkü immün kontrol noktası inhibitörlerine oldukça iyi yanıt verir. Bu nedenle, tüm

gastrik karsinom vakalarının EBV açısından taranması tavsiye edilir. EBV-pozitif gastrik karsinom hastalarında yüksek plazma EBV DNA yükü hastalığın nüksetmesini ve kemoterapiye kötü yanıtı öngörebileceğinden, plazma EBV DNA yükünün dinamikleri EBV-pozitif gastrik karsinomu izlemek için erişilebilir bir biyobelirteç olabilir (64).

### 1.2.7. Tanı

Epstein-Barr virüs tanısında çeşitli testler kullanılır. Bunlar arasında heterofil antikorların tespiti (mono spot test) gibi spesifik olmayan testler, ELISA, EIA, IFA, kemoluminesans, immünoblot ve IgG aviditesi gibi EBV'ye özgü serolojik testler ve nükleer asit tespiti için moleküler testler yer alır. EBV ile ilişkili tümörlerin tespitinde immünohistokimya ve immünohistokimya gibi diğer tanı araçları da kullanılır. Serolojik testler, hastanın serumunda EBV antikorlarının tespit edilmesine dayanır. EBV tanısı için seroloji yüksek derecede değişkenlik gösterse de, hastanın enfeksiyon durumunu belirlemek için makul kriterler sağladığı için diğer testlere kıyasla hala tercih edilir ve yaygın olarak kullanılır. EBV genomu farklı yapısal ve yapısal olmayan genleri kodlar. Bu genlerden bazıları serolojik tanıda kullanılır çünkü humoral yanıt bu genlerin ürününe karşı antikorlar üretir. Testte kullanılan genler arasında viral kapsid antijeni, erken antijen ve EBNA'ları kodlayan genler bulunur (8).

Heterofil antikor testi (monospot testi) ilk olarak 1932 yılında tanıtılmıştır. En çok kullanılan serolojik testtir ve basit ancak spesifik olmayan bir test olarak kabul edilir. Genellikle hem birincil hem de tekrarlayan enfeksiyonların tanı ve taramasında kullanılan Heterofil antikor, EM için hassas bir tanı testi olarak kabul edilir. Heterofil antikor testi (HAb testi), bir hastanın serum veya plazmasının at, keçi veya koyun eritrositlerini aglütine etme yeteneğine bağlıdır. Normalde antikorlar EM sırasında yüksek konsantrasyonlarda tespit edilirken diğer birçok hastalık sırasında tespit edilmez. Bununla birlikte, bu testin yerini lateks aglütinasyon testi ve ELISA almaktadır. İki yaşından küçük çocukların yaklaşık %10-30'u ve 2-5 yaş arasındaki çocukların %50'si pozitifdir. Çocuklarda yüksek yanlış negatif sonuçların yanı sıra, heterofil antikor testinin viral hepatit, kızamıkçık, sıtma ve HIV enfeksiyonu gibi EBV dışı enfeksiyonlarda, malignitelere ve otoimmün hastalıklarda yanlış pozitif sonuçlar üretebilecek şekilde nonspesifik olması gibi başka dezavantajları da vardır (69).

İmmünokompetan bireylerde, EBV antikorlarını tespit etmek için genellikle viral kapsid antijeni IgG, viral kapsid antijeni IgM ve EBNA-1 IgG serolojik parametreleri gerekir. EBV erken antijene karşı IgG antikorlarının tespiti de yapılabilir ve EBV hastalık durumunun ayırt edilmesinde yardımcı olur. Viral kapsid antijeni IgM geçici olarak üretilir ve yeni primer enfeksiyonun bir göstergesi olarak kullanılır. Viral kapsid antijeni IgM iyileştikten sonra artık tespit edilmez ve genellikle yaşam boyunca başka bir zaman ortaya çıkmaz. Viral kapsid antijeni IgM erken ortaya çıkmasına ve akut EBV enfeksiyonunun tanısına yardımcı olmasına rağmen sonuçların doğru yorumlanmasını engelleyen bazı kısıtlılıklar mevcuttur. Örneğin, bazı çocuk ve yetişkinlerde primer akut enfeksiyonda viral kapsid antijeni IgM negatif olabilir ve EBV IgM, başta CMV olmak üzere antijenik olarak ilişkili diğer enfeksiyonlarla çapraz reaksiyon gösterebilir. Viral kapsid antijeni IgG, viral kapsid antijeni IgM ile aynı zamanda ortaya çıkmaya başladığı için akut, iyileşme döneminde veya geçirilmiş enfeksiyonlarda saptanır. Viral kapsid antijeni IgG ölçülmesi geçirilmiş bir EBV enfeksiyonunu gösteren en iyi test olarak bulunmuştur.

Epstein-Barr virüsü ile enfekte tüm hücrelerde EBNA-1 proteini eksprese edilir ve bu proteine karşı oluşan IgG, EBV enfeksiyonunun geç bir belirteçidir. EBNA-1 IgG hastalık zamanından 3-6 ay sonra ortaya çıkar (8). EBNA-2 IgG antikorları daha erken ortaya çıkar ve hastalığın başlangıcında hastaların yaklaşık %30'unda mevcut olabilir. EBNA-1 IgG antikorları temel olarak yaşam boyu devam eder. Bu nedenle, EBNA-2 IgG antikorlarının değil de EBNA-1 IgG antikorlarının varlığı primer enfeksiyonu kesinlikle dışlar. Bazı araştırmacılar EBV reaktivasyonunun serodiagnozu için anti-EBNA-1 antikoruna karşı anti-EBNA-2 antikor oranını kullanmaktadır (70).

Epstein-Barr virüs nükleer antijen-1 (EBNA-1) antikorlarının tespiti geçmiş veya iyileşmekte olan EBV enfeksiyonunu gösterir. Bununla birlikte Viral kapsid antijeni IgG geçmiş enfeksiyonu EBNA-IgG'den daha doğru bir şekilde gösterir. Çünkü EBNA-IgG EBV ile enfekte sağlıklı bireylerin yaklaşık %5-10'unda hiç gelişmez ve bu oran immünsüpresif hastalarda daha yüksektir. EBNA-1'in IgM sınıfı genellikle ölçülmez. Ancak tespit edildiğinde yeni bir primer enfeksiyonu gösterir. Primer enfeksiyondan sonra birkaç ay devam edebilir ve reaktivasyon sürecinde tekrar ortaya çıkabilir. EBNA-1 IgM, CMV ve Parvovirüs B19 gibi diğer virüslerle çapraz

reaktiviteye sahiptir ve yanlış negatif sonuçlar gösterebilir (8). Sadece üç parametre (Viral kapsid antijeni IgG, viral kapsid antijeni IgM ve EBNA-1 IgG) kullanılarak, bağışıklık sistemi yeterli hastalarda akut ve geçmiş enfeksiyonları ayırt etmek genellikle kolaydır. EBNA-1 IgG yokluğunda viral kapsid antijeni IgG ve viral kapsid antijeni IgM varlığı akut enfeksiyonu gösterir ve viral kapsid antijeni IgM yokluğunda viral kapsid antijeni IgG ve EBNA-1 IgG varlığı geçmiş enfeksiyon için tipiktir. Bununla birlikte, bazı vakalar, viral kapsid antijeni IgM ve EBNA-1 IgG yokluğunda viral kapsid antijeni IgG varlığı, viral kapsid antijeni IgG, viral kapsid antijeni IgM ve EBNA-1 IgG'nin aynı anda varlığı ve viral kapsid antijeni IgG ve IgM yokluğunda EBNA-1 IgG varlığı gibi tanısal şüpheler yaratabilecek farklı profillere sahip olabilir. Bu gibi durumlarda, antikor profilindeki herhangi bir değişikliği değerlendirmek için hastaları takip etmenin yanı sıra, diğer laboratuvar testlerinin yapılması da gereklidir (71).

Erken antijen litik fazda EBV ile enfekte hücreler tarafından eksprese edilen yapısal olmayan proteinlerden oluşan bir komplekstir. Erken antijen dağınık ve kısıtlı olmak üzere iki bileşenden oluşur. Erken antijene karşı IgG antikorları, EM sırasında ilk 3-4 hafta boyunca artar ve 3 ay veya daha uzun süre geçici olarak tespit edilebilir. Genellikle humoral yanıt dağınık bileşenine karşıdır ancak sessiz EBV serokonversiyonu geçiren çocuklar kısıtlı bileşenine karşı da antikor üretebilir. BL'de yüksek seviyelerde kısıtlı erken antijen antikorları tespit edilmiştir. Ayrıca latent bir EBV enfeksiyonunun reaktivasyonunun göstergesi olabilir. Buna karşın, nazofarengeal karsinomlu hastalarda yüksek titrelerde dağınık erken antijen üretildiği bulunmuştur. Bu nedenle, sadece erken antijen antikorlarının saptanması EBV durumunu tanımlamak için yeterli değildir. Yüksek titreler farklı hastalıklarda ve sağlıklı bireylerde de bulunur. Erken antijen antikorları akut fazda ortaya çıkar ve sonra tespit edilemeyen seviyelere düşer. Bununla birlikte akut enfeksiyonda hastalarının %60-85'inde erken antijenin pozitif olduğu ve geçmiş EBV enfeksiyonu olan sağlıklı bireylerin %20-30'unda saptanabilir düzeyde erken antijen antikorları olduğu gösterilmiştir. Bu antikorların tanısal değeri hala tartışmalı olmakla birlikte erken antijen antikor testinin diğer tanı araçlarıyla birleştirilmesi tanıda faydalı olabilir (8,71).

Başta viral kapsid antijeni antikoları olmak üzere EBV serolojik yanıtlarındaki yüksek değışkenlik ve çapraz reaktivite nedeniyle, enfeksiyonu doğrulamak için zaman zaman daha fazla parametreye ihtiyaç duyulur. IgG avidite testi genellikle diğer serolojik belirteçlerle birlikte kullanılır. Bu yöntem, enfeksiyonun akut fazı sırasında, EBV IgG antikolarının hedef antijenlerine bağlanma gücünün, antikolar olgunlaşmaya uğradığından, akut enfeksiyon bittikten sonra antikoların bağlanma gücü kadar yüksek olmadığı ilkesine dayanır. Avidite bir enzim immünolojik testleri (EIA), immünofloresan antikor testleri (IFA) veya immünoblotlama kullanılarak ölçülebilir. Aynı numunenin iki alikotu IgG antikolarının varlığı açısından paralel olarak test edilir: biri işlem görmez, diğeri ise antikoları antijenlerden ayıran maddelerle (genellikle 8 M üre) işlem görür. Ayrışma antikor aviditesine bağlı olduğundan, muamele edilmiş ve edilmemiş numune arasındaki oran avidite derecesini tanımlar. Bu nedenle avidite araştırması birincil enfeksiyonun süresini tahmin etmek ve akut ve geçmiş enfeksiyonu ayırt etmek için kullanılabilir (8,71)

Epstein-Barr virüsü DNA'sını saptamak ve viral yükü ölçmek için çeşitli moleküler teknikler geliştirilmiş ve uygulanmıştır. İn situ hibridizasyon, RNA ve protein bazlı testler, kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) ile kan örneklerinde EBV DNA'sının tespiti, Southern blotlama ve Dot blotlama, primer EBV enfeksiyonu, reaktivasyon ve EBV ile ilişkili hastalıkların tanı ve takibinde kullanılır. Bu yöntemler tanıya yardımcı olur, ancak standardizasyon eksikliği nedeniyle, laboratuvarın laboratuvara duyarlılık ve özgüllük farkı her zaman göz önünde bulundurulmalıdır (8).

### **1.3. Sitomegalovirüs ile İlgili Genel Bilgiler**

#### **1.3.1. Tarihçe**

Sitomegalovirüs her yerde bulunabilen ancak türe özgü ajanlardır. İnsanlar da dahil olmak üzere birçok hayvan türünde enfeksiyonların yaygın bir nedenidir. İntranükleer inklüzyonlarla birlikte hücre büyümesi de dahil olmak üzere CMV'nin neden olduğu karakteristik hücresel değışiklikler ilk olarak 1881 yılında Ribbert tarafından konjenital sifilizli ölü doğmuş bir bebeğin böbreklerinde rapor edilmiştir. Daha sonraki raporlarda çocukların parotis bezlerinde ve kobayların tükürük bezlerinde benzer bulgular tanımlanmıştır. Başlangıçta yenidoğanın sitomegalik inklüzyon hastalığının insan CMV enfeksiyonunun tek belirtisi olduğu düşünülmüştür.

Rowe ve ark., Smith 1956 yılında; Weller ve ark. 1957 yılında CMV'yi yenidoğanın sitomegalik inklüzyon hastalığı olan bebek ve çocuklardan ve adenoidektomi geçiren çocukların adenoidal dokusundan izole etmiş ve çoğaltmıştır. Doku kültürü izolasyonu ve serolojik testler daha yaygın olarak kullanılabilir hale geldikçe CMV çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiş ve bunların birçoğunun daha sonra CMV ile ilgisi olmadığı gösterilmiştir (72).

### **1.3.2. Epidemiyoloji**

Herpesvirüs ailesinin bir üyesi olan CMV, dünya çapında yaygın olan ve yaşamlarının bir noktasında önemli sayıda kişiyi enfekte eden bir patojendir. ABD'de virüsün 5 yaşına kadar çocukların yaklaşık %30'unu ve 40 yaşına kadar yetişkinlerin %50'sinden fazlasını enfekte edeceği tahmin edilir. Genel olarak CMV seroprevalansı kadınlarda, ileri yaş gruplarında, düşük sosyoekonomik düzeydeki kişilerde ve gelişmekte olan ülkelerde daha yüksektir. Özellikle üreme çağındaki kadınlar arasında, küresel CMV seroprevalansı %45-100 arasında değişmektedir. CMV kan, tükürük, idrar, gözyaşı, seminal sıvı, servikal sekresyonlar ve anne sütü gibi enfeksiyöz vücut sıvılarıyla temas yoluyla bulaşabilir. Ayrıca, solid organ ve kök hücre transplantasyonunu takiben enfeksiyon mümkündür ve CMV solid organ transplant alıcıları arasında en yaygın fırsatçı enfeksiyonu oluşturur. Daha önce seronegatif olan bir kişide primer CMV enfeksiyonundan sonra, kalıcı latent virüsün reaktivasyonu veya farklı bir CMV suşu ile sekonder enfeksiyon meydana gelebilir. Sağlıklı bireylerde CMV enfeksiyonu genellikle asemptomatiktir ancak hamile bir kadından fetüse intrauterin dönemde CMV bulaşması konjenital CMV enfeksiyonuna neden olabilir. Konjenital CMV enfeksiyonu ciddi sekel veya ölüme yol açabilir (73).

Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 30.000 bebeğe konjenital CMV teşhisi konulur ve buna bağlı yıllık 2-6.6 milyar dolarlık bir maliyet ortaya çıkar. Özellikle, Down sendromu, fetal alkol sendromu ve spina bifida gibi daha iyi bilinen durumlara kıyasla daha fazla çocuk konjenital CMV enfeksiyonundan olumsuz etkilenir. CMV'li yenidoğanların %90'ında klinik semptomlar görülme de uzun vadeli nörogelişimsel bozukluklar ortaya çıkabilir veya konjenital CMV enfeksiyonu ile ilişkili komplikasyonlar görülebilir. Konjenital CMV aynı zamanda sensörinöral

işitme kaybının sık nedenlerindendir ve semptomatik vakaların neredeyse %50'sinde ve asemptomatik vakaların %7'sinde görülür (74).

Yüksek risk grupları için önemli bir enfeksiyon yolu, latent enfekte olmuş donörlerden alınan kan ürünlerinin transfüzyonudur. Kontamine kan ürünlerinin transfüzyonu, CMV-seronegatif alıcılarda birincil enfeksiyona veya CMV-seropozitif alıcılarda yeni bir CMV suşu ile yeniden enfeksiyona neden olabilir. Transfüzyonla ortaya çıkan CMV ilk olarak 1966 yılında tanımlanmıştır. Genellikle latent olarak enfekte olmuş lökosit transferleri ile ilişkilendirilir. İnsidansının immünsüpresyonlu hastalarda %13-37 gibi yüksek oranlarda olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle hastalığın önlenmesi özellikle yüksek riskli gruplarda önemli bir önceliktir (75).

Sağlıklı bireylerde CMV enfeksiyonu genellikle hafif veya asemptomatiktir. Buna karşın, solid organ nakli alıcıları ve allojenik hematopoetik kök hücre nakli yapılan bireyler gibi immünsüpresyonlu hastalar arasında yüksek oranda patojeniktir ve yaşamı tehdit eden hastalığa neden olur (76). Nakil türü ile de ilişkili olarak insidansı pankreas veya böbrek-pankreas alıcılarında yaklaşık %50, akciğer veya kalp-akciğer alıcılarında %50-75, kalp alıcılarında %9-23, karaciğer alıcılarında %22-29 ve böbrek alıcılarında %8-32 oranındadır (77). CMV-seropozitifliği kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörü olarak gösterilmiştir ve bu da artmış mortalite ile ilişkisini kısmen açıklayabilir. Vasküler endotel hücreleri latent CMV için bilinen bir rezervuardır; belki de latent viral reaktivasyon sırasında immün aktivasyona bağlı olarak dolaşımdaki IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin artması kardiyovasküler hastalık patogenezini destekleyebilir. IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri, CMV seropozitif bireylerde anti-CMV IgG düzeyleri ve artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir. Yakın zamanlı bir metaanalizde CMV seropozitifliğinin, yaş, obezite ve sigara kullanımı gibi bilinen risk faktörleri kontrol edildiğinde bile, seronegatif bireylere kıyasla %22 oranında artmış kardiyovasküler hastalık gelişme riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (78).

### **1.3.3. Sınıflandırma**

Tüm herpesvirüsler alfa, beta ve gamma herpesviridae olmak üzere üç alt sınıfa olan herpesviridae ailesindedir. İnsan herpesvirüs 5 olan CMV beta herpesviridae içinde yer alan çift sarmallı DNA virüsüdür (79).

#### 1.3.4. Virüs Yapıları

İnsan CMV'si bilinen insan virüsleri arasında en büyük genoma sahiptir. Küresel partikülün boyutu 200-300 nm arasında değişir ve 236 kbp büyüklüğündeki genomu, her ikisi de ters çevrilmiş dizilerle çevrelenmiş unique long (UL) ve unique short (US) bölgelerinden oluşur. CMV genomu, CMV replikasyonu için 41 temel ve 117 temel olmayan proteini kodlayan 158 açık okuma çerçevesine sahiptir. İkozaedral nükleokapsid yaklaşık 110 nm'dir ve kapsomerler arasında 320 üçlü ile 162 kapsomer (150 heksamer, 12 pentamer) halinde organize olan dört integral proteinden (pUL46, pUL80.5, pUL85 ve pUL104) oluşur. CMV tegümenti virüs replikasyonunun başlatılması için gerekli olan yaklaşık 38 viral protein ve işlevi bilinmeyen birkaç hücresel protein ve mRNA içerir. Tegument tabakası, ağırlıklı olarak B (gB), gM, gN, gH, gL ve gO glikoproteinlerinden oluşan bir lipid zarf ile çevrelenmiştir. Bu proteinler immün yanıtlarının başlıca hedefleridir ve virüsün konakçı hücreye tutunmasında ve nüfuz etmesinde kilit rol oynarlar. CMV genotiplerinin sınıflandırılması glikoprotein dizilerine göre yapılmaktadır. gB (gB1-gB4) ve gN (gN1-gN4) genotipleri sırasıyla glikoprotein B (UL55 geni) ve glikoprotein gN'nin (UL73 geni) dizi çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Genotip gN3, gN-3a ve gN-3b'ye, genotip gN-4 ise gN-4a, gN-4b ve gN-4c'ye ayrılır. GH glikoproteininin çeşitliliği de iki genotiple (gH1 ve gH2) sonuçlanır (80).

#### 1.3.5. Patogenez ve İmmün Yanıt

Sitomegalovirüs glandüler ve mukoza dokularının epitel hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar, hepatositler, dendritik hücreler ve vasküler endotelial hücreleri enfekte edebilir (81). Enfeksiyöz virionları hücre dışı bölmeye başlamaya başlamak için 72 saate kadar sürebilen nispeten uzun bir litik replikasyon döngüsüne sahiptir (82). CMV'nin yaşam döngüsü, konak hücrelerin yüzeyindeki reseptörlere bağlanması ve sitoplazmaya girmesiyle başlar. Mevcut veriler CMV'nin reseptör aracılı endositoz ve membran füzyonu yoluyla sitoplazmaya girmesine ilişkin iki modeli desteklemektedir. Modellerden biri, trimerik gH/gL/gO kompleksinin trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü alfa (PDGFR $\alpha$ ) ile etkileşimini ve virüs zarfını fibroblastların membranı ile kaynaştırmak için gB'yi aktive etmesini içerir. Diğer model, pentamerik gH/gL/UL128-131 kompleksinin nöropilin-2 ile etkileşimini

içerir. Bu da epitel ve endotel hücrelerinde virüs partiküllerinin endositozunu, ardından gH/gL/gO (veya gH/gL) tarafından gB aktivasyonunu ve endozomlar yoluyla sitoplazmaya girişi teşvik eder. Mikrotübüller ağı CMV'nin çekirdeğe girişiyle yakından ilişkilidir. Viral DNA'nın hücre çekirdeğine girişinden sonra, hücresel RNA polimeraz I ve II major immediate early promoter'a bağlanarak viral genlerin transkripsiyonu için kullanılır. Latent ve lizojenik olmak üzere 2 çeşit hücre enfeksiyonu görülür. Latent enfeksiyon için, gecikmeyle ilişkili transkript CMV genleri transkribe edilir ve konak hücrelerde birikir. UL138, latent tanımlanmamış nükleer antijen (LUNA), UL81-82 48, US28 ve pUL11 dahil olmak üzere bir dizi CMV gecikmeyle ilişkili transkript tanımlanmıştır. Deneysel olarak, latent olarak enfekte olmuş CD34+ ve CD14+ hücrelerinin T hücrelerini toplayabilen kemokinlerin yanı sıra IL-10 ve TGF- $\beta$  salgıladığı gösterilmiştir; bunların her ikisi de latent enfeksiyonda çevreye göç eden T hücrelerinin aktivitesini modüle edebilir. Bu durumda, virüsler konakçı hücrelerde süresiz olarak kalabilir ve latent bir enfeksiyon yoluna sahip olabilir. Birincil enfeksiyona sınırlı hastalık eşlik edebilir ve uzun süreli latentlik genellikle asemptomatiktir. IL-6 ile uyarılmış dendritik hücrelerde CMV'nin reaktivasyonunun mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal iletim molekülü extracellular signal regulated kinase (ERK) yolağına bağlı olduğu bildirilmiştir. Günümüzde CD4+ veya CD8+ T hücreleri ve NK hücrelerinin CMV'ye karşı konak savunmasında önemli roller oynadığı düşünülmekte olup, hücresel immün yanıtın kilit katılımcıdır. CD4+ veya CD8+ T hücreleri viral replikasyonu sınırlar ve hastalığı önler. Ancak latent olarak enfekte olmuş konak hücreyi ortadan kaldırmaz. CMV immüno-supresyon, inflamasyon, diferansiyasyon veya kronik hastalıklar nedeniyle yeniden aktive olabilir ve litik yaşam döngüsü olarak tanımlanan semptomlara ve hastalıklara neden olacak çok sayıda viral progen üretmeye başlayabilir. CMV yeniden aktive olduğunda, viral genlerin transkripsiyonu, viral DNA replikasyonunu ve virion üretimini artırmak için gecikmeyle ilişkili transkript genlerinden litik genlere geçer. Ancak CMV'nin çevresindeki immün mikroçevresindeki değişiklikleri nasıl algıladığı ve proliferasyonu açık değildir (81).

### 1.3.6. Klinik

Konjenital CMV enfeksiyonu aynı zamanda sensörinöral işitme kaybının ve nörogelişimsel sekellerin başlıca nongenetik nedenidir. Konjenital CMV enfeksiyonu olan bebekler, doğumda konjenital enfeksiyonu düşündüren klinik bulguların varlığına göre semptomatik ve asemptomatik olarak sınıflandırılır. Bu sınıflamanın önemli prognostik etkileri vardır çünkü semptomatik enfeksiyonu olan bebekler nörogelişimsel sekeller açısından daha yüksek risk altındadır. Konjenital CMV enfeksiyonu olan çocukların çoğu (%85-90) doğumda asemptomatiktir. Klinik anormalliklerle doğan geri kalan %10-15 ise klinik olarak semptomatik enfeksiyon olarak kategorize edilir. Semptomatik konjenital CMV enfeksiyonu olan bebeklerde, hastalık belirtileri hafif nonspesifik bulgulardan, retiküloendotelyal ve merkezi sinir sistemi için özellikle tercih edilen çoklu organ sistemi tutulumuna kadar değişebilir. En sık gözlenen fiziksel bulgular peteşiyal döküntü, sarılık ve hepatosplenomegali ile mikrosefali ve letarji gibi nörolojik anormalliklerdir. Oftalmolojik muayenede semptomatik bebeklerin yaklaşık %10'unda koryoretinit ve/veya optik atrofi görülür. Semptomatik bebeklerin yaklaşık yarısı gebelik yaşına göre küçüktür ve üçte biri prematüre doğar. Semptomatik bebeklerin ölüm oranı %5'ten azdır. Semptomatik enfeksiyonu olan çocuklarda laboratuvar bulguları hepatobiliyer ve retiküloendotelyal sistemlerin tutulumunu yansıtır ve semptomatik yenidoğanların %50'sinden fazlasında konjuge hiperbilirubinemi, trombositopeni ve hepatik transaminazların yüksekliğini içerir. Transaminaz ve bilirubin seviyeleri tipik olarak yaşamın ilk 2 haftası içinde pik yapar ve daha sonra birkaç hafta boyunca yüksek kalabilirken, trombositopeni yaşamın ikinci haftasında en düşük seviyeye ulaşır ve 3-4 hafta içinde normalleşir. Doğumda semptomatik enfeksiyonu olan çocukların yaklaşık %50-70'inde beyinde radyografik bulgular anormaldir. En yaygın bulgu intrakraniyal kalsifikasyonlardır; ventriküler dilatasyon, kistler ve lentikülostriat vaskülopati farklı sıklıklarda görülmektedir (72).

Sitomegalovirüs enfeksiyonu sağlıklı yetişkinlerde semptomatik olduğunda EBV'nin neden olduğundan daha az belirgin bir servikal lenfadenopati ile mononükleoz benzeri bir sendromla sonuçlanır. Semptomlardan biri de CMV mononükleoz vakalarının yalnızca %30'unda görülen döküntüdür. Primer CMV enfeksiyonlarının az bir kısmı, birkaç hafta sürebilen veya daha az sıklıkla çoklu organ

yetmezliğine yol açabilen nükseden ateş, gece terlemesi, yorgunluk, miyalji, artralji ve transaminaz yüksekliği ile sonuçlansa da, ciddi hastalık genellikle immünsüpresyonu olanlarda görülür. Şiddetli CMV enfeksiyonu olan 290 immünokompetan hastalarda kolit gibi gastrointestinal sistem bulguları ve menenjit, ensefalit, transvers miyelit gibi merkezi sinir sistemi morbiditelerinin görüldüğü belirtilmiştir. Ayrıca hemolitik anemi ve trombositopeni gibi hematolojik anamaller, üveit ve retinit gibi göz bulguları, hepatit, pnömoni ve arteriyel/venöz tromboz bildirilmiştir (77). Ayrıca CMV enfeksiyonunun otoimmün hastalıklar, tüberküloz, ateroskleroz, mental bozukluklar, yaşa bağlı maküler dejenerasyon, akut interstisyel pnömoni, ve miyokardit gibi çeşitli kronik hastalıkların ortaya çıkmasına ve ilerlemesine neden olduğunu gösterilmiştir. CMV enfeksiyonunun serviks, meme, kolorektal, over prostat kanserleri, skuamöz hücreli karsinom, lenfoma, glioblastom, medulloblastom ve nöroblastom gibi çeşitli malignitelerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (83).

Nakil hastalarında en sık karşılaşılan fırsatçı viral patojenlerden biri CMV'dir. Organ naklinden sonra seronegatif bireylerde birincil enfeksiyon oluşabilirken, seropozitif bireylerde immünsüpresif tedavi nedeniyle latent enfeksiyon yeniden aktive olabilir (77). Daha önce CMV ile enfekte olmuş donörlerden alınan allogreftler, CMV bulaşması için önemli bir risk faktörüdür. Solid organ transplantasyonunda, allogreftten gelişen primer enfeksiyonlar, transfüzyon yoluyla edinilen enfeksiyonlara kıyasla daha ciddidir. Nakil alıcılarında CMV enfeksiyonu seyrinin, klinik hastalığın spesifik risk faktörlerine, immünsüpresif tedavi rejimine bağlı olduğu gösterilmiştir. İmmünsüpresyonun şiddeti arttıkça hastalığının şiddeti de artmaktadır (72).

Hematopoetik kök hücre nakli sonrası CMV enfeksiyonu, konak immün sisteminin düzelmesiyle ilgili mortal enfeksiyöz komplikasyonlardan biridir. CMV enfeksiyonunun spektrumu oldukça geniştir. Herhangi bir organ tutulumu olmaksızın, çoğunlukla asemptomatik viremi, DNAemi veya antijenemi olarak ortaya çıkan CMV reaktivasyonundan, özofajit, gastroenterit, hepatit, retinit, pnömoni ve ensefalit gibi end-organ hasarlarına kadar uzanır. Doğrudan end-organ tutulumuna ilaveten CMV reaktivasyonu dolaylı olarak greft yetmezliğini veya immünsüpresyonu etkileyebilir. Bu durum eş zamanlı bakteriyel ve/veya fungal enfeksiyonlarla sonuçlanabilir. Bulantı, kusma, ishal, kuru öksürük, nefes darlığı, baş ağrısı ve mental durum bozukluğu gibi semptomlar varsa CMV organ tutulumu düşünülmelidir. Semptomlar

olmasa bile CMV retinitinin tespiti için oftalmolojik muayene zorunludur. CMV hastalıkları arasında prognoz, tutulan organa göre değişir. CMV gastriti genellikle iyi prognozluken CMV ensefaliti veya pnömonisi uzun süreli antiviral tedaviye rağmen mortaldir (84).

Sitomegalovirüs enfeksiyonu HIV ile de enfekte bireylerde de görülür (77). CMV enfeksiyonu tipik olarak  $<100$  CD4+T hücresi/mm<sup>3</sup> olan AIDS hastalarında latent virüs yeniden etkinleştiğinde ortaya çıkar.  $<100$  CD4+T hücresi/mm<sup>3</sup> olan hastalarda CMV enfeksiyonu asemptomatik olabilir veya ateş, halsizlik veya lokalize end-organ hastalığı gibi spesifik olmayan semptomlara neden olabilir. HIV ile enfekte bireylerde CMV'nin en yaygın belirtisi, AIDS'li hastalarının %40'ında ortaya çıkan ve tüm CMV end-organ hastalıklarının %85'ini temsil eden retinitir (85). HIV'li hastalarda CMV retiniti fulminan veya indolent olmak üzere iki farklı şekilde görülür. Her ikisi de minimal veya hiç olmayan vitreus ve ön kamara inflamasyonu ile karakterizedir. Tedavi edilmediği takdirde, retinal hücrelerin CMV enfeksiyonu subakut retinal yıkıma neden olabilir ve bu da geri dönüşü olmayan körlükle sonuçlanabilir. Paradoksal olarak, Yüksek aktif antiretroviral tedavisi hastanın immün sistemini düzeltirken immün iyileşme üveiti olarak bilinen yeni bir patolojiye yol açabilir. Bu da konak dokusu için yıkıma ve hastanın yaşam kalitesinde azalmaya neden olur. Retiniti takiben en yaygın klinik belirtiler kolit, herpes simpleks virüsü veya kandida enfeksiyonu nedeniyle gelişen özofajit, pnömoni, ensefalit, hepatit ve adrenalitten oluşur (77).

### **1.3.7. Tanı**

Aktif CMV enfeksiyonunun erken ve hızlı teşhisi, viral aktivasyondan kaynaklanan klinik bulguların şiddetini azaltmak veya önlemek için çok önemlidir. Ayrıca erken tarama, tedavi ve prognozu destekleyebilir. Bunun için geleneksel viral izolasyon ve kültür, antijen-antikör testi, viral genetik test ve immün monitörizasyon dahil olmak üzere çeşitli laboratuvar testleri mevcuttur. Histopatoloji altın standart olmaya devam ederken, virüs izolasyonu ve kültürün komplike süreci CMV enfeksiyonunun erken teşhisi için elverişli değildir ve öncelikle bilimsel araştırma amacıyla kullanılır. Daha hızlı ve daha hassas tespit yöntemleri, virüs izolasyonu ve kültürünün yerini alarak virüsün gerçek zamanlı kantitatif tespitini ve izlenmesini

mümkün kılar. CMV genomunda UL83 tarafından kodlanan PP65 antijeni, viral kapsülün önemli bir bileşenidir. Latent CMV enfeksiyonu sırasında PP65'in ekspresyonu minimum düzeydedir. Bu da onu aktif CMV enfeksiyonunun teşhisinde yaygın olarak kullanılan bir gösterge haline getirir. Spesifik antikor-antijen bağlanması yoluyla periferik kan lökositlerinde PP65 antijeninin varlığını tespit eden PP65 antijenemi testi, yarı kantitatif bir yöntemdir. Bununla birlikte nötrofillerin kısa ömrü nedeniyle klinik numunelerin saatler içinde işlenmesi gerekir. Sonuçlar tam kan örneklerinden alınan nötrofil sayılarından da etkilenebilir. Kantitatif floresan PCR daha hızlı ve aynı zamanda daha düşük maliyetlidir. Ayrıca sonuçlar, immünesüpresif hastalarda klinik semptomlarla daha iyi korelasyon gösterir. CMV antikor tespit yöntemleri kullanılan antijenlere göre, viral lizat antijenlerine dayalı olanlar, genetik olarak tasarlanmış rekombinant protein antijenleri ve kimyasal olarak sentezlenmiş polipeptit antijenleri olmak üzere üç grupta sınıflandırılırlar. CMV IgM ve IgG antikorları, antikor afinitesi ile birlikte, vücuttaki CMV enfeksiyonunun durumunu belirlemek için yaygın olarak kullanılır. CMV IgM ve IgG antikorları sırasıyla primer ve geçirilmiş CMV enfeksiyonlarını gösterir (86). Yapılan çalışmalar CMV IgM tespitinin primer CMV enfeksiyonu için duyarlı bir belirteç olduğunu, ancak özgüllüğünün nispeten zayıf olduğunu göstermiştir. Özgüllüğün düşük olmasının bir nedeni, IgM'nin viral reaktivasyon veya farklı bir CMV suşu ile yeniden enfeksiyon sırasında üretilebilmesidir. Diğer bir neden ise bazı bireylerde primer enfeksiyonu takiben uzun süreli IgM persistansıdır; primer CMV enfeksiyonu olan hastaların yaklaşık %25'i enfeksiyondan 4 ay sonra hala saptanabilir IgM'ye sahiptir ve IgM bazen bir yıldan fazla devam eder. Yapılan bir çalışmada CMV IgM pozitif risk altındaki hastaların yaklaşık %50'sinin yüksek CMV IgG aviditesine sahip olduğunu buldu. CMV IgG aviditesi, primer CMV enfeksiyonunu tanımlamak için CMV IgM'den daha iyidir. CMV IgG aviditesini değerlendiren çalışmalar, düşük CMV IgG aviditesinin primer CMV enfeksiyonunun hem hassas hem de spesifik bir belirteci olduğunu göstermiştir. CMV IgG avidite testi primer CMV enfeksiyonunu primer olmayan CMV enfeksiyonundan ayırt etmek için giderek daha fazla "altın standart" olarak kabul edilmektedir. CMV IgG avidite testi, primer CMV enfeksiyonunu geçirilmiş CMV enfeksiyonu/reaktivasyonundan etkili bir şekilde ayırır (87). Genetik izleme, CMV'nin bir hastada replike olup olmadığını hızlı bir şekilde belirlemek için

tercih edilen bir yöntemdir. CMV ile ilgili genetik değişikliklerin zamanında izlenmesi, CMV enfeksiyonu ve hastalığının hızlı tanısında, antiviral tedavinin yönlendirilmesinde ve tedavi yanıtının izlenmesinde yardımcıdır. CMV viral yükü, CMV enfeksiyonunu kontrol etmek için önleyici tedavi için bir rehber görevi görürken, CMV RNA, şu anda mevcut olan hiçbir ticari testin tespit edemediği CMV replikasyonunun oldukça spesifik bir göstergesidir. Kandaki CMV DNA'sı için kantitatif floresan PCR, yüksek hassasiyeti ve verimliliği nedeniyle tercih edilen tanı testidir. Viral yükteki artış oranının belirlenmesi, CMV hastalığı geliştirme riskini değerlendirmek için kullanılır. Spesifik olmayan ve CMV'ye özgü T hücre sayılarının ve işlevinin immünolojik olarak izlenmesi, solid organ transplantasyonunu takiben CMV risk sınıflandırması ve yönetimi için değerli bir klinik araç olarak ortaya çıkmıştır. CMV'ye özgü hücre aracılı bağışıklığın tespiti, viral yükü belirlemek ve önleyici tedavi stratejilerinde antiviral ilaçların kullanımını optimize etmek için yararlı olabilir. Ayrıca, spesifik hücre aracılı immün testleri, transplantasyon öncesinde riski değerlendirmek için tek başına veya seroloji testleriyle birlikte kullanılabilir. Bu tür yöntemler öncelikle CD4+ ve CD8+ T hücrelerini uyarmak için örtüşen peptit havuzlarını kullanır. Daha sonra IFN- $\gamma$  gibi sitokinlerin üretimi, hücre proliferasyonu, akış sitometrisi veya ELISA kullanılarak ölçülür ve ilki genellikle daha yüksek hassasiyet sunar. Ancak bu yöntemin standardizasyonu zordur ve sadece hücre içi olayları analiz edebilir. Stimülasyon döneminde salgılanan biyolojik olarak aktif sitokinleri tespit edemez. ELISA tabanlı tahliller küçük kan hacimleri gerektirir ve gerçekleştirilmesi kolaydır. IFN- $\gamma$  üreten CD8+ T hücrelerini tespit etmekle sınırlıdır ve tek hücre düzeyinde tespit yapılmasına izin vermezler. Öte yandan, enzime bağlı immüno-spot tahlili düşük seviyedeki yanıtları tespit etmek için özellikle yararlıdır ve biyolojik olarak aktif sitokin salgılayan hücreleri tek hücre seviyesinde ölçülebilir. Bu yöntem rutin tanı amaçlı kullanım için uygun değildir (86).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Fırat Üniversitesi yerel etik kuruldan onay alındı (12.07.2023, 347082). Fırat Üniversitesi Hastanesi Dermatoloji, Tıbbi Mikrobiyoloji ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalları tarafından yürütüldü. Çalışmada 2020 Ocak-2023 Temmuz tarihleri arasında anogenital verrü tanısı ile eksize edilmiş lezyonlardan elde edilen 24 adet doku örneği Tıbbi Patoloji Anabilim Dalına ait biyolojik materyaller arşivinden temin edildi.

### 2.1. PCR Analizleri

Anogenital verrülü hasta grubuna ait 24 adet parafin gömülü doku biyopsi örneklerinde Real Time PCR ve pyrosequencing metodu ile HPV, CMV ve EBV araştırıldı. Örneklerden viral DNA eldesi için yapılan ekstraksiyonda DSP virüs patojen kiti (Qiagen, Germany) ve EZ1 Advanced (Qiagen) otomatize nükleik asit izolasyon cihazı kullanıldı.

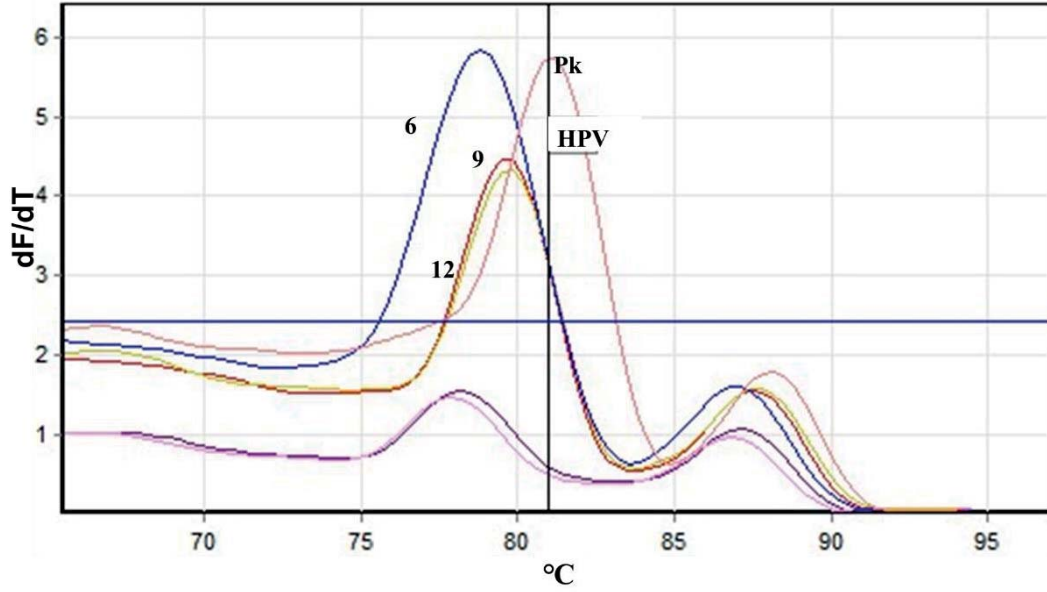
#### 2.1.1. HPV PCR ve Pyrosequencing

Real-time PCR ve pyrosequencing metodu kullanılarak (HPV Genotipleme Testi, Diatech Pharmacogenetics, Italy) HPV yüksek risk tipleri araştırıldı. DNA ekstraktları real-time PCR işleminde kullanılmak üzere -20°C'ye kaldırıldı. HPV Genotipleme Testi (Diatech Pharmacogenetics, Italy), HPV real-time PCR test ve pyrosequencing olmak üzere 2 aşama uygulandı. HPV real-time PCR testi, HPV pozitif örneklerin tespiti için kullanıldı. Daha sonra HPV tiplerinin tespiti (16 yüksek riskli HPV, 7 orta riskli HPV ve 11 düşük riskli HPV) için PCR testinde pozitif bulunan ürünlerin spesifik sekans primerleri kullanıldı ve pyrosequencing metodu ile dizi analizi yapıldı.

##### 2.1.1.1. Çalışma Protokolü

HPV Real-Time PCR testi için Rotor-Gene Q 5plex real-time-PCR (Qiagen) cihazı kullanıldı. Her bir hasta örneği pozitif ve negatif kontroller için içinde EvaGreen Dye bulunan 25µL PCR master mix HRM (High resolution master mix, Qiagen), 13 µL saf su ve 2 µL HPV/β-Globulin primer solüsyonundan oluşan toplam 40 µL karışım hazırlanarak steril 0.2 mL'lik PCR tüplerine eklendi. PCR mix üzerine sırasıyla

hastalara ait DNA ekstraktlarından 10 µL, negatif kontrolden 10 µL ve pozitif kontrollerden (sırasıyla HPV 31, 16 ve 39 için HPV 1/2, HPV 3 ve HPV 4 nolu pozitif kontroller) 10 µL eklendi. Toplam 50 µL PCR reaksiyon karışımı içeren PCR tüpleri Rotor-Gene Q 5plex cihazının karusel (Carousel) aparatına yerleştirildi ve cihaz 95°C'de 3 dakika ve 50 siklus olmak üzere 95°C'de 30 saniye, 44°C'de 30 saniye ve 72°C'de 30 saniye olmak üzere ısı döngüsü programında çalıştırıldı. Ardından ısı 72°C'den 1°C artırılarak 95°C'ye kadar yükseltildi ve pre-melting için 90 saniye FAM (yeşil) kanalında da 5 saniye bekletildi. HPV PCR test sonuçları FAM kanalında (yeşil) gözlendi ve eşik değerinin üstündeki değerler pozitif kabul edildi (Şekil 1). Daha sonra HPV genotiplerinin tespiti için PCR testine ait pozitif bulunan ürünlerin spesifik primerler kullanılarak pyrosequencing metodu ile dizi analizi yapıldı. Pyrosequencing testi için PCR reaksiyonundaki forward primerler biyotinli olup sentezlenen biyotinli amplifikasyon ürünleri, streptavidin ile kaplı sefaroze boncuklara bağlanarak tek sarmallı DNA'ya ayrıştırıldı ve HPV genotiplerine yönelik 4 farklı sekans primerleri ile pyrosequencing analizi yapıldı. DNA polimeraz, ATP-sülfürilaz, lusiferaz ve apiraz enzimlerinden oluşan enzim karışımı (Enzyme mixture), adenozin 5' fosfosülfat ve lusiferinden oluşan substrat karışımı (Substrat mixture) ve dNTP'ler kartuştaki (Pyromark Q24, Cartridge), protokole göre belirlenen kuyucuklara 120 µL enzim ve 120 µL substrat ve herbiri 96 µL olmak üzere dATP $\alpha$ S, dTTP, dCTP ve dGTP eklenerek PyroMark Q24 (Qiagen) cihazında pyrosequencing metodu ile dizi analizi gerçekleştirildi (Şekil 2).



6, 9 ve 12: PCR sonucu pozitif olan örnek numaraları, Pk: Pik,  
dF/dT: Sıcaklıktaki birim değişime göre floresan seviyesindeki değişim,  
°C: Santigrat derece

Şekil 1. HPV-PCR erime eğrisi analizi.

## IdentiFire Detailed Report



**Sample ID:** 6 numaralı doku örneği. 06,12,2023 HPV.pyrun

Sequence library: HPV Library\_rev5 (2015-10-09, 11:18:55)  
Query sequence: GGTAATCAACTGTTTGTACTGTGGTAGATACCACACGC

**Result:** Human papillomavirus type 6 **Score: 100**  
**Quality:** Good

**Hit 1:** Human papillomavirus type 6

Score: 100  
Identities: 39/39 (100%)  
Gaps: 0/39 (0%)  
E-value: 1,90e-034

```
Query 1 GGTAATCAACTGTTTGTACTGTGGTAGATACCACACGC 39
|||||
Library 1 GGTAATCAACTGTTTGTACTGTGGTAGATACCACACGC 39
```

Şekil 2. HPV-PCR pozitif çıkan 6 numaralı hasta örneğinin dizi analizi.

### 2.1.2. EBV PCR

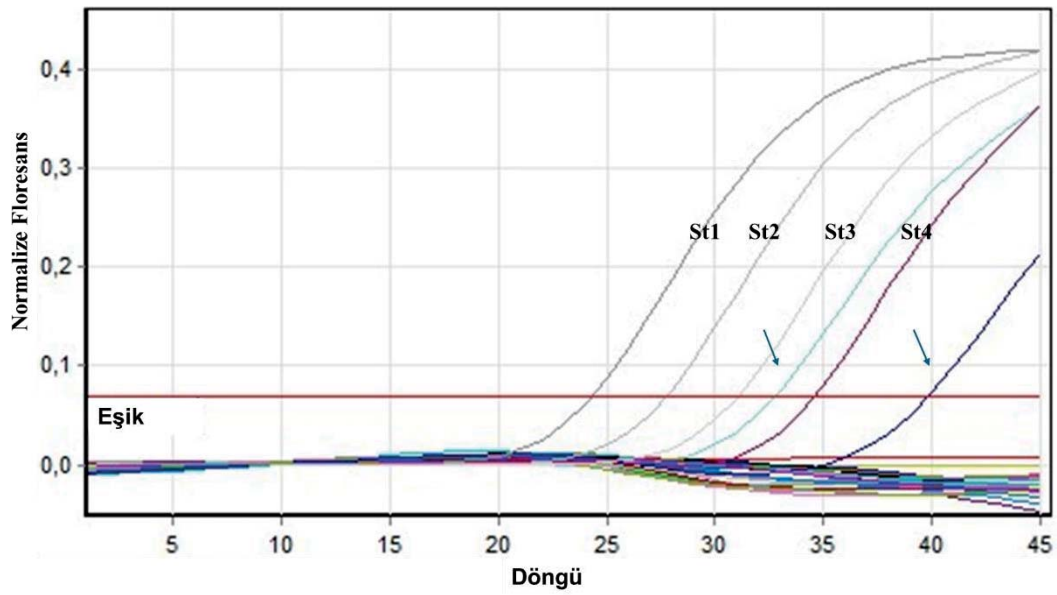
Artus EBV RG PCR Kiti insan plazma, serum, BOS, doku veya kan hücrelerinde Epstein-Barr virüsü (EBV) DNA'sının kantitasyonu için bir in vitro nükleik asit amplifikasyon testidir. Bu kit PCR kullanır ve Rotor-Gene Q Aletleriyle

kullanılmak üzere konfigüre edilmiştir. EBV RG Master, EBV genomunda 97 bp bölgenin spesifik amplifikasyonu için ve Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene 6000 Cycling Green floresans kanalında veya Rotor-Gene 3000 Cycling A.FAM™ floresans kanalında spesifik ampikonun doğrudan saptanması için gerekli reaktifleri ve enzimleri içerir. Ayrıca artus EBV RG PCR Kiti olası PCR inhibisyonunu tanımlamak için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu Rotor-Gene Q MDx, Rotor-Gene Q veya Rotor-Gene 6000 Cycling Yellow floresans kanalında veya RotorGene 3000 Cycling A.JOE™ floresans kanalında bir dahili kontrol olarak saptanır. Analitik EBV PCR saptama limiti azalmaz. Harici pozitif kontrolleri (EBV RG QS 1-4) vardır ve bunlar hedef viral DNA miktarının belirlenmesini sağlar.

#### **2.1.2.1. Çalışma Protokolü**

Test edilecek örnek sayısı kadar PCR tüpünü soğutma bloğunun adaptörlerine yerleştirildi. DNA izolasyon işlemi izlemek ve olası PCR inhibisyonunu kontrol etmek için dahili kontrol kullanıldı. Bu amaçla 1 örnek için EBV RG Master 30 µl olacak şekilde Master karışımı hazırlandı. Dahili kontrol doğrudan 1 örnek için 2 µl EBV RG Master karışımına eklendi ve toplam hacim 32 µl oldu. Sonra her PCR tüpüne master karışımdan 30 µl pipetlendi ve sonra elüsyon yapılmış örnek DNA'sından 20 µl eklendi (Master karışım 30 µl + Örnek 20 µl = Toplam hacim 50 µl) . Bununla birlikte, 20 µl pozitif kontrol olarak kantitasyon standartlarının (EBV RG QS 1-4) en az biri ve negatif kontrol olarak 20 µl su (su, PCR sınıfı) kullanıldı. EBV DNA tespitinde sıcaklık profili oluşturulması için Rotor-Gene Q MDx/Rotor-Gene Q yazılım versiyonu 1.7.94 kullanıldı ve toplam 50 µL PCR reaksiyon karışımı içeren PCR tüpleri Rotor-Gene Q 5plex cihazının karusel (Carousel) aparatına yerleştirildi. Cihaz 95°C'de 10 dakika ve 10 siklus olmak üzere 95°C'de 15 saniye, 65°C'de 30 saniye ve 72°C'de 20 saniye olmak üzere ısı döngüsü programında çalıştırıldı. DNA amplifikasyonu için birleştirme adımında touchdown işlevini 10 döngü için etkinleştirildi. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın, floresans boyalarını "FAM/Sybr, JOE" olarak tanımlandı. Floresans kanalları için saptama aralığı PCR tüplerindeki floresans şiddetlerine göre belirlendi. "Auto-Gain Optimisation Setup" diyalog kutusunu açmak için "New Run Wizard" diyalog kutusunda "Gain Optimisation" kısmına tıklanarak, kalibrasyon için sıcaklık amplifikasyon programının birleştirme

sıcaklığıyla eşleşmesi için 65 olarak ayarlandı. Rotor-Gene 3000 üzerinde yazılımın, floresans boyaları “FAM/Sybr” ve “JOE”olarak tanımlandı. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedildi ve sistem çalıştırıldı. Floresans kanalı Cycling Green içinde bir sinyal tespit edildiğinde analizin sonucu pozitif (örnek EBV DNA içerir) kabul edildi (Şekil 3). Floresans kanalı Cycling Green içinde sinyal olmadığında ve Cycling Yellow kanalında dahili kontrolden bir sinyal tespit edildiğinde ise örnek EBV DNA içermediğinden analiz sonucu negatif kabul edildi.



St: Standart, Ok işareti: Pozitif örnekler

**Şekil 3.** Kantitatif EBV-PCR çalışma sonuçları.

### 2.1.3. CMV PCR

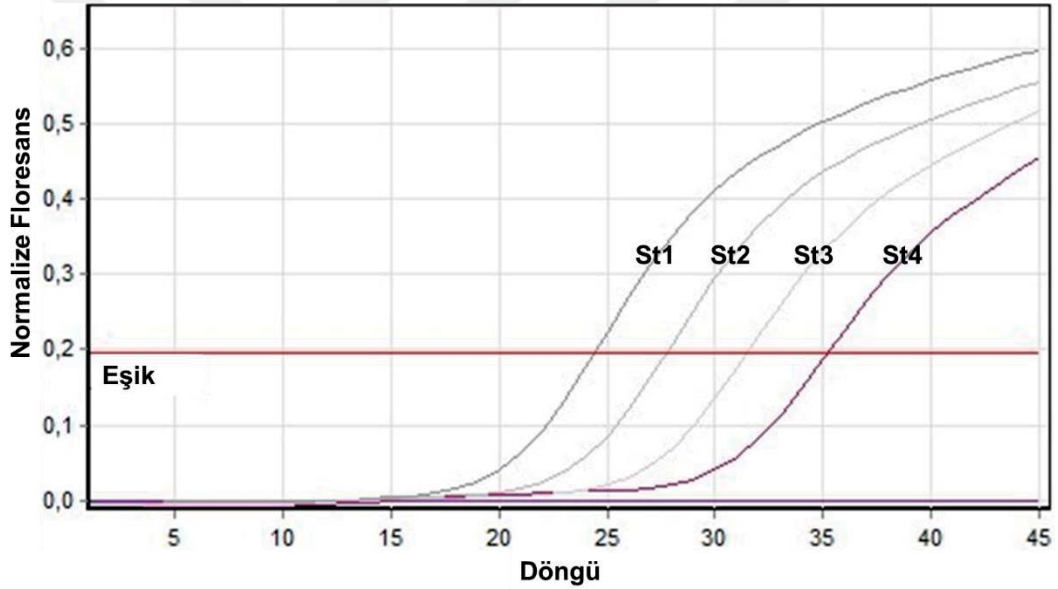
Artus CMV RG PCR kit insan plazmasında CMV DNA'sının kantitasyonu için bir in vitro nükleik asit amplifikasyonu testidir. Bu diagnostik test kiti PCR kullanır ve Rotor-Gene Q Cihazlarıyla kullanılmak üzere konfigüre edilmiştir. Artus CMV RG PCR Kit, Rotor-Gene Q MDx Cihazlarında PCR kullanılarak CMV DNA tespiti için kullanıma hazır bir sistem oluşturur. CMV RG Master, CMV genomu içerisinde Major Immediate Early (MIE) Geninin bir 105 bp bölgesinin spesifik amplifikasyonuna (tahlil gB1 – gB4 CMV genotiplerini saptayabilir) ve Rotor-Gene Q MDx cihazının Cycling Green floresans kanalında bu spesifik ampikonun doğrudan saptanmasına

yönelik reaktifler ve enzimler içerir. Buna ek olarak, artus CMV RG PCR Kit olası PCR inhibisyonunu tespit etmek için ikinci bir heterolog amplifikasyon sistemi içerir. Bu Rotor-Gene Q MDx cihazının Cycling Yellow floresans kanalında bir dahili kontrol (Internal Control, IC) olarak saptanır. Harici pozitif kontroller (CMV QS 1-4) sağlanır ve bunlar viral DNA miktarının belirlenmesini sağlar.

### 2.1.3.1. Çalışma Protokolü

Her PCR çalışmasında en az bir kantitasyon standardı ve ayrıca bir negatif kontrol (Su, PCR sınıfı) dahil edildi. Standart bir eğri oluşturmak için her PCR çalışması için sağlanan 4 kantitasyon standardının (CMV QS 1-4) hepsi kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce soğutma bloğunun (Rotor-Gene Q Cihazının aksesuarı) 2-8°C'ye önceden soğutuldu ve her kullanımdan önce tüm reaktiflerin tamamen çözülmesi, karıştırılması (tekrarlanan yukarı - aşağı pipetleme veya hızlı vorteksleme ile) için kısa süre santrifüj edildi. İstenen sayıda PCR tüpünü soğutma bloğunun adaptörlerine yerleştirildi. Bu kitin içeriğinde bir dahili kontrol (CMV RG IC) kullanıcının hem DNA izolasyon prosedürünü kontrol etmesine, hem de olası PCR inhibisyonu için denetim yapmasına izin verir. Bu uygulama için dahili kontrolü 1 µl elüsyon hacmi başına 0,1 µl oranında izolasyona eklendi. Test başlangıcında 6 µl dahili kontrol eklendi. 1 test başına örnekte kullanılmak üzere CMV RG Master 25 µl+ CMV Mg-Sol 5 µ, toplam hacim 30 µl olacak şekilde master karışımı hazırlandı ve bunun üzerine CMV RG IC'den 2 µl eklendi. Her bir PCR tüpüne master karışımın 30 µl kadarını pipetleyin, ardından elüsyon yapılmış örnek DNA'sından 20 µl eklendi ve toplam 50 µl hacim elde edildi. Buna karşılık kantitasyon standartlarının (CMV QS 1-4) en az birinden 20 µl pozitif 20 µl su (su, PCR sınıfı) negatif kontrol olarak kullanıldı. PCR tüplerini kapatan kilitleme halkasının (Rotor-Gene Cihazının aksesuarı) tüplerin çalışma sırasında yanlışlıkla açılmasını önlemek üzere rotorun üstüne yerleştirilip yerleştirilmediği kontrol edildi ve CMV DNA saptamak için sıcaklık profili oluşturuldu. Bunun için Rotor-Gene Q Yazılım sürümü 2.3.5 veya üstü kullanılarak toplam 50 µL PCR reaksiyon karışımı içeren PCR tüpleri Rotor-Gene Q 5plex cihazının karusel (Carousel) aparatına yerleştirildi ve cihaz 65°C'de 10 dakika ve 10 siklus olmak üzere 95°C'de 15 saniye, 65°C'de 30 saniye ve 72°C'de 20 saniye olmak üzere ısı döngüsü programında çalıştırıldı. Floresans kanalları için saptama aralığının

PCR tüplerindeki floresans yoğunluklarına göre belirlenmesi amacıyla, Auto-Gain Optimisation Setup (Otomatik Kazanç Optimizasyon Kurulumu) iletişim kutusu açılması için New Run Wizard (Yeni Çalışma Sihirbazı) iletişim kutusunda Gain Optimisation (kazanç optimizasyonu) ögesi seçildi. Kalibrasyon sıcaklığını, amplifikasyon programının bağlanma sıcaklığıyla eşleşmesi için 65°C olarak ayarlandı. Kanal kalibrasyonu tarafından belirlenen kazanç değerleri otomatik olarak kaydedildi. Programlama işleminin son menü penceresinde liste halinde verildi ve sistem çalıştırıldı. Floresans kanalı Cycling Green içinde bir sinyal tespit edildiğinde örnek CMV DNA içerdiğinden analiz sonucu pozitif kabul edildi. Cycling Yellow kanalında dahili kontrolden bir sinyal tespit edildiğinde ise örnek CMV DNA'sı içermediğinden analiz sonucu negatif kabul edildi (Şekil 4).



St: Standart, St 1-4: Eşik değeri geçen örnek standart kontroller.

Şekil 4. Kantitatif CMV-PCR çalışma sonuçları.

## 2.2. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için statistical package for the social sciences (SPSS) versiyon 22.0 paket programı kullanıldı. Çalışmadan elde edilen değerler ortalama±SD olarak verilerek, gruplar arası karşılaştırmalar için parametrik veriler student t test ile nonparametrik olanlar ise ki kare testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

Bu çalışmada 2020 Ocak-2023 Temmuz tarihleri arasında anogenital verrü tanısı almış hastaların eksize edilmiş lezyonlardan elde edilen 24 adet doku örneği kullanıldı. Örnekler 10 (%41.7) kadın, 14 (%58.3) erkek hastaya ait idi. Hastaların yaş ortalaması  $43.58 \pm 12.80$  (19-64) idi. Cinsiyete göre yaş ortalaması, kadınlarda  $43.00 \pm 15.14$  (21-64), erkeklerde  $44.00 \pm 11.43$  (19-62) olarak tespit edildi. Hastaların demografik özellikleri Tablo 4'de sunulmuştur.

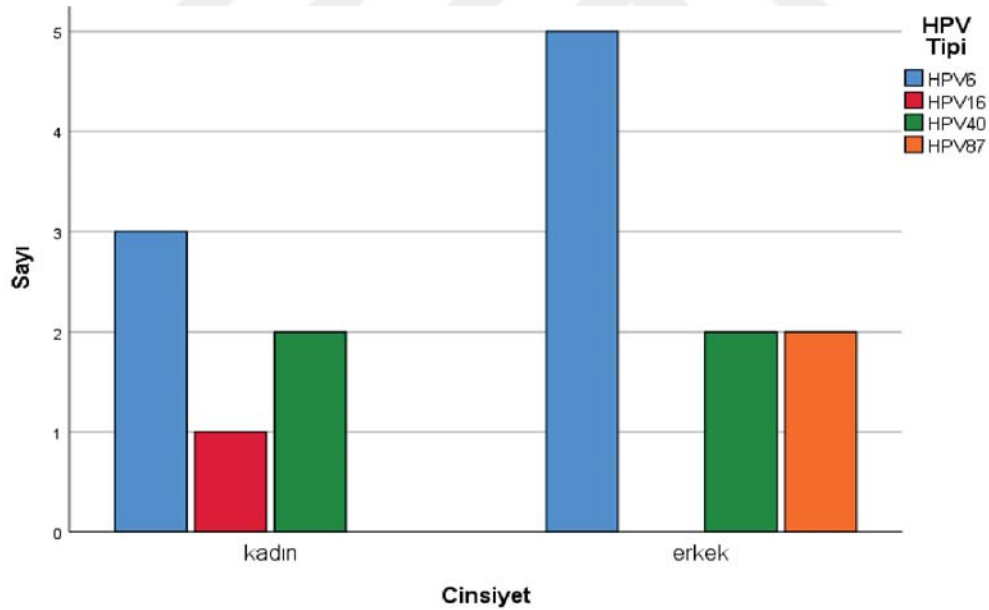
Yapılan PCR analizinde hastaların 15 (%62.5)'inde HPV tespit edilirken, 9 (%37.5)'unda HPV tespit edilemedi. Kalan 15 hastanın 8 (%53.3)'inde HPV 6, 1 (%6.7)'inde HPV 16, 4 (%26.7)'ünde HPV 40, 2 (%13.3)'sinde HPV 87 tespit edildi. 2 (%8.3) hastada HPV ve EBV birlikteliği mevcuttu. Hastaların 22 (%91.7)'sinde EBV tespit edilemedi. 24 hastanın hiçbirinde CMV tespit edilemedi.

Cinsiyet açısından değerlendirildiğinde kadın hastaların 4 (%40)'ünde, erkek hastaların ise 5 (%35.7)'inde HPV tespit edilemedi. Kadın hastalarda tespit edilen HPV tiplerinin 3 (%50)'ü HPV 6, 1 (%16.7)'i HPV 16, 2 (%33.3)'si HPV 40 idi. Erkek hastalarda tespit edilen HPV tiplerinin 5 (%55.6)'i HPV 6, 2 (%22.2)'si HPV 40, 2 (%22.2)'si HPV 87 idi (Şekil 5).

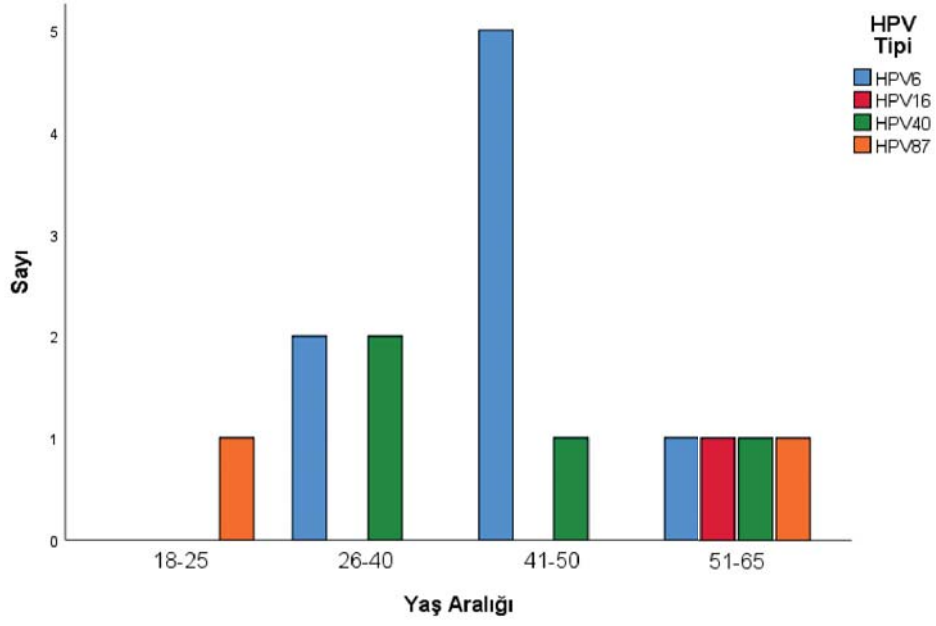
Yaş aralığı açısından değerlendirildiğinde ise 18-25 yaş aralığındaki toplam 3 (%100) hastanın 2 (%66.7)'sinde HPV tespit edilemedi. HPV tespit edilen 1 (%33.3) erkek hastada HPV tipi HPV87 ve EBV ile birlikte pozitif idi. 26-40 yaş aralığındaki toplam 6 (%100) hastanın 2 (%33.3)'sinde HPV tespit edilemedi. HPV tespit edilen 4 (%66.7) hastanın 2 (%50)'si HPV6, diğer 2 (%50)'si HPV40 idi. 41-50 yaş aralığındaki toplam 9 (%100) hastanın 3 (%33.3)'ünde HPV tespit edilemedi. HPV tespit edilen 6 (%66.7) hastanın 5 (83.3%)'i HPV6, 1 (%16.7)'i HPV40 idi. 51-65 yaş aralığındaki toplam 6 (%100) hastanın 2 (33.3)'sinde HPV tespit edilemedi. HPV tespit edilen 4 (%66.7) hastanın 1 (%25)'i HPV6, 1 (%25)'i HPV16, 1 (%25)'i HPV40, 1 (%25)'i ise HPV87 idi (Şekil 6).

**Tablo 4.** Hastaların demografik özellikleri

	HPV pozitif (n,%)	HPV negatif (n,%)
<b>Cinsiyet</b>		
Kadın	6 (60)	4 (40)
Erkek	9 (64.3)	5 (35.7)
<b>Yaş grubu</b>		
18-25	1 (33.3)	2 (66.7)
26-40	4 (66.7)	2 (33.3)
41-50	6 (66.7)	3 (33.3)
51-65	4 (66.7)	2 (33.3)
<b>Ek hastalık</b>		
Testis tümörü	0	1 (100)
Verrü zemininden gelişen anal karsinom	1 (50)	1 (50)
Kolonda adenomatöz polip	1 (100)	0 (0)
Berrak hücreli renal hücreli karsinom	1 (100)	0 (0)
Rektal karsinom	1 (100)	0 (0)
Hepatit B enfeksiyonu	1 (100)	0 (0)
HIV pozitifliği	1 (100)	0 (0)
<b>EBV</b>	2 (8.3)	22 (91.7)
<b>CMV</b>	0 (0)	0 (0)



**Şekil 5.** Cinsiyete göre tespit edilen HPV tipleri



Şekil 6. Yaş aralığına göre tespit edilen HPV tipleri

#### 4. TARTIŞMA

Bu çalışmada anogenital verrü tanısı alan hastalarda parafin dokudaki örneklerde HPV, EBV ve CMV sıklığı ve birlikteliği moleküler yöntemle incelendi. 2020 Ocak-2023 Temmuz tarihleri arasında anogenital verrü tanısı almış hastaların eksize edilmiş lezyonlardan elde edilen 24 adet doku örneği kullanıldı. Çalışmaya alınan örnekler semptomatik hastalardan elde edildiği için genel popülasyondaki asemptomatik hastalardaki HPV, EBV ve CMV enfeksiyonu oranlarını temsil etmemektedir.

Anogenital HPV enfeksiyonunun genel prevalansı dünya genelinde bölgesel olarak %1-5 (14), ABD’de ise yaklaşık %40 olduğu tahmin edilmektedir (15). Bu çalışmada doku örneklerinin %62.5’inde HPV tespit edildi. Rideg ve ark. anogenital verrülü 94 hastadan alınan örneklerin %100’ünde HPV DNA tespit edildiğini bildirmiştir. Her iki çalışmada da parafine gömülü dokular kullanılmıştır ancak yöntemle ilgili farklılıklardan ve hastalardaki HPV enfeksiyonu ve klinik oluşması arasındaki süreye bağlı olarak HPV temizlenmesi sonuçları etkilemiş olabilir. Rideg ve ark.’nın (88) çalışmasında ayrıca örneklerin %72.3’ünde tek tip enfeksiyon %27.6’sında ise çoklu enfeksiyon tespit edilmiştir.

Bugüne kadar 100’den fazla HPV tipi tanımlanmış ve bunlardan HPV tip 6 ve 11 genital verrülerin yaklaşık %90’ından HPV 16 ve 18 ise invaziv servikal kanserlerin %70’inden sorumlu tutulmuştur (89). Bu çalışmada HPV pozitifliği olan lezyonlarda yapılan tiplendirmede örneklerin yarısından fazlasında (%53.3) HPV 6 tespit edildi ancak HPV 11’e rastlanmadı. Yine Rideg ve ark.’nın (88) çalışmasında HPV 6 ve HPV 11’in kümülatif oranı %71 olarak bildirilmiştir. HPV 6 ve 11 anogenital verrülerin büyük çoğunluğuna sebep olsa da diğer düşük riskli ve HPV 16 gibi yüksek riskli HPV tipleriyle kombine enfeksiyonlar da oluşturabilmektedir. Bu genotip, genital verrülerde HPV 6 ve HPV 11’den sonra tespit edilen üçüncü en yaygın genotip olarak bildirilmiştir (88,90). Ancak bu çalışmada en az (%6.7) tespit edilen tip HPV 16 idi. Arroyo ve ark.’ (90) nın çalışmasında anal bölgedeki verrülerde çoklu enfeksiyonun daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, çalışmaya dahil edilen popülasyonla ve eksize edilen örneğin anogenital sistemdeki yeri ile ilgili farklı sonuçlar elde edilmiş olabilir.

Al-Awadhi ve ark. (91) ise çalışmalarında hastaların bir kısmında çoklu HPV enfeksiyonu tespit edildiğini, tek tip enfeksiyondaki en sık tespit edilen tipin HPV 16 olduğunu, HPV 11'in ise tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada tek tip HPV enfeksiyonu gözlemlendi. Bu sonuç örneklerin elde edildiği hasta grubunun yaş ortalamasının yüksek (4. dekat) olması ile ilişkili olabilir. Genç hastalarda çoklu enfeksiyon görülme ihtimali daha fazladır. Bir hastada ise düşük riskli HPV tipi eşlik etmeksizin HPV 16 enfeksiyonu gözlemlendi. Bu durum yüksek riskli HPV tiplerinin konak DNA'sına entegre olması nedeniyle temizlenme hızlarının düşük riskli HPV tiplerine göre daha yavaş olması ile ilişkilendirilebilir. HPV 16 tespit edilen hastada aynı zamanda EBV'nin de eşlik ettiği görüldü. Eşlik eden viral enfeksiyonun onkojenik tip HPV enfeksiyonuna katkıda bulunabileceğini düşündürdü.

Bu çalışmada ikinci sıklıktaki tip (%26.7) HPV 40 idi. HPV 40 anogenital verrülerde ilk olarak De Villiers ve ark (92) tarafından tespit edilmiştir. Daha sonra servikal prekanseröz lezyonlarda (93), tekrarlayan solunum yolu papillomatozisinde (94) ve multifokal epitelyal hiperplazi lezyonunda HPV 40 tespit edildiği bildirilmiştir (95). HIV pozitif ve mukozal kaposi sarkomu olan erkek hastanın sert damağında papillomatöz lezyondan alınan örnekte HPV 40 tespit edilmiştir (96). Anogenital verrüsü olan hastalarda HPV 6 ve HPV 11'in yanı sıra HPV 7 ve HPV 40 gibi nadir görülen tiplerle enfeksiyonda yer almıştır (97). HPV 40 ve HPV 7 arasında yüksek oranda benzerlik bulunmuş hatta aşı çalışmalarında dikkate alınması gerektiği vurgulanmıştır (92,96,97). Diğer taraftan Rideg ve ark.'nın (88) çalışmasında parafin dokularda HPV 40'ın tanımlanma sıklığı HPV 6 ve HPV 11'e göre daha az tespit edilmiş ve HPV 40'ın HPV 6 ve/veya HPV 11 olmadan enfeksiyon geliştirebildiği belirtilmiştir. Bu çalışmada HPV 6'dan sonra HPV 40'ın da sık enfeksiyon nedeni olabildiği tespit edildi. Literatüre benzer şekilde HPV 40'ın tek tip enfeksiyon yapabildiği görüldü ancak diğer tiplerle birlikteliği bulunamadı.

Anogenital verrüleri veya öyküsü olan kadınların %83'ünde servikal HPV enfeksiyonu vardır. Yüksek riskli HPV tipleri ile kombine enfeksiyonu olan hastalarda servikal, penis ve anal kanser gibi daha ciddi hastalıklara yakalanma riskinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, anogenital verrülü kişilerin yaklaşık %20'sinde cinsel yolla bulaşan başka hastalıklar da görülmektedir (88). Menzo ve ark. (98) servikal sitolojide koilositik atipisi olan 4 hastadan aldıkları örneklerde ilk kez HPV

87 tespit etmişler ve 4 hastanın 3'ünün HIV ile enfekte olduğunu belirtmişlerdir. HIV pozitif ve HIV negatif hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada HIV pozitif hastaların servikovajinal lezyonlardan alınan örneklerde daha geniş HPV spektrumu tespit edilmiş ve HIV pozitif hastalarda HPV 87 insidansının %4.5 olduğu belirtilmiştir. HPV 87 ve HIV pozitif vajinal karsinoma in situ olan bir hastada tümör eksizyonundan sonra 3 yılı aşan süre boyunca serviks ve vajina kontrol örneklerinde skuamöz intraepitelyal lezyonun devam ettiği gözlenmiş ve yazarlar HPV 87'nin onkojenik potansiyelinin immünsüprese hastalarda daha fazla olduğunu belirtmişlerdir (93). Bu çalışmada HPV 87 tespit edilen 2 hastadan biri HIV ve EBV pozitif. Elde edilen sonuç HPV 87 pozitifliğinin immünsüpresyonla ilişkisini destekler niteliktedir. Ancak daha fazla hasta grubu ile yapılacak çalışmalar HPV 87 ve immünsüpresyon ilişkisine dair daha net bilgiler sunacaktır.

Anal kansere en sık neden olan tipin HPV 16 olduğu bilinmekteyken Cornall ve ark. (94) tarafından anal SCC'li hastalardan alınan örneklerde yalnızca HPV 6 tespit edildiği ve kanser açısından düşük riskli kabul edilmesine rağmen nadir de olsa HPV 6'nın anal kansere neden olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada da anogenital verrü zemininden gelişen anal karsinoma in situ olan iki erkek hastanın birinde HPV 6 tespit edildi. Bu sonuç HPV 6'nın anal kanserde tespit edilme ihtimalinin serviks kanserinden daha yüksek olabileceğini akla getirmekte ancak örnek sayısının çok az olması bu görüşü desteksiz bırakmaktadır.

Anogenital verrülerin cinsiyete göre sıklığının araştırıldığı Banura ve ark.'nın (99) bir metaanalizinde kadın ve erkeklerde görülme sıklığı benzer bulunmuştur. Comenga ve ark.'nın (100) çalışmasında da 20-24 yaşları arasında anogenital verrü görülme sıklığı kadın hastalarda erkek hastalara göre daha fazla tespit edilmiştir. Lewis ve ark. (101) çalışmasında ise ileri yaşlarda erkeklerde daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada anogenital verrü görülme sıklığı erkek (%58.33) hastalarda kadın (%41.66) hastalara göre daha yüksekti. Bu sonuç hastaların yaş ortalamasının yüksekliği veya hastaneye başvuru oranları ile ilişkili olabilir. Bu çalışmanın retrospektif yapısı nedenli hastaların HPV edinimlerine dair risk faktörleri (örn. cinsel partner sayısı, sigara kullanımı) ortaya konamamıştır.

Tiplendirmeye bakıldığında HPV 6 erkeklerde kadınlara göre daha fazlayken, HPV 16 erkeklerde, HPV 87 ise kadınlarda tespit edilemedi. HPV 40 ise aynı sayıda

tespit edildi. Çalışmadaki örnek sayısının az olması ile cinsiyetler arasında karşılaştırma yeterli şekilde yapılamadı ancak nadir görülen HPV tiplerinin tespit edilmesi bu çalışmanın ayırt edici özelliğidir.

Yaş aralığı açısından değerlendirildiğinde, HPV enfeksiyonu tespit edilme oranı 18-25 yaş aralığında %33, 26-40 yaş aralığında %66, 41-50 yaş aralığında %66 ve 51-65 yaş aralığında %66 olarak bulundu. 18-25 yaş aralığı hariç diğer aralıklarda HPV tespit edilme oranları benzerdi. Yaş aralıklarındaki hasta sayısı dengeli olmadığı için yaşa göre değerlendirme net olarak yapılamadı.

Bir beta herpesvirüs olan CMV geniş bir alana yayılmış bulaşıcı bir hastalıktır. CMV'nin dünya genelindeki tahmini ortalama prevalansı bölgesel değişkenlikler göstermekle birlikte yaklaşık yüzde 83'tür (102). İmmünsüprese bireylerde (transplantlı veya HIV'li) çoklu organ tutulumu ve sıklıkla ölümcül sonuçlar doğuran ciddi klinik hastalığa neden olabilir. CMV enfeksiyonu aynı zamanda dikey olarak bulaşan en yaygın enfeksiyondur ve yenidoğanlarda konjenital hastalıkların önemli bir nedenidir. İmmünokompetan bireylerde primer enfeksiyon, reinfeksiyon veya reaktivasyon genellikle asemptomatiktir. Hastalığın çeşitli semptomlarıyla tutarlı olarak, CMV fibroblastlar, epitelyal, endotelyal, düz kas ve plasental hücreler için güçlü bir tropizm göstermektedir ve neredeyse tüm hücre tiplerini enfekte edebilir. Uzun ömürlü hücre popülasyonlarında latans oluşturarak primer enfeksiyondan sonra ömür boyu latent enfeksiyona neden olur, bu da litik viral replikasyon ve latenstan kaynaklanan periyodik reaktivasyon veya yeni bir suşla yeniden enfeksiyon ile sonuçlanır (103). CMV kan, tükürük, idrar, gözyaşı, seminal sıvı, servikal salgılar ve anne sütü gibi vücut vücut salgılarında bulunabilir (73). CMV enfeksiyonu, semptomlardan bağımsız olarak CMV'nin dokularda, kanda veya diğer vücut sıvılarında replikasyonu olarak tanımlanır ve asemptomatik CMV enfeksiyonu veya semptomatik CMV hastalığı olarak kategorize edilir. CMV enfeksiyonları solid organ transplant alıcılarının %50-70'inde, çoğunlukla nakilden sonraki ilk 3 ay içinde ortaya çıkmaktadır. Etkili profilaksiler, semptomatik CMV hastalığı riskini azaltsa da, CMV hala yüksek riskli hastaların %20 kadarında enfeksiyöz komplikasyonlara neden olmaktadır (104). İmmünsüprese hastalarda kutanöz bulgular CMV hastalığının çok nadir belirtilerindendir ve kutanöz tutulum kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. Dermisin CMV için konak olmadığı ve deri hastalığının yalnızca immünitesi

baskılanmış konakta ortaya çıktığı varsayılmıştır. Bu nedenle deri enfeksiyonu genellikle yaygın hastalıkla ilişkilendirilmiştir ve bu da hastalardaki genel immünsüpresyon derecesini yansıtmaktadır (105). Marinho-Dias ve ark. (106) yaptıkları bir metaanaliz çalışmasında 1980-2011 yılları arasında dünya çapında servikte CMV enfeksiyon sıklığının tüm servikal numunelerde %18.9, HPV pozitif kadınlarda ise %36.5 olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca HPV pozitif kadınlarda CMV sıklığının artışına dikkat çekilmiş ve özellikle az gelişmiş ülkelerde artan bir insidans bildirilmiştir. CMV'nin neden olduğu kalıcı enfeksiyonun, HPV enfeksiyonunu kolaylaştırdığı bildirilmektedir. Bu çalışmada ise 24 hastanın hiçbirinde lezyonda CMV tespit edilemedi. Elde edilen sonuca hasta sayısının azlığı etki etmiş olabilir.

EBV ve HPV ile koenfeksiyonun, serviks kanserinin etiyopatogenezinde öneme sahip olabileceğini düşünülmektedir. Cezayir'de serviks kanseri olan kadınların %67'sinde EBV ve HPV koenfeksiyonu tespit edilmiştir. Ayrıca normal serviks ve serviksin intraepitelyal lezyonları karşılaştırıldığında EBV bulunma yüzdesinin arttığı görülmüştür (107). Servikal karsinom EBV pozitif kadınlarda 4 kat daha yüksek bulunmuştur. Herpes virüsleriyle (özellikle CMV ve EBV) koenfeksiyonun HPV genom entegrasyonunda rol oynayabileceğini ve servikal kanser gelişimine katkıda bulunabileceğini öne sürülmüştür (108). Ayrıca Kuzey Carolina'da kadınların servikal sitolojileri HPV, EBV ve CMV koenfeksiyonu açısından incelenmiş ve EBV ile HPV koenfeksiyonunun, CMV ile koenfeksiyonundan daha fazla yüksek dereceli servikal lezyon ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (109). Silver ve ark. (110) yapmış olduğu çalışmada Hindistan Andhra Pradesh'teki kadınlardan alınan servikal sitolojilerde yüksek oranda EBV ve CMV saptanmıştır. Diğer çalışmalarla benzer şekilde servikal lezyonun derecesi arttıkça EBV bulunma sıklığının da arttığını tespit etmişlerdir. Ancak yüksek oranda CMV gözlenmesine rağmen servikal lezyonların derecesiyle CMV sıklığı arasında ilişki bulamamışlardır. Afonso ve ark. (111) yapmış olduğu çalışmada Brezilya'da penis kanseri olan 135 erkek hastadan alınan örneklerin %26.7'sinde HPV ve EBV koenfeksiyonu tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda her iki virüsün tek başına veya sinerjistik olarak penis kanseri gelişiminde rolü olduğunu düşünmüşlerdir. EBV enfeksiyonu, IL-10'u taklit ederek lokal immünsüpresyona yol açıp epitel hücrelerinde HPV enfeksiyonunu kolaylaştırıp hücrel büyüme uyarımı, apoptozis inhibisyonu ve bağışıklıktan kaçışta

rol oynamaktadır. Nahand ve ark. (112) tarafından yapılan çalışmada prostat kanseri olan erkek hastalardan alınan örneklerde HPV ve EBV birlikteliğinin prostat kanseri ile olan ilişkisi incelenmiş ancak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Birliktelik olan grupta tek tip-HPV/tek tip-EBV olan gruplara göre inflamatuvar sitokinlerin daha yüksek seviyede olduğu ayrıca birliktelik olan prostat kanseri grubunda HPV genomunun prostat hücrelerine daha fazla (%80) entegre olduğu gösterilmiştir. EBV ve HPV'nin neden olduğu kanserlerdeki ana mekanizma sitokin etkisinin ve kronik inflamasyonun indüklenmesidir. HPV ve EBV koenfeksiyonu sonucunda inflamasyonun ve HPV genomunun entegrasyonunun artması, HPV kalıcılığının mekanizmasını açıklayabilmektedir. Bu çalışmada incelenen örneklerin sadece 2 (%8.3)'sinde EBV pozitifliği tespit edildi ve bunlar literatüre benzer şekilde HPV birlikteliği göstermekteydi. Örneğin elde edildiği hastalardan biri aynı zamanda HIV pozitifti. İmmünsüpresyon viral hastalıklara zemin hazırlamakta ve aynı zamanda viral hastalıkların kalıcı olmasına yol açmaktadır. Düşük riskli HPV tiplerinin genom entegrasyonu yüksek riskli tiplere göre daha zayıftır. Ancak immünsüpresyon durumlarında entegrasyon ihtimalleri artabilmektedir. Bunun sonucunda tedaviye dirençli ve sık nükseden verrülelere yol açabilmektedir.

Sonuç olarak EBV ve CMV gibi cinsel yolla bulaşabilen enfeksiyonların HPV enfeksiyonu gelişme riskini artırmaktadır. HPV tespit edilen hastalarda EBV ve CMV'nin birlikteliği araştırılmalıdır. Anogenital verrüleler prekanseröz lezyonlarla karışabildiği veya prekanseröz lezyonlara eşlik edebildiği için dirençli hastalarda tanısal eksizyon yapılmalıdır. Bu çalışmada koenfeksiyonun tedaviye dirençli verrüleler veya prekanseröz durumlara etkisinin ortaya çıkarılması amaçlandı ve aynı zamanda anogenital verrülelerde koenfeksiyon durumlarında kansere ilerleme şüphesine dikkat çekilmek istendi. Ancak örnek alınan hasta sayısının yetersiz kalması bu çalışmanın kısıtlılığını oluşturdu. Bu çalışmayı benzer çalışmalardan ayırt eden yönü ise daha önce anogenital verrülelerde HPV, EBV ve CMV koenfeksiyonunun araştırılmamış olması ve nadir görülen HPV tipleriyle enfeksiyonun tespit edilmesidir.

## 5. KAYNAKLAR

1. Bogale EK, Anagaw TF, Tiruneh MG, Fenta ET, Endeshaw D, Delie AM, et al. Prevalence of sexually transmitted infections, and its associated factors among students in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis study. *BMC Public Health*. 2024;24:1976.
2. O'Mahony C, Gomberg M, Skerlev M, Alraddadi A, de las Heras-Alonso M E, Majewski S, et al. Position statement for the diagnosis and management of anogenital warts. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33:1006-1019.
3. Gilson R, Nugent D, Werner RN, Ballesteros J, Ross J. 2019 IUSTI-Europe guideline for the management of anogenital warts. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34:1644-1653.
4. Kreuter A, Siorokos C, Oellig F, Silling S, Pfister H, Wieland U. High-grade Dysplasia in Anogenital Warts of HIV-Positive Men. *JAMA Dermatol*. 2016;152:1225-1230.
5. Schlecht HP, Fugelso DK, Murphy RK, Wagner KT, Doweiko JP, Proper J, et al. Frequency of Occult High-Grade Squamous Intraepithelial Neoplasia and Invasive Cancer Within Anal Condylomata in Men Who Have Sex With Men. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2010;51:107-110.
6. Bakos RM, Leite LL, Reinehr C, Escobar GF. Dermoscopy of skin infestations and infections (entomodermoscopy) – Part II: viral, fungal and other infections. *An Bras Dermatol*. 2021;96:746-758.
7. Wong Y, Meehan MT, Burrows SR, Doolan DL, Miles JJ. Estimating the global burden of Epstein–Barr virus-related cancers. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2022;148:31-46.
8. Smatti MK, Al-Sadeq DW, Ali NH, Pintus G, Abou-Saleh H, Nasrallah GK. Epstein–Barr Virus Epidemiology, Serology, and Genetic Variability of LMP-1 Oncogene Among Healthy Population: An Update. *Front Oncol*. 2018;8:211.

9. Griffiths P, Reeves M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19:759-773.
10. Mammas IN, Sourvinos G, Spandidos DA. The paediatric story of human papillomavirus (Review). *Oncol Lett.* 2014;8:502-506.
11. DiMaio D. Nuns, Warts, Viruses, and Cancer. *Yale J Biol Med.* 2015;88:127-129.
12. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account. *Virology.* 2009;384:260-265.
13. Javier RT, Butel JS. The History of Tumor Virology. *Cancer Res.* 2008;68:7693-7706.
14. Patel H, Wagner M, Singhal P, Kothari S. Systematic review of the incidence and prevalence of genital warts. *BMC Infect Dis.* 2013;13:39.
15. Ou L, Chen ACC, Amresh A. The Effectiveness of mHealth Interventions Targeting Parents and Youth in Human Papillomavirus Vaccination: Systematic Review. *JMIR Pediatr Parent.* 2023;6:e47334.
16. Dițescu D, Istrate-Ofițeru AM, Roșu GC, Iovan L, Liliac IM, Zorilă GL, vd. Clinical and pathological aspects of condyloma acuminatum – review of literature and case presentation. *Rom J Morphol Embryol.* 2021;62:369-383.
17. Hampson IN, Oliver AW, Hampson L. Potential Effects of Human Papillomavirus Type Substitution, Superinfection Exclusion and Latency on the Efficacy of the Current L1 Prophylactic Vaccines. *Viruses.* 2020;13:22.
18. Dadar M, Chakraborty S, Dhama K, Prasad M, Khandia R, Hassan S, et al. Advances in Designing and Developing Vaccines, Drugs and Therapeutic Approaches to Counter Human Papilloma Virus. *Front Immunol.* 2018;9:2478.

19. Zhou Y, Shi X, Liu J, Zhang L. Correlation between human papillomavirus viral load and cervical lesions classification: A review of current research. *Front Med.* 2023;10:1111269.
20. Dibble KE, Maksut JL, Siembida EJ, Hutchison M, Bellizzi KM. A Systematic Literature Review of HPV Vaccination Barriers Among Adolescent and Young Adult Males. *J Adolesc Young Adult Oncol.* 2019;8:495-511.
21. Nelson CW, Mirabello L. Human papillomavirus genomics: Understanding carcinogenicity. *Tumour Virus Res.* 2023;15:200258.
22. Ribeiro AL, Caodaglio AS, Sichero L. Regulation of HPV transcription. *Clinics.* 2018;73:e486.
23. Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, et al. Comprehensive Control of Human Papillomavirus Infections and Related Diseases. *Vaccine.* 2013;31:1-31.
24. Velentzis LS, Hawkes D, Caruana M, Brotherton JML, Smith MA, Roeske L, et al. Exploring monitoring strategies for population surveillance of HPV vaccine impact using primary HPV screening. *Tumour Virus Res.* 2023;15:200255.
25. Alp Avci G, Bozdayi G. Human Papillomavirus. *Kafkas J Med Sci.* 2013;3:136-144.
26. Galloway DA, Laimins LA. Human papillomaviruses: shared and distinct pathways for pathogenesis. *Curr Opin Virol.* 2015;14:87-92.
27. Howley PM, Pfister HJ. Beta Genus Papillomaviruses and Skin Cancer. *Virology.* 2015;479-480:290-296.
28. Folliero V, Dell'Annunziata F, Chianese A, Morone MV, Mensitieri F, Di Spirito F, et al. Epigenetic and Genetic Keys to Fight HPV-Related Cancers. *Cancers.* 2023;15:5583.

29. Hewavisenti RV, Arena J, Ahlenstiel CL, Sasson SC. Human papillomavirus in the setting of immunodeficiency: Pathogenesis and the emergence of next-generation therapies to reduce the high associated cancer risk. *Front Immunol.* 2023;14:1112513.
30. Doorbar J. The human Papillomavirus twilight zone – Latency, immune control and subclinical infection. *Tumour Virus Res.* 2023;16:200268.
31. Gravitt PE, Winer RL. Natural History of HPV Infection across the Lifespan: Role of Viral Latency. *Viruses.* 2017;9:267.
32. Alizon S, Murall CL, Bravo IG. Why Human Papillomavirus Acute Infections Matter. *Viruses.* 2017;9:293.
33. Xing B, Guo J, Sheng Y, Wu G, Zhao Y. Human Papillomavirus-Negative Cervical Cancer: A Comprehensive Review. *Front Oncol.* 2021;10:606335.
34. Maglennon GA, McIntosh PB, Doorbar J. Immunosuppression Facilitates the Reactivation of Latent Papillomavirus Infections. *J Virol.* 2014;88:710-716.
35. Cubie HA. Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology.* 2013;445:21-34.
36. Cardoso JC, Calonje E. Cutaneous manifestations of human papillomaviruses: a review. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2011;20:145-154.
37. Costa-Silva M, Fernandes I, Rodrigues AG, Lisboa C. Anogenital warts in pediatric population. *An Bras Dermatol.* 2017;92:675-81.
38. Nieves-Condoy JF, Acuña-Pinzón CL, Chavarría-Chavira JL, Hinojosa-Ugarte D, Zúñiga-Vázquez LA. Giant Condyloma Acuminata (Buschke-Lowenstein Tumor): Review of an Unusual Disease and Difficult to Manage. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2021;2021:9919446.

39. Ullah MI, Mikhailova MV, Alkhathami AG, Carbajal NC, Zuta MEC, Rasulova I, et al. Molecular pathways in the development of HPV-induced oropharyngeal cancer. *Cell Commun Signal CCS*. 2023;21:351.
40. Soheili M, Keyvani H, Soheili M, Nasser S. Human papilloma virus: A review study of epidemiology, carcinogenesis, diagnostic methods, and treatment of all HPV-related cancers. *Med J Islam Repub Iran*. 2021;35:65.
41. Delmonte S, Benardon S, Cariti C, Ribero S, Ramoni S, Cusini M. Anogenital warts treatment options: a practical approach. *G Ital Dermatol Venereol*. 2020;155:261-268.
42. Fathi R, Tsoukas MM. Genital warts and other HPV infections: Established and novel therapies. *Clin Dermatol*. 2014;32:299-306.
43. Herzum A, Ciccicarese G, Occella C, Gariazzo L, Pastorino C, Trave I, vd. Treatment of Pediatric Anogenital Warts in the Era of HPV-Vaccine: A Literature Review. *J Clin Med*. 2023;12:4230.
44. Scheinfeld N. Update on the treatment of genital warts. *Dermatol Online J*. 2013;19:18559.
45. Cusini M, Micali G, Lacarrubba F, Puviani M, Barcella A, Milani M. Efficacy and tolerability of nitric-zinc complex in the treatment of external genital warts and “difficult-to-treat” warts: a “proof of concept”, prospective, multicentre, open study. *G Ital Dermatol Venereol*. 2015;150:643-648.
46. Wiley DJ, Douglas J, Beutner K, Cox T, Fife K, Moscicki AB, et al. External Genital Warts: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Clin Infect Dis*. 2002;35:210-224.
47. Brisson M, Kim JJ, Canfell K, Drolet M, Gingras G, Burger EA, et al. Impact of HPV vaccination and cervical screening on cervical cancer elimination: a comparative modelling analysis in 78 low-income and lower-middle-income countries. *Lancet Lond Engl*. 2020;395:575-590.

48. Ueda Y, Miyagi E. Importance of Education about Cervical Cancer and Its Preventive Measures for the Promotion of HPV Vaccine According to the WHO Strategies. *Vaccines*. 2021;9:1199.
49. Han L, Zhang B. Can prophylactic HPV vaccination reduce the recurrence of cervical lesions after surgery? Review and prospect. *Infect Agent Cancer*. 2023;18:66.
50. Kombe Kombe AJ, Li B, Zahid A, Mengist HM, Bounda GA, Zhou Y, et al. Epidemiology and Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases, Molecular Pathogenesis, and Vaccine Evaluation. *Front Public Health*. 2021;8:552028.
51. Aggarwal S, Agarwal P, Singh AK. Human papilloma virus vaccines: A comprehensive narrative review. *Cancer Treat Res Commun*. 2023;37:100780.
52. Meites E, Kempe A, Markowitz LE. Use of a 2-Dose Schedule for Human Papillomavirus Vaccination - Updated Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 65:1405-1408.
53. Agabekova B, Özler NB, Luboteni R. HPV İlişkili Kanserlere Karşı Mücadelede HPV Aşıları Hakkında Derleme. *Turk Health Lit J*. 2021;2:89-98.
54. Esau D. Viral Causes of Lymphoma: The History of Epstein-Barr Virus and Human T-Lymphotropic Virus 1. *Virol Res Treat*. 2017;8:1178.
55. Yu H, Robertson ES. Epstein–Barr Virus History and Pathogenesis. *Viruses*. 2023;15:714.

56. Zheng X, Huang Y, Li K, Luo R, Cai M, Yun J. Immunosuppressive Tumor Microenvironment and Immunotherapy of Epstein–Barr Virus-Associated Malignancies. *Viruses*. 2022;14:1017.
57. Caruso LB, Maestri D, Tempera I. Three-Dimensional Chromatin Structure of the EBV Genome: A Crucial Factor in Viral Infection. *Viruses*. 2023;15:1088.
58. Rex V, Zargari R, Stempel M, Halle S, Brinkmann MM. The innate and T-cell mediated immune response during acute and chronic gammaherpesvirus infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1146381.
59. Huang W, Bai L, Tang H. Epstein-Barr virus infection: the micro and macro worlds. *Virol J*. 2023;20:220.
60. Murata T. Tegument proteins of Epstein-Barr virus: Diverse functions, complex networks, and oncogenesis. *Tumour Virus Res*. 2023;15:200260.
61. Zhang Q, Xu M. EBV-induced T-cell responses in EBV-specific and nonspecific cancers. *Front Immunol*. 2023;14:1250946.
62. Chinna P, Bratl K, Lambarey H, Blumenthal MJ, Schäfer G. The Impact of Co-Infections for Human Gammaherpesvirus Infection and Associated Pathologies. *Int J Mol Sci*. 2023;24:13066.
63. Damania B, Kenney SC, Raab-Traub N. Epstein-Barr Virus (EBV): Biology and Clinical Disease. *Cell*. 2022;185:3652-3670.
64. Lupo J, Truffot A, Andreani J, Habib M, Epaulard O, Morand P, et al. Virological Markers in Epstein–Barr Virus-Associated Diseases. *Viruses*. 2023;15:656.

65. Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH. Progress and Problems in Understanding and Managing Primary Epstein-Barr Virus Infections. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24:193-209.
66. Sangueza-Acosta M, Sandoval-Romero E. Epstein-Barr virus and skin. *An Bras Dermatol.* 2018;93:786-99.
67. Chakravorty S, Afzali B, Kazemian M. EBV-associated diseases: Current therapeutics and emerging technologies. *Front Immunol.* 2022;13:1059133.
68. Lee OZJ, Omar N, Tay JK, Lee VKM. A Clinicopathology Review and Update of Epstein-Barr Virus-Associated Mesenchymal Tumors. *Cancers.* 2023;15:5563.
69. Abusalah MAH, Gan SH, Al-Hatamleh MAI, Irekeola AA, Shueb RH, Yean CY. Recent Advances in Diagnostic Approaches for Epstein-Barr Virus. *Pathogens.* 2020;9:226.
70. Hess RD. Routine Epstein-Barr Virus Diagnostics from the Laboratory Perspective: Still Challenging after 35 Years. *J Clin Microbiol.* 2004;42:3381-3387.
71. De Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol.* 2012;1:31-43.
72. Boppana SB, Fowler KB. Persistence in the population: epidemiology and transmission. *Çinde: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, et al. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.*
73. Fowler K, Mucha J, Neumann M, Lewandowski W, Kaczanowska M, Grys M, et al. A systematic literature review of the global seroprevalence of cytomegalovirus: possible implications for treatment, screening, and vaccine development. *BMC Public Health.* 2022;22:1659.

74. Lawrence SM, Goshia T, Sinha M, Fraley SI, Williams M. Decoding human cytomegalovirus for the development of innovative diagnostics to detect congenital infection. *Pediatr Res.* 2024;95:532-542.
75. Adane T, Getawa S. Cytomegalovirus seroprevalence among blood donors: a systematic review and meta-analysis. *J Int Med Res.* 2021;49:0300.
76. Alsanea MS, Al-Qahtani AA, Almaghrabi RS, AlAbdulkareem MA, Alahideb BM, Obeid D, et al. Diagnosis of Human Cytomegalovirus Drug Resistance Mutations in Solid Organ Transplant Recipients—A Review. *Diagnostics.* 2024;14:203.
77. Gugliesi F, Coscia A, Griffante G, Galitska G, Pasquero S, Albano C, et al. Where do we Stand after Decades of Studying Human Cytomegalovirus? *Microorganisms.* 2020;8:685.
78. Semmes EC, Hurst JH, Walsh KM, Permar SR. Cytomegalovirus as an immunomodulator across the lifespan. *Curr Opin Virol.* 2020;44:112-120.
79. Sucharita S, Krishnagopal A, van Drunen Littel-van den Hurk S. Comprehensive Analysis of the Tegument Proteins Involved in Capsid Transport and Virion Morphogenesis of Alpha, Beta and Gamma Herpesviruses. *Viruses.* 2023;15:2058.
80. de Melo Silva J, Pinheiro-Silva R, Dhyani A, Pontes GS. Cytomegalovirus and Epstein-Barr Infections: Prevalence and Impact on Patients with Hematological Diseases. *BioMed Res Int.* 2020;2020:1627824.
81. Long X, Qiu Y, Zhang Z, Wu M. Insight for Immunotherapy of HCMV Infection. *Int J Biol Sci.* 2021;17:2899-2911.
82. Tyl MD, Betsinger CN, Cristea IM. Virus-host protein interactions as footprints of human cytomegalovirus replication. *Curr Opin Virol.* 2022;52:135-147.

83. Yu Z, Wang Y, Liu L, Zhang X, Jiang S, Wang B. Apoptosis Disorder, a Key Pathogenesis of HCMV-Related Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22:4106.
84. Cho SY, Lee DG, Kim HJ. Cytomegalovirus Infections after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Current Status and Future Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2019;20:2666.
85. Springer KL, Weinberg A. Cytomegalovirus infection in the era of HAART: fewer reactivations and more immunity. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:582-586.
86. Li X, Liang H, Fan J. Prospects of Cytomegalovirus-Specific T-Cell Receptors in Clinical Diagnosis and Therapy. *Viruses.* 2023;15:1334.
87. Prince HE, Lapé-Nixon M. Role of Cytomegalovirus (CMV) IgG Avidity Testing in Diagnosing Primary CMV Infection during Pregnancy. *Clin Vaccine Immunol CVI.* 2014;21:1377-1384.
88. Rideg O, Oszter A, Makk E, Kálmán E, Farkas K, Tornóczky T, vd. Wide Spectrum Analysis of Human Papillomavirus Genotypes in External Anogenital Warts. *Vaccines.* 2021;9:604.
89. Bhatia N, Lynde C, Vender R, Bourcier M. Understanding genital warts: epidemiology, pathogenesis, and burden of disease of human papillomavirus. *J Cutan Med Surg.* 2013;17:47-54.
90. Arroyo LS, Basaras M, Arrese E, Hernáez S, Esteban V, Cisterna R. Distribution of genital human papillomavirus genotypes in benign clinical manifestations among men from Northern Spain. *BMC Public Health.* 2016;16:81.
91. Al-Awadhi R, Al-Mutairi N, Albatineh AN, Chehadeh W. Association of HPV genotypes with external anogenital warts: a cross sectional study. *BMC Infect Dis.* 2019;19:375.

92. De Villiers EM, Hirsch-Behnam A, Von Knebel-Doeberitz C, Neumann Ch, Zur Hausen H. Two newly identified human papillomavirus types (HPV 40 and 57) isolated from mucosal lesions. *Virology*. 1989;171:248-253.
93. Haas S, Park TW, Voigt E, Büttner R, Merkelbach-Bruse S. Detection of HPV 52, 58 and 87 in cervicovaginal intraepithelial lesions of HIV infected women. *Int J Mol Med*. 2005;16:815-819.
94. Cornall AM, Roberts JM, Garland SM, Hillman RJ, Grulich AE, Tabrizi SN. Anal and perianal squamous carcinomas and high-grade intraepithelial lesions exclusively associated with “low-risk” HPV genotypes 6 and 11. *Int J Cancer*. 2013;133:2253-2258.
95. Khanal S, Cole ET, Joh J, Ghim SJ, Jenson AB, Rai SN, et al. Human papillomavirus detection in histologic samples of multifocal epithelial hyperplasia: a novel demographic presentation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2015;120:733-743.
96. Anderson KM, Allen CM, Nuovo GJ. Human papillomavirus, type 40-associated papilloma, and concurrent Kaposi’s sarcoma involving the anterior hard palate of an HIV-positive man. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;95:80-84.
97. Xu H, Ling Y, Xi Y, Ma H, Wang H, Hu HM, et al. Viral metagenomics updated the prevalence of human papillomavirus types in anogenital warts. *Emerg Microbes Infect*. 2019;8:1291-1299.
98. Menzo S, Monachetti A, Trozzi C, Ciavattini A, Carloni G, Varaldo PE, et al. Identification of Six Putative Novel Human Papillomaviruses (HPV) and Characterization of Candidate HPV Type 87. *J Virol*. 2001;75:11913-11919.
99. Banura C, Mirembe FM, Orem J, Mbonye AK, Kasasa S, Mbidde EK. Prevalence, incidence and risk factors for anogenital warts in Sub Saharan Africa: a systematic review and meta analysis. *Infect Agent Cancer*. 2013;8:27.

100. Camenga DR, Dunne EF, Desai MM, Gee J, Markowitz LE, DeSiliva A, et al. Incidence of Genital Warts in Adolescents and Young Adults in an Integrated Health Care Delivery System in the United States Before Human Papillomavirus Vaccine Recommendations. *Sex Transm Dis.* 2013;40:534.
101. Lewis RM, Markowitz LE, Gargano JW, Steinau M, Unger ER. Prevalence of Genital Human Papillomavirus Among Sexually Experienced Males and Females Aged 14–59 Years, United States, 2013–2014. *J Infect Dis.* 2018;217:869-877.
102. Gale SD, Farrer TJ, Erbstoesser R, MacLean S, Hedges DW. Human Cytomegalovirus Infection and Neurocognitive and Neuropsychiatric Health. *Pathogens.* 2024;13:417.
103. Grgic I, Gorenc L. Human Cytomegalovirus (HCMV) Genetic Diversity, Drug Resistance Testing and Prevalence of the Resistance Mutations: A Literature Review. *Trop Med Infect Dis.* 2024;9:49.
104. Huh K, Lee SO, Kim J, Lee SJ, Choe PG, Kang JM, et al. Prevention of Cytomegalovirus Infection in Solid Organ Transplant Recipients: Guidelines by the Korean Society of Infectious Diseases and the Korean Society for Transplantation. *Infect Chemother.* 2024;56:101-121.
105. Moscarelli L, Zanazzi M, Rosso G, Farsetti S, Caroti L, Annunziata F, vd. Can skin be the first site of CMV involvement preceding a systematic infection in a renal transplant recipient? *NDT Plus.* 2011;4:53-55.
106. Marinho-Dias J, Sousa H. Cytomegalovirus Infection and Cervical Cancer: from Past Doubts to Present Questions. *Acta Médica Port.* 2013;26:154-160.
107. Khenchouche A, Sadouki N, Boudriche A, Houali K, Graba A, Ooka T, et al. Human Papillomavirus and Epstein-Barr virus co-infection in Cervical Carcinoma in Algerian women. *Viol J.* 2013;10:340.

108. de Lima MAP, Neto PJN, Lima LPM, Gonçalves Júnior J, Teixeira Junior AG, Teodoro IPP, et al. Association between Epstein-Barr virus (EBV) and cervical carcinoma: A meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2018;148:317-328.
109. Kienka T, Varga MG, Caves J, Smith JS, Sivaraman V. Epstein-Barr virus, but not human cytomegalovirus, is associated with a high grade human papillomavirus-associated cervical lesions among women in North Carolina. *J Med Virol.* 2019;91:450-456.
110. Silver MI, Paul P, Sowjanya P, Ramakrishna G, Vedantham H, Kalpana B, et al. Shedding of Epstein-Barr Virus and Cytomegalovirus from the Genital Tract of Women in a Periurban Community in Andhra Pradesh, India. *J Clin Microbiol.* 2011;49:2435-2439.
111. Afonso LA, Moyses N, Alves G, Ornellas AA, Passos MRL, Oliveira L do H dos S, et al. Prevalence of human papillomavirus and Epstein-Barr virus DNA in penile cancer cases from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012;107:18-23.
112. Nahand JS, Khanaliha K, Mirzaei H, Moghoofei M, Baghi HB, Esghaei M, et al. Possible role of HPV/EBV coinfection in anoikis resistance and development in prostate cancer. *BMC Cancer.* 2021;21:926.