ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KADINLARDA MEME VE RAHİM AĞZI KANSERİ İLE İLİŞKİLİ İNSAN PAPİLLOMA VİRÜSÜNÜN 18, 16, 31 VE 35 GENOTİPLERİNİN EPİDEMİYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMASI

Qasım Mohammed Othman ALBAKKA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Qasım Mohammed Othman ALBAKKA tarafından hazırlanan **"Kadınlarda Meme ve Rahim Ağzı Kanseri ile İlişkili İnsan Papilloma Virüsünün 18, 16, 31 ve 35 Genotiplerinin Epidemiyolojik ve Moleküler Çalışması"** adlı tez çalışması 01/06/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Prof. Dr. Basim Abdulhussein CERULLAH

Jüri Üyeleri :

Başkan : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Fiziki Coğrafya Anabilim Dalı
Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mine TÜRKTAŞ
Biyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Kadınlarda Meme ve Rahim Ağzı Kanseri ile İlişkili İnsan Papilloma Virüsünün 18, 16, 31 ve 35 Genotiplerinin Epidemiyolojik ve Moleküler Çalışması**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (01/06/2023).

Qasım Mohammed Othman ALBAKKA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KADINLARDA MEME VE RAHİM AĞZI KANSERİ İLE İLİŞKİLİ İNSAN PAPİLLOMA VİRÜSÜNÜN 18, 16, 31 VE 35 GENOTİPLERİNİN EPİDEMİYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÇALIŞMASI

Qasım Mohammed Othman ALBAKKA

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Prof. Dr. Basim Abdulhussein CERULLAH

Her yıl dünya çapında 2,08 milyon yeni vaka ile meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser türü olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum, dünya genelinde kadınlarda kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir ve meme kanseri ölümlerin %15'inden sorumludur. Bu çalışmaya 110'u meme kanseri ve sadece 2'si servikal kanserli olmak üzere 112 kanserli kadın dahil edilmiştir. Örnekler, Ocak 2022-Ekim 2022 tarihleri arasında al-Imam Al-Hussein Eğitim Hastanesi histopatolojik laboratuvar ünitesinde toplanmıştır. Çalışmamızda HPV-16, HPV-18, HPV-33 ve HPV-35 viral genotiplerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar 45 (%40,18) kanserli kadında HPV virüsü olduğunu göstermiştir. 67 (%59,82) kanserli kadında ise virüs tespit edilmemiştir. Ayrıca, meme kanserli kadınlarda farklı HPV genotipleri bulunurken rahim ağzı kanseri olan kadınlarda HPV bulunmamıştır. Yaş gruplarına göre sonuçlarımıza baktığımızda, çalışmamızda 41-50 yaş grubundaki kadınlarda %20,54, 31-40 yaş grubundaki kadınlarda %8,93 oranında pozitif örnek saptanırken, en düşük izole edilen virüs %3,57 oranıyla 20-30 yaş grubundaki kadınlarda belirlenmiştir. HPV enfeksiyonu aile öyküsüne sahip olan kadınlarda %28,57 oranında tespit edilmiştir. Viral genotip açısından pozitif örneklerden en sık izole edilen virüs %36,17 ile HPV-33 olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla, %31,91 ile HPV-35, %29,79 ile HPV-16 ve %2,13 ile HPV-18 genotipi takip etmiştir. Ayrıca çalışmamızda iki vakada iki viral genotip ile enfekte olunduğu tespit edilmiştir.

2023, 57 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: HPV genotipleri, İnsan papilloma virüsü, Meme kanseri, Rahim ağzı kanseri

ABSTRACT

Master of Science Thesis

EPIDEMIOLOGICAL AND MOLECULAR STUDY OF GENOTYPES 18, 16, 31 AND 35 OF THE HUMAN PAPILLOMA VIRUS ASSOCIATED WITH BREAST AND CERVICAL CANCER IN WOMEN

Qasım Mohammed Othman ALBAKKA

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Advisor: Prof. Dr. Basim Abdulhussein CERULLAH

With 2.08 million new cases worldwide each year, breast cancer is the most common type of cancer in women. It is the leading cause of cancer-related death in women worldwide, and breast cancer is responsible for 15% of deaths. This study included 112 women with cancer, 110 with breast cancer and only 2 with cervical cancer. Samples were collected in the histopathological laboratory unit of al-Imam Al-Hussein Teaching Hospital between January 2022 and October 2022. In our study, it was aimed to define HPV-16, HPV-18, HPV-33 and HPV-35 viral genotypes. The results obtained showed that 45 (40.18%) women with cancer had HPV virus. No virus was detected in 67 (59.82%) women with cancer. In addition, different HPV genotypes were found in women with breast cancer, while HPV was not found in women with cervical cancer. When we look at our results by age groups, in our study, 20.54% of women in the 41-50 age group and 8.93% of the women in the 31-40 age group were positive samples, while the lowest isolated virus was found in women in the 20-30 age group with a rate of 3.57%. HPV infection was detected in 28.57% of women with a family history. The most common virus isolated from viral genotype-positive samples was HPV-33 with 36.17%. This was followed by HPV-35 with 31.91%, HPV-16 with 29.79% and HPV-18 with 2.13%, respectively. In addition, in our study, it was determined that two cases were infected with two viral genotypes.

2023, 57 pages

Keywords: HPV genotypes, Human papilloma virus, Breast cancer, Cervical cancer

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Değerli danışman hocam Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a sabrı ve rehberliği için çok teşekkür ederim.

Qasım Mohammed Othman ALBAKKA

Çankırı, Haziran 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 İnsan Papilloma Virüsü **3**
2.2 Papilloma Virüslerinin Sınıflandırılması **4**
2.3 Virion'un Genomik Yapısı ve Organizasyonu **6**
2.3.1 İnsan papilloma virüsü proteinleri **7**
2.4 İnsan Papilloma Virüsünün Yaşam Döngüsü **8**
2.5 İnsan Papilloma Virüsü Genotiplerinin Dağılımı **9**
2.6 İnsan Papilloma Virüslerinin Onkojenitesi **10**
2.7 İnsan Papilloma Virüsü Kaynaklı Kanser **11**
2.7.1 İnsan papilloma ve rahim ağzı kanseri **12**
2.7.2 İnsan papilloma virüsü ve meme kanseri **13**
2.8 Papilloma Virüslerinin Bulaşma Rolü **15**
2.8.1 Dikey iletim **15**
2.8.2 Yatay iletim **15**
2.8.3 Otomatik veya hetero aşılama **15**
2.8.4 Fomitler tarafından iletim **16**
2.9 HPV'nin Moleküler Tanısı **16**
3. MATERYAL VE METOT **18**
3.1 Araç ve Gereçler **18**
3.2 Reaktifler ve Teşhis Kitleri **18**
3.2.1 Kimyasallar ve çözücüler **18**

3.2.2 DNA ekstraksiyon kiti gSYNC™ bileşenleri 19
3.2.3 Master mix bileşenleri 19
3.2.4 Primerler 19
3.2.5 DNA ekstraksiyon kiti gSYNC™ protokolü 20
3.3 Doku Ayrışması 20
3.3.1 Doku homojenizasyonu 21
3.3.2 RNA'nın çıkarılması için opsiyonel adım 21
3.3.3 Tamponların ve çözeltilerin hazırlanması 22
3.3.4 %1 agaroz jel hazırlanması 23
3.3.5 Primerlerin hazırlanması 23
3.3.6 DNA kalite değerlendirmesi 23
3.3.7 PCR programı için gen tespit etme 24
3.4 İstatistiksel Değerlendirme 24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 25
4.1 Kanserli Kadınlarda İnsan Papilloma Virüsü Prevalansı 25
4.2 Kanser Tipine göre İnsan Papilloma Virüs Prevalansı 25
4.3 Yaş Gruplarına göre İnsan Papilloma Virüs Prevalansı 26
4.4 Aile Öyküsüne göre İnsan Papilloma Virüsü Prevalansı 27
4.5 HPV Genotiplerinin Moleküler Tanımlanması 28
4.6 Meme Kanserli Kadınlarda Enfeksiyon Durumunun Yaygınlığı 29
4.7 Yaş Gruplarına göre İnsan Papilloma Virus Genotiplerinin Prevalansı 30
4.8 Aile Öyküsüne göre İnsan Papilloma Virus Genotiplerinin Prevalansı 31
4.9 İzole Edilen HPV'nin Jel Elektroforezi 33
4.10 Sekans Analizi 37
4.11 Filogenetik Ağaç 43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 45
KAYNAKLAR 46
ÖZGEÇMİŞ 57

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
µL	Mikrolitre
℃	Santigrat derece
mg	Miligram
mL	Mililitre

KISALTMALAR DİZİNİ

ORFs	Açık okuma çerçevesi
STD	Cinsel yolla bulaşan hastalık
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
E	Erken bölge
L	Geç bölge
CDC	Hastalık kontrol ve önleme merkezleri
HPV	İnsan papilloma virüsü
HPV-16	İnsan papilloma virüsü genotip 16
HPV-18	İnsan papilloma virüsü genotip 18
HPV-33	İnsan papilloma virüsü genotip 33
HPV-35	İnsan papilloma virüsü genotip 35
BC	Meme kanseri
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SPSS	Sosyal bilimler istatistik paketi
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
ICTV	Uluslararası virüs taksonomisi komitesi
LCR	Uzun kontrol bölgesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 *Papilomavirinae* alt familyasındaki cinsler (Kocjan *et al.* 2015) 5
Şekil 2.2 HPV genomunun düzenlenmesi ve proteinlerinin etkisi (Harden and Munger 2017) 7
Şekil 4.1 Kanserli kadınlarda HPV prevalansı 25
Şekil 4.2 HPV genotiplerinin moleküler tanımlaması 29
Şekil 4.3 Meme kanserli kadınlarda enfeksiyon durumu 30
Şekil 4.4 Etidyum Bromür agaroz jel elektroforezinde DNA'nın görünümü 34
Şekil 4.5 HPV-16 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi 34
Şekil 4.6 HPV-18 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi 35
Şekil 4.7 HPV-33 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi 35
Şekil 4.8 HPV-35 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi 36
Şekil 4.9 HPV-16, HPV-18, HPV-33 ve HPV-35 genotiplerinin PCR ürünü 36
Şekil 4.10 İnsan papilloma virüsü tip 16 L1 geni 38
Şekil 4.11 Klonlama vektörü p119L1e 39
Şekil 4.12 İnsan papilloma virüsü 18 izolatı C573061 40
Şekil 4.13 İnsan papilloma virüsü 33 izolatı InDRE 124 41
Şekil 4.14 İnsan papilloma virüsü tip 33 izolatı RW 136 42
Şekil 4.15 İnsan papilloma virüsü 35 izole PAP605475 42
Şekil 4.16 İnsan papilloma virüsü tip 35 izolatı UA3297 43
Şekil 4.17 HPV-16 için filogenetik ağaç 44
Şekil 4.18 HPV-33 için filogenetik ağaç 44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 HPV genotipi risk sınıflandırması (Dareng *et al.* 2019) 10
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan araç ve gereçler 18
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözücüler 18
Çizelge 3.3 DNA ekstraksiyon kitinin bileşenleri 19
Çizelge 3.4 DNA amplifikasyon kitinin bileşenleri 19
Çizelge 3.5 DNA'nın amplifikasyonu için kullanılan primerler 20
Çizelge 3.6 Gen tespiti için PCR amplifikasyonu programı 24
Çizelge 4.1 Kanser türüne göre insan papilloma virüsü 26
Çizelge 4.2 Yaş gruplarına göre HPV prevalansı 27
Çizelge 4.3 Aile öyküsüne göre insan papilloma virüsü 27
Çizelge 4.4 Yaş gruplarına göre HPV genotiplerinin prevalansı 31
Çizelge 4.5 Aile öyküsüne göre HPV genotiplerinin prevalansı 31
Çizelge 4.6 NCBI kayıtlı HPV ile karşılaştırıldığında izole edilmiş HPV'nin sıralama analizi 37

1. GİRİŞ

Günümüzde dünya çapında kadınlarda en sık görülen malignite meme kanseridir (BC) (Akram *et al.* 2017). Irak habis tümörler merkezinden alınan en son veri girişine göre, BC'nin Iraklı kadınlar arasında en yaygın kanser türü olduğu ve ülkedeki kayıtlı kanser vakalarının üçte birinden fazlasını oluşturduğu tespit edilmiştir (Shkur Azeez 2022). Mussa *et al.* (2011) tarafından 2005 ile 2009 arasında ve Al-Mozan *et al.* (2019) tarafından 2010 ile 2014 arasında Thi-Qar'da yürütülen araştırmalar, meme kanseri ve ilişkili komorbidite riskinin arttığını ve BC enfeksiyonlarında yıllık bir artış olduğunu ortaya koymuştur. BRCA1 ve BRCA2'de edinilmiş mutasyonlara sahip olanlar, bu mutasyonlara sahip olmayanlara göre daha genç yaşlarda BC geliştirme eğilimindedir. BC, insan genetiğindeki BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonlardan kaynaklanır; hücreler zarar gördüğünde, tütündeki kimyasallar, radyasyona maruz kalma (ultraviyole) ve *Human papilloma* virusü (HPV) gibi onkojenik virüslerle enfekte olur (Petrucelli *et al.* 2010). İnsan papilloma virüsü enfeksiyonları ile BC ilerlemesi arasındaki bağlantı çok önemli bir unsurdur. Malign servikal lezyonların ve diğer kanser türlerinin yaklaşık %70'ine, onkojenik bir virüs olarak kategorize edilen ve epitelyal hücre tropizmleri ile bilinen HPV neden olur (Düzgüneş 2016). Tüm bu gerekçeler, virüsün BC'nin gelişiminde rol oynadığını ve insan genlerini nasıl etkilediğini anlamak için araştırılması gerektiğini düşünmemize neden olur. Yüksek risk taşıyan HPV tipleri 16 ve 18 anogenital kanserle bağlantılıdır ve diğer kanser türlerinde belirlenebilecek en yaygın formlardır (Sisk and Robertson 2002).

100'den fazla farklı virüs, papilloma virüsü ailesini oluşturur. Virüs, temel cilt sivilceleri ile genital yumrular üretebilir ve bazı türleri, malignite (apikal tümörler olarak da adlandırılır) bağlantıları nedeniyle yüksek riskli olarak kabul edilir (Tripathi and Sahu 2022). Çoğu papilloma virüsü enfeksiyonu, kısa ömürlü ve nispeten iyi huylu olan türleri oral-anal seks ve intrauterin yollarla bulaşır (Clemente-Suárez *et al.* 2020). 13 farklı papilloma virüsü türü vardır ve bunlardan bazıları, görünür şişlikler oluşturmayıp bunun yerine uzun süreli (kalıcı) bir enfeksiyona neden oldukları için yüksek riskli kabul edilir (Builder 2021). Serviks kanseri vakalarının çoğunda ana faktörler olan ve ayrıca rahim,

ağız ve boğaz kanseri (dil, bademcikler, penis ve anüs dahil) gibi daha az yaygın olan diğer kanserlerle de bağlantılıdır. En yaygın CYBE HPV'dir. HPV enfeksiyonları 2018'de 43 milyon kişiyi etkilemiştir ve bunların çoğu genç yaşlarının sonunda ve 20'li yaşların başında bu virüsle tanışmışlardır. HPV'nin çok sayıda çeşidi vardır. Genital siğiller ve kanser gibi bazı türleri sağlık sorunlarına yol açabilir. Bununla birlikte, bu tıbbi sorunların oluşmasını engelleyebilecek aşılar vardır. HIV ve HSV, HPV (herpes) ile aynı virüsler değildir (Bundy *et al.* 2018).

Yüksek riskli tip 16-18'in Amerika Birleşik Devletleri'ndeki rahim ağzı kanserinin %70'ine neden olduğu belirlenmiştir. Amerika'da her yıl 13,000'den fazla kadın rahim ağzı kanserine yakalanıyor ve yaklaşık 4,000 kadın bu nedenle hayatını kaybediyor (Yusupov *et al.* 2018). 2012'de 1,57 milyon yeni meme kanseri vakası tespit edilmiştir ve dünya çapında kadınlarda görülen en yaygın kanser türüdür. Bu değer, tüm kanserlerin %25'ini oluşturmaktadır. Ayrıca kadınlarda kansere bağlı ölümlerde ana faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerde hayatta kalma oranlarındaki önemli artışa rağmen, tehdit sürekli artmaktadır. Bu durum, orta ve düşük gelirli ülkelerde yüksek ölüm oranlarına katkıda bulunmaktadır (He and He 2019). Kanser, Doğu Akdeniz Bölgesi'nde (EMR) kardiyovasküler hastalıklar, bulaşıcı hastalıklar ve kazaların ardından dördüncü en büyük ölüm nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre Doğu Akdeniz Bölgesi, Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Orta Asya'da bulunan (Afganistan, Bahreyn, Cibuti, Mısır, İran, Irak, Ürdün, Kuveyt, Lübnan, Libya, Fas, Filistin toprakları, Umman, Pakistan, Suudi Arabistan, Somali, Sudan ve Yemen) pek çok ülkeden oluşmaktadır (Mendoza *et al.* 2021).

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, papilloma virüsünün (HPV) kadın meme kanserindeki ve insan genleri üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, meme kanserinin histopatolojik tanısı, papilloma virüsünün genotip 16, 18, 31 ve 35'in moleküler tanısı ve son olarak virüs ile meme kanseri oluşumu arasındaki ilişinin belirlenmesi için istatistiksel analiz yapılmıştı.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 İnsan Papilloma Virüsü

Yetmiş milyon vaka prevalansı ve her yıl meydana gelen yaklaşık on dört milyon yeni bulaşma yoluyla, cinsel yolla bulaşan en yaygın hastalıklardan biri olan genital sistemdeki insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonlarıdır. Nadiren konakçıyı öldürürler ve yalnızca ara sıra belirgin bir sistemik etki olmaksızın kronik hastalığa neden olurlar, ancak çok sayıda insana bulaşmak üzere periyodik olarak önemli miktarlarda enfeksiyöz virüs salarlar. HPV, başarılı bir şekilde yaşamak için konağın güçlü bağışıklık savunmasından kaçınmalıdır. Doğuştan gelen bağışıklık antikorları (fagositik hücreler, sitokinler gibi çözünür proteinler, kompleman ve epitelyal bariyerler) ve sitotoksik efektör hücreleri içeren adaptif bağışıklık, konakçıyı korumak için birlikte çalışır (Hong and Laimins 2017).

Papillomavirüsler, çift sarmallı DNA'ya sahip, ikosahedral, küçük, zarfsız virüslerdir. Bu virüsler tipe özgüdür ve mukoza zarlarını ve bazal deri tabakasının epitel hücrelerini işgal ederek çeşitli anogenital malignitelere ve siğillere yol açar (Sabeena *et al.* 2017). Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi, papillomavirüsleri resmi olarak *Papillomaviridae* (ICTV) adı verilen benzersiz bir aile olarak sınıflandırmıştır. Ayrıca papillomavirüsler, kökenlerine ve aynı türü enfekte eden diğer papillomavirüslerle genetik akrabalık derecelerine göre daha fazla kategorize edilir. Bugüne kadar 160'tan fazla farklı insan papilloma virüsü (HPV) türü tanımlanmıştır ve diğer türleri karakterize etmek için çalışmalar devam etmektedir (Van Doorslaer 2022). Papillomavirüsler üzerine yapılan bir dizi epidemiyolojik ve moleküler araştırmaya göre, HPV enfeksiyonları ile rahim ağzı kanseri arasında yüksek bir korelasyon vardır. İnvaziv rahim ağzı kanserine en sık insan papilloma virüsünün genotip 16'sı neden olur, bunu HPV'nin genotip 18'i takip eder. Bu iki virüs genotipi, rahim ağzı kanseri vakalarının yaklaşık %70'iyle ilişkilidir (Muñoz-Bello *et al.* 2022).

Dünyada en yaygın cinsel yolla bulaşan hastalıklardan biri HPV enfeksiyonudur. HPV enfeksiyonuna ilişkin hastane tabanlı çalışmaların çoğu, cinsel olarak maruz kalan

kadınlara odaklanmaktadır. HPV enfeksiyonuna cinsel olarak maruz kalmamış kadınları taramak için, son 20 yılda kendi kendine toplanan vajinal ve idrar örnekleri gibi invazif olmayan örnekler kullanılmıştır. Aşı taktikleri, epidemiyolojik araştırmalar ve HPV enfeksiyonu olan çocuk ve ergenlerin klinik yönetimi ile ilgili olarak, cinsel yol dışındaki diğer çeşitli bulaşma biçimlerine ilişkin farkındalık çok önemlidir (Ahmad and Ansari 2021). Cinsel olarak aktif olmayan ergenler ve gençler arasında, cinsel olmayan makul bir bulaşma yolu görmek, araştırma tekniklerinin kullanılmasını önlemeye yardımcı olabilir. Evlenmemiş kızları için bir STD aşısı söz konusu olduğunda, ebeveynler çeşitli kültürel sorunlar ve toplumsal damgalamalar konusunda endişe duymaktadır. Sağlık uzmanları, bu kansere neden olan virüsün bulaşmasının sayısız yolu hakkında yararlı tavsiyeler sağlayabilir (Brusselaers *et al.* 2019).

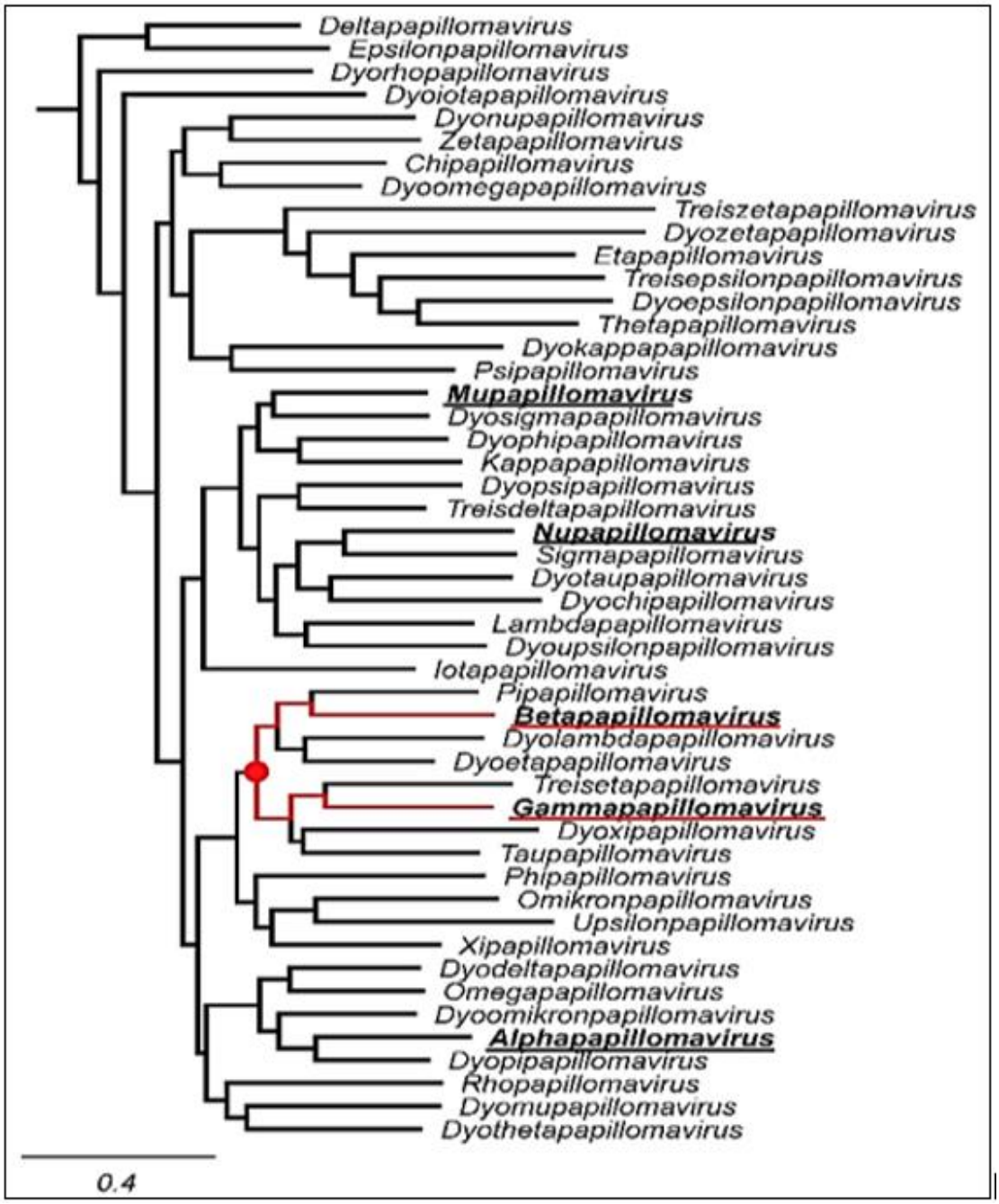
2.2 Papilloma Virüslerinin Sınıflandırılması

ICTV tarafından yayınlanan raporda, *Papillomaviridae* ailesini bir taksonomik grup olarak ortaya koymaktadır. *Papillomaviridae* ailesi, boyutları (5-8,5 kb) arasında değişen dairesel, çift sarmallı genomlara sahip çok sayıda virüs türü içerir. Sürüngenlerde, balıklarda ve diğer memelilerde genetik olarak çeşitli HPV genotipleri tanımlanmıştır (Tisza *et al.* 2016). *Papillomaviridae* ailesi aşağıdaki gibi sınıflandırılır:

- **Bölüm:** *Monodnaviria*
- **Alem:** *Shotokuvirae*
- **Şube:** *Cossaviricota*
- **Sınıf:** *Papovaviricets*
- **Takım:** *Zurhausenvirales*
- **Aile:** *Papillomaviridae*

Papillomaviridae familyası ayrıca aile içindeki nükleotit sekans özdeşliğine göre sınıflandırılmıştır. Kuşkusuz, viral açık okuma çerçevesinin (ORF-L1) ikili nükleotit benzerliği, bu aile sınıflandırmasının temelini oluşturur (Bzhalava *et al.* 2015). Papillomavirüsler, ICTV tarafından yayınlanan raporda belirtildiği gibi, papillomavirüs

kelimesinin ön ekinde Yunanca alfabe kullanılarak kategoriler halinde sınıflandırılır. Spesifik viral tipler, cins ve türlere atanır ve tür adları, Şekil 2.1'de gösterildiği gibi bir binom adlandırma şeması elde edilerek, bir sayı eki ile cins adı kullanılarak son halini alır (Kocjan *et al.* 2015).

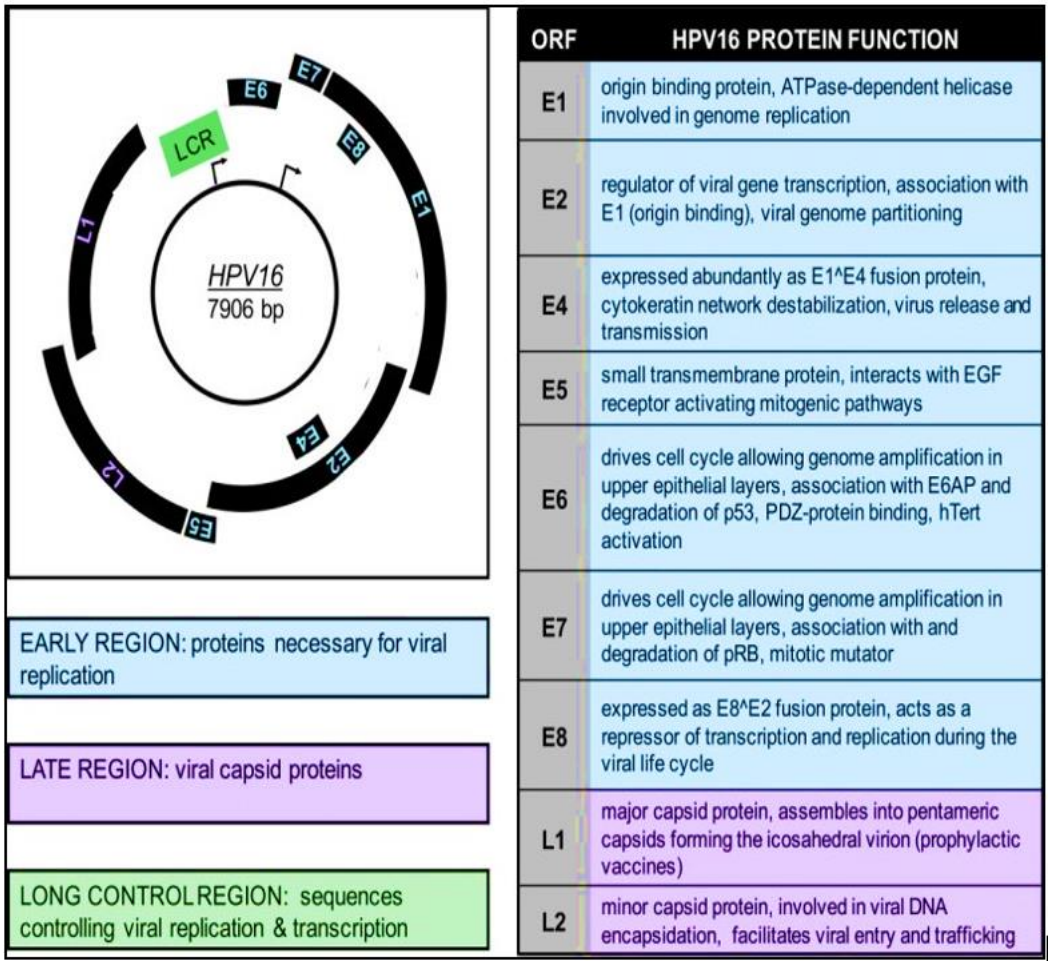


Şekil 2.1 *Papilomavirinae* alt familyasındaki cinsler (Kocjan *et al.* 2015)

Maksimal filogenetik ağaç, Fast-Tree kullanılarak L1 nükleotit dizisine dayalı olarak oluşturulmuştur. Bireysel ırklar, bir tür papilloma virüsü ve gösteri ile temsil edilir. Bir filogenetik ağaç içinde diziler, virüsleri 49 cins olarak sınıflandırabilir. HPV genotipi içeren ırklar koyu renkli ve çizgilidir. Papillomavirüs beta ve poliovirüs gama-virüs cinslerinin ortak yakın atası kırmızı ile altı çizili, kırmızı bir tam daire ile gösterilmiştir (Price *et al.* 2010).

2.3 Virion'un Genomik Yapısı ve Organizasyonu

Zarfsız bir DNA virüsü olan insan papilloma virüsü, skuamöz epiteli enfekte etmeyi tercih eder. Her virüs parçacığı, yaklaşık 60 nm çapında bir ikosahedral simetrik kapsidden oluşur ve baz çifti (BP) değeri yaklaşık 8,000 olan tek bir çift sarmallı dairesel DNA molekülü taşır (Knipe *et al.* 2013). Genomun çift sarmallı DNA sarmalı için transkripsiyon şablon sarmalı, ondan fazla açık okuma çerçevesi içeren üç genomik bölgeyi kapsar. Polisistronik mRNA'lar kullanılarak birkaç viral protein üretilir (Harden and Munger 2017). Geç bölge (L) tarafından yalnızca iki viral kapsid proteini kodlanırken, erken bölge (E) viral düzenleyici proteinleri kodlayan kabaca yedi ORF'ye sahiptir. Erken bölgede (E), her bir ORF seçilir (Şekil 2.2) (Van Doorslaer *et al.* 2017).



Şekil 2.2 HPV genomunun düzenlenmesi ve proteinlerinin etkisi (Harden and Munger 2017)

2.3.1 İnsan papilloma virüsü proteinleri

Şekil 2.2'de gösterildiği gibi, insan papilloma virüsünün erken ORF'leri, E1, E2, E4, E5, E6 ve E8 dahil olmak üzere bir dizi alanı kapsar. Adenozin trifosfata (ATP) bağımlı viral DNA helikazları E1 bölgesi tarafından kodlanır ve E2 bölgesinden gelen proteinler viral transkripsiyon, replikasyon ve genom bölünmesinde rol oynar. Transkripsiyonel aktivatör E2 proteinini bütünüyle kodlar. E8-E2-füzyon proteini, endojen bir ATG'den üretilen E2'nin kısaltılmış bir versiyonu tarafından transkripsiyonel olarak bastırılır (McBride 2017). E2 geninin bir parçası olan E4 bölgesi, viral replikasyonun sonraki aşamalarında büyük ölçüde E1-E4 füzyon proteinleri olarak ifade edilir. E4 bölgesinin, sitokeratin filamentlerine bağlandığı ve yapılarına zarar verdiği için keratinize epitel tabakasından viral kaçış için çok önemli olduğuna inanılmaktadır (Yamashita-Kawanishi *et al.* 2020).

Sığır papilloma virüsü tip 1'in E5 bölgesi, en çok araştırılan (BPV1) küçük bir transmembran proteindir. PDGF ve EGF reseptörleri, BPV1 E5-gegion'un bağlanıp aktive edebildiği tirozin kinaz reseptörlerinin sadece iki örneğidir. Küçük, hidrofobik, tek geçişli tümörijenik bir trans-membran proteinidir. Ayrıca, HPV E5 bölgesi paralel aktiviteleri tanımlanmıştır. Bu bölge, BPV1 E ile yalnızca küçük dizi benzerliklerine sahip birkaç trans-membran proteini kodlar (Morgan *et al.* 2017). HPV E5 proteinleri apoptoz ve bağışıklıktan kaçınma süreci için gereklidir. Hücre döngüsü girişi hem HPV E6 hem de E7 bölümleri tarafından tetiklenir ve üst epitel tabakasında genom replikasyonuna izin verir. HR HPV E6 proteinleri kansere neden olan özelliklere sahiptir. Hücresel proteinler PDZ ve p53'e bağlanma ve bunları parçalamanın yanı sıra, telomeraz enzimini de aktive ederler (Willemsen and Bravo 2019). HR HPV E7-proteinleri, retinoblastoma baskılayıcılara bağlanıp onları yok ettiğinde, genetik kararsızlığa neden olarak kanser gelişimine katkıda bulunurlar (Burley *et al.* 2020). Şekil 2.2'ye göre, geç bölge hem majör hem de minör (L1 ve daha sonra L2) kapsid proteinlerini kodlar. L1 ORF, PV'ler arasında en çok korunan olduğundan filogenetik düzenleme için kullanılır (Pal and Kundu 2020).

2.4 İnsan Papilloma Virüsünün Yaşam Döngüsü

HPV ile enfekte olmuş hücreler, büyük olasılıkla devam eden hücre bölünmesine ihtiyaç duyduğu varsayılan bir giriş yoluyla epitel hasarı veya mikro çatlaklar tarafından korunur (Gibert *et al.* 2019). Servikal bölgenin skuamöz kolumnar bileşkedeki dönüşümü, bu bölgede epitel rezerv hücrelerinin veya kök hücrelerin daha yüksek erişilebilirliği nedeniyle malignite-dönüşümüne duyarlı olabilir (McKinney *et al.* 2015). Ek olarak, HPV'nin bazal kök hücreleri hedefleme yeteneği, bazı insanlarda meydana geldiği bilinen kronik enfeksiyonun meydana gelmesi için bir yol sunuyor olabilir. Bazal hücreli HPV enfeksiyonuna tipik olarak, kişi başına 100 adede kadar virüs kopyası üretebilen düşük seviyeli bir HPV amplifikasyonu eşlik eder. Erken virüs genleri E1 (virüs DNA'sı) ve E2'nin (virüs transkripsiyon faktörü ve genom tether) koordineli ifadesi, viral DNA'nın orijinden replikasyonunu mümkün kılar (Mac and Moody 2020). E2 bölgesi proteini, çok sayıda konak bağlama ortağı ve virüs kopya numarası daha sonra epitelyumun bazal replikasyon bölmesinde tutularak, virüs genomlarının bölünmesini konakçı

kromozomlara uçbirim yoluyla yönlendirir. Virüsün erken promotörü (primer HRHPV, HPV16'daki p97) tarafından, onkoproteinler E6 ve E7 de virüsün bakım döngüsünün bu aşaması sırasında ifade edilir (Albert and Laimins 2020). HPV E6 ve E7, enfekte olmuş hücre içindeki bir dizi konakçı protein ile etkileşime girer ve bir dizi değiştirme işlevi gerçekleştirir (Satsuka *et al.* 2015). Bazofiller, E6 ve E7 proteinlerinin yalnızca az bir miktarını ifade eder, bu da muhtemelen konakçıda bağışıklıktan kaçınmaya ve nihai olarak enfeksiyonun kalıcılığına yardımcı olur. Virüsün HPV yaşam döngüsü boyunca genlerini nasıl ifade ettiği, enfekte olmuş hücrelerin farklılaşma profiline bağlıdır. DNA sentezi, farklılaşmış paranazal skuamöz epitel hücreleri hücre döngüsüne girdiğinde devam eder ve yüksek viral genom kopya sayısını korur (Lee *et al.* 2016). Viral eklemede RNA, erkenden geç poliadenilasyon bölgelerine E2'nin kontrolü ve enfekte olmuş hücrenin farklılaşma durumuna bağlı olarak değişken şekilde üretilen ekleme faktörlerinin mevcudiyeti altında geçiş yapar (Burley *et al.* 2020). Yüzey hücre katmanlarında viral kapsid proteinlerini veya geç L1 ve geç L2 gen ürünlerini yapmak için benzer işlemler kullanılır. Virüslerin üretken yaşam döngüsü, kendilerini bir araya getirdiklerinde, kopyalanmış genomlarını yeniden birleştirdiklerinde ve hücreden yakın dış ortama lirik olmayan bir şekilde atıldıklarında sona erer (Ganti *et al.* 2015).

2.5 İnsan Papilloma Virüsü Genotiplerinin Dağılımı

HPV enfeksiyonunun patogenezi, dünyadaki viral türler (LR-HPV, HR-HPV, kutanöz veya genital HPV) ne olursa olsun aynı olmasına rağmen, coğrafi bölgelere göre HPV prevalans genotipinde çeşitlilik oluşturur. Bu belirli yerlerde aşılama kampanyalarının nasıl iyileştirileceğine veya daha az ölçüde, varsayılan bir kıtasal bölgede genotip prevalansı hakkında bilgi sahibi yeni nesil geniş spektrumlu aşıların nasıl oluşturulacağına ilişkin kararlar almayı kolaylaştırır. Aşılama oranlarının arttırılması veya en yaygın genotiplere dayalı aşıların seçilmesi, HPV enfeksiyonu ile ilişkili sağlık ve finansal maliyetlerin azaltılmasına yardımcı olabilir (Aljunid *et al.* 2010). Birçok HPV genotipi dünyanın her yerinde bulunabilir. Çeşitli araştırmalar, başlıca azalan prevalans sırasına göre 16, 18, 59, 45, 31, 33, 52, 58, 35, 39, 51, 56 ve 53 genotiplerine sahip HR HPV'lerin en yaygın genotip olduğunu doğrulamıştır. LR-HPV'lerde en yaygın HPV

genotipleri, genotip 6 ve 11'dir ve pratik olarak tüm GW'lerden sorumludurlar. Ancak yaygınlığı bölgeye göre değişmektedir (LeConte *et al.* 2018, Shewale and Gillison 2019).

Sonuç olarak, HPV genotipleri 16 ve 18, ICC'lerin %71'inde gözlenmiştir ve bunlar, ilişkili HPV yükünün çok yüksek olduğu gelişmekte olan ülkelerde daha az yaygındır (Laia *et al.* 2010). Bu, daha önce tanınan HPV'nin küresel dağılımının tersidir. CIN 1/2/3 ve CC riski ayrıca aşağıdaki ilgili viral varyasyonların coğrafi varyasyonuna da bağlıdır ve bu, dikkat edilmesi gereken önemli bir karşı gerçektir. Ayrıca araştırmalar, Afrika HPV genotipleri 16, 18, 33 ve 45'in diğer HPV genotiplerinden daha öldürücü olduğunu göstermiştir (Fuentes-González *et al.* 2018). Buna ek olarak, HPV, gelişmekte olan ülkelerde, öncelikle çok sayıda bağışıklığı baskılanmış insan, sağlık hizmetlerine erişim eksikliği ve ortalamanın altında bir aşılama programı nedeniyle yaygın olarak yayılmaktadır. Örneğin, yüksek riskli genotip HPV 66, CC durumunda başta Afrika olmak üzere gelişmekte olan ülkelerde biraz daha yüksek bir sıklığa sahiptir. ABD'de ve aşağı yukarı tüm Avrupa'da, HPV genotipleri 6 ve 11 en yaygın olanlardır, oysa Afrika ve Asya'da gösterildiği kadar yaygın değildirler (Çizelge 2.1) (Dareng *et al.* 2019, Kombe Kombe *et al.* 2021).

Çizelge 2.1 HPV genotipi risk sınıflandırması (Dareng *et al.* 2019)

Risk Sınıflandırması	**HPV Genotipi**
Düşük risk	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61 ve 70
Yüksek risk	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 ve 59
Potansiyel Yüksek Risk	26 ve 53

2.6 İnsan Papilloma Virüslerinin Onkojenitesi

8 (kb) histona bağlı, çift sarmallı DNA, iki geç geni (L1 ve L2) ve ayrıca zarfsız T=7d kapsid ve altı erken geni (E1, E2, E4, E5, E6 ve E7) tarafından oluşmaktadır (Roden and Stern 2018). Saptama sırasına göre, HPV genotipleri numaralandırılır ve başka bir genotipten (genellikle tür olarak anılır) >%10 L1 sekans DNA farkı ile sınıflandırılır (Van Doorslaer *et al.* 2017). Bugüne kadar 200'den fazla farklı HPV türü keşfedilmiştir (Harden and Munger 2017). Türler içinde bulunan iyi huylu HPV türleri tipik olarak cildi

enfekte eder. Enfeksiyon klinik olarak tespit edilemeyebilir veya özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde tipik olarak bir yıl içinde kaybolan inatçı cilt siğillerine neden olabilir (Bonde *et al.* 2020). Yaklaşık 40 farklı insan papilloma virüsü (HPV) türü cinsel temas yoluyla bulaşabilir. Çok sayıda HPV türü, HPV6 ve HPV11'in neden olduğu genital siğiller gibi iyi huylu hastalıklara neden olur. Bununla birlikte, on üç farklı HPV genotipi vardır: HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59 ve HPV68. Bu virüslerin kategorik olarak kansere neden olduğu veya en azından olası bir kanser nedeni olduğu bilinmektedir (HPV26, HPV30, HPV34, HPV53, HPV66, HPV67, HPV69, HPV70, HPV73, HPV82 ve HPV85) (Demarco *et al.* 2020). Rahim ağzı kanseri vakalarının kabaca %99'una HPV-18 neden olur, HPV-16 %50-60'ını ve HPV-18 vakaların kabaca %20'sini oluşturur. Kalan kısım, tür 7, 9 ve daha az ölçüde 5, 6 ve 11'deki diğer tümör tipleri tarafından sağlanır (Zhou *et al.* 2018). Sonuç olarak, onaylanan tüm HPV aşıları doğrudan HPV-16 ve HPV-18'i hedef alır, ancak onaylanan en son aşı ek olarak beş (HPV-31, HPV-33, HPV-45, HPV-52 ve HPV-58) rahim ağzı kanseri türünü de etkilemektedir (Man *et al.* 2021).

2.7 İnsan Papilloma Virüsü Kaynaklı Kanser

Kanserle ilişkili ilk insan papilloma virüsleri β HPV-5 ve HPV-8 olup, nadir görülen bir genetik bozukluğu olan EV5 hastalarında yükselen kanserlerde ve siğillerde fark edilmişlerdir (Bansal *et al.* 2016). Hastaların çoğu, sırasıyla TMC-6 ve TMC-8 olarak da bahsedilen EVER 1 ve EVER 2 adlı iki EVER geninden birinde, 17q25.3 kromozomunda yer alan bir mutasyona sahiptir (Viens *et al.*2016). EV hastaları, moleküler nedeni hala bilinmemesine rağmen, HPV enfeksiyonlarından profesyonel olarak kurtulamaz ve vücutlarının her yerinde siğillere dönüşür. Güneşe maruz kalan vücut kısımlarında bu siğiller kanserli büyümelere dönüşebilir. Uzun süreli bağışıklığı baskılanmış nakil hastalarında, melanom dışı cilt kanserleri, HPV'lerin neden olduğu başka bir sık görülen sonuçtur (Li and Xu 2017). Sistemik olarak bağışıklığı baskılanmamış hastalarda HPV'nin melanom dışı deri kanserinin ortaya çıkmasında rol oynayıp oynamadığı henüz bilinmemektedir. Tüm neoplastik hücrelerin HPV sekansını içermemesi gerçeği, bu virüslerin tümörleri indüklemeye yardımcı olabilse de mutant durumunu sürdürmeleri gerekmeyebileceğini gösterir. Transgenik fareler üzerinde yapılan araştırmalar, tamamen

farklı E2, E6 ve E7'nin hepsinin kanserojen özellikler sergilediğini ortaya çıkarmıştır (Senkomago *et al.* 2019). Siğillerle veya tipik olarak maligniteye yatkınlığı olan iyi huylu lezyonlarla klinik ilişkilerine bağlı olarak, mukozal epitelyumu enfekte eden yaklaşık 40 HPV, düşük riskli (LR) veya yüksek riskli (HR) olarak kategorize edilir (Deshmukh *et al.* 2021). Enfeksiyonun nerede meydana geldiğine bağlı olarak, HPV-6 ve HPV-11 gibi LR HPV'leri vajinal siğillere veya fokal stoma hiperplazisine (Heck hastalığı) neden olabilir. HPV-16 ve HPV-18 gibi insan papilloma virüslerinden kaynaklanan intraepitelyal neoplazi, agresif karsinomaya ilerleyebilir (Damerla *et al.* 2019). İnsanlardaki tüm malignitelerin yaklaşık %5,2'sine HPV neden olur ve kadınlar arasında rahim ağzı kanseri dünya çapında en sık görülen dördüncü malignitedir (Damerla *et al.* 2019). HPV, servikal malignitelerin çoğundan sorumludur ve iki tür, HPV16 ve HPV18, vakaların %70 kadarında bulunur. Ayrıca anal kanserin %95'i, vajinal kanserin %60'ı, orofaringeal kanserin %70'i, vulva kanserinin %50'si ve penis kanserinin %35'i HPV enfeksiyonundan kaynaklanır. Bu malignitelerde en yaygın HPV suşu, HPV 16'dır. Genellikle, HPV ile bağlantılı kanserler verimsiz enfeksiyonlardır (Suk *et al.* 2018).

2.7.1 İnsan papilloma ve rahim ağzı kanseri

Cinsel yolla bulaşan en yaygın hastalıklardan biri ve üreme sistemine en sık giren virüs papilloma virüsüdür (HPV) (Xie *et al.* 2021). HPV cinsel yolla bulaşan bir hastalık olmasına rağmen cinsel ilişki olmadan da yayılabilir. Cinsel organların deri ile temas etmesiyle bulaşmanın meydana geldiği bilinmektedir. Cinsel olarak aktif erkeklerin ve kadınların %70'inden fazlası, hayatlarının bir noktasında hastalığa yakalanacak ve neredeyse tamamı bunu birden fazla kez yapacaktır (Rocha *et al.* 2019). HPV bulaşma riski, cinsel ilişkiden hemen sonra en yüksektir. Birkaç aylık kilo alımı sırasında, enfeksiyon tipik olarak kendi kendine geçer ve vakaların %90'ı iki yıl içinde çözülür. Genetik varyasyonları gösteren DNA dizisi verilerine dayanarak, çoğu iyi huylu olan HPV'nin bilinen 200'den fazla formu vardır. Kutanöz mukozanın bazal epitel hücreleri, iyi huylu lezyonlardan maligniteye kadar bir dizi klinik bozuklukla ilişkilendirilen HPV enfeksiyonuna karşı hassastır. Bu enfeksiyonların çoğu ellerde, ayaklarda ve anogenital bölgelerde cilt siğilleri gibi iyi huylu veya kanserli olmayan lezyonlarla sonuçlanır. Siğiller, çoğunlukla göze batan keratin dolu, iltihaplı cilt lekeleridir. Genellikle 1 ile 5 yıl

içinde otomatik olarak düzelir. Orofarinks, vulva, serviks, penis ve vajina kanseri dahil olmak üzere HPV enfeksiyonlarının yalnızca küçük bir kısmı dayanabilir ve kansere dönüşebilir (Watson-Jones *et al.* 2013, Xie *et al.* 2021). HPV ile bağlantılı en yaygın enfeksiyon rahim ağzı kanseridir. Kronik HPV enfeksiyonu, neredeyse tüm rahim ağzı kanseri oluşumlarına neden olur (Wang *et al.* 2019). Yılda tahmini 570 bin yeni vaka ve bu vakaların %85'inin daha az gelişmiş bölgelerde meydana gelmesiyle rahim ağzı kanseri, dünya çapında kadınlarda en sık görülen dördüncü malignitedir. 2018'de rahim ağzı kanserinden tahmin edilen 311 bin ölümün yaklaşık %90'ı daha az gelişmiş bölgelerde gerçekleşmiştir ve bu, kanserden kadınlar arasındaki tüm ölümlerin yaklaşık %7,5'ini oluşturmaktadır (Alotaibi *et al.* 2020). Rahim ağzı kanseri, dünya çapındaki kadınlarda kanser ölümlerinin önde gelen nedeni olarak meme kanserinden sonra ikinci sıradadır ve bu gelişmekte olan ülkelerdeki tüm kadın kanser ölümlerinin %25'inden sorumlu olabilir (Kaushic *et al.* 2011).

2.7.2 İnsan papilloma virüsü ve meme kanseri

Meme kanseri, kadınlar arasında en büyük ölüm nedeni ve dünya çapında ciddi bir sağlık sorunudur. Son on yılda, meme kanseri prevalansı Birleşik Krallık'ta kabaca %4 ve dünya çapında yaklaşık %20 artmıştır (Salman *et al.* 2017). 1970'lerin sonlarından bu yana %54 oranında görülme sıklığında artış yaşanmıştır. Birleşik Krallık Kanser Araştırmaları Merkezine göre, 2013 yılında Birleşik Krallık'ta kadınlarda 53 bin yeni meme kanseri vakası keşfedilmiştir ve bu durum meme kanserini Avrupa'daki en yaygın altıncı kanser türü haline getirmiştir (Haghshenas *et al.* 2016).

Bir dizi risk faktörünün meme kanseri gelişimine katkıda bulunduğu iyi bilinmesine rağmen, asıl neden sıklıkla bilinmemektedir. Bu, malign malignitelerle bağlantılı yeni bir bileşeni belirlemek için çok sayıda araştırmaya yol açmıştır (Lawson *et al.* 2016). Enfeksiyöz patojenler ile kanser arasında doğrudan veya dolaylı olarak bir bağlantı vardır. Özellikle insan papilloma virüslerinin (HPV'ler) meme kanserine neden olduğu bilinmektedir. Deri ve cinsel organlar da dahil olmak üzere epitel yüzeyi ve mukoza zarları, iyi huylu ve kötü huylu çok proliferatif lezyonlar üretebilen yaygın bir virüs ailesi olan HPV ile enfekte olur (Bønløkke *et al.* 2018). HPV enfeksiyonlarının %90'ından

fazlası asemptomatik olsa ve genellikle iki yıl içinde kendi kendine kaybolsa da bazen biraz gecikmeyle, HPV kalıcılığı hastalığın ilerlemesine neden olabilir. Örneğin, serviks kanseri vakalarının %90'ında ilk olay, yüksek riskli HPV genotipleri 16 ve 18 ile serviksin enfeksiyonudur (Lawson *et al.* 2015). Malignite, immünolojik saldırının önlenmesini ve ortadan kaldırılmasını gerektiren kalıcı virüs kalıcılığına bağlıdır. Daha önce gösterdiğimiz gibi, HPV, bir dizi virüs gibi, etkili bir bağışıklık tepkisini zayıflatmak için bir dizi mekanizmaya sahiptir ve bu, HPV enfeksiyonunun onaylanmasını ertelemeye veya tehlikeye atmaya katkıda bulunabilir (Purrahman *et al.* 2022).

Vücudun virüsü bastırma çabalarına rağmen, HPV hala ciltten cilde temas ve cinsel aktivite yoluyla yayılabilir. Rahim ağzı kanserinin birincil nedenlerinden biri, yüksek riskle bağlantılı HPV genotipleridir. HPV'nin tüm ağız, vajinal, penis ve anüs kanserlerinin neredeyse yarısının temel nedeni olduğuna inanılmaktadır (Choi *et al.* 2016). Bu çalışma, HPV virüslerinin ilk enfeksiyon bölgesinden kanserin ortaya çıkmasından sorumlu olabilecekleri diğer organlara yayılabileceğini düşündürmektedir. HPV'nin çeşitli nedenlerle meme kanserine neden olma olasılığını araştırmak mantıklıdır (Harrison *et al.* 2015). Meme kanallarını çevreye maruz bırakan meme ucu kompleksi, HPV enfeksiyonu için bir giriş yeri görevi görebilir. Ek olarak, meme duktal epiteli, meme kanserlerinin çoğunun başladığı yerdir. HPV'nin meme kanserine nasıl katkıda bulunabileceğini inceleyen birkaç çalışma hakkında şimdiye kadar pek çok tartışma yapılmıştır. Di Leonardo *et al.* (1993), meme kanseri vakalarının %29'unda HPV'nin mevcut olduğunu göstererek meme kanseri ve HPV arasındaki ilişkiyi ilk kez tespit etmişlerdir (Salman *et al.* 2017). İlk keşfin ardından yapılan çok sayıda araştırma, meme kanseri dokularının %60'ından fazlasının HPV içerdiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, göğüslerde HPV DNA'sının bulunmadığına dair çelişkili raporlarda bulunmaktadır. Bu nedenle, HPV'nin meme kanserlerinde ve meme dokusunda olup olmadığı henüz bilinmemektedir (Bae and Kim 2016). Birleşik Krallık'ta önemli bir halk sağlığı sorunu haline geldiği için meme kanserinin etiyolojisine ilişkin çok sayıda çalışmanın daha fazla araştırılması gerekmektedir. Durumun hastalığın büyümesi için potansiyel bir risk faktörü olabileceği ve hem dünya çapında hem de Birleşik Krallık'ta kadınlar arasında daha yüksek ölüm oranlarına yol açabileceği gerçeğine rağmen, HPV enfeksiyonunun meme kanserinin büyümesinde işlevini inceleyen herhangi bir çalışma

henüz yapılmamıştır (Khodabandehlou *et al.* 2019). Bu nedenle, yapılan çalışmalarda, kohorttaki hastalardan alınan iyi huylu ve kötü huylu meme dokusunun yanı sıra rahim ağzı kanseri biyopsilerinde 4 yüksek riskli (HR) HPV genotipini bulmak için son derece hassas moleküler biyoloji teknikleri kullanılmıştır (Purrahman *et al.* 2022).

2.8 Papilloma Virüslerinin Bulaşma Rolü

2.8.1 Dikey iletim

Papilloma virüsü enfeksiyonu ebeveynlerden çocuklara dikey olarak geçebilir. Hamilelik ve doğum sırasında virüs anneden embriyoya, fetüse veya yenidoğana geçebilir. Syrjänen (2010)'a göre enfeksiyon, enfekte bir sperm veya oosit kullanıldığında döllenme sırasında da olabilir. Virüs seminal sıvı ve plazmada tanımlanmış olmasına rağmen, şu anda oositlerde HPV tespiti ile ilgili herhangi bir araştırma yoktur (Kato *et al.* 2021). Virüsün anneden bebeğe geçmesinin ana yolu hamilelik ve doğum sırasındadır. Doğuştan enfeksiyonlu bebeklerde HPV inkübasyon süresinin kesin süresi ve enfeksiyonun kalıcılığı bilinmemektedir (Contopoulos-Ioannidis *et al.* 2018).

2.8.2 Yatay iletim

HPV'nin yatay olarak bulaşması, cinsel olarak maruz kalmayan yetişkinler ve çocuklar arasında kendi kendine tozlaşma veya heterosporöz tozlaşma veya yumurtalıklar yoluyla bulaşabilir. Annelerde HPV enfeksiyonu, doğum sonrası kliniklerde çocukların yakın temas yoluyla bulaşmasıyla ortaya çıkabilmektedir (Hou *et al.* 2019).

2.8.3 Otomatik veya hetero aşılama

Aile üyeleri arasındaki öpüşme ve elektronik temas HPV'yi yayabilir. Genital siğilleri olan yetişkinler, cinsel partnerlerinin parmaklarına ve cinsel organlarına temas ederek bazı genital HPV türlerini kendilerine bulaştırabilirler (Sabeena *et al.* 2017).

Bakıcılar ve aile üyeleri, el siğilleri varken anogenital bölgeyi yıkıyor ve bez değiştiriyorlar. Vajinal bölgeyi kaşımak da kendi kendine tozlaşmanın gerçekleşmesine neden olabilir (Petca *et al.* 2020). Oral HPV enfeksiyonu, virüsün aile üyeleri arasında yayılmasında çok önemlidir. Vajinal bölgeye kıyasla virüs ağız boşluğunda daha uzun süre hayatta kalır. Düşük riskli genotipler HPV-6 ve HPV-11, pediatrik oral enfeksiyonların çoğuna neden olur. Kendi kendine aşılama, yüksek riskli suşlar olan HPV-16 ve HPV-18'i yayabilir (Vorsters *et al.* 2019).

2.8.4 Fomitler tarafından iletim

Cerrahi aletler ve eldivenlerin sterilizasyon sonrasında hastanede yatan kişilerin HPV DNA pozitifliği daha düşük tespit edilmiştir. Semptomsuz kişilerde HPV DNA'sının hassas teknikler kullanılarak tek başına tanımlanması enfeksiyon anlamına gelmez çünkü viral enfeksiyon her yerde bulunur (Egawa *et al.* 2021). HPVA'nın DNA'sı yumurtalıklar yoluyla genital bölgeye yayılabilir. Ancak evdeki veya okuldaki yüzme havuzlarında ve batı tarzı tuvaletlerde çocuklara HPV bulaşamaz (Boccardo 2021).

2.9 HPV'nin Moleküler Tanısı

HPV'nin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile tespiti (PCR), nükleik asidin amplifikasyonu için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir ve amplifiye dizilerin tanımlanması için birçok teknikle ortak olarak çalışabilir. Bu yöntemler temel olarak DNA'nın baz çiftini spesifik ve/veya genel primer ile büyüten yöntemlere dahil edilir ve PCR tekniğinin uygulanması, örneğin daha başarılı test yöntemi gerektiren daha yüksek riskli hastaların tanınmasında önemli olabilir. HPV16 ve 18 gibi onkojenik tiplerle enfekte olan hastalar (Burrell *et al.* 2016), en geniş ölçüde kullanılan PCR konvansiyonları, L1 geninin istisnai olarak korunmuş bir bölgesine koordine edilen konsensüs primeri kullanır ve tüm mukozal HPV'yi tanımlayacak donanıma sahiptir (Nordfors 2015). Bu tahlil, DNA şablonunun denatürasyonu için tekrarlayan döngüleri, hedef DNA dizisinin spesifik primerlerle tavlanmasını ve son olarak, hedef HPV DNA'nın üssel yoğunluğunu sağlamak için tamamlayıcı DNA dizilerinin uzatılmasını içerir (Hulstaert *et al.* 2006). Polimeraz zincir

reaksiyonuna dayalı bir tanıma çerçevesi üretilmiştir, bu uyumlu primerler, HPV genomunun L1 kısmının kısa bir kısmını (65bp) büyütür (Snijders *et al.* 2006).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Araç ve Gereçler

Bu çalışmada kullanılan araç ve gereçler Çizelge 3.1'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

No.	Araç ve gereçler	Şirket	Menşei
1	Dijital kamera	Samsung	Çin
2	Ependorf tüpleri	Bioneer	Kore
3	Exispin santrifüjü	Bioneer	Kore
4	Gradyan Termal Döngüleyici	BioRad	Singapur
5	Yatay elektroforez sistemi	Mupid	Japonya
6	Laminer akış kabini	Bio Hazard	Kore
7	Mikrosantrifüj	Hettich	Almanya
8	Farklı boyutlarda mikropipetler	Cyan	Belçika
9	Buzdolabı	Concord	Lübnan
10	Şok dondurucu	Revco	ABD
11	Vorteks	Daihan	Kore
12	Su banyosu	Daihan LabTech	Kore

3.2 Reaktifler ve Teşhis Kitleri

3.2.1 Kimyasallar ve çözücüler

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözücüler Çizelge 3.2'de listelenmiştir.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözücüler

No.	Reaktifler	Şirket	Menşei
1	Mutlak etanol	Scharlau	ABD
2	Mutlak İzopropil S	Charlau	ABD
3	Agaroz	BioBasic	Kanada
4	DNA ladder	Bioneer	Kore
5	Etidyum bromür	BioBasic	Kanada
6	Nükleazsız Su	Korea	Kore
7	TBE Tamponu 10X	BioBasic	Kanada
8	Ksilen	Labort	Hindistan

3.2.2 DNA ekstraksiyon kiti gSYNC™ bileşenleri

Mevcut çalışmada kullanılan DNA ekstraksiyonu bileşenleri Çizelge 3.3'te listelenmiştir.

Çizelge 3.3 DNA ekstraksiyon kitinin bileşenleri

No.	Bileşenler	Hacim
1	Toplama tüpü	2 mL (200)
2	Elüsyon tamponu	1 Flakon (30 mL)
3	Lizis (GSB Tamponu)	25 mL 1 Flakon (40 mL)
4	Proteinaz K	2 şişe (11 mg)
5	Döndürme sütunu	100
6	W1 arabelleği	1 şişe (45 mL)
7	Yıkama tamponu	1 şişe (25mL)

3.2.3 Master mix bileşenleri

Mevcut çalışmada kullanılan DNA amplifikasyonunun bileşenleri Çizelge 3.4'te listelenmiştir.

Çizelge 3.4 DNA amplifikasyon kitinin bileşenleri

No.	Bileşenler	25 µL reaksiyon
1	dNTP karışımı	Her biri 2,5 mM
2	Jel yükleme tamponu	1x
3	Reaksiyon tamponu	1x4
4	TaqTM DNA polimeraz	2,5U

3.2.4 Primerler

Bu çalışmada kullanılan ekstrakte edilmiş DNA'nın amplifikasyonu için primerler Çizelge 3.5'te listelenmiştir.

Çizelge 3.5 DNA'nın amplifikasyonu için kullanılan primerler

Primer	Diziler	TM	PCR Ürünü	Referans
HPV-16	F5'- CACAGTTATGCACAGAGCTGC-3' R5'CATATATTCATGCAAGTAGGTGTA-3'	59°C	467 bp	(Bandhary *et al.* 2018)
HPV-18	F5'- CACTTCACTGCAAGACATAGA-3' R5'- GTTGTGAAATCGTCGTTTTTCA-3'	57°C	322bp	(Bandhary *et al.* 2018)
HPV-33	F5'- AACGCCATGAGAGGACACAAG -3' R5'-ACACATAAACGAACTGTGGTG-3'	61°C	211bp	(Karlsen *et al.* 1996)
HPV-35	F5'-CCCGAGGCAACTGACCTATA-3' R5'- GGGGCACACTATTCCAAATG-3'	57°C	230bp	(Karlsen *et al.* 1996)

3.2.5 DNA ekstraksiyon kiti gSYNC™ protokolü

Genel Kullanım Kılavuzu

- Tamponu yıkamak için mutlak etanol eklendi ve birkaç saniye çalkalanarak karıştırıldı.
- pH 7,0-8,5 olan bir ddH20, çözünmenin tamamlanmasını sağlamak için proteinaz K'ya eklendi. Daha sonra karıştırma ve döndürme için birkaç saniye santrifüjlendi.
- FFPE doku numuneleri için pH 7,2 olan Fosfat Tamponlu Salin hazırlandı.
- Doku örneklerinin ksilenleri FFPE olarak hazırlandı.
- Taze örnekler veya -20°C veya -70°C'de dondurulmuş ve saklanmış örnekler kullanıldığında DNA üretimi ve kalitesi daha yüksek olacaktır. DNA, FFPE'de veya tekrar tekrar donmuş ve erimiş dokuda bozulabilir.
- 50 mL RNaz kullanıldı ve DNA içermeyen RNA elde edildi.

3.3 Doku Ayrışması

25 mg taze insan dokusu, 1,5 mL hacimli mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Dalak veya karaciğer dokularından elde edilen numune yüksek sayıda hücre içerdiğinden, başlangıç materyali 10 mg'a düşürüldü ve 20 µL Proteinaz K ile 200 µL GST tamponu ilave edildi ve vortekslendi. Bundan sonra numune, numune lizatı berraklaşana kadar gece boyunca 60°C'de inkübe edildi.

3.3.1 Doku homojenizasyonu

- Önce proteinaz K tarafından hücre parçalanması sağlanır böylece DNA verimi artar. Numunenin inkübasyon boyunca nadiren döndürülmesi de protein K alımını ve hücreleri etkinleştirir. Örnek inkübe edilirken otomatik çalkalamanın kullanılması daha da uygundur. İnkübasyon süresi boyunca, her numune için uygun hacimde elüsyon tamponu 200 µL'yi 1,5 mL'lik bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılır ve ardından DNA elüsyon adımı 5 için 60°C'de ısıtılır.
- Hücre Lizisi: inkübasyondan sonra çözünmeyen materyal kalırsa 2 dakika 14-16,000 xg santrifüjleme yapılır ve ardından süpernatantı yeni bir 1,5 mL santrifüj tüpüne dikkatlice aktarılır. 200 µL GSB tamponu ilave edilerek 10 sn kuvvetlice çalkalanır.

3.3.2 RNA'nın çıkarılması için opsiyonel adım

- RNA içermeyen DNA elde etmek için, GSB Tamponu eklendikten sonra 5 µL RNaz A 50 mg/mL eklenir ve kuvvetlice çalkalanır, ardından yeterli RNA bozunmasını doğrulamak için oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilir.
- Bağlayıcı DNA: Lizat numunesi, 200 mL etanol verildikten sonra çalkalayıcı ile 10 saniye kuvvetlice karıştırılır. Çöküyor gibi göründüğünde, bir pipet kullanarak mümkün olduğu kadar tekra karıştırılır. GS Kolonunu tutmak için 2 mL'lik bir Eppendorf tüpü kullanılır. Tüm karışım GS Kolonuna aktarılır ve burada 1 dakika 14–16,000 x g'de santrifüjlenir.
- Yıkama: GS Kolonlarına 400 mL yıkama tamponu eklenir, 14,000–16,000 xg'de 30 saniye santrifüjlenir. Akış atılır ve kolon, 2 mL'lik eppendorf tüpüne yeniden yerleştirilir. GS Kolonlarına 600 mL yıkama tamponu eklenir ve 14,000–16,000 xg'de 30 saniye santrifüjlenir. Akış atılır GS Kolonu daha sonra 2 mL'lik Eppendorf tüpüne geri yerleştirilir.
- DNA konsantrasyonunu artırmak için 30-50 mL elüsyon sıvısı eklenir. Kurutulmuş GS kolonu, daha büyük bir DNA verimi istendiğinde temiz bir 1,5 mL mikrosantrifüj tüpüne aktarılır. Elüsyon aşamasının tekrarlanması, DNA geri kazanımını ve DNA verimini arttırır. Sütun matrisi A'nın merkezine 100 mL elüsyon tamponu 1, TE Tamponu 2 veya su 3 ilave edilir.

- Tüm su veya TE tamponu emildiğinde, saf DNA'yı ayrıştırmak için 30 saniye boyunca 14,000-16,000 xg'de santrifüjlenir. GS Sütunu matrisinin ortasına, tamamen emilen elüsyon tris-tamponu eklenir.
- EDTA uzun süreli depolama için DNA'yı korur fakat PCR ve diğer hassas aşağı yönlü yöntemler EDTA'dan etkilenir.

3.3.3 Tamponların ve çözeltilerin hazırlanması

- **TBE tamponu:** TBE ve TAE, moleküler biyolojide, özellikle nükleik asitlerin elektroforezi için tampon olarak kullanılır. Tris-çözeltileri, DNA elektroforezinde olduğu gibi, bazik pH koşullarında kullanılır, çünkü bu, DNA çözeltisini çözelti içinde tutar ve jel boyunca yer değiştirecek şekilde taşınmasını sağlar. EDTA, solüsyondaki sabitlemelerden biridir nükleik asitleri enzimlerin bozulmasından korur. EDTA, numuneyi kontamine edebilecek nükleaz için katalizör olan iki değerlikli katyonları şelatlar.
- **Tris-borat EDTA tamponu (TBE-10X):** Bu tamponu yapmak için 50 mL damıtılmış su, 3,8 g Tris-HCl, 2,7 g borik asit ve 2 mL EDTA (0,5 M) ile karıştırılır. Daha sonra pH, 8'e olacak şekilde ayarlanır ve tampon, elektroforezde kullanılana kadar 4 °C'de saklanır.
- **TBE (1X):** 10 mL stok TBE-10x 90 mL distile su ile karıştırılarak TBE tampon solüsyonu oluşturulur ve daha sonra 4°C'de elektroforez sırasında kullanılmak üzere bekletilir.
- **DNA Yükleme Tamponu:** 40 gram sukroz ve 0,25 gram bromofenol mavisinin 100 mL distile suda eritilmesi ve birleştirilmesiyle DNA yükleme tamponu oluşturulur. Daha sonra elektroforez için gerekli olana kadar oda sıcaklığında bırakılır.
- **Etidyum bromür (%0,5):** 0,05 g etidyum bromür tozu steril bir dekantörde 10 mL distile su içinde çözülerek stok solüsyon hazırlanır ve solüsyon tamamen eriyene kadar vortekste karıştırılır.

3.3.4 %1 agaroz jel hazırlanması

Bir beher içindeki 100 mL 1X TBE tamponuna 1 g agaroz substrat ilave edilir ve kaynama başlayana kadar mikrodalga fırında eritilir. Şişeyi çıkarılır ve agaroz karışımı döndürülür, SAW kaynayana kadar şişe tekrar mikrodalga fırına konulur. Agaroz, 50-65°C'ye soğuyana kadar bekletilir, ardından jele etidyum bromür eklenir (100 mL agaroz jeli başına 2 µL 10 mg/mL stok solüsyonu).

3.3.5 Primerlerin hazırlanması

HPV primerleri üreticinin talimatlarına bağlı olarak (dondurularak kurutulmuş primerler) TE (Tris-EDTA) stok solüsyonu ile 100 µmol/mL konsantrasyonda eritilerek, primer solüsyonu çalıştırılmaya başlandığında gece boyunca 4°C'de tutularak hazırlanır. Nihai çalışma solüsyonunu (20 pmol/mL) elde etmek için C1V1=C2V2 denklemi (konsantrasyona karşı hacim) kullanılarak stok solüsyonun TE tamponu ile karıştırılmasıyla hazırlanır.

3.3.6 DNA kalite değerlendirmesi

Jel elektroforezi

Multigenin PCR ürünleri, agaroz jel elektroforez yöntemi ile aşağıdaki adımlar izlenerek tespit edilmiştir:

- TBE1x kullanılarak %1 Agaroz jeli oluşturulur ve 100°C'de bir su banyosunda 15 dk süreyle eritilir, ardından 50 ile 60°C'ye soğumaya bırakılır.
- 2 L bir hacimde etidyum bromür tentürü, agaroz jel çözeltisine ilave edilir.
- Tarak tepsiden yavaşça çıkarılır ve agaroz jel solüsyonu tanka döküldükten sonra her bir peteğe 10 mikrolitre PCR ürünü (bir kuyuda 5UL 1500B BD) ilave edilir ve ardından 15 dk oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılır.

- Jel kutusuna 1x TBE solüsyonu yerleştirilir. 30 dk boyunca elektrik akımı 110 voltta ve ardından 60 dakika boyunca 75 voltta tutulur.
- PCR ürünlerini görüntülemek için UV ışığı kullanılır.

3.3.7 PCR programı için gen tespit etme

Gen tespiti için PCR yöntemi kullanılır ve 25 mL'lik PCR karışımı kullanılır. 12,5 mL, l. ana karışımdır. Amplifikasyon karışımını tamamlamak için 8,5 mL nükleaz içermeyen su, 3 mL DNA şablonu (12 ng), her bir ileri ve geri primerden (10 pmol) 0,5 mL ve uygun konsantrasyonda dNTP'ler, $MgCl_2$ ve reaksiyon tamponu PCR ile etkili DNA şablonları amplifikasyonu için eklenir.

PCR karışımını içeren tüpler önceden ısıtılmış ısıl döngüleyiciye yerleştirildi ve Çizelge 3.6'daki talimatlara göre prosedür başlatıldı.

Çizelge 3.6 Gen tespiti için PCR amplifikasyonu programı

Adım	**Sıcaklık (˚C)**	**Zaman (saniye)**	**Döngü sayısı**
İlk denatürasyon	94	2 dakika	1
Denatürasyon	94	40 saniye	40
Tavlama	Değişkenler	30 saniye	
Eklenti	68	90 saniye	
Son uzatma	68	7 dakika	1
Tutma sıcaklığı	4	∞	-

Program bittikten sonra PCR ürünleri içeren PCR tüpleri 4°C'de saklanır.

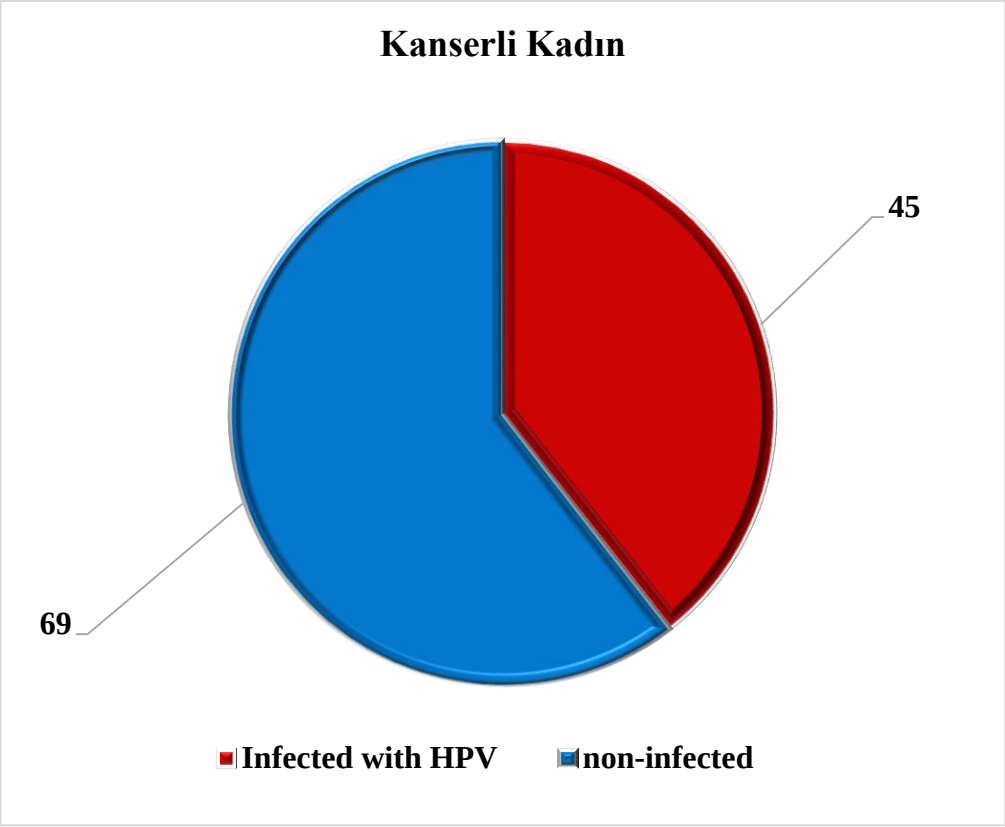
3.4 İstatistiksel Değerlendirme

SPSS (Statistical Package of Society Science, version 26) yardımıyla mevcut veriler, p 0,05 anlamlılık düzeyinde gözlemsel, parametrik olmayan Ki-kare testi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Kanserli Kadınlarda İnsan Papilloma Virüsü Prevalansı

Çalışmamıza katılan kanserli 112 kadın arasında 45 (%40,18) hasta insan papilloma virüsü ile enfekte iken, virus ile enfekte olmayan 67 (%59,82) kanser hastası tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Kanserli kadınlarda HPV prevalansı

4.2 Kanser Tipine göre İnsan Papilloma Virüs Prevalansı

Meme kanserli 45 kadın hastadan izole edilen insan papilloma virüsünü %40,18 olarak tespit edilmiştir. Buna karşın rahim ağzı kanseri olan kadınlardan insan papilloma virüsü tespit edilmemiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Kanser türüne göre insan papilloma virüsü

Kanser türü	Pozitif		Negatif		Toplam	
	No	%	No	%	No	%
Meme kanseri	45	40,18	65	58,04	110	98,21
Rahim ağzı kanseri	0	0,00	2	1,79	2	1,79
Toplam	45	40,18	67	59,82	112	100
CalX^2=1,368			**P. değer 0,242**			

Menstrüasyonun başlaması, geç menopoz ve erken gebeliğin önleyici etkileri, kadınlarda meme kanseri için bilinen risk faktörlerinden sadece birkaçıdır. Bununla birlikte, meme kanserinin gerçek nedenleri hala bilinmemektedir.

Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, az sayıda virüsün kadın meme kanseri gelişiminde oldukça önemli olabileceğini göstermiştir. Epstein-Barr virüsü, fare meme tümörü virüsü, sığır lösemi virüsü ve insan papilloma virüsleri (HPV'ler) bu virüslerden bazılarıdır. Bu virüslerin her birinin bilinen bir kansere neden olma eğilimi vardır.

Bu çalışmanın amacı, endometriozis ve rahim kanseri olan Thi-Qar Valiliği kadınlarında papillomavirüs prevalansını belirlemektir. Çalışmaya 112 kanser hastası kadın katılmıştır. Bunlardan 110'u meme kanseri, 2'si rahim ağzı kanseridir. Çalışmamızda, kadınların %40,18'inde insan papilloma virüsü enfeksiyonu olduğu ve %59,82'sinde olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca rahim ağzı kanseri olmayan bir kadının insan papilloma virüsü enfeksiyonuna sahip olmadığı tespit edilmiştir.

4.3 Yaş Gruplarına göre İnsan Papilloma Virüs Prevalansı

Çalışmamızda, HPV ile enfekte olan kanserli kadınların en çok üçüncü yaş grubunda (41-50 yaş grubunda %20,54), bunu ikinci yaş grubu (31-40 yaş grubunda %8,93) ve en son seviyede birinci yaş grubunda (20-30 grubunda %3,57) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Yaş gruplarına göre HPV prevalansı

Kanser türü	Pozitif		Negatif		Toplam	
	No	%	No	%	No	%
20–30 yıl	4	3,57	7	6,25	11	9,82
31–40 yıl	10	8,93	20	17,86	30	26,79
41-50 yıl	23	20,54	31	27,68	54	48,21
50 yaş üstü	8	7,14	9	8,04	17	15,18
Toplam	45	40,18	67	59,82	112	100
CalX^2=1,117			**P. değer 0,773**			

4.4 Aile Öyküsüne göre İnsan Papilloma Virüsü Prevalansı

Bu çalışmada, aile öyküsü olan grupta insan papilloma virüsü ile enfekte olan kanserli kadınları % 28,57, aile öyküsü olmayanları ise % 11,61 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Aile öyküsüne göre insan papilloma virüsü

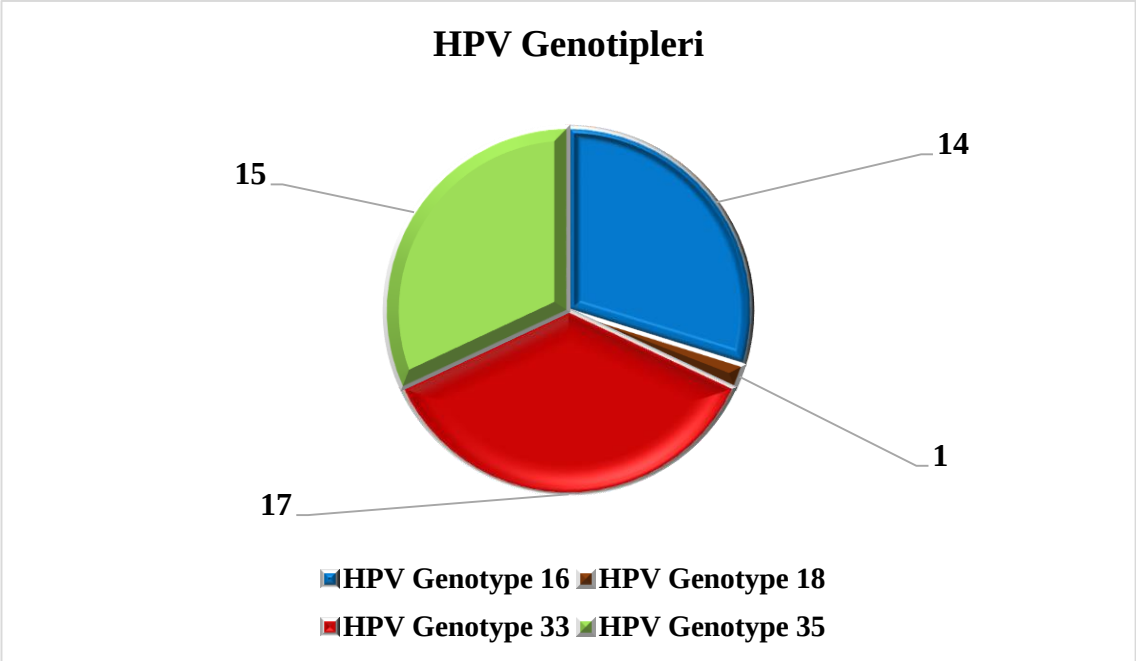
Kanser türü	Pozitif		Negatif		Toplam	
	No	%	No	%	No	%
Aile Geçmişi Olan	32	28,57	23	20,54	55	49,11
Aile Geçmişi Olmadan	13	11,61	44	39,29	57	50,89
Toplam	45	40,18	67	59,82	112	100
CalX^2=14,573			**P. değer<0,001**			

Khodabandehlou *et al.* (2019) tarafından meme kanseri olan 72 kadın üzerinde yaptıkları çalışmada, 35 kadında %48,61, kontrol grubunda %16,1 olarak tespit edilmiştir. Islam *et al.* (2017) Hindistan'daki çalışmasında, tedavi olmayan meme kanserli kadınların %64'ünün, neoadjuvan kemoterapi alan kadınların ise %71'inin HPV-16 ile enfekte olduğunu tespit etmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda elde edilen yüzdeden daha yüksektir, ancak çalışma, yaş grupları açısından mevcut çalışma ile uyumludur. Meme kanseri olan

ve HPV pozitif olan kadınların çoğunluğu 20 ile 45 yaşları arasındadır. Ek olarak, meme kanserinde insan papilloma virüsünün prevalansı, Ngan *et al.* (2015) çalışmasında kadınların %62,4'ünde bulunmuştur. Pereira Suarez *et al.* (2013) ise bu enfeksiyon oranını mevcut çalışmada bulunan yüzdeden daha fazla olarak tepit etmiştir. Lawson *et al.* (2015), TCGA veri tabanından 855 meme kanseri hastasını dahil ettiği çalışmada,40 meme kanseri hastasının %55'inde en yaygın virüs genotipinin HPV-18 olduğunu bulmuştur. Bu sonuç, yalnızca bir HPV-18 enfeksiyonu vakası ve %13 ile HPV-16'nın geldiği mevcut çalışma ile çelişmektedir. Ancak bu sonuç, ile 112 enfekte meme kanserli kadından 14'ünün HPV-16'ya sahip olduğunu tespit eden çalışmamız ile uyumludur. Ek olarak, bu çalışma, HPV-E7 proteininin invaziv meme kanseri olan kadınların %59'unda ve iyi huylu meme tümörleri olan kadınların %72'sinde olduğunu bulmuştur. HPV genotipi ayrıca iyi huylu tümörde ve ardından 15 meme kanseri vakasında belirlenmiştir. Sher *et al.* (2020) çalışmasında, 150 meme dokusu örneğinden yalnızca 13'ünün veya %8,7'sinin HPV için pozitif çıktığını ortaya koyarken, bu sonuç mevcut araştırmada elde edilen yüzdeden daha düşüktür. Bu bağlamda, yetersiz beslenme, sağlıksız yaşam koşulları ve etnik köken, meme kanseri hastalarında yüksek HPV enfeksiyonu insidansına katkıda bulunabilir (Devi 2022). HBV-16 ve HPV-35, hücre döngüsünü bozabilir, yeni habis transformasyonu başlatabilir ve son olarak, E6 ve E7 gibi HPV onkoproteinlerinin p53 ve RB'sini hedefleyerek tümör büyümesini teşvik edebilir (Doorbar 2006). Bu gereklidir çünkü p53 ve RB, genom onarımında ve hücre döngüsü kontrolünde aktif roller oynar ve bu proteinlere müdahale etmek veya bunları bozmak, kontrolsüz hücresel proliferasyona ve nihayetinde kansere neden olabilir. BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları, meme ve diğer dokulardaki DNA hasarının onarımında yer alır; bu iki proteinin herhangi bir şekilde azalması veya inaktivasyonu kanserle sonuçlanabilir (Friedenson 2007).

4.5 HPV Genotiplerinin Moleküler Tanımlanması

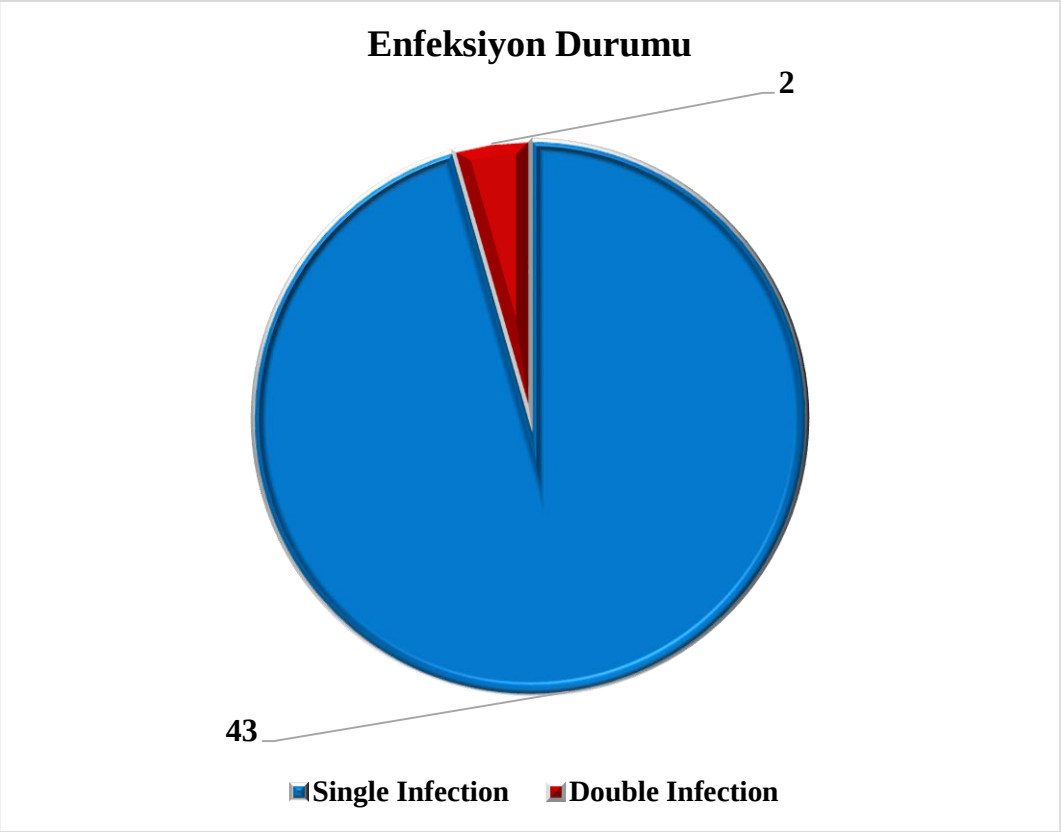
Bu çalışmada, meme kanserli kadınlarda yaygın olarak görülen; HPV-33 (%36,17), HPV-35 (%31,91), HPV-16 (%29,79) ve en düşük izole edilen HPV-18 (%2,13) tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 HPV genotiplerinin moleküler tanımlaması

4.6 Meme Kanserli Kadınlarda Enfeksiyon Durumunun Yaygınlığı

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, yalnızca bir HPV genotipi ile enfekte olan meme kanserli 43 (%95,56) kadın, iki HPV genotipi ile enfekte olan 2 (%4,44) kadın tespit edilmiştir. Çalışmamızda viral enfeksiyon durumunda meme kanserli kadınlar arasında $p < 0,05$ değerinde oldukça anlamlı bir fark belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Meme kanserli kadınlarda enfeksiyon durumu

4.7 Yaş Gruplarına göre İnsan Papilloma Virus Genotiplerinin Prevalansı

Yaş gruplarına göre HPV genotiplerinin prevalansı incelendiğinde 1. yaş grubunda (20-30 yıl), en yüksek enfekte oranı % 4,26 ile HPV-16'ya ait olup bunu %2,13 oranıyla HPV-33 ve HPV-35 genotipleri izlemiştir. Bunlara ek olarak HPV-18 ile enfekte olan meme kanserli kadın tespit edilememiştir. 2. yaş grubunda (31-40 yıl), en yüksek enfekte oranı %12,77 ile HPV-33'e ait olup bunu sırasıyla %6,38 ile HPV-16, %2,13 oranıyla HPV-33 ve HPV-35 genotipleri izlemiştir. 3. yaş grubuna (41-50 yıl) bakacak olursak, en yüksek enfekte oranı % 19,15 ile HPV-16'ya ait olup bunu %17,12 oranıyla HPV-33 ve % 14,89 oranıyla HPV-35 genotipleri izlemiştir. HPV-18 ile enfekte olan meme kanserli kadın tespit edilememiştir. En son yaş grubunda (50+) ise, en yüksek enfekte oranı %12,77 ile HPV-35'e ait olup bunu %4,26 oranıyla HPV-33 genotipi izlemiştir. HPV-16 ve HPV-18 genotipleri ile enfekte olan meme kanserli kadın tespit edilememiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Yaş gruplarına göre HPV genotiplerinin prevalansı

Kanser türü	HPV-16		HPV-18		HPV-33		HPV-35		Toplam	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
20–30 yıl	2	4,26	0	0,00	1	2,13	1	2,13	4	8,52
31–40 yıl	3	6,38	1	2,13	6	12,77	1	2,13	11	23,40
41-50 yıl	9	19,15	0	0,00	8	17,02	7	14,89	24	51,06
50 yaş üstü	0	0,00	0	0,00	2	4,26	6	12,77	8	17,02
Toplam	14	29,79	1	2,13	17	36,17	15	31,91	47	100
CalX^2=32,18					**P. değeri<0,001**					

4.8 Aile Öyküsüne göre İnsan Papilloma Virus Genotiplerinin Prevalansı

Bu çalışmada meme kanserli aile öyküsüne sahip olan kadınlarda HPV-33 (% 23,40) en yüksek oranda görülürken bunu sırasıyla HPV-35 (%23,40), HPV-16 (%21,28) ve son olarak HPV-18 (%2,13) izlemiştir. Aile öyküsüne sahip olmayan kadınlarda ise en yüksek oran HPV-33 (%10,64) ile ilk sırada yer almaktadır. HPV-35 ve HPV-16 (%8,51) aynı oranda enfekte etme oranına sahiptir ancak HPV-18 genotipi ile enfekte olan kadına rastlanmamıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Aile öyküsüne göre HPV genotiplerinin prevalansı

Kanser türü	Aile Öyküsü Olan		Aile Öyküsü Olmayan		Toplam	
	No.	%	No.	%	No.	%
HPV-16	10	21,28	4	8,51	14	29,79
HPV-18	1	2,13	0	0,00	1	2,13
HPV-33	12	25,53	5	10,64	17	36,17
HPV-35	11	23,40	4	8,51	15	31,91
Toplam	34	72,34	13	27,66	47	100
CalX^2=0,854			**P. değeri 0,837**			

HPV-58 genotipi, Çin'de meme kanserine neden olan yaygın virus olarak tespit edilirlen, Suriye'de HPV-33 ve HPV-35 en sık görülen genotiplerdir (Al Moustafa *et al.* 2014). Larsson Laboratuvarı, HPV-18 genotipinin, öncelikle ABD meme tümörlerini kapsayan TCGA meme kanseri veri bankasında en sık görülen genotip olduğunu tespit etmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise Mısır'da meme kanserli hastalarda bulunan en yaygın viral genotip HPV-16'dır (El-Shinawi *et al.* 2016).

Doosti *et al.* (2016) tarafından İran'da yapılan çalışmada elde edilen sonuçların bir kısmı bizim çalışmamızdaki sonuçlar ile uyumluluk göstermiştir. Buna göre bizimle benzer sonuca sahip olan HPV-16 genotipi ile enfekte olan meme kanserli kadınların oranı %35 olarak tespit edilmiştir. Ek olarak HPV-18 genotipi ile enfekte olan kadınların oranı ise %15 olarak belirlenmiştir. Ancak bu durum bizim çalışmamızda elde ettiğimiz %2,13 oranı ile uyuşmamaktadır. Al Moustafa *et al.* (2012) tarafından yapılan çalışmada, Suriye nüfusunda en yaygın görülen yüksek riskli HPV türlerinin 16, 18, 33, 35, 45, 51, 52, 58 olduğu sonucuna varmıştır. Sonuçlar, HPV'nin Irak'taki genetik dağılımı ve kısmen de Thi-Qar'daki dağılımı ile tamamen tutarlıdır (Ali *et al.* 2014, Mohamed *et al.* 2015). HPV, bu çalışmada 16 iyi huylu tümör tanımladı. Başlangıçta bir enfeksiyon olması ve virüsün daha sonraki aşamalarda kanserin ortaya çıkmasında rol oynaması veya virüsün bağışıklık sistemi tarafından kontrol edilerek kanserojen özelliklerini kaybetmesine neden olan mutasyona uğramış bir virüse yol açması mümkündür. İyi huylu meme tümörlerinde HPV'nin varlığını ve rolünü anlamak için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

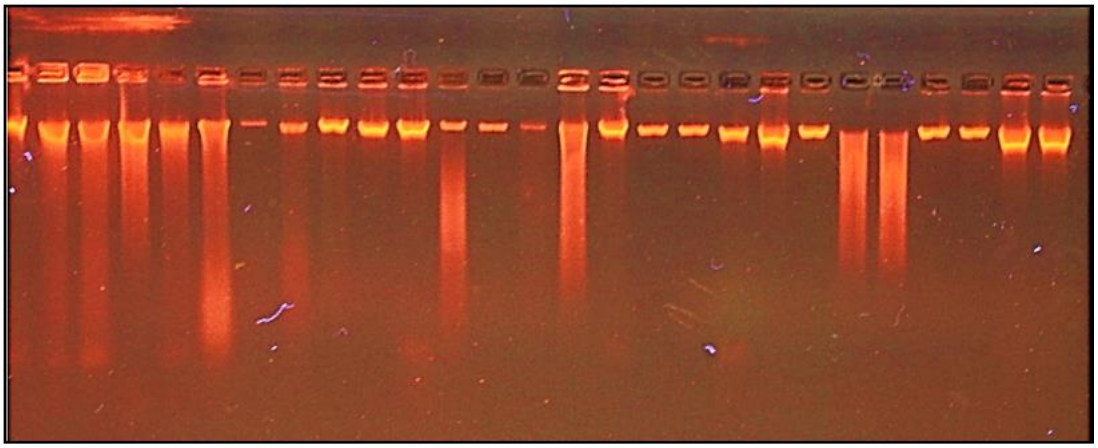
Özellikle, HPV için pozitif olarak test edilen malign dokuların %80'inde (4/5) önemli duktal karsinom mevcuttur. Bu bilgi, duktal meme kanseri hastalarının diğer histolojik alt tipleri olan hastalardan daha yüksek oranda insan papilloma virüs pozitifliği olduğunu gösteren geçmiş çalışmalarla tutarlılık göstermektedir. Bu durumda HPV hastalığının iki belirtisi söz konusu olabilir. Birincisi, kadınlar başlangıçta meme kanallarında HPV enfeksiyonu taşıyabilir. İkincisi, başka faktörler mevcut olduğunda, HR-HPV hastalığı, kanserin başlangıcını hızlandırmak, kanseri kötüleştirmek veya kanser riskini azaltmak için onlarla etkileşime girebilir veya onlarla işbirliği yapabilir (Maldonado-Rodríguez *et al.* 2022).

HPV enfeksiyonu tek başına kansere neden olmaz bunun için kanser riskini artırmak için kalıcı bir enfeksiyon ve diğer faktörlerle kombinasyon gerekir (Bhatla and Singhal 2020). Elde ettiğimiz bulgular normal meme örneklerinde HPV enfeksiyonunun tanımlanmasının, meme ve servikal kanserinin habercisi olabileceğine, zaman içinde yavaş ve kümülatif değişikliklerin beklenebileceğine işaret etmektedir (Simms *et al.* 2019).

Ülkeler, aynı eyaletin bölgeleri ve popülasyonlar arasında HPV hastalığının sıklığı ve genel popülasyonda bulunan kadınlar arasında dağılım gösteren HPV formları açısından önemli farklılıklar olduğunun bilinmesi çok önemlidir (Daneshvar *et al.* 2017). Ek risk değişkenleri arasında genetik varyasyon, cinsel davranış, popülasyon bağışıklığı, yaşam tarzı ve HPV yer alır (Crocetto *et al.* 2021). Bu nedenle, daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarında, farklı popülasyon gruplarındaki meme kanseri dokularında tespit edilen dört tip insan papilloma virüsü, farklı coğrafi bölgelerdeki toplumsal davranışlar ve yaşam tarzı yani popülasyonlar arasındaki sosyal zıtlık açısından bölgedeki bazı ülkelerle karşılaştırılmıştır. HPV enfeksiyonu ile ilgili olarak, sırasıyla %47 ve %10'luk HPV prevalansları ile Katar ve Arap Emirlikleri Eyaleti, Birleşik Krallık'taki iki farklı popülasyon grubu arasında önemli bir fark gözlemlenniştir. Ayrıca, İngiltere'den gelen insanlarda meme kanseri dokularında en sık bulunan HPV genotipleri HPV-16, HPV-18 ve HPV-33 iken, Katar'dan gelen insanlarda HPV-16 ve HPV-35 ve HPV-58 bulunmuştur (Salman *et al.* 2017, Sher *et al.* 2020).

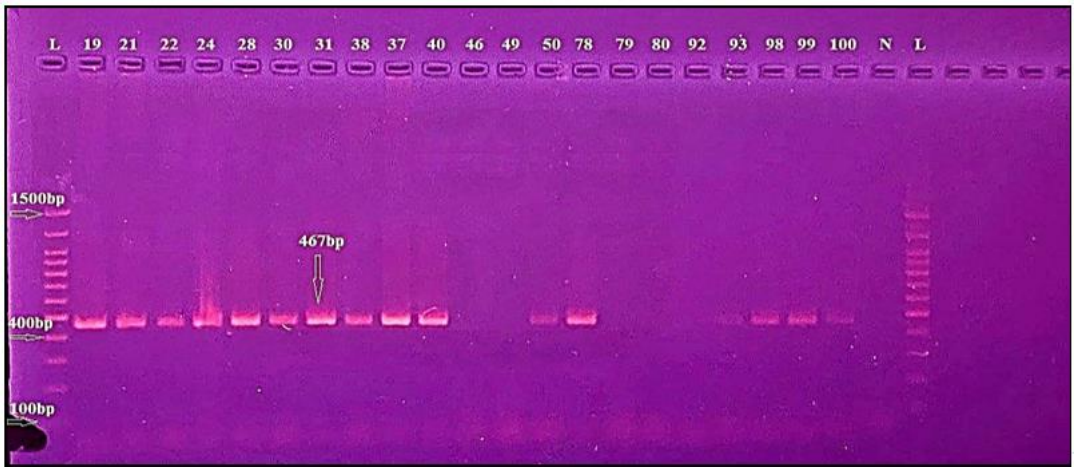
4.9 İzole Edilen HPV'nin Jel Elektroforezi

Etidyum Bromür agaroz jel elektroforezi ile boyanmış, enfekte doku dilimlerinden ekstrakte edilen DNA, Şekil 4.4’te gösterilmektedir.



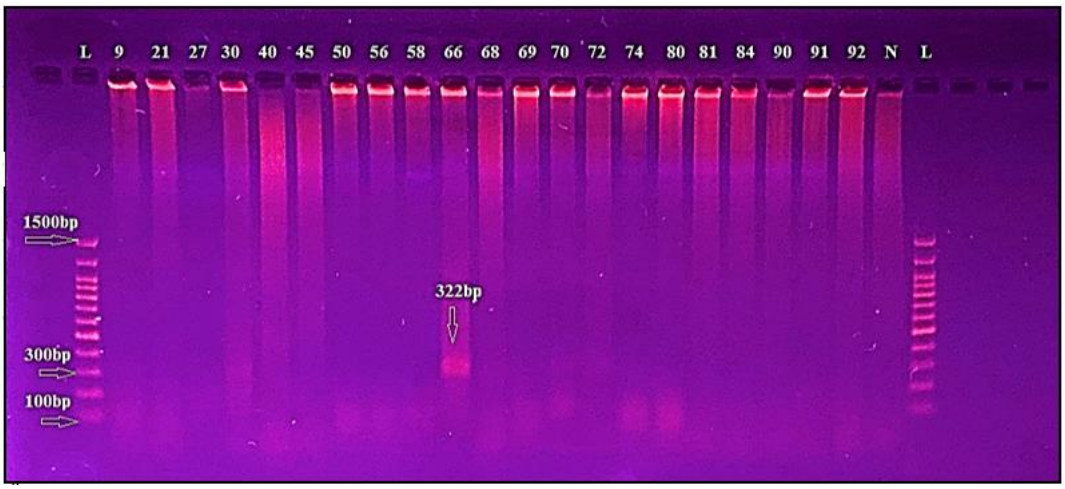
Şekil 4.4 Etidyum Bromür agaroz jel elektroforezinde DNA'nın görünümü

HPV-16 genotipi PCR ürünü %2'lik jel elektroforezinde Etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülenmiştir. Buna göre L bandında 19-40, 50-78 ve 93-100 şeritleri DNA için pozitif sonuçları temsil etmektedir. 46-49 ve 79-92 şeritlerinde ise DNA gözlemlenmediği için sonuçlar negative olarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda N bandı negatif kontrolü karakterize etmektedir (Şekil 4.5).



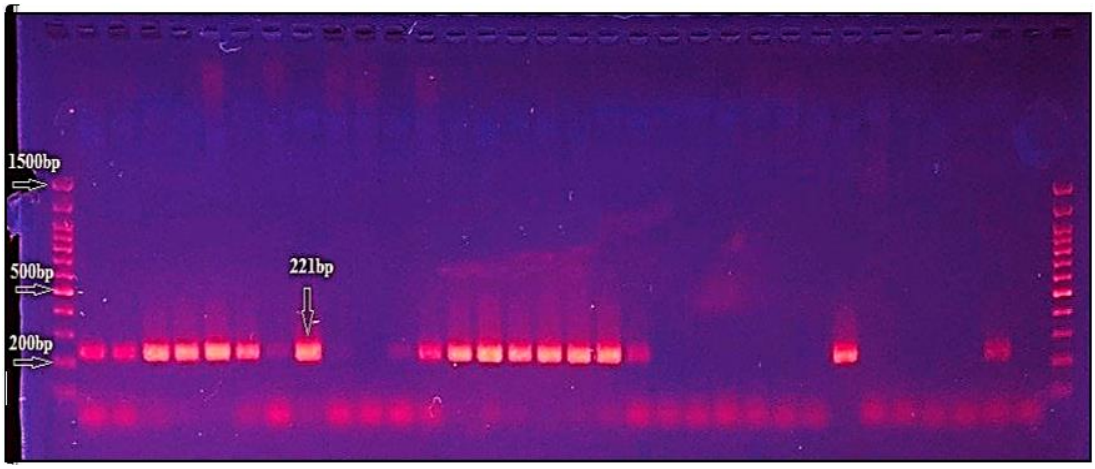
Şekil 4.5 HPV-16 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi

HPV-18 genotipi PCR ürünü %2'lik jel elektroforezinde Etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülenmiştir. Buna göre L bandında şerit 66 DNA için pozitif sonucu temsil etmektedir. 9-58 ve 68-92 şeritlerinde ise DNA gözlemlenmediği için sonuçlar negative olarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda N bandı negatif kontrolü karakterize etmektedir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 HPV-18 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi

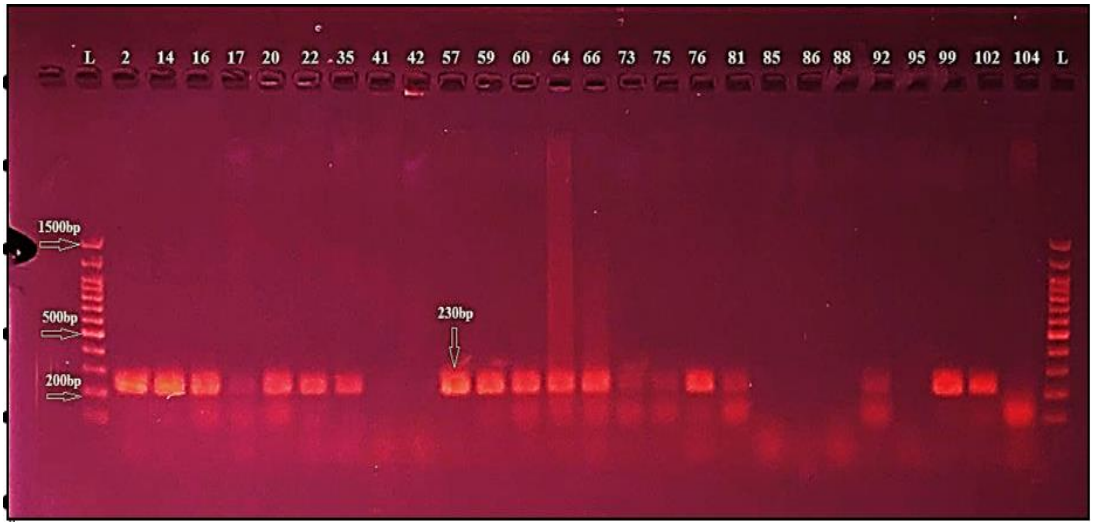
HPV-33 genotipi PCR ürünü %2'lik jel elektroforezinde Etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülenmiştir. Buna göre L bandında 4-27, 56-62, 83 ve103 şeritleri DNA için pozitif sonuçları temsil etmektedir. 29, 39, 66-30 ve 84-101 şeritlerinde ise DNA gözlemlenmediği için sonuçlar negative olarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda N bandı negatif kontrolü karakterize etmektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 HPV-33 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi

HPV-35 genotipi PCR ürünü %2'lik jel elektroforezinde Etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülenmiştir. Buna göre L bandında 2-41, 57-81, 92, 99 ve 102 şeritleri DNA için pozitif sonuçları temsil etmektedir. 41-42, 85-88, 95 ve 104 şeritlerinde

ise DNA gözlemlenmediği için sonuçlar negative olarak değerlendirilmiştir. Aynı zamanda N bandı negatif kontrolü karakterize etmektedir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 HPV-35 genotipi PCR ürünü jel elektroforezi

HPV-16, HPV-18, HPV-33 ve HPV-35 genotiplerinin PCR ürünü %1,5'lik jel elektroforezinde Etidyum bromür ile boyandıktan sonra UV ışığı altında görüntülenmiştir. Buna göre farklı sıcaklıklarda (sırasıyla 57°C, 59°C, 61°C ve 57°C) gerçekleştirilen PCR sonucunda 221 bp, 467 bp, 230 bp ve 322 bp DNA için pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 HPV-16, HPV-18, HPV-33 ve HPV-35 genotiplerinin PCR ürünü

4.10 Sekans Analizi

İzole edilmiş 7 virüs, sekans analizi için gönderilmiştir ve elde edilen sonuçlar, Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Buna göre NCBI'de kaydedilen izolatlara kıyasla 2 numunede genetik mutasyonlar tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6 NCBI kayıtlı HPV ile karşılaştırıldığında izole edilmiş HPV'nin sıralama analizi

Organizma	Tip	Lokasyon	Nükleotid	NCBI katılım no	Kaynak	Tanımlama
HPV-16	-	-	-	**AY177679.1**	HPV-16	100
HPV-16	Dönüşüm	38	T/C	**AY953268.1**	HPV-16	99,52
	Geçiş	132	A/T			
HPV-18	Non	-	-	**MF288658.1**	HPV-18	100
HPV-33	Dönüşüm	755	A/C	**ON365501.1**		99,69
HPV-33	-	-	-	**HQ537702.1**	HPV-33	100
HPV-35	-	-	-	**MT218010.1**	HPV-35	100
HPV-35	-	-	-	**JX129486.1**	HPV-35	100

İnsan papilloma virüsü sekans dizilimleri Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir.

İnsan papilloma virüsü tip 16 L1 geni

Sekans Numarası: AY177679.1 uzunluk: 1518 Eşleşme Sayısı: 1

Aralık 1: 1 - 420 GenBank Grafikleri Sonraki Eşleşme Önceki Eşleşme

Skor	Bekleme	Tanımlanan	Boşluklar	Iplik
776 bits(420)	0.0	420/420(100%)	0/420(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    ATGTCTCTTTGGCTGCCTAGTGAGGCCACTGTCTACTTGCCTCCTGTCCCAGTATCTAAG  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1    ATGTCTCTTTGGCTGCCTAGTGAGGCCACTGTCTACTTGCCTCCTGTCCCAGTATCTAAG  60
Query  61   GTTGTAAGCACGGATGAATATGTTGCACGCACAAACATATATTATCATGCAGGGACATCC  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   GTTGTAAGCACGGATGAATATGTTGCACGCACAAACATATATTATCATGCAGGGACATCC  120
Query  121  AGACTACTTGCAGTTGGACATCCCTATTTTCCTATTAAAAAACCTAACAATAACAAAATA  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  121  AGACTACTTGCAGTTGGACATCCCTATTTTCCTATTAAAAAACCTAACAATAACAAAATA  180
Query  181  TTAGTTCCTAAAGTATCAGGATTACAATACAGGGTATTTAGAATACATTTACCTGACCCC  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  181  TTAGTTCCTAAAGTATCAGGATTACAATACAGGGTATTTAGAATACATTTACCTGACCCC  240
Query  241  AATAAGTTTGGTTTTCCTGACACCTCATTTTATAATCCAGATACACAGCGGCTGGTTTGG  300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241  AATAAGTTTGGTTTTCCTGACACCTCATTTTATAATCCAGATACACAGCGGCTGGTTTGG  300
Query  301  GCCTGTGTAGGTGTTGAGGTAGGCCGTGGTCAGCCATTAGGTGTGGGCATTAGTGGCCAT  360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  301  GCCTGTGTAGGTGTTGAGGTAGGCCGTGGTCAGCCATTAGGTGTGGGCATTAGTGGCCAT  360
Query  361  CCTTTATTAAATAAATTGGATGACACAGAAAATGCTAGTGCTTATGCAGCAAATGCAGGT  420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  361  CCTTTATTAAATAAATTGGATGACACAGAAAATGCTAGTGCTTATGCAGCAAATGCAGGT  420
```

Şekil 4.10 İnsan papilloma virüsü tip 16 L1 geni

Klonlama vektörü p119L1e, tamamlanan sekans 99.52

Sekans numarası: AY953268.1 Uzunluk: 8290 Eşleşme sayısı: 1

Aralık 1: 6571 to 6990 Gen Bank Grafikleri Sonraki Eşleşme Önceki Eşleşme

Skor	Bekleme	Tanımlanan	Boşluklar	Iplik
765 bits(414)	0.0	418/420(99%)	0/420(0%)	Plus/Plus

```
Query  1     ATGTCTCTTTGGCTGCCTAGTGAGGCCACTGTCTACTCGCCTCCTGTCCCAGTATCTAAG  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||
Sbjct  6571  ATGTCTCTTTGGCTGCCTAGTGAGGCCACTGTCTACTTGCCTCCTGTCCCAGTATCTAAG  6630
Query  61    GTTGTAAGCACGGATGAATATGTTGCACGCACAAACATATATTATCATGCAGGGACATCC  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  6631  GTTGTAAGCACGGATGAATATGTTGCACGCACAAACATATATTATCATGCAGGGACATCC  6690
Query  121   AGACTACTTGCTGTTGGACATCCCTATTTTCCTATTAAAAAACCTAACAATAACAAAATA  180
             |||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  6691  AGACTACTTGCAGTTGGACATCCCTATTTTCCTATTAAAAAACCTAACAATAACAAAATA  6750
Query  181   TTAGTTCCTAAAGTATCAGGATTACAATACAGGGTATTTAGAATACATTTACCTGACCCC  240
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  6751  TTAGTTCCTAAAGTATCAGGATTACAATACAGGGTATTTAGAATACATTTACCTGACCCC  6810
Query  241   AATAAGTTTGGTTTTCCTGACACCTCATTTTATAATCCAGATACACAGCGGCTGGTTTGG  300
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  6811  AATAAGTTTGGTTTTCCTGACACCTCATTTTATAATCCAGATACACAGCGGCTGGTTTGG  6870
Query  301   GCCTGTGTAGGTGTTGAGGTAGGCCGTGGTCAGCCATTAGGTGTGGGCATTAGTGGCCAT  360
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  6871  GCCTGTGTAGGTGTTGAGGTAGGCCGTGGTCAGCCATTAGGTGTGGGCATTAGTGGCCAT  6930
Query  361   CCTTTATTAAATAAATTGGATGACACAGAAAATGCTAGTGCTTATGCAGCAAATGCAGGT  420
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  6931  CCTTTATTAAATAAATTGGATGACACAGAAAATGCTAGTGCTTATGCAGCAAATGCAGGT  6990
```

Şekil 4.11 Klonlama vektörü p119L1e

İnsan papilloma virüsü 18 izolatı C573061_R1_1115315_ (0w), tam genom

Sekans numarası: MF288658.1 Uzunluk: 7824 Eşleşme sayısı: 1

Aralık 1: 1 to 317 Gen Bank Grafikleri Sonraki Eşleşme Önceki Eşleşme

Skor	Bekleme	Tanımlanan	Boşluklar	Iplik
586 bits(317)	8e-163	317/317(100%)	0/317(0%)	Plus/Plus

```
Query  1    ATTAATACTTTTAACAATTGTAGTATATAAAAAAGGGAGTAACCGAAAACGGTCGGGACC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  1    ATTAATACTTTTAACAATTGTAGTATATAAAAAAGGGAGTAACCGAAAACGGTCGGGACC  60
Query  61   GAAAACGGTGTATATAAAAGATGTGAGAAACGCACCACAATACTATGGCGCGCTTTGAGG  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  61   GAAAACGGTGTATATAAAAGATGTGAGAAACGCACCACAATACTATGGCGCGCTTTGAGG  120
Query  121  ATCCAACACGGCGACCCTACAAGCTACCTGATCTGTGCACGGAACTGAACACTTCACTGC  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  121  ATCCAACACGGCGACCCTACAAGCTACCTGATCTGTGCACGGAACTGAACACTTCACTGC  180
Query  181  AAGACATAGAAATAACCTGTGTATATTGCAAGACAGTATTGGAACTTACAGAGGTATTTG  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  181  AAGACATAGAAATAACCTGTGTATATTGCAAGACAGTATTGGAACTTACAGAGGTATTTG  240

Query  241  AATTTGCATTCAAAGATTTATTTGTAGTGTATAGAGACAGTATACCGCATGCTGCATGCC  300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241  AATTTGCATTCAAAGATTTATTTGTAGTGTATAGAGACAGTATACCGCATGCTGCATGCC  300
Query  301  ATAAATGTATAGATTTC  317
            |||||||||||||||||
Sbjct  301  ATAAATGTATAGATTTC  317
```

Şekil 4.12 İnsan papilloma virüsü 18 izolatı C573061

İnsan papilloma virüsü 33 izolatı InDRE 124, tamamlanan genom 99.69

Sekans numarası: ON365501.1 Uzunluk: 7911 Eşleşme sayısı: 1

Aralık 1: 5596 to 5914 Gen Bank Grafikleri Sonraki Eşleşme Önceki Eşleşme

Skor	Bekleme	Tanımlanan	Boşluklar	Iplik
584 bits(316)	3e-162	318/319(99%)	0/319(0%)	Plus/Plus

```
Query  1     ATGTCCGTGTGGCGGCCTAGTGAGGCCACAGTGTACCTGCCTCCTGTACCTGTATCTAAA  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5596  ATGTCCGTGTGGCGGCCTAGTGAGGCCACAGTGTACCTGCCTCCTGTACCTGTATCTAAA  5655
Query  61    GTTGTCAGCACTGATGAATATGTGTCTCGCACAAGCATTTATTATTATGCTGGTAGTTCC  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5656  GTTGTCAGCACTGATGAATATGTGTCTCGCACAAGCATTTATTATTATGCTGGTAGTTCC  5715
Query  121   AGACTTCTTGCTGTTGGCCATCCATATTTTTCTATTAAAAATCCTAATAACGCTAAAAAG  180
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5716  AGACTTCTTGCTGTTGGCCATCCATATTTTTCTATTAAAAATCCTAATAACGCTAAAAAG  5775
Query  181   TTATTGGTACCCAAAGTATCAGGCTTGCAATATAGGGTTTTTAGCGTCCGTTTACCAGAT  240
             |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||
Sbjct  5776  TTATTGGTACCCAAAGTATCAGGCTTGCAATATAGGGTTTTTAGAGTCCGTTTACCAGAT  5835
Query  241   CCTAATAAATTTGGATTTCCTGACACCTCCTTTTATAACCCTGATACACAACGATTGGTA  300
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5836  CCTAATAAATTTGGATTTCCTGACACCTCCTTTTATAACCCTGATACACAACGATTGGTA  5895
Query  301   TGGGCATGTGTAGGCCTTG  319
             ||||||||||||||||||
Sbjct  5896  TGGGCATGTGTAGGCCTTG  5914
```

Şekil 4.13 İnsan papilloma virüsü 33 izolatı InDRE 124

İnsan papilloma virüsü tip 33 izolatı RW 136, tam genom

Sekans numarası: HQ537702.1 Uzunluk: 7838 Eşleşme sayısı: 3

Aralık 1: 5594 to 5833 Gen Bank Grafikleri Sonraki Eşleşme Önceki Eşleşme

Skor	Bekleme	Tanımlanan	Boşluklar	Iplik
438 bits(237)	3e-118	240/240(99%)	0/240(0%)	Plus/Plus

```
Query  61    ATGTCCGTGTGGCGGCCTAGTGAGGCCACAGTGTACCTGCCTCCTGTACCTGTATCTAAA  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5594  ATGTCCGTGTGGCGGCCTAGTGAGGCCACAGTGTACCTGCCTCCTGTACCTGTATCTAAA  5653
Query  121   GTTGTCAGCACTGATGAATATGTGTCTCGCACAAGCATTTATTATTATGCTGGTAGTTCC  180
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5654  GTTGTCAGCACTGATGAATATGTGTCTCGCACAAGCATTTATTATTATGCTGGTAGTTCC  5713
Query  181   AGACTTCTTGCTGTTGGCCATCCATATTTTTCTATTAAAAATCCTAATAACGCTAAAAAG  240
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5714  AGACTTCTTGCTGTTGGCCATCCATATTTTTCTATTAAAAATCCTAATAACGCTAAAAAG  5773
Query  241   TTATTGGTACCCAAAGTATCAGGCTTGCAATATAGGGTTTTTAGGGTCCGTTTACCAGAT  300
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  5774  TTATTGGTACCCAAAGTATCAGGCTTGCAATATAGGGTTTTTAGGGTCCGTTTACCAGAT  5833
```

Şekil 4.14 İnsan papilloma virüsü tip 33 izolatı RW 136

İnsan papilloma virüsü 35 izole PAP605475, tam genom

Sekans numarası: MT218010.1 Uzunluk: 7879 Eşleşme sayısı: 1

Aralık 1: 7170 to 7393 Gen Bank Grafikleri Sonraki Eşleşme Önceki Eşleşme

Skor	Bekleme	Tanımlanan	Boşluklar	Iplik
407 bits(220)	5e-109	223/224(99%)	1/224(0%)	Plus/Plus

```
Query  1     ATGTGTTGTGGTGCCTGTTTGTGTTGTACATGGCGTGTAAATGTGTGTATAATATTGTGC  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7170  ATGTGTTGTGGTGCCTGTTTGTGTTGTACATGGCGTGTAAATGTGTGTATAATATTGTGC  7229
Query  61    AATGTGTTGTACGTGGGTGTTTTTTGTATGTATGTTGTTGTATGTATGTCAGTACGCAAT  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7230  AATGTGTTGTACGTGGGTGTTTTTTGTATGTATGTTGTTGTATGTATGTCAGTACGCAAT  7289
Query  121   AAAAGTGATGTGTGTGTTTATAATTAACACTGTATTGTTGTATGACTATGGGTGCACCCA  180
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7290  AAAAGTGATGTGTGTGTTTATAATTAACACTGTATTGTTGTATGACTATGGGTGCACCCA  7349
Query  181   -ATGACTTACATAATTACAGTACACGCTATATGTTGTATATAAC  223
              |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7350  TATGACTTACATAATTACAGTACACGCTATATGTTGTATATAAC  7393
```

Şekil 4.15 İnsan papilloma virüsü 35 izole PAP605475

İnsan papilloma virüsü tip 35 izolatı UA3297, tam genom

Sekans numarası: JX129486.1 Uzunluk: 7894 Eşleşme sayısı: 1

Aralık 1: 7230 to 7468 Gen Bank Grafikleri Sonraki Eşleşme Önceki Eşleşme

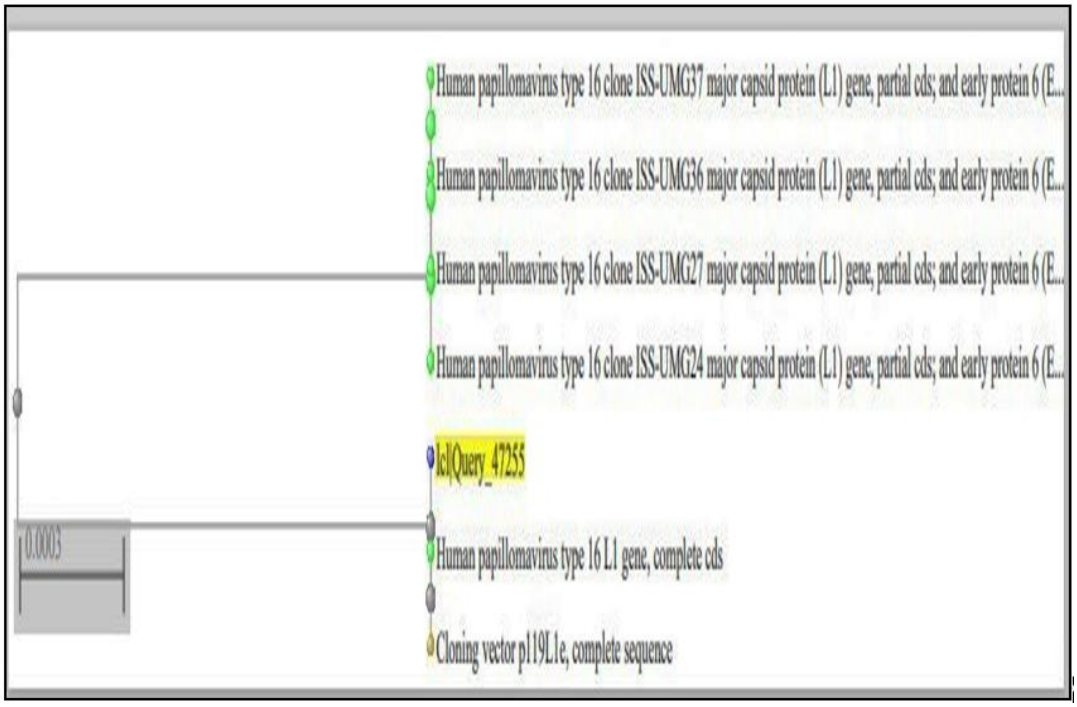
Skor	Bekleme	Tanımlanan	Boşluklar	Iplik
442 bits(239)	1e-119	239/239(100%)	0/239(0%)	Plus/Plus

```
Query  1     AATGTGTTGTACGTGGGTGTTTTTTGTATGTATGTTGTTGTATGTATGTCAGTACGCAAT  60
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7230  AATGTGTTGTACGTGGGTGTTTTTTGTATGTATGTTGTTGTATGTATGTCAGTACGCAAT  7289
Query  61    AAAAGTGATGTGTGTGTTTATAATTAACACTGTATTGTTGTATGACTATGGGTGCACCCA  120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7290  AAAAGTGATGTGTGTGTTTATAATTAACACTGTATTGTTGTATGACTATGGGTGCACCCA  7349
Query  121   TATGACTTACATAATTACAGTACACGCTATATGTTGTATATAACAATTCTACCTCCATTT  180
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7350  TATGACTTACATAATTACAGTACACGCTATATGTTGTATATAACAATTCTACCTCCATTT  7409
Query  181   TGTTCTACCTCCATTTTGTGTGTTAGTGTCCTTTACATTACCTTTCAACCGATTTCGGT  239
             |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  7410  TGTTCTACCTCCATTTTGTGTGTTAGTGTCCTTTACATTACCTTTCAACCGATTTCGGT  7468
```

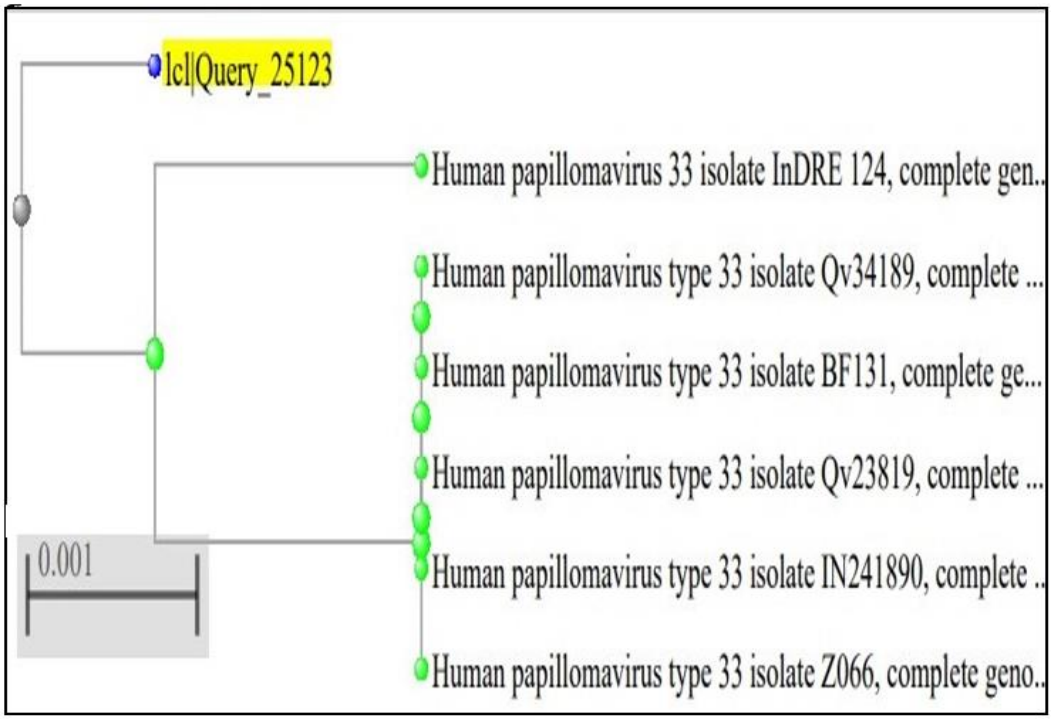
Şekil 4.16 İnsan papilloma virüsü tip 35 izolatı UA3297

4.11 Filogenetik Ağaç

Filogenetik ağaç, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de gösterildiği gibi genetik bir varyasyona sahip olan HPV- 16 ve HPV-33 için yapılmıştır.



Şekil 4.17 HPV-16 için filogenetik ağaç



Şekil 4.18 HPV-33 için filogenetik ağaç

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, meme kanserli kadınlarda Papilloma virüsünde en yüksek prevelans HPV-16 genetipinde tespit edilmiştir. Bunu daha sonra sırasıyla HPV-33, HPV-35 genotipleri izlemiştir. En düşük prevelans ise HPV-18 genotipinde belirlenmiştir. Rahim ağzı kanseri olan kadınlarda ise HPV saptanmamıştır. Yaş gruplarına göre yapılan incelemelerde 40 yaş üstü grupta bulunan kadınlarda yüksek enfeksiyon yüzdesi tespit edilirken, 20-40 yyıl arası yaş grubunda en düşük enfeksiyon yüzdesi belirlenmiştir. Bunlara ek olarak çalışmaya katılan meme kanserine sahip kadınlarda aile öyküsü olanlarda HPV prevalansı yüksektir.

Bu bilgiler doğrultusunda, kişisel hijyen HPV ve diğer virüslerin önlenmesinde ana faktör olarak ele alınabilir. Bu nedenle bireysel hatta toplumsal hijyenin mutlaka dikkate değer bir konu olarak ele alınması, meme ve rahim ağzı kanseri ameliyatı geçiren kadınlarda tespit edilen HPV genotipleri hatta tüm HPV genotiplerini üzerinde epidemiyolojik bir çalışmanın yürütülmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Ahmad, A. and Ansari, I. A. 2021. A comprehensive review on cross-talk of human papilloma virus oncoproteins and developmental/self-renewal pathways during the pathogenesis of uterine Cervical cancer. Current Molecular Medicine, 21(5): 402-416.

Akram, M., Iqbal, M., Daniyal, M. and Khan, A. U. 2017. Awareness and current knowledge of breast cancer. Biological Research, 50: 1-23.

Al Moustafa, A. E., Ghabreau, L., Akil, N., Rastam, S., Alachkar, A. and Yasmeen, A. 2014. High-risk HPVs and human carcinomas in the Syrian population. Frontiers in Oncology, 4: 68.

Al Moustafa, A. E., Yasmeen, A., Ghabreau, L. and Akil, N. 2012. Does the Syrian population have to wait for the new generation of human papillomaviruses vaccine?. Human Vaccines & Immunotherapeutics, 8(12): 1867-1868.

Albert, E. and Laimins, L. 2020. Regulation of the human papillomavirus life cycle by DNA damage repair pathways and epigenetic factors. Viruses, 12(7): 744.

Ali, S. H. M., Al Alwan, N. A. and Al Alwany, S. H. 2014. Detection and genotyping of human papillomavirus in breast cancer tissues from Iraqi patients. Eastern Mediterranean Health Journal, 20(6): 372-377.

Aljunid, S., Zafar, A., Saperi, S. and Amrizal, M. 2010. Burden of disease associated with cervical cancer in Malaysia and potential costs and consequences of HPV vaccination. The Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 11(6): 1551-9.

Al-Mozan, H., Mousa, H. M. and Al-Badry, B. J. 2019. Prevalence of cancer disease in Thi_Qar Provence. In Journal of Physics: Conference Series. IOP Publishing, 1294(6): 062039.

Alotaibi, H. J., Almajhdi, F. N., Alsaleh, A. N., Obeid, D. A., Khayat, H. H., Al-Muammer, T. A. and Alhamlan, F. S. 2020. Association of sexually transmitted infections and human papillomavirus co-infection with abnormal cervical cytology among women in Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences, 27(6): 1587-1595.

Bae, J. M. and Kim, E. H. 2016. Human papillomavirus infection and risk of breast cancer: a meta-analysis of case-control studies. Infectious Agents and Cancer, 11: 1-8.

Bandhary, S. K., Shetty, V., Saldanha, M., Gatti, P., Devegowda, D., Pushkal, S. R. and Shetty, A. K. 2018. Detection of human papilloma virus and risk factors among patients with head and neck squamous cell carcinoma attending a tertiary referral centre in South India. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 19(5): 1325.

Bansal, A., Singh, M. P. and Rai, B. 2016. Human papillomavirus-associated cancers: A growing global problem. International Journal of Applied and Basic Medical Research, 6(2): 84.

Bhatla, N. and Singhal, S. 2020. Primary HPV screening for cervical cancer. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 65: 98-108.

Boccardo, E. 2021. New approaches for infective HPV detection, quantification and inactivation: Preventing accidental virus transmission in medical settings. Ebiomedicine, 64.

Bonde, J. H., Sandri, M. T., Gary, D. S. and Andrews, J. C. 2020. Clinical utility of human papillomavirus genotyping in cervical cancer screening: a systematic review. Journal of Lower Genital Tract Disease, 24(1): 1.

Bønløkke, S., Blaakær, J., Steiniche, T., Høgdall, E., Jensen, S. G., Hammer, A. and Lenz, S. 2018. Evidence of no association between human papillomavirus and breast cancer. Frontiers in Oncology, 209.

Brusselaers, N., Shrestha, S., Van De Wijgert, J. and Verstraelen, H. 2019. Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 221(1): 9-18.

Builder, V. 2021. Reproductive pathologies, conditions, and disorders. Mosby's Pathology for Massage Professionals-E-Book, 356.

Bundy, D. A., de Silva, N., Horton, S., Patton, G. C., Schultz, L., Jamison, D. T. and Sawyer, S. M. 2018. Investment in child and adolescent health and development: key messages from Disease Control Priorities. The Lancet, 391(10121): 687-699.

Burley, M., Roberts, S. and Parish, J. L. 2020. Epigenetic regulation of human papillomavirus transcription in the productive virus life cycle. Springer Berlin Heidelberg, 42: 159-171.

Burrell, C. J., Howard, C. R. and Murphy, F. A. 2016. Fenner and White's medical virology. Academic Press, 604 page, Cambridge.

Bzhalava, D., Eklund, C. and Dillner, J. 2015. International standardization and classification of human papillomavirus types. Virology, 476: 341-344.

Choi, J., Kim, C., Lee, H. S., Choi, Y. J., Kim, H. Y., Lee, J. and Kim, A. 2016. Detection of human papillomavirus in Korean breast cancer patients by real-time polymerase chain reaction and meta-analysis of human papillomavirus and breast cancer. Journal of Pathology and Translational Medicine, 50(6): 442-450.

Clemente-Suárez, V. J., Hormeño-Holgado, A., Jiménez, M., Benitez-Agudelo, J. C., Navarro-Jiménez, E., Perez-Palencia, N. and Tornero-Aguilera, J. F. 2020. Dynamics of population immunity due to the herd effect in the COVID-19 pandemic. Vaccines, 8(2): 236.

Contopoulos-Ioannidis, D., Newman-Lindsay, S., Chow, C. and LaBeaud, A. D. 2018. Mother-to-child transmission of Chikungunya virus: A systematic review and meta-analysis. PLoS Neglected Tropical Diseases, 12(6): e0006510.

Crocetto, F., Arcaniolo, D., Napolitano, L., Barone, B., La Rocca, R., Capece, M. and Manfredi, C. 2021. Impact of sexual activity on the risk of male genital tumors: a systematic review of the literature. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(16): 8500.

Damerla, R. R., Lee, N. Y., You, D., Soni, R., Shah, R., Reyngold, M. and Higginson, D. S. 2019. Detection of early human papillomavirus–associated cancers by liquid biopsy. JCO Precision Oncology, 3: 1-17.

Daneshvar, F., Haghshenas, M., Majleci, F. and Rahimi, A. 2017. The prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology in north of Iran. Jundishapur Journal of Microbiology, 10(1).

Dareng, E. O., Adebamowo, S. N., Famooto, A., Olawande, O., Odutola, M. K., Olaniyan, Y. and Adebamowo, C. A. 2019. Prevalence and incidence of genital warts and cervical Human Papillomavirus infections in Nigerian women. BMC Infectious Diseases, 19(1): 1-10.

Demarco, M., Egemen, D., Raine-Bennett, T. R., Cheung, L. C., Befano, B., Poitras, N. E. and Schiffman, M. 2020. A study of partial human papillomavirus genotyping in support of the 2019 ASCCP risk-based management consensus guidelines. Journal of Lower Genital Tract Disease, 24(2): 144.

Deshmukh, A. A., Suk, R., Shiels, M. S., Damgacioglu, H., Lin, Y. Y., Stier, E. A. and Sonawane, K. 2021. Incidence trends and burden of human papillomavirus-associated cancers among women in the United States, 2001-2017. Journal of the National Cancer Institute, 113(6): 792-796.

Devi, K. A. 2022. A study on the role of lipogenic enzymes in oral cancer. PhD. Thesis, Indian Institute of Technology Guwahati, 194 page, Guwahati.

Di Leonardo, A., Linke, S. P., Yin, Y. and Wahl, G. M. 1993. Cell cycle regulation of gene amplification. In Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 58: 655-667.

Doorbar, J. 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. Clinical Science, 110(5): 525-541.

Doosti, M., Bakhshesh, M., Zahir, S. T., Shayestehpour, M. and Karimi-Zarchi, M. 2016. Lack of evidence for a relationship between high risk human papillomaviruses and breast cancer in Iranian patients. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 17(9): 4357-4361.

Düzgüneş, N. 2016. Medical microbiology and immunology for dentistry. Quintessence Publishing Company, 308 page, Illinois.

Egawa, N., Shiraz, A., Crawford, R., Saunders-Wood, T., Yarwood, J., Rogers, M. and Doorbar, J. 2021. Dynamics of papillomavirus in vivo disease formation & susceptibility to high-level disinfection—Implications for transmission in clinical settings. EBioMedicine, 63: 103177.

El-Shinawi, M., Mohamed, H. T., Abdel-Fattah, H. H., Ibrahim, S. A. A., El-Halawany, M. S., Nouh, M. A. and Mohamed, M. M. 2016. Inflammatory and non-inflammatory breast cancer: a potential role for detection of multiple viral DNAs in disease progression. Annals of Surgical Oncology, 23: 494-502.

Friedenson, B. 2007. The BRCA1/2 pathway prevents hematologic cancers in addition to breast and ovarian cancers. BMC Cancer, 7(1): 1-11.

Fuentes-González, A. M., Muñoz-Bello, J. O., Manzo-Merino, J., Contreras-Paredes, A., Pedroza-Torres, A., Fernández-Retana, J. and Lizano, M. 2019. Intratype variants of the E2 protein from human papillomavirus type 18 induce different gene expression profiles associated with apoptosis and cell proliferation. Archives of Virology, 164: 1815-1827.

Ganti, K., Broniarczyk, J., Manoubi, W., Massimi, P., Mittal, S., Pim, D. and Banks, L. 2015. The human papillomavirus E6 PDZ binding motif: from life cycle to malignancy. Viruses, 7(7): 3530-3551.

Gibert, M. J., Sánchez-Contador, C. and Artigues, G. 2023. Validity and acceptance of self vs conventional sampling for the analysis of human papillomavirus and Pap smear. Scientific Reports, 13(1): 2809.

Haghshenas, M. R., Mousavi, T., Moosazadeh, M. and Afshari, M. 2016. Human papillomavirus and breast cancer in Iran: a meta-analysis. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 19(3): 231.

Harden, M. E. and Munger, K. 2017. Human papillomavirus molecular biology. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 772: 3-12.

Harrison, K., Hoad, G., Scott, P., Simpson, L., Horgan, G. W., Smyth, E. and Haggarty, P. 2015. Breast cancer risk and imprinting methylation in blood. Clinical Epigenetics, 7(1): 1-9.

He, L. and He, J. 2019. Distribution of high-risk HPV types among women in Sichuan province, China: a cross-sectional study. BMC Infectious Diseases, 19(1): 1-8.

Hong, S. and Laimins, L. A. 2017. Manipulation of the innate immune response by human papillomaviruses. Virus Research, 231: 34-40.

Hou, J., Cui, F., Ding, Y., Dou, X., Duan, Z., Han, G. and Zhuang, H. 2019. Management algorithm for interrupting mother-to-child transmission of hepatitis B virus. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 17(10): 1929-1936.

Hulstaert, F., Arbyn, M., Huybrechts, M., Vinck, I., Puddu, M. and Ramaekers, D. 2006. Cervical cancer screening and human papillomavirus (HPV) testing. KCE reports, 38.

Islam, S., Dasgupta, H., Roychowdhury, A., Bhattacharya, R., Mukherjee, N., Roy, A. and Panda, C. K. 2017. Study of association and molecular analysis of human

papillomavirus in breast cancer of Indian patients: Clinical and prognostic implication. PloS One, 12(2): e0172760.

Karlsen, F., Kalantari, M., Jenkins, A., Pettersen, E., Kristensen, G., Holm, R. and Hagmar, B. 1996. Use of multiple PCR primer sets for optimal detection of human papillomavirus. Journal of Clinical Microbiology, 34(9): 2095.

Kato, Y., Shigehara, K., Nakagawa, T., Nakata, H., Iijima, M., Nakashima, K. and Mizokami, A. 2021. Human papillomavirus detected in sperm of Japanese infertile males affects reproductive parameters. International Journal of Infectious Diseases, 112: 294-299.

Kaushic, C., Roth, K. L., Anipindi, V. and Xiu, F. 2011. Increased prevalence of sexually transmitted viral infections in women: the role of female sex hormones in regulating susceptibility and immune responses. Journal of Reproductive Immunology, 88(2): 204-209.

Khodabandehlou, N., Mostafaei, S., Etemadi, A., Ghasemi, A., Payandeh, M., Hadifar, S. and Moghoofei, M. 2019. Human papilloma virus and breast cancer: the role of inflammation and viral expressed proteins. BMC Cancer, 19: 1-11.

Knipe, D. M., Howley, P. M., Cohen, J. I., Griffin, D. E., Lamb, R. A., Martin, M. A. and Roizman, B. 2013. Fields virology. Wolters Kluwer Health, 2456 page, Philadelphia.

Kocjan, B. J., Sterbenc, A., Hosnjak, L., Chouhy, D., Bolatti, E. M., Giri, A. A. and Poljak, M. 2015. Genome announcement: complete genome sequence of a novel Mupapillomavirus, HPV204. Repositorio Institucional CONICET Digital, 24: 21-23.

Kombe Kombe, A. J., Li, B., Zahid, A., Mengist, H. M., Bounda, G. A., Zhou, Y. and Jin, T. 2021. Epidemiology and burden of human papillomavirus and related diseases, molecular pathogenesis, and vaccine evaluation. Frontiers in Public Health, 8: 552028.

Laia, B., Mireia, D., Xavier, C., Elena, F. and Xavier, F. 2010. Selviade'S. Cervical human papilloma virus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. The Journal of Infectious Diseases, 202(12): 1789-99.

Lawson, J. S., Glenn, W. K. and Whitaker, N. J. 2016. Human papilloma viruses and breast cancer–assessment of causality. Frontiers in Oncology, 6: 207.

Lawson, J. S., Glenn, W. K., Salyakina, D., Delprado, W., Clay, R., Antonsson, A. and Whitaker, N. J. 2015. Human papilloma viruses and breast cancer. Frontiers in Oncology, 5: 277.

LeConte, B. A., Szaniszlo, P., Fennewald, S. M., Lou, D. I., Qiu, S., Chen, N. W. and Resto, V. A. 2018. Differences in the viral genome between HPV-positive cervical and oropharyngeal cancer. PloS One, 13(8): e0203403.

Lee, D., Norby, K., Hayes, M., Chiu, Y. F., Sugden, B. and Lambert, P. F. 2016. Using organotypic epithelial tissue culture to study the human papillomavirus life cycle. Current Protocols in Microbiology, 41(1): 14B-8.

Li, Y. and Xu, C. 2017. Human papillomavirus-related cancers. Infectious Agents Associated Cancers: Epidemiology and Molecular Biology, 23-34.

Mac, M. and Moody, C. A. 2020. Epigenetic regulation of the human papillomavirus life cycle. Pathogens, 9(6): 483.

Maldonado-Rodríguez, E., Hernández-Barrales, M., Reyes-López, A., Godina-González, S., Gallegos-Flores, P. I., Esparza-Ibarra, E. L. and Ayala-Luján, J. L. 2022. Presence of Human Papillomavirus DNA in Malignant Neoplasia and Non-Malignant Breast Disease. Current Issues in Molecular Biology, 44(8): 3648-3665.

Man, I., Vänskä, S., Lehtinen, M. and Bogaards, J. A. 2021. Human papillomavirus genotype replacement: still too early to tell?. The Journal of Infectious Diseases, 224(3): 481-491.

McBride, A. A. 2017. Mechanisms and strategies of papillomavirus replication. Biological Chemistry, 398(8): 919-927.

McKinney, C. C., Hussmann, K. L. and McBride, A. A. 2015. The role of the DNA damage response throughout the papillomavirus life cycle. Viruses, 7(5): 2450-2469.

Mendoza, R. P., Haidary, T., Gabutan, E., Zhou, Y. Y., Bukhari, Z., Connelly, C. and Gupta, R. 2021. Mixed and nonvaccine high risk HPV types are associated with higher mortality in Black women with cervical cancer. Scientific Reports, 11(1): 14064.

Mohamed, M. M., Al-Khateeb, H. M. and Al-Khafaji, K. R. K. 2015. Human Papilloma Virus 16 Survey in Breast Epithelium of Women Using In Situ Hybridization Technique. The Iraqi Postgraduate Medical Journal, 14(3): 337-343.

Morgan, I. M., DiNardo, L. J. and Windle, B. 2017. Integration of human papillomavirus genomes in head and neck cancer: is it time to consider a paradigm shift?. Viruses, 9(8): 208.

Muñoz-Bello, J. O., Carrillo-García, A. and Lizano, M. 2022. Epidemiology and molecular biology of HPV variants in Cervical Cancer: The state of the art in Mexico. International Journal of Molecular Sciences, 23(15): 8566.

Mussa, H. N., Weheed, F. S., Assi, A. N. and Yaseen, S. J. 2011. Cancer in Thi-Qar governorate: pattern and distribution of cancer cases during 2005-2009. University of Thi-Qar Journal Of Medicine, 5(3): 43-49.

Ngan, C., Lawson, J. S., Clay, R., Delprado, W., Whitaker, N. J. and Glenn, W. K. 2015. Early human papilloma virus (HPV) oncogenic influences in breast cancer. Breast Cancer: Basic and Clinical Research, 9: BCBCR-S35692.

Nordfors, C. 2015. Studies on human papillomavirus and molecular markers in head-neck cancer. Karolinska Institutet, 69 page, Solna.

Pal, A. and Kundu, R. 2020. Human papillomavirus E6 and E7: the cervical cancer hallmarks and targets for therapy. Frontiers in Microbiology, 10: 3116.

Pereira Suarez, A. L., Lorenzetti, M. A., Gonzalez Lucano, R., Cohen, M., Gass, H., Vazquez, P. M. and Chabay, P. 2013. Presence of human papilloma virus in a series of breast carcinoma from Argentina. PloS One, 8(4): e61613.

Petca, A., Borislavschi, A., Zvanca, M. E., Petca, R. C., Sandru, F. and Dumitrascu, M. C. 2020. Non-sexual HPV transmission and role of vaccination for a better future. Experimental and Therapeutic Medicine, 20(6): 1-1.

Petrucelli, N., Daly, M. B. and Feldman, G. L. 2010. Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in BRCA1 and BRCA2. Genetics in Medicine, 12(5): 245-259.

Price, M. N., Dehal, P. S. and Arkin, A. P. 2010. FastTree 2–approximately maximum-likelihood trees for large alignments. PloS one, 5(3): e9490.

Purrahman, D., Avarvand, A. Y., Paradowska-Gorycka, A., Saki, N., Karimpourian, H., Jodat, H. and Mahmoudian-Sani, M. R. 2022. Association of human papillomavirus

with breast cancer: a new perspective on an old debate. Future Oncology, 18(22): 2483-2494.

Rocha, R. M., Souza, R. P., Gimenes, F. and Consolaro, M. E. 2019. The high-risk human papillomavirus continuum along the female reproductive tract and its relationship to infertility and endometriosis. Reproductive BioMedicine Online, 38(6): 926-937.

Roden, R. and Stern, P. L. 2018. Opportunities and challenges for human papillomavirus vaccination in cancer. Nature Reviews Cancer, 18(4): 240-254.

Sabeena, S., Bhat, P., Kamath, V. and Arunkumar, G. 2017. Possible non-sexual modes of transmission of human papilloma virus. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 43(3): 429-435.

Salman, N. A., Davies, G., Majidy, F., Shakir, F., Akinrinade, H., Perumal, D. and Ashrafi, G. H. 2017. Association of high risk human papillomavirus and breast cancer: a UK based study. Scientific Reports, 7(1): 43591.

Satsuka, A., Mehta, K. and Laimins, L. 2015. p38MAPK and MK2 pathways are important for the differentiation-dependent human papillomavirus life cycle. Journal of Virology, 89(3): 1919-1924.

Senkomago, V., Henley, S. J., Thomas, C. C., Mix, J. M., Markowitz, L. E. and Saraiya, M. 2019. Human papillomavirus–attributable cancers—United States, 2012–2016. Morbidity and Mortality Weekly Report, 68(33): 724.

Sher, G., Salman, N. A., Kulinski, M., Fadel, R. A., Gupta, V. K., Anand, A. and Junejo, K. 2020. Prevalence and type distribution of high-risk human Papillomavirus (HPV) in breast cancer: a qatar based study. Cancers, 12(6): 1528.

Shewale, J. B. and Gillison, M. L. 2019. Dynamic factors affecting HPV-attributable fraction for head and neck cancers. Current Opinion in Virology, 39: 33-40.

Shkur Azeez, S. 2021. Knowledge, attitude, and practice towards Breast cancer, risk factors, and screening among Iraqi women. MSc. Thesis, Karabük University, 94 page, Karabük.

Simms, K. T., Steinberg, J., Caruana, M., Smith, M. A., Lew, J. B., Soerjomataram, I. and Canfell, K. 2019. Impact of scaled up human papillomavirus vaccination and cervical screening and the potential for global elimination of cervical cancer in 181 countries, 2020–99: a modelling study. The Lancet Oncology, 20(3): 394-407.

Sisk, E. A. and Robertson, E. S. 2002. Clinical implications of human papillomavirus infection. Frontiers in Bioscience-Landmark, 7(5): 77-84.

Snijders, P. J., Steenbergen, R. D., Heideman, D. A. and Meijer, C. J. 2006. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland, 208(2): 152-164.

Suk, R., Mahale, P., Sonawane, K., Sikora, A. G., Chhatwal, J., Schmeler, K. M. and Deshmukh, A. A. 2018. Trends in risks for second primary cancers associated with index human papillomavirus–associated cancers. JAMA Network Open, 1(5): e181999-e181999.

Syrjänen, S. 2010. Current concepts on human papillomavirus infections in children. Apmis, 118(7): 494-509.

Tisza, M. J., Yuan, H., Schlegel, R. and Buck, C. B. 2016. Genomic sequence of canine papillomavirus 19. Genome Announcements, 4(6): e01380-16.

Tripathi, A. and Sahu, U. 2022. An overview of HPV: Causes, symptoms, and clinical manifestations. Immunopathology, Diagnosis and Treatment of HPV Induced Malignancies, 1-19.

Van Doorslaer, K. 2022. Revisiting papillomavirus taxonomy: A proposal for updating the current classification in line with evolutionary evidence. Viruses, 14(10): 2308.

Van Doorslaer, K., Li, Z., Xirasagar, S., Maes, P., Kaminsky, D., Liou, D. and McBride, A. A. 2017. The Papillomavirus Episteme: a major update to the papillomavirus sequence database. Nucleic Acids Research, 45(1): 499-506.

Viens, L. J., Henley, S. J., Watson, M., Markowitz, L. E., Thomas, C. C., D. Thompson, T. and Saraiya, M. 2016. Human papillomavirus–associated cancers—United States, 2008–2012. Morbidity and Mortality Weekly Report, 65(26): 661-666.

Vorsters, A., Van Damme, P. and Bosch, F. X. 2019. HPV vaccination: Are we overlooking additional opportunities to control HPV infection and transmission?. International Journal of Infectious Diseases, 88: 110-112.

Wang, L., Zhu, L., Li, H., Ma, N., Huang, H., Zhang, X. and Fang, J. 2019. Association between asymptomatic sexually transmitted infections and high-risk human papillomavirus in cervical lesions. Journal of International Medical Research, 47(11): 5548-5559.

Watson-Jones, D., Baisley, K., Brown, J., Kavishe, B., Andreasen, A., Changalucha, J. and De Sanjosé, S. 2013. High prevalence and incidence of human papillomavirus in a cohort of healthy young African female subjects. Sexually Transmitted Infections, 89(5): 358-365.

Willemsen, A. and Bravo, I. G. 2019. Origin and evolution of papillomavirus (onco) genes and genomes. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 374(1773): 20180303.

Xie, L., Li, Q., Dong, X., Kong, Q., Duan, Y., Chen, X. and Liu, T. 2021. Investigation of the association between ten pathogens causing sexually transmitted diseases and high risk human papilloma virus infection in Shanghai. Molecular and Clinical Oncology, 15(1): 1-7.

Yamashita-Kawanishi, N., Tsuzuki, M., Kasuya, F., Chang, H. W. and Haga, T. 2020. Genomic characterization of a novel bovine papillomavirus type 28. Virus Genes, 56: 594-599.

Yusupov, A., Popovsky, D., Mahmood, L., Kim, A. S., Akman, A. E. and Yuan, H. 2019. The nonavalent vaccine: a review of high-risk HPVs and a plea to the CDC. American Journal of Stem Cells, 8(3): 52.

Zhou, H. L., Zhang, W., Zhang, C. J., Wang, S. M., Duan, Y. C., Wang, J. X. and Wang, X. Y. 2018. Prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in Chinese women between 1991 and 2016: A systematic review. Journal of Infection, 76(6): 522-528.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Qasım Mohammed Othman ALBAKKA

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2020-2023
Lisans	Tikrit Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2011-2015