

T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**SERVİKAL SMEAR ÖRNEKLERİNDE HPV
POZİTİFLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI, VİRUSUN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE
FİLOGENETİK ANALİZİ**

DR. AYŞE ERDEM YAYLA

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Osman Aktaş

ERZURUM-2018

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İLGİ: 02.05.2018 tarih ve 42190979-01-02/ 1800137069 sayılı yazınız.

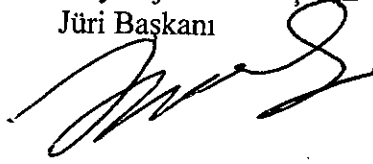
TIPTA UZMANLIK TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tıpta uzmanlık öğrencisi Arş.Gör.Dr.Ayşe ERDEM YAYLA'nın "Servikal Smear Örneklerinde Hpv Pozitifliğinin Araştırılması, Virusun Moleküler Karakterizasyonu Ve Filogenetik Analizi" konulu tezini incelemek üzere oluşturulan tez jürisine üye olarak seçildiğimiz ilgi yazınızla bildirilmesi üzerine jüri üyeleri, 09.05.2018 tarihinde toplanmış ve ilgili öğrenci tez savunmasına alınmıştır.

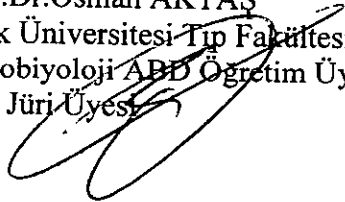
Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliğinin 19. maddesi gereğince yapılan tez savunmasının tamamlanması sonucunda adı geçenin tezi jüri üyelerince oy birliği ile kabul edilmiştir.

Bilgilerinize arz ederiz.

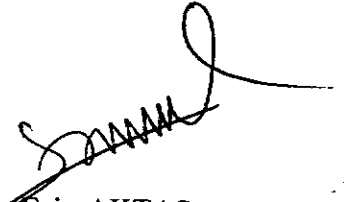
Prof.Dr.Selahattin ÇELEBİ
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Başkanı
Jüri Başkanı



Prof.Dr.Osman AKTAŞ
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Öğretim Üyesi
Jüri Üyesi



Prof. Dr. Ayşe Esin AKTAŞ
Yıldırım Beyazıt Üniversitesi (Ankara)
Tıbbi Mikrobiyoloji ABD Öğretim Üyesi
Jüri Üyesi



İÇİNDEKİLER

TABLolar LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
KISALTMALAR	v
TEŞEKKÜR	vii
TÜRKÇE ÖZET	1
İNGİLİZCE ÖZET	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Tarihçe	5
2.2. Sınıflandırma ve HPV İçeren PV Genusları	7
2.3. Virüsün genomik ve biyolojik özellikleri	10
2.4. HPV ile ilgili hastalıklar ve epidemiyolojisi	14
2.5. HPV enfeksiyonlarında immun yanıt ve tedavi	21
2.6. HPV önleme stratejileri ve aşılar	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Çalışma Grubu ve Anket	24
3.2. Smear Örneklerini Toplanması	24
3.3. DNA İzolasyonu	24
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	25
3.5. Agar Jel Elektrofrezisi	27
3.6. Sekanslama ve Filogenetik Analiz	28
3.7. İstatistik Analizleri	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
7. KAYNAKLAR	41
8. EKLER	
EK-1. Etik Kurul Onay Formu	
EK-2. Anket	

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. HPV cinslerinin temel özellikleri	9
Tablo 2.2. HPV'nin replikasyon proteinleri ve özellikleri	12
Tablo 2.3. HPV'nin onkojenik proteinleri ve özellikleri	13
Tablo 2.4. HPV'nin kapsit proteinleri ve özellikleri	14
Tablo 2.5. HPV ile ilişkili hastalıklar ve sorumlu HPV tipleri	15
Tablo 2.6. HPV'lerin doku tropizmi ve onkojenik potansiyellerine göre sınıflandırılması	15
Tablo 2.7. Ülkemizde moleküler yöntemlerle yapılan HPV çalışmaları	18
Tablo 2.8. Normal sitoloji ve servikal kanserli olgularda sık görülen HPV tiplerinin küresel prevalansı	21
Tablo 3.1. HPV tarama ve tiplendirmesinde kullanılan primerler	25
Tablo 4.1. Çeşitli demografik göstergelere göre HPV pozitifliği	30
Tablo 4.2. Risk gruplarına göre HPV tiplerinin dağılımı	31
Tablo 4.3. Yaşa göre tespit edilen HPV pozitiflikleri ve oranları	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şek. 2.1. HPV genomik yapısı	11
Şekil 2.2. HPV'nin dünyadaki prevalansı	16
Şekil 2.3. Dünya genelinde HPV'nin tipe özgü prevalansı	17
Şekil 2.4. Kıtalaraya göre GLOBOCAN 2012 serviks kanseri verileri	19
Şekil 2.5. Ülkelere göre GLOBOCAN 2012 serviks kanseri insidansı	20
Şekil 3.1. PCR cihazı	26
Şekil 3.2. Jel elektoforez düzeneği	28
Şekil 4.1. HPV pozitif örneklerde L1 gen bölgesinin filogenetik analizi	32



KISALTMALAR

Kısaltma	Terimin tamamı
AGC	Atypical glandular cells (atipik glandüler hücre)
ASC-H	Atypical Squamous Cells-cannot exclude HSIL (HSIL'i dışlamayan atipik skuamöz hücreler)
ASCCP	American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji Derneği)
ASCUS	Atypical Squamous Cells- Undetermined Significance (önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler)
CIN	Servikal intraepitelyal neoplazi
CIS	Karsinoma in situ
COX	Cyclooxygenase (siklooksigenaz)
CTPV	Cottontail rabbit papillomavirus
CYBE	Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar
EIA	Enzyme immunoassay
ELR	Early-Late-Region (erken ve geç genler arasındaki genom bölgesi)
EM	Elektron mikroskobu
EV	Epidermodisplazi Verrukiformis
FDA	Food and Drug Administration
HPV	Human papillomavirus
HR-HPV	Yüksek riskli HPV
HSIL	High Grade Squamous İntraepithelial Lesion (yüksek evre skuamöz intraepitelyal lezyon)
IARC	International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu)
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses (Uluslararası Virus Taksonomi Komitesi)
IFN	İnterferon
LEEP	Loop elektrocerrahi eksizyon prosedürü
LCR	Long control region (uzun kontrol bölgesi)
LR-HPV	Düşük riskli HPV

LSIL	Low Grade Squamous İntraepithelial Lesion (düşük derece skuamöz intraepitelyal lezyon)
KA	Kondiloma aküminata (condyloma acuminata)
MHC	Major histocompatibility
NCR	Noncoding region
NK	Natural Killer
ORF	Open reading frame (açık okuma alanı)
Pap	Papanicolaou testi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
pRB	Protein retinoblastoma (retinoblastoma proteini)
PV	Papillomavirus
VIA	Visual inspection with acetic acid (asetik asitli görsel muayene)
VILI	Visual inspection with Lugol's iodine (Lugol iyotlu görsel muayene)

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca engin bilgi ve becerileri ile hekimlik hayatımın sağlam temeller üzerine kurulmasında en büyük desteği olan başta danışmanım sayın Prof. Dr. Osman AKTAŞ olmak üzere tüm hocalarıma;

Tez süresince her aşamada desteğini ve bilgisini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Hakan AYDIN'a, örneklerin çalışılması aşamasında takıldığım her an güleryüz ve titizlikle yardımcı olan Gülizar ACAR KIRMIZI'ya;

Örneklerin toplanması için bana fırsat tanıyan Nene Hatun Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi Başhekimisi Op. Dr. Berrin GÖKTUĞ KADIOĞLU'na, hastalardan numuneleri toplarken tüm yoğunluğuna rağmen özveri ve samimiyetle bana kolaylık sağlayan Op. Dr. Ebru BULUT ERDEM'e;

Beni bugünlere binbir emek ve fedakârlıkla getiren, hekim olmamda en büyük tohumları atan canım AİLEME ve her koşulda yanımda olduğu gibi asistanlık sürem boyunca da manevi desteği ile bana güç veren sevgili eşim Volkan YAYLA'ya;

Sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürler.

Dr. Ayşe Erdem YAYLA

ÖZET

Başlık (Tezin adı): Servikal Smear Örneklerinde HPV Pozitifliğinin Araştırılması, Virusun Moleküler Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizi

Amaç: İnsan papilloma virüsleri dünya çapında yaygın virüslerdir. Bu virüsler insanda cilt ve mukoz membranların enfeksiyon ve kanserlerinden sorumlu ajanlardandır. Ancak, insan sağlığını tehdit eden bu virüsün ülkemizdeki prevalansı ve genotiplerini bildiren bir epidemiyolojik veriye rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı hastaneye çeşitli jinekolojik şikâyetlerle başvuran kadınlarda HPV sıklığını ve genotiplerini araştırmaktır.

Yöntem: Bu çalışmada, pap smear ile alınan 263 servikal sürüntü örneği HPV pozitifliği yönünden araştırıldı. Örnekler 2016 Nisan-Aralık aylarında toplanıp HPV'nin L1 gen bölgesi moleküler yöntemlerle araştırıldı. Bu amaçla PCR testi ve pozitif örneklerin sekans analizleri yapıldı. Sekanslama sonrası bioinformatik testler kullanılarak filogenetik analizleri gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışmaya dâhil edilen örneklerin 17(%6.5)'sinde HPV DNA tespit edildi. Çalışma popülasyonu oluşturan kadınların yaş ortalamaları 39 (18-80yaş) idi. Yaş gruplarına göre dağılımlarına bakıldığında HPV DNA pozitifliği en yüksek % 9.2 ile 35-44 yaş grubundaydı. Bunu % 7.7 ile 60 yaş üstü grup takip etti. Pozitif örneklerin sekans analizi sonrası üç örneğin sekansı gerçekleşmediğinden, 14 örneğin sekansı filogenetik analize dâhil edildi. Buna göre 6'sının HPV-70, 4'ünün HPV-16, geri kalanlarında HPV-54, 72, 81 ve 114 olduğu görüldü. Genotip verileri risk grubuna göre değerlendirildiğinde, 14 örneğin % 28.6'sının HR-HPV % 71.4'ünün LR-HPV olduğu tespit edildi.

Sonuç: Papillomavirus enfeksiyonları insanlarda özellikle yüksek riskli tiplerin varlığında çeşitli sağlık sorunlarına yol açarak hayat kalitesini düşürmekte ve hatta hayati risk oluşturabilmektedir. Erzurum'daki kadınlarda düşük ve yüksek riskli HPV prevalansı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Erzurum için HPV prevalansına ilişkin epidemiyolojik verilere katkıda bulunmaktadır. Doğu illerine yönelik kapsamlı çalışmaların olmadığı göz önüne alınırsa, epidemiyolojik veriler açısından daha çok çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: İnsan Papilloma Virusu, servikal sürüntü, PCR, Erzurum

ABSTRACT

Investigation of HPV Positivity in Cervical Smear Samples, Molecular Characteristics and Phylogenetic Analysis of the Virus

Aim: Human papilloma viruses are a group of viruses that are widespread worldwide. These viruses are among the agents that are responsible for the infection and cancer of the skin and mucous membranes in the human body. But, there was no epidemiological data reporting from our region on the prevalence and genotypes of this virus that threatened human health. The aim of this study was to investigate the frequency and type distribution of Human papilloma viruses in the woman patients with gynaecological complaints who applied to the hospital.

Methods: In this study, 263 cervical swab samples taken with pap-smear were investigated for HPV positivity. Samples were collected from April-December 2016 and the L1 gene region of HPV was investigated by molecular methods. For this purpose, PCR assays and sequence analysis of positive samples were performed. Phylogenetic analyses were performed using bioinformatics tests after sequencing.

Results: It was seen that the average age of women taken to work was 39 (18-80years). HPV DNA positivity was highest in the age group of 35-44 years with 9.2%. This was followed by a group over 60 with 7.7%. HPV DNA was detected in 17 (6.5%) of the samples. Since the sequence of three samples did not occur after sequence analysis of positive samples, the sequence of 14 samples was included in the phylogenetic analysis. It was seen that 6 samples were HPV-70, 4 were HPV-16, and the rest were HPV-54, 72, 81 and 114. When genotype data were evaluated according to the risk group, it was determined that 28.6% of 14 samples were LR-HPV with 71.4% of HR-HPV.

Conclusions: Papillomavirus infections can lead to various health problems in humans, especially in the presence of high-risk types, reducing their quality of life and even creating a life-threatening risk. The prevalence of low and high risk HPV was determined in women in Erzurum. These results contribute to epidemiological data on HPV prevalence for Erzurum. Given that there are no comprehensive studies of the eastern providences, more work needs to be done in terms of epidemiological data.

Keywords: Human Papilloma Virus, Cervical samples, PCR, Erzurum

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Human papilloma virüs (HPV) dünyada en yaygın görülen cinsel yolla bulaşan enfeksiyon etkenlerindedir (1). Bu virüsün kalıcı enfeksiyonları kadın ve erkeklerin genital bölgelerinde malign değişikliklere neden olabilmektedir. Özellikle genç nesli etkileyen serviks (rahim ağzı) kanserinin neredeyse tamamından sorumlu tutulan HPV'nin vagina, vulva, penis ve anüs kanserine de yol açtığı; baş ve boyun bölgesi, göz konjunktivası, kulak kanalları, nazal sinüsler, oral kavite gibi diğer bölgelere de bulaşabildiği bilinmektedir (2, 3). Serviks kanseri, genç kadınlar arasında dünyada ikinci sırada görülen kanser türü olup, gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek sıklıkta görülmekte ve ölümlere neden olmaktadır (4).

Epitel ve mukoz dokulara tropizmi olan; memeli, sürüngen, kuş, balık gibi farklı omurgalıları enfekte edebilen papillomavirus (PV) cinsi, *Papillomaviridae* ailesi içinde sınıflandırılır (5). Bu aile, 7-8 kb uzunluğunda, çift iplikli DNA (dsDNA)'sı 50-60 nm çapında olan, zarfsız, ikosahedral simetrik küçük virüsleri içerir (6). Genomu; düzenleyici proteinleri kodlayan bir “early” (erken) bölgesi (E1, E2 ve E4-E8); kapsit proteinlerini kodlayan bir “Late (geç)” bölgesi (L1 ve L2) ve kodlama yapmayan “non-coding region (NCR)” bölge olmak üzere üç bölgeden oluşur (5).

Henüz bir order (takım) içine atanmamış olan *Papillomaviridae* ailesi korunaklı bir gen bölgesi olan ORF L1 sekans temeline göre cinslere ayrılır. PV izolatlarına “tip” adı verilmektedir. Farklı omurgalılarda yaptıkları lezyonlardan izole edilen PV'lerin sekans analizleri ve filogenetik özelliklerine göre belirlenen tipleri (genotipleri), yaklaşık olarak % 80-90 oranında genetik benzerlik göstermesi; doku tropizmi, hastalık belirtileri ve patojenitelerindeki benzerlikler de dikkate alınarak aynı türün üyeleri olarak sınıflandırılırlar (3). Yunan alfabesi ile isimlendirilen ailede 49 cins ve 280'den fazla PV tipinin bulunduğu; International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)'ye göre 200'den fazlasının insanlara bulaştığı bildirilmiştir (7, 8). İnsan tipleri *Alphapapillomavirus* (Alfa-PV), *Betapapillomavirus* (Beta-PV), *Gammapapillomavirus* (Gama-PV), *Mupapillomavirus* (Mu-PV) ve *Nupapillomavirus* (Nu-PV) cinsleri içerisinde sınıflandırılmıştır (9).

Bazı türlerinin onkojenik olduğu ve cinsel yolla bulaştığı bilinen *alfa* cinsindeki HPV'ler öncelikle oral ve genital mukoza yüzeylelerini ve dış genital bölgeyi enfekte ederken; *beta*, *gama*, *mu* ve *nu* cinslerine ait HPV'ler genital olmayan mukoza ve cildi enfekte ederler (6). HPV'ler kansere neden olma özelliğine göre yüksek riskli (high-risk HPV, HR-HPV) ve düşük riskli (low-risk HPV, LR-HPV) olarak iki kategoriye ayrılır. LR-HPV'ler genital siğillere; HR-HPV'ler ise serviksin yanı sıra vulva ve anüs gibi genital bölgelerde kansere kadar ilerleyen anormal hücre değişikliklerine neden olurlar (10). Toplumda yaygın görülen HR-HPV genotiplerinin, anogenital kanserlerle ilişkili olan HPV 16, 18, 31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ve 68; LR-HPV tiplerinin ise anogenital siğil ve lezyonlarla ilişkili olan HPV 6 ve 11 olduğu bildirilmektedir (11). HPV 16 ve 18 serviks kanserinde en sık görülen genotiplerdir.

Dünyada HPV ile enfekte 70 milyon olgunun bulunduğu ve her yıl 14 milyon yeni olgunun ortaya çıktığı ifade edilmektedir (12). Dünya çapında, her yıl 530.000 yeni serviks kanseri olgusunun meydana geldiği ve bunların 275.000'nin öldüğü; yeni olguların % 86'sının ve toplam ölümlerin % 88'inin düşük ve orta gelirli ülkelere ait olduğu bildirilmektedir (13). Tüm dünyada normal servikal sitoloji tespit edilen kadınlardan %10.4'ünde HPV pozitifliği olduğu belirtilmektedir (14). Ancak bu oranın çok daha yüksek tespit edildiği bölgeler vardır, örneğin Brezilya'da bu oran %36.56 olarak bildirilmiştir (15). Dolayısıyla klinik örneklerde moleküler tekniklerle HPV DNA aranması hem hatalı negatif sonuçların alınmaması hem de erken tanı açısından önemlidir. PV'lerin kendini sınırlayan enfeksiyonlar şeklinde yıllarca kalıcı olma eğiliminde olması nedeniyle hastalara erken tanı konulması hayati bir önem taşımaktadır. HPV-DNA aranması, latent dönem hastalarının ve HPV çeşitliliğinin tespitinde olduğu kadar, etkin aşıların üretilmesi için yapılan çalışmalarda kullanılacak suşların elde edilmesinde de önem arz etmektedir.

Bu çalışma ile 18 yaş üstü cinsel aktif, sağlıklı ve hasta olgulardan alınan smear örneklerinde HPV-DNA pozitifliğinin tespit edilmesi; izole edilen HPV DNA'larının tiplendirilmesi; bunların dünya gen bankası verileriyle kıyaslanarak çeşitli ülkelere bildirilen referans suşlarla akrabalık derecelerinin belirlenmesi ve HPV genotipleriyle ilgili olarak yöremize ait ilk sonuçların bildirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

PV adı, omurgalılarda siğil yapan virüsleri belirtmek için verilmiştir. İnsan PV'lerine HPV denilmektedir. HPV'ler genital bölge enfeksiyonlarının en yaygın viral etkenleri olup kadın ve erkeklerde kansere kadar ilerleyebilen çeşitli sorunlara neden olabilmektedir. HPV enfeksiyonlarının çoğu hastalık belirtisi vermez ve kendiliğinden iyileşir. Bazen inatçı enfeksiyonları tedavi edilmediğinde yaşamı tehdit eden ciddi bir hastalığa dönüşebilmektedir. Bu viruslar larenks, solunum yolları, orofarinks, tonsil, baş ve boyun bölgeleri, konjunktiva, kulak kanalı ve sinüsler gibi farklı vücut bölgelerini de enfekte ederler. Bu virüslerin en önemli özelliklerinden biri de neredeyse tümünün özgün konaklar kullanmaları ve konaklarına en yakın akraba türlerine bile bulaşmamalarıdır (3).

2.1. Tarihçe

PV'lerin modern insandan daha önce ortaya çıktığı belirtilmektedir (16). Evrimlerinin; yaklaşık 350 milyon yıl önce eski konaklarının epitelyumundaki değişikliklere bağlı olarak gerçekleştiği söylenen PV'ler yılanlardan memelilere kadar geniş bir omurgalı konak yelpazesine sahiptir (17). Genital siğiller Hipokrat zamanından (M.Ö. 460-377) beri bilinmektedir. Yunanca "anüs çevresinde yuvarlak şişlik" anlamına gelen "condyloma" sözcüğü genital siğiller için kullanılmış ve eşcinsel erkeklerde görülen "kondiloma aküminata (KA)" o zamanlarda cinsel ilişkiyle ilişkilendirilmiştir (18). İtalyan Rigoni-Stern, 1760-1839 yılları arasında serviks kanserinden ölümlerin rahibelerde diğer kadınlardan düşük olduğunu görerek bu kanserin cinsel temas ilişkisini ilk kez açıklamıştı (19). Burns; 1823 yılında evli çiftlerde genital siğil varlığından bahsedildiğini; 1891'de Joseph Payne'nin bir çocuğun tırnağı altındaki siğillerin bulaşıcı özelliklerini kaydettiğini; 1907'de Ciuffo'nun siğil etiolojisinde virüslere yer verilmesini önerdiğini belirtmiştir (20).

İlk PV tanımını 1933'de Richard E. Shope pamuk kuyruklu tavşanlarda [cottontail rabbit PV (CTPV)] yapmıştır. (21). "Shope papillomavirus" olarak da bilinen CTPV, 1930'lardan beri PV patogenezinin araştırılmasında CTPV/tavşan modeli olarak kullanılmaktadır (22). George N. Papanicolaou, 1942'de kanser

insidansı ve mortalitesinin düşmesini sağlayan, uterin displazi ve servikal kanser tanısında kullanılan “Pap smear” yöntemini geliştirmiştir (23, 24).

Virüs elektron mikroskobu (EM) ile ilk olarak 1949'da Strauss ve arkadaşlarınca siğillerde gösterilmiştir (20). Joseph L. Melnick 1962'de; DNA içeren, etere dirençli ve benzer görünümlü virüsler (insan/tavşan siğil virüsleri, fare polyoma virüs ve maymun *simian virus 40*) için "papova virus" ortak grup adını önermiştir (25). PV'lerin DNA molekül yapısına ilişkin ilk raporlar 1965'te Crawford tarafından sunulmuştur (26). Genital siğillerde PV varlığı, 1968'de Dunn ve Ogilvie; 1970'de de Oriel ve Almeida tarafından EM ile gösterilmiştir (27). HPV'lerin biyolojik özellikleri 1970'lerde moleküler tekniklerinin gelişmesinden sonra detaylandırılmış; virüsün doku tropizmi, patojenliği, servikal kanserlerdeki rolü, riskli tipleri belirlenmiştir (28). PV'lerin siğillere neden olduğu önceleri bilinse de HPV'nin tanımlanması Alman virolog Harald zur Hausen'e nasip olmuştur. Hausen ve ark 1976'da serviks kanserinin PV ile ilişkisini tespit etmiş ve 1983'de HPV16 ve 1984'de HPV18 tiplerini belirlemişlerdir (29, 30). HPV'nin bu iki tipi birlikte servikal kanserlerin % 70'inden sorumlu tutulmaktadır (31). Hausen'in bu çalışmaları kendisine 2008 yılında Nobel Tıp Ödülünü kazandırmış ve kanser önleyici sentetik aşuların yapılandırılmasına da öncülük etmiştir (32).

HPV genotiplerinin tayin edilmesinde önemli gelişmeler 1990'lı yılların ortalarında başlamıştır. HPV genomunun en korunaklı gen bölgesi olan L1 ORF bölgesi PV tiplerinin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Quebec'de 1995 yılında düzenlenen Uluslararası Papillomavirus atölye çalışmasında, alt tip ve varyantların, bu bölgenin %2-10 arasındaki farklılığına göre tanımlanmasına karar verilmiştir (33). HPV sekanslarının resmi listesi 1997'de açıklanmıştır (34).

Daha sonra 2000'li yıllara gelindiğinde tütün ve alkol gibi HPV enfeksiyonunun da orofaringeal kanserler için bir risk olduğu kabul edilmiştir (35).

PV'ler 2003 yılına kadar poliomavirüslerle birlikte *Papovaviridae* ailesinde sınıflandırılıyordu. Genom organizasyonları ve boyutlarının farklı olması; nükleotid ya da aminoasit sekans benzerliğinin düşük oluşu nedenleriyle ICTV bu virüsleri *Papillomaviridae* ve *Polyomaviridae* olarak iki ayrı aile altında toplamıştır (33). *Papillomaviridae* için sadece DNA sekansı ile ilgili resmi bir sınıflandırmanın kabul edilmesi de 2003'ün sonlarında olmuştur (36).

Günümüzde FDA (Food and Drug Administration - Gıda ve İlaç İdaresi) tarafından 2014 yılında onaylanmış HPV DNA testi mevcut olup bu test ile 14 yüksek riskli HPV genotipi (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) tespit edilmektedir. HPV DNA testinin Papanicolaou (Pap) testinden daha duyarlı olması nedeniyle serviks kanseri tanısında tek başına primer tarama testi olarak kullanılabilmesi ifade edilmiştir (37). Nitekim Jinekolojik Onkoloji Derneği, Amerikan Kolposkopi ve Servikal Patoloji Derneği (ASCCP), Ocak 2015'te birincil test olarak HPV DNA testini uygun gören bir ara rapor hazırlamışlardır (38).

2.2. Sınıflandırma ve HPV İçeren PV Genusları

PV'ler henüz bir ordo'ya dâhil edilmemiş *Papillomaviridae* ailesinin üyeleridir. PV izolatları "tip" olarak tanımlanır. PubMed Taksonomi Tarayıcısında 24 Ağustos 2017 tarihinde bu ailede 49 cinse ait 301'i sınıflandırılmış 427 tip kayıtlıdır. Bu kayıtlara göre 14 türle temsil edilen *Alfa*-PV, sınıflandırılmış 95 tip ile en geniş cinstir. Bunu 26 tür/58 tip ile *Gama*-PV; 6 tür/52 tip ile *Beta*-PV takip etmiştir. HPV'ler *Alfa*-PV, *Beta*-PV, *Gama*-PV, *Mu*-PV ve *Nu*-PV cinslerinde yer alır (9).

Alfa-PV'ler KA, solunum papillomatozu, servikal, anal, baş ve boyun kanseri gibi hastalıklara neden olurlar. Yaptığı en yaygın malignansi kadınlarda kanser mortalitesinin önde gelen nedenlerinden biri olan serviks kanseridir. İnvaziv serviks kanserinin yaklaşık % 90'ı *alfa*-5-9 tip grupları ile ortaya çıkmaktadır. Filogenetik olarak yakın HPV varyantlarının patojenitesi farklılık gösterebilmektedir (39).

Beta-PV içindeki HPV'ler ile kutanöz "skuamoz hücreli karsinom" arasında bir ilişkinin var olduğu düşünülmektedir (40). Bugüne kadar 50'den fazla *Beta*-HPV tipi belirlenmiş olup normal bireylerin derisinde yaygın olarak buldukları; son zamanlarda cilt, ağız boşluğu ve diğer anatomik bölgelerden yeni *Beta*-HPV'ler izole edildiği için listenin daha da genişleyeceği ifade edilmiştir (41).

Hošnjak ve arkadaşlarının *Gama*-PV'nin tamamen karakterize edilen 76 HPV tipinden oluşan, hızla genişleyen bir cins olduğunu belirtmektedir (42). Bu virüslerin sadece kutanöz bölgelerde değil ağız ve burun boşluğu ve genital kanallar da dâhil çeşitli mukozal bölgelerde de bulunduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (43).

HPV'ler bulaşma eğilimi gösterdiği vücut bölgesi (kütanöz veya mukozal tipler) ve kanseri indüklemeye potansiyeli açılardan sınıflandırılmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC) şu anda insanlardaki kanserlerle ilişkili 12 yüksek riskli HPV tipini (tip 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) ve ek olarak karsinogenezle sınırlı ilişkisi bulunan tipleri (68 ve 73 tipi) tanımlamıştır (44).

HPV'ler oluşturduğu servikal kanserlerle yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan virüslerdir. Fakat bu durum coğrafik bölgeye göre farklılık göstermektedir (45). Örneğin 2012'de Sahra Güneyi Afrika'da 100 bin kadında 34.8 yeni olgu ve 22.5 ölüm bildirilmişken, Batı Asya'da 4.4 yeni olgu ve 1.9 ölüm bildirilmiştir. Serviks kanserinin en düşük düzeyde görüldüğü üçüncü bölge olan Kuzey Amerika'da ise, 2015 yılında yaklaşık 13.000 kadına yeni serviks kanseri tanısı konulacağı ve bu hastalıktan 4.100' kadının öleceği bildirilmiştir (46).

Onkojenik HR-HPV tipleri, skuamöz hücreli serviks kanserlerinin %99.7'sinden sorumlu olup yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonlara ve anormal Pap bulgularına neden olurlar (47). Kadınlarda yaygın olan HPV enfeksiyonlarının psikososyal morbiditeye de neden olduğu ifade edilmektedir (48).

En yaygın olarak cinsel yolla bulaşan *Alfa-PV* genusunda onkojenik HPV'er bulunur. *Alfa-PV* üyelerinden HPV-16 ve 18 tipleri ile enfekte kadınlar serviks kanseri gelişimi açısından yüksek risk altındadır (49). HPV 16 ve 18 yüksek riskli klade (organizma grubu) olarak adlandırılır. Ancak, mevcut epidemiyolojik verilere göre, HR-HPV içerisindeki diğer tipler (örn. HPV-68) nadiren onkojeniktir (50).

HPV'ler, genom benzerliklerine ve yaptığı hastalıkların bulgularına göre: mukozotropik (*alfa-PV*), kütanotropik (*beta-PV* ve *gamma-PV*) ve kütanöz/siğille ilişkili tipler (*alfa-PV*, *mu-PV* ve *nu-PV*) olarak da sınıflandırılır. Toplumda kütanöz siğiller, Mu-PV (HPV 1 ve 63), nu-PV (HPV 41) ve alfa-HPV (2, 3, 10, 27, 28, 29, 57 ve 77) ile ortaya çıkmaktadır (51). Organ nakli hastalarında bağışıklık baskılayan ilaç kullanım süresi içinde siğil ve benzeri lezyonların geliştiği; nakil sonrasında kütanöz siğillerin artarak yıllarca devam ettiği, olguların yaklaşık % 40'ında 7 yıl sonra "Verrucae vulgares" geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca, immüno-supresyon sırasında bening siğillerin malign deri kanserine dönüşebildiği de belirtilmiştir (52).

İnsan kökenli tipleri içeren PV cinslerinin temel özellikleri (9, 36, 50-54) nolu kaynaklar temel alınarak hazırlanan Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. HPV cinslerinin temel özellikleri

Genus	Temel özellikler
<i>Alfa-PV</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Tür sayısı 14; HPV tip sayısı 65 -HPV 2, 3, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 26-35, 39, 40, 42-44, 45, 51-54, 56-59, 61, 62, 66-74, 77, 78, 81-87, 89-91, 94, 97, 102, 106, 114, 117, 125, 160, 177 - Mukoza ve cilt lezyonları, KA, servikal kanser yapar. Genital tip PV'dir. - Seksüel olarak, direkt ve indirekt temasla bulaşır. Aşısı vardır. - Genotipleri yüksek riskli ve düşük riskli tipler olarak sınıflandırılır. - Viriyon ~ 60 nm; genom ~ 8kb; erken ve geç genler arasındaki genom bölgesi (ELR) 300-500 bp kadardır.
<i>Beta-PV</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Tür sayısı 6; HPV tip sayısı 52 -HPV 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19-25, 36-38, 47, 49, 75, 76, 80, 92, 93, 96, 98-100 104, 105, 107, 110, 111, 113, 115, 118, 120, 122, 124, 143, 145, 150, 151, 152, 159, 174, 182, 185, 195, 196, 198, 209 - İnsanlarda cilt lezyonları yapar; Epidermodisplazi Verrukiformis (EV) ile ilişkisi nedeniyle EV-HPV türleri olarak da bilinirler. - Viriyon ~ 60 nm; genom ~ 8kb; ELR genellikle 100 nükleotidden küçük - E5 ORF yok
<i>Gama-PV</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Tür sayısı 26; HPV tip sayısı 82 - HPV 4, 48, 50, 60, 65, 88, 95, 101, 103, 108, 109, 112, 116, 119, 121, 123,126-142, 144, 146-149, 153-158, 161-173, 175, 176, 178-181, 183, 184, 186-194, 197, 199-203, 205, 210 - Cilt lezyonları yapar. - Tiplere özgü sitoplazma içi inklüzyon cisimcikleri bulunur. - Viriyon 52-55 nm; genom ~ 8kb; ELR 100 nükleotidden küçük - E5 ORF yok
<i>Mu-PV</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Tür sayısı 3; HPV tip sayısı 3 - HPV 1, 63, 204 - Cilt lezyonları yapar. - Tiplere özgü sitoplazma içi inklüzyon cisimcikleri bulunur -Viriyon 52-55 nm; genom ~ 8kb; long control region (LCR) HPV1, HPV63 ve HPV204'de sırasıyla 979-bp, 558-bp ve 510-bp - E5 ORF yok
<i>Nu-PV</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Tür sayısı 1; HPV tip sayısı 1 -HPV 41 - Bening ve malign kütanöz lezyonlar yapar -Viriyon 52-55 nm; genom ~ 8kb; ELR sadece 17 nükleotid.

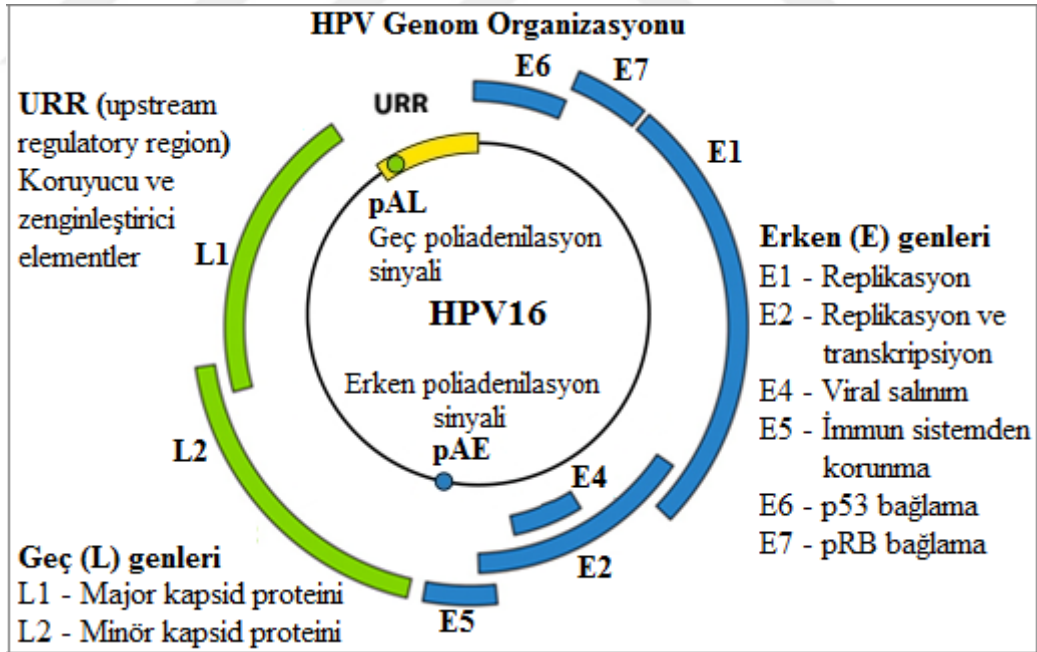
2.3. Virüsün genomik ve biyolojik özellikleri

Epitel ve mukoza dokusuna tropizm gösteren ve hemen her çeşit omurgalıda enfeksiyon yapabilen bir genotipi bulunan viriyonlar zarfsız, çapı 55 nm kadar olan, yaklaşık 8 kb ebadında çift sarmallı, çembersel bir DNA yapısına sahip virüslerdir. PV'ler, DNA replikasyonu, transkripsiyon, paketlenme ve enfekte ettiği hücrelerden dışarıya çıkışları için gerekli olan, yapısal olmayan proteinleri kodlayan genlere sahiptirler. Bu virüslerin üç bölüme ayrılmış 6.953-8.607 bp kadar büyüklükteki genomları; E, L ve NCR olmak üzere üç bölgeye ayrılır. Erken ve geç bölge arasında replikasyon orjinini içeren 1000 bp'lik NCR bulunur. Bu bölge protein kodlamaz. Uzun kontrol bölgesi (long control region, LCR) veya "upstream regulatory region" (URR) olarak da bilinir. Kontrol bölgesi içerisinde; transkripsiyonu kontrol eden diziler, erken proteinlerde ortak olan N terminal dizileri ve replikasyon orijini yer almaktadır. E bölgesi; E1, E2 ve E4 replikasyon proteinlerini ve E5, E6 ve E7 onkoproteinlerini kodlar (55). Viral onkoproteinler (E5, E6 ve E7) hücre döngüsü düzenini bozarak; telomeraz aktivitesini, DNA hasarını ve genetik istikrarsızlığı indükleyerek, tümör süpresör yollarını ve apoptozu bloke ederek kanserin başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunur (56). E6 ve E7 malignite dönüşümlerinde rol oynayan en önemli onkoproteinlerdir. Bu proteinler normal konakçı hücrelerini malign hücrelere dönüştürmek için birlikte çalışırlar. E6/E7 onkoproteinleri, bağışıklık sisteminden virüsün etkilenmesini önlemede, hücre proliferasyonunu ve interferon yanıtlarını değiştirmek için sitokin salınımını hedefleyerek rol oynar. Hücre içi büyümeyi düzenleyen proteinler p53 ve Rb'dir. E6 onkoproteini p53 proteini ile E7 onkoproteini ise Rb proteini ile etkileşir. Hem p53 hem de Rb, tümör baskılayıcı proteinlerdir. Normal hücre büyümesinde kromozomal hasar meydana geldiğinde p53 hücre büyümesini durdurur ve DNA tamir enzimlerinin hasarı onarmasına izin verir; Rb'de DNA hasarında apoptozu indükleyerek hücre büyümesini durdurur (57). E6 p53'e ve E7'de Rb'ye bağlandığında onların aktivitelerini engeller ve mutasyonlara, denetlenmeyen hücre büyümelere ve kromozomal kararsızlık durumuna neden olur (7, 58). Bu dengesizlik ve düzensiz hücre büyüme malign hücrelerin oluşma riskini artırır.

PV'ler, ikosahedral kapsid içeren küçük virüslerdir. Kapsid 360 kopya L1 ve belirsiz sayıda L2 kopyasından oluşur. Kapsid beş L1 proteininin iç içe geçmesiyle

oluşan 12'si pentavalan, 60'ı ise heksavalan toplam 72 kapsomer içerir (59). C-terminal kolu olarak adlandırılan L1 proteininin C ucu komşu kapsomerle etkileşime geçmek için kapsid tabanı boyunca uzanır. İkosahedral yapıyı sağlamlaştıran kapsomer içi disülfid bağları, sistein C428 ve C175 arasında bulunur ve virüs olgunlaşmasında önemli role sahiptir (60). PV'lerin filogenetik sınıflandırması, L1 "açık okuma alanı" (Open reading frame-ORF) sekanslarının benzerliğine dayanır, çünkü farklı PV türleri arasında en korunaklı kısım bu alandır. Bu sisteme göre, L1 ORF sekansı üzerinde %10'un üzerindeki bir farklılık yeni bir virüs türünü; %2-10 arasındaki farklılık ise yeni bir alt türü ifade eder. LCR, herhangi bir proteini kodlamaz, ancak replikasyonun başladığı kısım olan replikasyon orijini (ori) bu bölgenin üzerindedir. Viral genomun değişkenlik derecesi en yüksek olan bölgedir (7, 61).

Stanley MA'dan adapte ettiğimiz Şekil 2.1'de HPV viriyonunun yapısal olmayan proteinleri (E1-E7), kapsit genleri (L1 ve L2) ve "upstream regulatory region" (URR)'nin yerleşiminin şematize edildiği genom yapısı görülmektedir (62).



Şek. 2.1. HPV genomik yapısı

HPV'nin replikasyon proteinleri ve özellikleri Tablo 2.2'de; onkojenik proteinleri ve özellikleri Tablo 2.3'te ve kapsit proteinleri ve özellikleri Tablo 2.4'te özetlenerek sunulmuştur.

Tablo 2.2. HPV'nin replikasyon proteinleri ve özellikleri

Protein	Özellik (kaynak no)
E1	<ul style="list-style-type: none"> - 68kDa büyüklüğündedir (63). - E2 ile etkileşen, viral replikasyon için gerekli bir helikazdır (64). - PV'lerin L1'den sonra ikinci en korunaklı sekansıdır (7, 33). - Üç fonksiyonel alana sahiptir: (i) ATP'ye bağımlı helikaz görevi gören C-terminali, (ii) Replikasyonun orijinalindeki özgün dizileri tanıyan merkezi bir DNA bağlama alanı ve (iii) CDK2 fosforilasyonunu indükleyen ve in vivo viral DNA replikasyonu için gerekli olan N-terminali (65). - E1-E2 kompleksi, LCR'deki viral "ori" bölgesine bağlanır. Ardından, E1 proteini ori'de di-heksamerik kompleksi oluşturur ve replikasyonda ihtiyaç duyulan topoizomeraz I, DNA polimeraz α ve replikasyon proteini A gibi proteinlerin toplanmasını sağlar. E1 proteininin helikaz aktivitesi DNA sarmalının açılmasında ve elongasyonunda rol oynar (7).
E2	<ul style="list-style-type: none"> - 50 kDa büyüklüğünde viral replikasyon için gerekli proteindir (66). - Transaktivasyon N-terminali (200 amino asitlik) ve C-terminali (100 amino asitlik) olmak üzere iki alandan oluşan modüler bir proteindir (67). - C-terminali Brd4 proteinine bağlanır. E2-Brd4 kompleksi asetillenmiş histonlarda lizin tortuları ile etkileşime girer ve sitokinez sonrası virüs kopyalarının eşit bir şekilde dağılımına neden olur (7). - E2 proteini aynı zamanda bir E6 ve E7 genlerinin transkripsiyonel düzenleyicisidir (68).
E4	<ul style="list-style-type: none"> - Hücre keratin ağı ile ilişkili proteindir (69). - Genomik konumu ve E ile adlandırılmasına rağmen diğer E proteinlerinden farklı olarak geç dönemlerde ortaya çıkar (70). - PV'lerin en fazla oluşturduğu proteindir. Bu nedenle epidermin suprabazal ve granülosum katmanlarında kolaylıkla saptanır. Sitokeratin filamentöz ile etkileşir, viral replikasyona katkıda bulunur. Virüs olgunlaşması ve ekstrasellüler matriks şekillenmesinde rol oynar (7).

Tablo 2.3. HPV'nin onkojenik proteinleri ve özellikleri

Protein	Özellik (kaynak no)
E5	<ul style="list-style-type: none"> - Büyüme faktörü reseptörlerini dimerize edebilen, otofajik işlemi yavaşlatan, epitelial mezenkimal geçişi düzenleyen membrana bağlı küçük bir hidrofobik proteindir (71). - Viral yaşam döngüsünün aktif çoğalma aşamasında rol oynar (61). - Esas itibariyle Endoplazmik retikulum ve Golgi aparatlarında bulunur, ancak plazmatik ve nükleer membran yüzeylerinde de olabilir (72). - MHC-I ve siklooksijenaz (COX) ekspresyonunu inhibe eder. Bu mekanizmalar viral enfeksiyonun kalıcı olmasına katkıda bulunur (72). - Keratinositlerde kanalları tıkayarak hücre iletişimini engeller (73). - PDGFR-β aktivasyonu ile perisitleri de uyarak anjiyogenez tetikler (7).
E6	<ul style="list-style-type: none"> - Nükleer ve sitoplazmik küçük (~18 kDa) bir onkoproteindir (74). - Hüresel replikasyon mekanizmalarının reaktivasyonu, proliferasyon, apoptozisin inhibisyonunda rol oynar (75). - UV ışınlanması sonrası hücrelerin DNA tamirini engeller (71). - <i>Beta</i>-HPV'lerin E6'sı bazı p53 hedef genlerin transaktivasyonunu bloke eder ve viral replikasyonun duraklatılmasını engeller (76). - Primer epitel hücrelerinde telomeraz enzim aktivitesini artırır. Kanser hücrelerinin %90'ında telomeraz aktivitesinde artış gözlenmiştir (77).
E7	<ul style="list-style-type: none"> - Hüresel replikasyon mekanizmalarının reaktivasyonu, proliferasyon, genomik istikrarsızlık ve apoptozisin inhibisyonunda rol oynar (75). - E7 127 aminoasit içerir ve tümör baskılayıcı protein olan retinoblastoma proteini (pRB)'ne bağlanarak pRB'nin fosforilasyonuna neden olur (7). - DNA kopmalarına neden olarak hücre döngüsünü bozar ve hasar gören DNA'nın onarımında gecikmeye yol açar (78). - E6/E7 hücre döngüsünü bozar aşırı p16INK4a sentezine yol açar (79).
E8	<ul style="list-style-type: none"> - Bazı hayvan PV'lerinde bulunan E5 benzeri proteindir. HPV'lerin çoğunun E8 protein parçası birbirine benzemez (71). - Bazı PV'ler E8^{E2} füzyon proteinini kodlayan eklenmiş bir transkript oluşturur. E8^{E2} füzyon proteinleri viral transkripsiyon ve replikasyonun baskılanmasında rol oynarlar (80).

Tablo 2.4. HPV'nin kapsit proteinleri ve özellikleri

Protein	Özellik (kaynak no)
L1	<ul style="list-style-type: none"> - Major Kapsit proteinidir. Hümorale ve hücresele bağışıklığı uyarır, bu nedenle profilaktik aşı olarak kullanılır (81). - PV'lerin en korunaklı bölgesidir, PV sınıflandırmasında kullanılır (33). - 55 kDa büyüklüğündedir. Enfeksiyonlarda merkezi bir rolü vardır. C terminalinde, hücre zarında bulunan heparin sülfat reseptörlerine kapsidin bağlanmasında rol oynayan heparin bağlayan bir bölgesi bulunmaktadır (82). - L1 proteini konak hücreesine giriş için; $\alpha 6\beta 4$ integrin, heparan sülfat ve glikozaminoglikan yüzey proteinlerini kullanır (47). - Epitel tabakalarında bolca bulunur. Bu nedenle, aktif enfeksiyonun tespitinde serolojik olarak L1, hedef antijen olarak değerlendirilir (83).
L2	<ul style="list-style-type: none"> - Minör Kapsit proteinidir. 64-78 kDa ağırlığındadır. Molekül ağırlığı değişkenliği translayon sonrası modifikasyonlardan kaynaklanır (84). - DNA'ya bağlanma ve kapsit oluşumundan sorumludur (85). - L genleri, HPV partiküllerinin viral kapsit içinde paketlenmesine ve olgun virionların salınmasına katkıda bulunurlar (86).
L3	<ul style="list-style-type: none"> - Üçüncü bir yapısal protein olarak saptanmış olup sadece bovine papillomaviruses 4 (BPV-4'de) mevcut olup fonksiyonu hakkında fazla bir bilgi bulunmamaktadır (7).

2.4. HPV ile ilgili hastalıklar ve epidemiyolojisi

HPV'ler, enfekte genital cilt, mukoza zarları veya vücut sıvılarıyla temas yoluyla yayılır ve oral seks de dâhil olmak üzere her türlü cinsel ilişki yoluyla bulaşabilirler. Dünyada en sık cinsel yolla bulaşan viral enfeksiyonlar HPV kaynaklıdır (87). HPV enfeksiyonlarının % 70'i bir yıl içinde, % 90'ı ise iki yıl içinde temizlenmekte; kalıcı enfeksiyon gelişen kadınların yalnızca küçük bir kısmında serviks kanseri ortaya çıkmaktadır (88). HR-HPV tipleriyle oluşan enfeksiyonların tespit edilememesi, uygun tedavinin yapılmaması gibi durumlarda, enfeksiyon - özellikle genital bölgede- invaziv karsinoma kadar ilerleyebilir. Enfekte kadınların yaklaşık %5-10'unda kalıcı enfeksiyon oluşmakta ve aylar ya da yıllar içinde "servikal intra-epitelyal neoplazi" (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) olarak sınıflandırılan premalign glandüler ya da skuamoz intra-epitelyal lezyon gelişip kansere kadar ilerleyebilmektedir. CIN; CIN 1 (hafif displazi), CIN 2 (orta dereceliden belirgin displaziye kadar uzanan sınıf) ve CIN 3 (ağır displaziler ile in situ karsinoma kadar olan sınıf) olarak 3 sınıfta toplanır (89, 90). İnvaziv

enfeksiyonlar genellikle 7 ila 20 yıl kadar bir sürede kansere dönüşür. HPV enfeksiyonu sonrası serviks kanserine ek olarak anüs, vulva, vajina, penis ve orofarinks karsinomları gibi diğer maligniteler de bu virüs ile ilişkilendirilmiştir. Bu vücut bölgelerinin tümünde yaygın olan, HPV-16 tipidir. Diğer onkojenik olmayan HPV tipleri, kadınlarda ve erkeklerde siğillere (KA veya venereal siğiller) ve juvenil respiratuar papillomatoza neden olurlar. Bening HPV ile ilişkili lezyonların % 90'ından fazlası HPV 6 ve 11 tipleri ile ilişkilidir (91). İçeriği Khode ve arkadaşlarının tarafından düzenlenen Tablo 2.5'de HPV nedeniyle ortaya çıkan hastalıklar ve bu hastalıklardan sorumlu HPV tipleri listelenmiştir (92).

Tablo 2.5. HPV ile ilişkili hastalıklar ve sorumlu HPV tipleri (92)

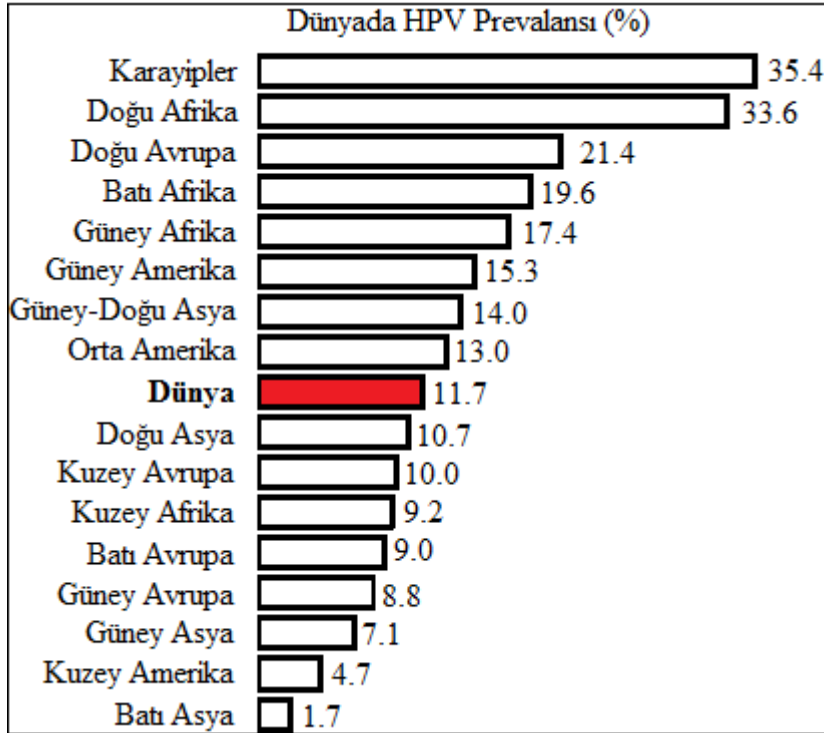
HPV'ye bağlı hastalıklar	HPV tipleri
Kütanöz siğiller	1-4, 7, 10, 26-28, 41,48, 57, 60, 63, 75-78
Bening EV	3, 5, 8, 9, 12, 14-17, 19-21, 23-25, 36, 47, 49, 50
Malign EV	5,8, 14, 17, 20,47
Laringeal papillomatozis	6, 11
Oral fokal epitel hiperplazisi	13, 32
Skuamöz hücreli karsinom (tonsil)	16, 18, 33
Anogenital siğiller	6, 11, 40, 42-44, 54, 55, 74
Anogenital intraepitelyal neoplazi	6, 11, 16, 18, 30, 31, 33, 40, 45, 51, 52, 56, 61, 64, 72-74
Servikal skuamöz hücreli karsinom	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
Servikal adenokarsinom	16, 18

De Villiers ve arkadaşlarından adapte ederek sunduğumuz Tablo 2.6'da onkojenik HPV'lerin doku tropizmi ve onkojenik potansiyellerine göre sınıflandırılması görülmektedir (33).

Tablo 2.6. HPV'lerin doku tropizmi ve onkojenik potansiyellerine göre sınıflandırılması

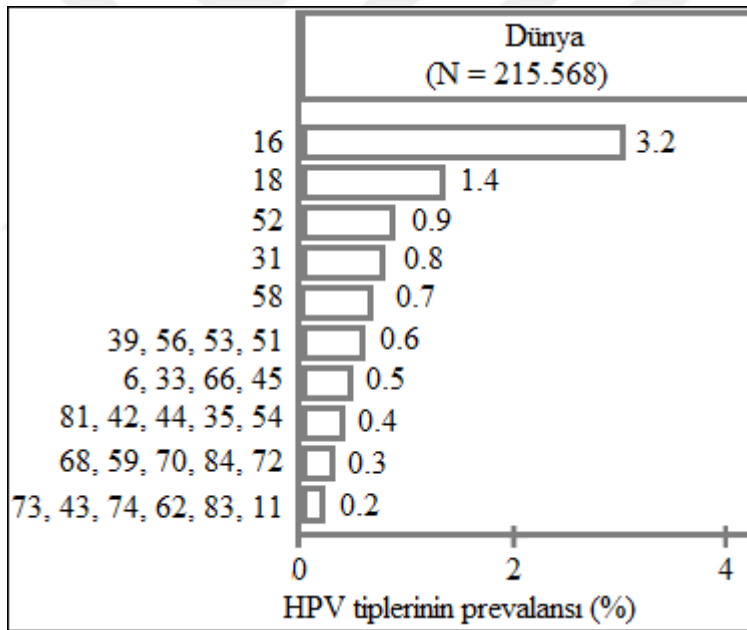
Tropizm	HPV genotipleri
Mukozal	HR: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 LR (olası karsinojen): 6, 11, 13, 26, 30, 32, 34, 42, 44, 53, 54, 61, 62, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 90
Kütanöz	1, 2, 4, 5, 8, 9, 12, 14, 15,17, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 36, 37, 38, 41, 47,48, 49, 50, 57, 60, 63, 65, 75, 76, 80, 88, 92, 93, 95, 96
Her ikisi	3, 7, 10, 28, 29, 40, 43, 78, 91, 94

Sanjosé ve arkadaşlarının 2007 yılında, normal servikal sitolojiye sahip 157.879 kadında genel HPV prevalansını %10.4 olarak bildirmiş; bu prevalansın Afrika'da %22.1 (20.9-23.4), Orta Amerika ve Meksika'da %20.4 (19.3-21.4), Kuzey Amerika'da %11.3 (10.6-12.1), Avrupa'da %8.1 (7.8-8.4), ve Asya'da %8.0 (7.5-8.4) şeklinde dağıldığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, tüm Dünya bölgelerinde HPV yaygınlığının 35 yaşından büyük kadınlarda azalma gösterdiği; Afrika, Amerika ve Avrupa'da, 45 yaş ve üstü kadınlarda HPV prevalansının belirgin bir ikinci zirve yaptığı ve HPV DNA pozitif kadınların %32'sinin HPV16 ve/veya HPV18 ile enfekte olduğu da belirtilmiştir (93). Bruni ve arkadaşlarının meta-analitik çalışmalarında, HPV'ye yönelik küresel veriler ortaya konmuştur. Bu çalışmada; Ocak 1995-Mayıs 2009 tarihleri arasında yapılan çalışmaların verileri ortak bir paydada toplanmıştır. Buna göre 194 çalışmadan 1.016.719 kadına ait veriye ulaşılmıştır. Normal sitolojiye sahip kadınlarda, PCR veya Hibrid yakalama 2 (HC2) yöntemi ile HPV DNA taranıp sonuçları değerlendirilmiştir. Az gelişmiş ülkelerde HPV prevalansı %7.2; gelişmiş ülkelerde %14.3 olarak bulunmuştur. Karayiplerde HPV prevalansı en yüksek iken, en az görüldüğü yer Batı Asya olarak belirtilmiştir. Dünyadaki prevalansa bakıldığında ise % 11.7 olarak ortaya konmuştur. (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. HPV'nin dünyadaki prevalansı (94)

Aynı çalışmada yaş gruplarına bakıldığında, çalışmanın büyük çoğunluğunu 35-54 yaş kadınların oluşturduğu, dolayısıyla genel tahminde bu yaş aralığının sonuçları baskın olarak etkilediği belirtilmiştir. Bu çalışmada kadınlar 6 yaş grubuna ayrılmıştır. (≤ 25 , 25–34, 35–44, 45–54, 55–64, ve >64 yaş) HPV pozitiflikleri yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde ≤ 25 grupta en yüksek pik (%19.2) görülmüş, bunu ≥ 45 grubun takip ettiği bildirilmiştir. Çalışmada dünya genelinde tipe özgü HPV prevalansı incelenmiştir. (Şekil 2.3.) Kıtalar bazında da ayrı ayrı HPV prevalansının ortaya konduğu çalışmada tüm kıtalarda en sık görülen tip HPV-16 olarak belirtilmiş, diğer tiplerin sıklıkları ise her kıtada farklılık göstermiştir. Yine bu çalışmada dünya çapında en sık tespit edilen HPV tiplerinin, invaziv serviks kanserinin asıl sorumlusu olan HPV alfa 5, 6, 7 ve 9 tip gruplarından oluştuğu görülmüştür (39, 94).



Şekil 2.3. Dünya genelinde HPV'nin tipe özgü prevalansı

Ülkemizde HPV'nin servikal örneklerdeki prevalansının moleküler yöntemlerle incelendiği yayınların bir kısmı Tablo 2.8'de verilmiştir. Bu çalışmalarda HPV prevalansı % 3-100 arasında bildirilmiştir. 2007'den günümüze HPV prevalansında elde edilen yüksek değerlerin örneklerin riskli gruptan alınmasıyla bağlantılı olduğu anlaşılmıştır. Nitekim servikal atipili ya da kanser tanılı hastaların biyopsi örneklerinden yapılan çalışmalarda yüksek pozitiflikler

saptanırken, rutin poliklinik hastalarının genel olarak tarandığı çalışmalarda daha düşük değerler elde edilmiştir.

Tablo 2.7. Ülkemizde moleküler yöntemlerle yapılan HPV çalışmaları

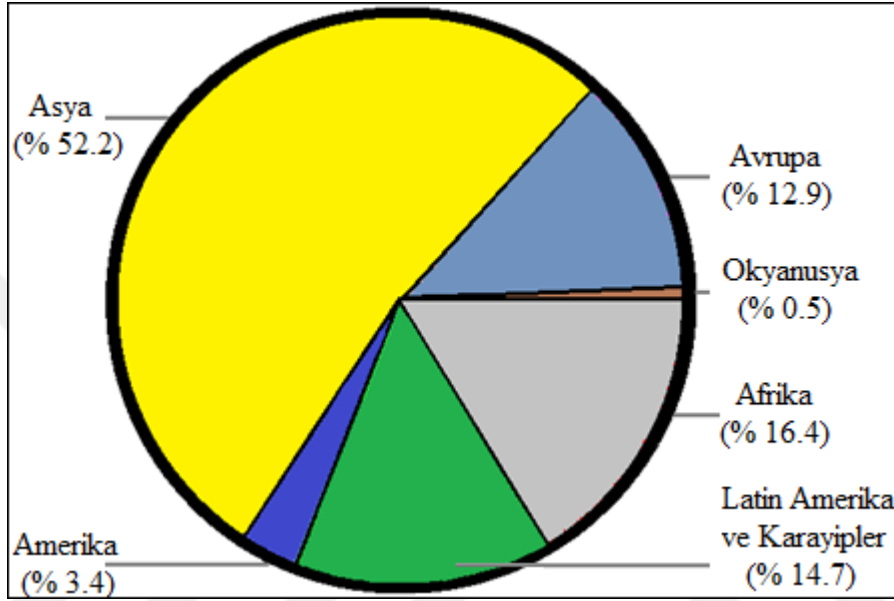
Yazarlar	Yılı	Yer	Örnek Tipi	Örnek Sayısı	HPV Prevalans (%)	Ref. No.
Dursun ve ark.	2013	Türkiye	Smear (random)	6388	25.0	(95)
Aslan ve ark.	2015	Eskişehir	Smear (random)	1081	3.0	(96)
Özalp ve ark.	2012	Eskişehir	Smear (random)	615	4.0	(97)
Fındık ve ark.	2012	Konya	Smear/sıvı bazlı sitoloji (random)	250	19.2	(98)
Ünal ve ark.	2014	Antalya	Smear (random)	1137	3.2	(99)
Yıldırım ve ark.	2012	Sivas	Smear (random)	140	6.4	(100)
Altun ve ark.	2011	Çukurova	Smear (random)	460	5.2	(101)
Avcı ve ark.	2013	Ankara	Smear (AN*)	77	61.0	(102)
Batmaz ve ark	2009	İstanbul	Smear (N**+AN)	248	37.9	(103)
Şahiner ve ark.	2012	Ankara	Smear (random)	356	30.6	(104)
Şahiner ve ark.	2012	Ankara	Smear (AN)	106	100.0	(105)
Çoban ve ark.	2016	Mersin	Biyopsi (AN)	77	17.0	(106)
Yetimalar ve ark	2009	İzmir	Smear (N+AN)	263	18.6	(107)
Ateşer ve ark.	2013	İstanbul	Smear (kronik vajinit***)	103	64.0	(108)
Barışık ve ark.	2017	İstanbul	Sıvı bazlı sitoloji	837	41.1	(109)
Bulut ve ark.	2016	Elazığ	Biyopsi (serviks kanseri)	38	92.0	(110)
Eroğlu ve ark.	2011	Konya	Smear (random)	404	32.5	(111)
Arı ve ark.	2016	Aydın	Smear + Biyopsi	100	100.0	(112)
Yavuzer ve ark.	2009	İstanbul	Biyopsi (AN+ serviks kanseri)	50	70.0	(113)
Ergünay ve ark.	2007	Ankara	Sıvı bazlı sitoloji	35	80.0	(114)

* **AN:** Anormal sitoloji (jinokojik muayenede HPV şüpheli lezyonu olanlar, servikal lezyon nedeniyle kolposkopi planlananlar veya ASCUS (Atypical Squamous Cells- Undetermined Significance = önemi belirsiz atipik skuamöz hücreler), ASC-H (Atypical Squamous Cells-cannot exclude HSIL / HSIL'i dışlamayan atipik skuamöz hücreler), LSIL (Low Grade Squamous İntraepithelial Lesion = düşük derece skuamöz intraepitelyal lezyon), HSIL (High Grade Squamous İntraepithelial Lesion = yüksek evre skuamöz intraepitelyal lezyon), AGC (Atypical glandular cells = atipik glandüler hücre),

** **N:** Normal sitoloji,

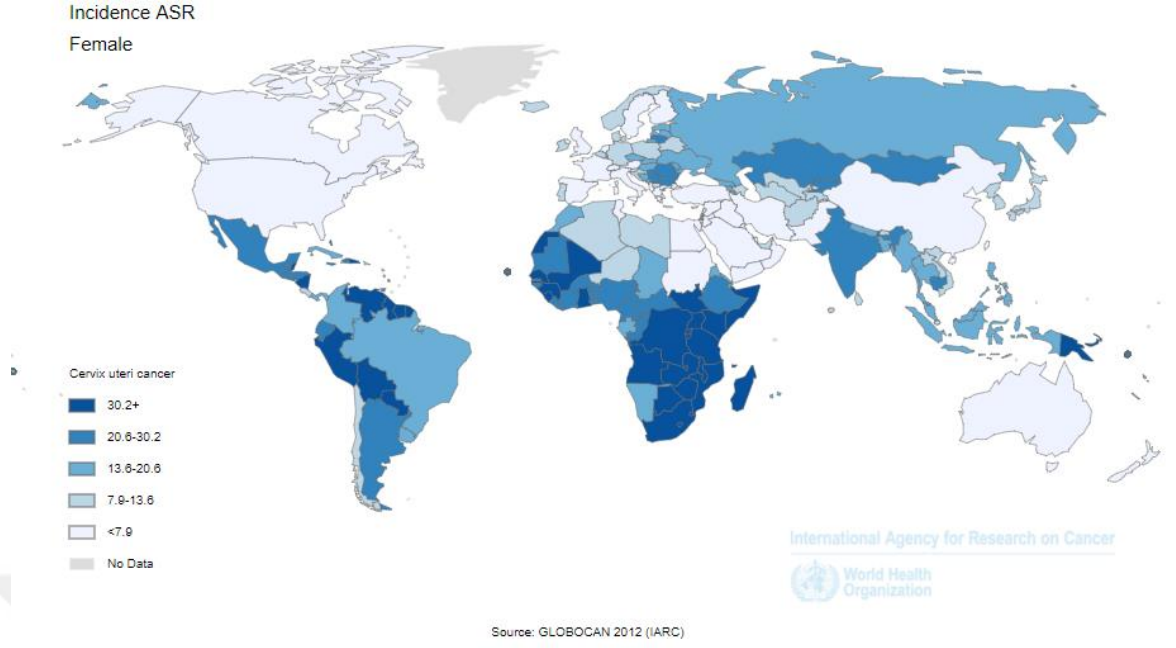
*** **Kronik vajinit:** Üç kere tedavi edilmesine rağmen geçmeyen akıntı şikâyeti olanlar

Persiste HPV'nin en korkulan etkisi serviks kanseridir. Serviks kanseri prevalansına ilişkin dünya genelindeki veriler GLOBOCAN 2012'de verilmiştir. Buna göre serviks kanserinin son 5 yıllık prevalansı, Asya ülkelerinde % 52.2 ile en yüksek, Kuzey Amerika ülkelerinde % 3.4 ile en düşük olduğu bildirilmiştir. GLOBOCAN 2012 serviks kanseri verileri Şekil 2.4'de görülmektedir.



Şekil 2.4. Kıtalarla göre GLOBOCAN 2012 serviks kanseri verileri

GLOBOCAN uluslararası kanser araştırma ajansı 2012 serviks kanseri insidansının dünya haritası ile belirtilen verilerine göre Türkiye en düşük insidansa sahip dilimde yer almakta olup, bu oran 100.000 kişide 4.1 olarak belirtilmiştir. Diğer ülkeler ve insidans dilimleri Şekil 2.5'de gösterilmiştir. Yine aynı kaynakta ülkemizde serviks kanseri nedeniyle ölüm oranlarına bakıldığında % 1.73 oranla en düşük dilim içinde ($\% \leq 2.4$) sınıflandırılmıştır (115).



Şekil 2.5. Ülkelere göre GLOBOCAN 2012 serviks kanseri insidansı

HPV bilgi merkezi (HPV Information Centre) 2017 yılı raporunda, serviks kanserine yakalanma riski taşıyan 15 yaş ve daha büyük yaşlarda 2 milyar 784 milyon kadının yaşadığı, dünyamızda her yıl yaklaşık 528 bin kadına serviks kanseri tanısı konulduğu ve 266 bin kadının da bu hastalıktan bildirilmiştir. Dünyadaki kadın nüfusunun yaklaşık % 80'inin az gelişmiş ülkelerde yaşadığı anlaşılan raporda 100.000 kişi başına dünya genelinde servikal kanser insidansı 14; az gelişmiş ülkelerde 15.7 ve gelişmiş ülkelere ise 9.9 olduğu belirtilmiştir. Yine 100.000 hasta başına tespit edilen mortalite oranı dünya genelinde 6.8; az gelişmiş ülkelerde 8.3 ve gelişmiş ülkelere ise 3.3 olduğu gösterilmiştir. Aynı raporda HPV 16 ve/veya 18 ile enfekte kadınlarda normal sitoloji/servikal kanser prevalansının dünya genelinde 4.1/69.4; gelişmekte olan ülkelerde 4.4/69.5; gelişmiş ülkelere ise 3.9/71.8 olduğu rapor edilmiştir (116).

Li ve ark. invaziv servikal kanser tanılı hastalarla yaptığı çalışmada HPV-16'nın tüm bölgelerde en yaygın tip olduğu; azalan prevalansla HPV-18, 58, 33, 45, 31, 52, 35, 59, 39, 51 ve 56 gibi yüksek riskli tiplerin geldiği ifade edilmiştir (117). Bir HPV tipi ile enfekte olan kişiler aynı anda başka HPV tipleriyle de enfekte olabilirler (koenfeksiyon) (118). Yapılan bu çalışmada bu oran tek etkenle enfekte

olanlarda %79.0, birden fazla etkenle enfekte olanlarda ise %11.2 olarak bildirilmiştir (117).

Benign epitelyal lezyonlar olan anogenital siğiller son derece bulaşıcıdır ve en sık 25-29 yaş arasındaki erkekler arasında görülür (119). Vardas ve ark. yaptığı çok merkezli klinik araştırmalarında; heteroseksüel erkeklerde herhangi bir HPV tipinin prevalansını peniste %18.7, skrotumda %13.1, perineal/perianal bölgede %7.9 ve herhangi bir bölgede HPV pozitifliğini %21.0 olarak bildirmişlerdir. Bu enfeksiyonların dünyadaki yaygınlığı dikkat çekici boyutlardadır (120).

HPV Information Centre tarafından bildirilen, servikal lezyonu olan ve olmayan kadınlarda, tüm dünyada en sık görülen 10 onkojenik HPV tipinin gelişmiş ve gelişmekte olan bölgelere göre karşılaştırılması Tablo 2.8'de sunulmuştur (116).

Tablo 2.8. Normal sitolojili ve servikal kanserli olgularda sık görülen HPV tiplerinin küresel prevalansı (116)

Dünya geneli		Normal sitoloji		Gelişmiş ülkeler	
		Az gelişmiş ülkeler			
HPV-tipi	Prevalans (%)	HPV-tipi	Prevalans (%)	HPV-tipi	Prevalans (%)
16	2.9	16	3.0	16	2.8
52	1.5	52	1.7	53	1.5
31	1.3	18	1.4	31	1.4
53	1.3	58	1.4	51	1.4
18	1.2	31	1.0	52	1.4
70	1.1	33	1.0	18	1.1
51	1.1	53	1.0	66	1.1
66	1.0	70	1.0	70	1.1
58	1.0	51	0.7	39	1.0
39	0.9	68	0.7	56	0.9
		Servikal Kanser			
16	55.2	16	55.8	16	55.7
18	14.2	18	13.7	18	16.1
45	5.0	45	5.9	33	4.7
33	4.2	58	5.0	45	3.9
58	3.9	52	4.0	31	3.7
31	3.5	33	3.8	58	3.7
52	3.5	31	3.4	52	3.2
35	1.7	39	1.6	35	1.4
39	1.5	35	2.0	39	1.4
59	1.4	59	2.0	51	1.0

2.5. HPV enfeksiyonlarında immün yanıt ve tedavi

HPV yalnızca intraepitelyal bir patojendir. Yaşam döngüsünün viremik fazı olmadığı gibi viral genlerin keratinositlerden başka bir hücrede eksprese edildiğine dair bir kanıt gösterilememiştir (62). Benign lezyonlu olguların çoğunda gelişen

etkili bir hücrel immun yanıt sayesinde lezyonların düzeldiği bilinmektedir. Hayvan modellerinde anogenital siğillerin, histolojik olarak CD4 + T hücresi baskın Th1 yanıtı sonucu gerilediği gösterilmiştir (17). Onkojenik HPV'ler ile enfekte olduğunda, enfeksiyonu temizlemek veya kontrol altına almak için etkin bir hücrel immun yanıtın oluşmaması kalıcı enfeksiyona sebep olur. Buda yüksek dereceli intraepitelyal neoplaziye ve invaziv karsinomaya ilerleme olasılığını artırır.

HPV'ler neredeyse hiç sistemik sekeller oluşturmadan aylarca konakçısında yaşamayı sürdürürler. Enfeksiyon ile lezyonların ortaya çıkışı arasındaki sürenin uzun oluşu virüsün konakçı savunmalarından etkili bir şekilde kaçtığı anlamına gelmektedir. Ayrıca, virüs kaynaklı bir hücre ölümü olmadığı için inflamasyon oluşmaz. Sonuçta sitokin salınımı ya az olur ya da hiç olmaz. Bu da antijen sunan hücrelerin aktivasyonu ve göçünü olumsuz etkiler (62). HPV enfeksiyonunun sonucunun belirlenmesi ve HPV'nin temizlenmesinde merkezi rolü bağışıklık sistemi oynar. Savunma mekanizmaları hem doğal hem de adaptif bağışıklık sisteminin bileşenlerini içerir. Doğal bağışıklıkta virüs bulaşmış hücreler ve virüsün kendisi Natural Killer (NK) hücreleri tarafından yok edilirken; adaptif immün yanıtta antikorlar ve T hücreleri rol oynar. İnterferon (IFN)'lar enfekte olmuş hücrelerde anti-viral etki gösterirler. Mukozal dokulardaki antikor üretimi, mukozal yüzeyde HPV enfeksiyonunu önler (121).

HPV enfeksiyonu için özgün bir antiviral ilaç yoktur. Serviksin invaziv hastalık yönünden taranarak erken tanı konulması ve tedavinin başlanması, serviks kanserine ilerlemenin önlenmesinde önemlidir. Tedavide servikal kanser öncesi lezyonlara kriyoterapi, triklorasetik asit uygulanması, lezyonların lazer ya da elektrocerrahi ile çıkarılması (loop electrosurgical excision procedure [LEEP]) gibi yöntemler kullanılmaktadır (122).

2.6. HPV önleme stratejileri ve aşılar

HPV tespiti için duyarlı ve özgün moleküler tanı araçlarının kullanıma girmesinin bir sonucu olarak HPV enfeksiyonlarına karşı etkili profilaktik aşuların geliştirilmesi mümkün olmuştur (123). Serviksi tarama stratejileri ülkeler arasında farklı olabilmektedir. Bazı ülkeler, hedef nüfustaki kadınların ayrı ayrı tanımlandığı ve taramaya davet edildiği nüfus temelli programlara sahiptir. Bu tür programlar ülke

çapında veya yalnızca ülkenin belirli bölgelerinde uygulanabilir. Serviks kanseri taramasında en sık kullanılan yöntem sitolojidir. Serviks kanseri önlemeye yönelik en yaygın iki alternatiften biri "asetik asitli görsel muayene" (visual inspection with acetic acid: VIA) veya Lugol iyotlu görsel muayene (VILI); diğeri ise HPV DNA testidir (124). VIA "gör ve tedavi et" yaklaşımı ile sitoloji tabanlı taramaya alternatif bir yöntemdir. Sarian ve ark. VIA, VILI ve Pap'ın birlikte kullanılmasının servikal anomalilerin özgün olarak tespitinde önemli olduğunu bildirmişlerdir (125). HPV DNA testini bazı ülkeler sitoloji taramasına ek olarak veya birincil tarama testi olarak kullanmaya başlamıştır. Ferreccio ve ark. yaptığı çalışmada servikal intraepitelyal neoplazi (CIN2 +) tanısında HPV DNA veya Pap testi ile hastalar taranmış, pozitif çıkanlar kolposkopik olarak incelenmiş ve buna göre HPV DNA testinin Pap testine göre dört kat daha duyarlı olduğu ve üç kat daha fazla CIN2 + lezyonunu tanımladığı bildirilmiştir (126).

HPV'ye karşı ilk olarak dört değerli aşı (Gardasil) 2006 yılında ve daha sonra da iki değerli aşı (Cervarix) 2007 yılında geliştirilmiş ve onaylanmıştır. 2016 yılına kadar dünya çapında 80 milyon genç kız ve kadına HPV aşısının uygulandığı tahmin edilmektedir. HPV aşılmasının ulusal aşı programlarına girişi Avustralya ve Almanya'da 2007; İngiltere'de 2008; çeşitli İskandinav ülkelerinde 2009-2012; Japonya'da 2010 yıllarında olmuştur (127). Yurdumuzda henüz bir aşılama programı mevcut değildir (116). HPV aşısı ile önlenemez CYBE'lerden biridir. HPV aşıları yüksek riskli HPV tiplerinin neden olduğu servikal, vajinal, vulvar ve anal kanserlerin ileri dereceli lezyonlarına karşı oldukça etkilidir. HPV aşılarının 100'den fazla ülkede ruhsatlandırıldığı ve Kasım 2016'ya kadar 87 ülkenin ulusal aşı programlarına entegre edildiği bildirilmiştir (128).

Üç değerli aşı FDA tarafından onaylanmıştır: HPV 16 ve 18'e karşı koruyan iki değerli aşı (HPV2); 6, 11 16 ve 18 tiplerine karşı koruma sağlayan dört değerli aşı (HPV4); 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 ve 58 türlerine karşı koruma sağlayan dokuz değerli aşı (HPV9). HPV aşılama programlarının sayesinde HPV enfeksiyonları, genital siğiller ve HPV'ye atfedilen prekanseröz lezyon insidanslarında azalma gözlemlendiği; ancak, HPV enfeksiyonunun servikal kansere dönüşmesi uzun yıllar aldığından, aşılamanın serviks kanseri hızı üzerindeki etkilerini anlamak için biraz daha zamana ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (129).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Anket

Bu çalışmada Nisan-Aralık 2016 tarihleri arasında çeşitli jinekolojik şikâyetlerle Nene Hatun Kadın Doğum Hastanesine başvuran 263 hasta yer aldı. Çalışma Atatürk Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu tarafından 04.04.2016 tarihli B.30.2.ATA.0.01.00/50 sayılı yazı ile onaylandı (Ek-1). Klinik örneklerin toplanması için Halk Sağlığı Müdürlüğünden gerekli izinler alındı. Hastalara yapılacak tüm işlemlerle ilgili olarak, detaylı bilgi verildi ve yazılı onamları alınarak onların sosyodemografik bilgilerini elde etmek ve HPV infeksiyonu açısından risk oluşturacak faktörlerin belirlenmesi amacıyla anket yapıldı (Ek-2).

3.2. Smear Örneklerinin Toplanması

Polikliniğe başvuran hastalar rutin jinekolojik muayene için masaya alındı. Örnekler, steril spekulum takıldıktan sonra tek kullanımlık steril servikal fırça ile servikal ostan saat dönüş yönünde 360° döndürülerek toplandı. Alınan örnek fırçayla beraber steril tüplere konularak mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Laboratuvarında tüplere 1'er ml steril serum fizyolojik katılarak 3500 devirde 15 dakika satrifüj edildi. Örnek içeren sıvılar ependorf tüplere aktarılarak çalışacağı süreye kadar -80°C derin dondurucuda saklandı.

3.3. DNA İzolasyonu

Servikal smear örneklerinde DNA izolasyonu amacıyla GF-1 Viral Nucleic Acid Extaction (Vivantis, Malaysia) ® kiti kullanıldı. İzolasyon aşamaları üretici firma önerileri doğrultusunda kısaca şu şekilde gerçekleştirildi;

- a. Isı bloğu ve santrifüj açıldı.
- b. Çalışacak örnekler vortekslenerek homojen hale gelmesi sağlandı.
- c. Vortekslenen örneklerden 200µl alınarak 2ml'lik ependorflara aktarıldı.
- d. Her örneğin üzerine izolasyon kiti içerisinde bulunan ve -20°C'de muhafaza edilen proteinaz K'dan 50 µl eklendi.

- e. Ayrıca bir ependorfta çalışacak örnek sayısı kadar Buffer VL'den 200 µl, Carrier RNA'dan 15 µl olacak şekilde karışım hazırlandı. Her bir örneğe 215 µl eklendi, vortekslendi ve ısı bloğunda 65°C'de 10 dakika bekletildi.
- f. Süre sonunda her örneğe 280µl absolut etanol eklenip tekrar vortekslendi. Hazırlanan örnek filtrelili tüplere aktarıldı.
- g. Filtrelili tüpteki örnekler
 - 5.000 x g'de 1dk santrifüj edildi.
 - 500 µl wash buffer 1 çözeltisi eklendi ve 5.000 x g'de 1dk santrifüj edildi.
 - 500 µl wash buffer 1 çözeltisi eklendi ve 5.000 x g'de 1dk santrifüj edildi.
 - 500 µl wash buffer 1 çözeltisi eklendi ve 5.000 x g'de 3dk santrifüj edildi.
 - Son olarak 5.000 x g'de devirde 1 dk daha santrüj edildi.
 - Her santrifüj sonrası dipte kalan kısım döküldü.
- a. Tüm işlemler sonrası filtrelili tüpteki örneklere 50µl elution buffer eklendi. 2dk bekletildi ve 5.000 x g'de 1dk santrifüj edildi.
- b. Elde edilen nükleik asit süspansiyonları PCR zamanına kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

HPV DNA'nın saptanması amacıyla L1 gen bölgesine yönelik PCR testi gerçekleştirildi. Test MY09, MY11 ilk tur ve GP5, GP6 ikinci tur primer çiftleri kullanılarak Entiauspe ve ark. tarafından belirtildiği koşullarda reaksiyona sokuldu (130). Primer dizilimleri, hedef gen bölgesi ve amplicon büyüklükleri tablo 3.1'de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. HPV tarama ve tiplendirmesinde kullanılan primerler

Primer	Sekans (5'-3')	Hedef Gen	Amplicon uzunluğu
MY09	CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC	L1	450 bp
MY11	GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG		
GP5+	TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC	L1	140 bp
GP6+	GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C		
	M = A + C, R = A + G, W = A + T, Y = C + T		

Çalışmada kullanılan PCR toplam hacmi 50 µl olacak şekilde ayarlandı. PCR karışımı örnek başına aşağıdaki oranlarda hazırlandı;

- a. PCR Master Miks 25 µl [Thermo scientific 2X PCR master mix (Life Technologies, UK)]
- b. Forward primer (MY09/GP5) 1 µl
- c. Reverse primer (MY11/GP6) 1 µl
- d. ddH₂O 17 µl
- e. Kalıp DNA'dan 6 µl

PCR testi için ABI Veriti (Applied Biosystems) thermal döngü cihazı (Şekil3.1.) kullanıldı. Isı şartları aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.



Şekil 3.1. PCR cihazı

HPV MY09/11 primerleri ile amplifikasyon döngüsü aşağıdaki gibi gerçekleştirildi;

- 95°C 5 dk
 - 95°C 1 dk
 - 55°C 1 dk
 - 72°C 1 dk
 - 72°C 10 dk
- } 40 döngü

HPV GP5+/6+ Nested-PCR için MY09/11 PCR ürünü kullanıldı. Amplifikasyon döngüsü aşağıdaki şekilde ayarlandı;

- 95°C 5 dk
 - 94°C 30 sn
 - 45°C 30 sn
 - 72°C 30 sn
 - 72°C 10 dk
- 40 döngü

3.5. Agar Jel Elektroforezi

HPV'ye özgü amplifikasyon ürünleri %1'lik agaroz jelde yürütülerek araştırıldı. İşlemin ayrıntıları aşağıda sıralanmıştır

- a. Jelin hazırlanmasında 10X'lik TBE (Tris-borate-EDTA, Sigma) 0.5X olacak şekilde aşağıdaki gibi sulandırıldı.
 - 950 ml distile su
 - 50 ml TBE
- b. 100ml 0.5XTBE tamponu içerisine % 1'lik olacak şekilde agaroz tartılıp eklendi, mikrodalga fırında çözülene kadar ısıtıldı.
- c. Jel ısısı düşünce katılma gerçekleşmeden içerisine 10 µl etidyum bromid (Sigma-Chemical Co.) katıldı.
- d. Jel kalıbına uygun taraklar takılarak hazırlanan agaroz jel yavaşça döküldü ve oda ısısında katılması beklendi.
- e. Katılan jel elektroforez tankına (Wealtec, Elite 300 Plus, USA) yerleştirildi. Taraklar çıkarıldı.
- f. PCR ürününden 5 µl alınarak yükleme boyası (6X Loading Dye Vivantis, Malaysia) ile karıştırılarak jeldeki kuyucuklara yüklendi.
- g. Jele yüklenen örneklerin başına ve sonuna 2'şer µl olacak şekilde merdivenler (Thermo Scientific GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder) yerleştirildi.
- h. 120 V, 400 mA gücünde 20 dk boyunca jelde yürütüldü.
- i. İşlem sonrası değerlendirme UV cihazı (Vilber- Lourmat) ile yapıldı. (Şekil 3.2)

PCR ile elde edilen HPV pozitif ampliconlar, QIAquick PCR Purification Kiti (Qiagen) ile üretici firma önerileri doğrultusunda saflaştırıldı.



Şekil 3.2. Jel elektroforez düzeneği

3.6. Sekanslama ve Filogenetik Analiz

Saflaştırılmış HPV pozitif DNA ürünleri ile MY09/MY11 primerleri kullanılarak her iki yönde dizi analizi gerçekleştirildi. Dizi analizi Sanger sequencing metodu ve BigDye Terminator v3.1 Cycle sekans kiti kullanılarak, ABI 3110x1 DNA analiz cihazı yoluyla gerçekleştirildi (Applied Biosystems, USA). Nükleotid sekansları, Geospiza Sürüm 1.4.0'da (Geospiza, Inc. Seattle, Washington) FinchTV programı ile değerlendirildi. Referans HPV DNA sekansları GenBank'dan (NCBI, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) elde edildi. Referans sekanslar ve çalışma örneklerimizin hizalanmalarında BioEdit yazılım paketi (v7.2.5) kullanıldı. Gen Bankası referans verileri ve çalışmamız HPV suşları MEGA programı yoluyla işlenerek filogenetik analizleri gerçekleştirildi (131).

3.7. İstatistik Analizleri

İstatistiksel analizler sosyodemografik değişkenler arası ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılmıştır. Değişkenlerin analizinde X² (Ki-kare) testi kullanılmış; elde edilen $p < 0.05$ değerleri istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

HPV varlığının araştırılması amacıyla Nisan-Aralık 2016 tarihleri arasında Nene Hatun Kadın Doğum Hastanesine başvuran sağlıklı veya hasta cinsel aktif 263 gönüllü kadından servikal smear örnekleri alındı. Hastalar sosyo-kültürel düzeyin belirlenmesi amacıyla anket çalışmasına dâhil edildi. Ankette kadınların medeni hali, eğitim durumu, mesleği, alkol ve sigara alışkanlıkları, kondilom, sifiliz ya da başka bir CYBH geçirip geçirmediği sorgulandı. Sonuçlar Tablo 4.1’de özetlendi.

Çalışmaya dâhil edilen kadınların yaşı 18-80, yaş ortalaması ise 39 (standart sapma \pm 11.4 yıl) olarak tespit edilmiştir. Yaş grupları dağılımına göre en fazla olgunun % 37.3 oranıyla 35-44 yaşlarında toplanmış; en yüksek HPV pozitifliği de yine bu grupta görülmüştür. HPV pozitifliği 18-44 yaşlarından itibaren hızlı bir artış; 45 yaşından sonra hızlı bir düşüş göstermiştir. Ancak HPV pozitifliği farklı yaş gruplarına göre istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermemiştir ($p = 0.66$)

Olguların 258’i evliydi ve HPV pozitifliklerinin hepsi bu gruptan elde edildi. Olguların 5’i boşanmış/dul olup tümü HPV negatifti. HPV pozitifliği medeni durum değişkenliğine göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p = 0.55$).

HPV pozitif kadınlardan 1 tanesi dışında diğerleri ev hanımıydı. HPV pozitifliği kadınların mesleklerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği görülmüştür ($p = 0.39$).

Olguların çoğunluğu ortaokul ya da daha düşük eğitim düzeylerine sahipti. Lise ve üstü eğitim seviyesi olanların oranı % 14.1 idi. Ancak, istatistiksel olarak eğitim düzeyi ve HPV pozitifliği arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0.25$).

Kadınların hiçbirinde alkol kullanma hikâyesi yoktu. Böylece tüm HPV suşları alkol kullanmayan kadınlardan izole edilmiştir. Sigara içimi 35 kadında (% 13.3) tespit edildi. HPV pozitif kadının üçü sigara içiyordu. HPV pozitifliği ile sigara içme alışkanlığı arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilememiştir ($p = 0.59$).

Ankete dâhil edilen 2 kadında CYBH öyküsü mevcuttu. Bu kadınlardan birinin kendisinde daha önce geçirilmiş bir kondilom öyküsü, diğer kadının ise eşinde halen devam eden birkondilom öyküsü vardı. Geçirilmiş kondilomu olan kadında HPV tespit edilemezken, eşinde kondilom öyküsü olan kadında ikinci tur

PCR ile HPV pozitif saptanmıştır. Çalışmamızda STD varlığı ile HPV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p = 0,12).

Tablo 4.1. Çeşitli demografik göstergelere göre HPV pozitifliği

Sosyodemografik değişkenler	HPV pozitif n (%)	HPV negatif n (%)	Toplam n (%)	P-değeri
Yaş ortalaması (39.0 ± 11.4)				
Yaş grupları				0.66
18-24 yaş	1 (3.8)	25 (96.2)	26 (100.0)	
25-34 yaş	4 (5.8)	65 (94.2)	69 (100.0)	
35-44 yaş	9 (9.2)	89 (90.8)	98 (100.0)	
45-60 yaş	2 (3.5)	55 (96.5)	57 (100.0)	
60 yaş üstü	1 (7.7)	12 (92.3)	13 (100.0)	
Medeni Hal				0.55
Evli	17 (100.0)	241 (98.0)	258 (98.1)	
Boşanmış/Dul	-	5 (2.0)	5 (1.9)	
Çalışma durumu				0.39
Çalışan	1 (5.9)	6 (2.4)	7 (2.7)	
Ev hanımı	16 (94.1)	240 (97.6)	256 (97.3)	
Eğitim Durumu				0.25
Ortaokul ya da daha az	13 (76.5)	213 (86.6)	226 (85.9)	
Lise ve yukarısı	4 (23.5)	33 (13.4)	37 (14.1)	
Alkol kullanımı				-
Evet	-	-	-	
Hayır	17 (100.0)	246 (100.0)	263 (100.0)	
Sigara kullanımı				0.59
-Evet	3 (17.6)	32 (13.0)	35 (13.3)	
-Hayır	14 (82.4)	214 (87.0)	228 (86.7)	
CYBH öyküsü				0.12
Evet	1 (5.9)	1 (5.9)	2 (0.8)	
Hayır	16 (94.1)	245 (94.1)	261 (99.2)	

Çalışmamızda HPV pozitifliği tespit edilen 17 örneğin sekanslarının iyi çalışmadığı görülen 3 örnek hariç 14'ü ile filogenetik analiz yapıldı. Tiplendirilen örneklerin sonuçlarına bakıldığında 6'sının HPV-70, 4'ünün HPV-16, geri kalan 4 örneğin ise HPV-54, 72, 81 ve 114 olduğu görüldü. Toplam prevalans % 6.5 bulundu. Bununda % 28.6'sı HR-HPV, % 71.4'ü LR-HPV olarak tespit edildi.

Tablo 4.2. Risk gruplarına göre HPV tiplerinin dağılımı

	HPV tipleri	Sayı (%)
LR-HPV	54, 70, 72, 81, 114	10 (3.8)
HR-HPV	16	4 (1.5)
Tanımsız HPV	-	3 (1.1)
Toplam	-	17(6.5)

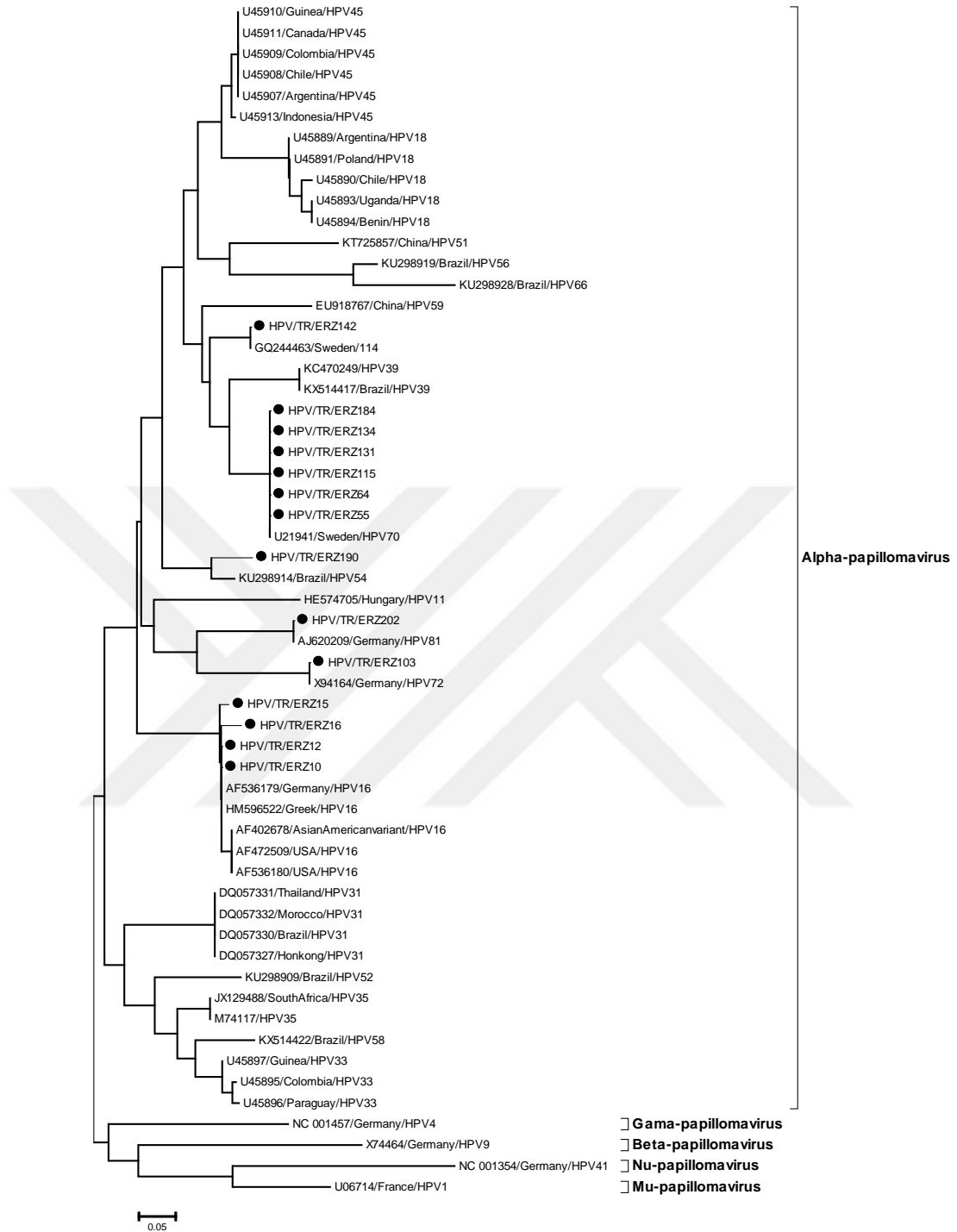
Yaşa göre pozitiflik oranları Tablo 4.3’de görülmektedir.. Buna göre orta yaş diyebileceğimiz 35-44 yaş grubunda % 9.2 ile en yüksek oranda pozitiflik görüldü. En düşük pozitiflik oranı %3.5 ile 45-60 yaş grubunda tespit edildi.

Tablo 4.3. Yaşa göre tespit edilen HPV pozitiflikleri ve oranları

Yaş grupları	Hasta sayısı	HPV (+)	% *
18-24 yaş	26	1	3.8
25-34 yaş	69	4	5.8
35-44 yaş	98	9	9.2
45-60 yaş	57	2	3.5
60 yaş üstü	13	1	7.7
TOPLAM	263	17	6.5

* Satır yüzdesidir

Filogenetik analiz yapılırken insanda hastalık yapan Alfa, Beta, Gama, Mu ve Nu olmak üzere 5 genusa yer verildi. Filogenetik ağaç oluşturulurken NCBI Gen Bank’tan elde edilen referans suşlardan yararlanıldı. Bu suşlara ait referans numaraları şöyledir: U45910, U45911, U45909, U45908, U45907, U45913, U45889, U44891, U45890, U45893, U45894, KT725857, KU298919, KU298928, EU918767, GQ244463, KC470249, KX514417, U21941, KU298914, HE574705, AJ620209, X94164, AF536179, HM596522, AF402678, AF472509, AF536180, DQ057331, DQ057332, DQ057330, DQ057327, KU298909, JX129488, M74117, KX514422, U45897, U45895, U45896, NC001457, X74464, NC001354, U06714.



Şekil 4.1. HPV pozitif örneklerde L1 gen bölgesinin filogenetik analizi. Beş farklı genus içerisinde sınıflandırılan insan papillomavirusları filogenetik ağaçta belirtilmiştir. Tümünün Alfa genusu içerisinde yer aldığı çalışma örneklerimiz yuvarlak şekilli siyah noktalarla gösterilmiştir. Filogenetik ağaçta belirtilen diğer örnekler NCBI Gen Bank'tan elde edilmiş olup erişim numaraları üzerlerindedir.

5. TARTIŞMA

HPV'nin dünyadaki ortalama prevalansı % 11.7 olarak bildirilmiştir (94). Çalışmamızda 263 olgunun servikal smear örnekleri HPV-DNA yönünden incelenmiş, 17 (% 6.5)'sinden pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu iki sonuç karşılaştırıldığında Erzurum ilindeki HPV pozitifliğinin dünya ortalamasının çok altında olduğunu söylemek mümkündür. Ancak unutmamak gerekir ki HPV pozitifliği, incelenen olgu grubunun taşıdığı risk faktörlerine göre değişkenlik gösterecektir. Örneğin servikal kanserli olgularda prevalansın yüksek olması beklenirken, sağlıklı normal popülasyonda daha düşük olması beklenir.

Özellikle HR-HPV ile enfekte bireylerde enfeksiyonun gerilememesi durumunda servikal kansere kadar ilerleyen displaziler görülebilmektedir. DSÖ'nün Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'nın 2012 verilerine göre serviks kanseri prevalansı en yüksek olarak Asya ülkelerinde (% 52.2) en düşük olarak da Kuzey Amerika ülkelerinde (% 3.4) olduğu bildirilmiştir (115). Cocuzza ve arkadaşlarının İtalya'da yaptıkları çalışmada, kadınların % 44.2'sinde HPV DNA saptanmıştır. Tespit edilen tiplerin de 16, 18, 31, 33, 45, 51 ve 52 olduğu görülmüştür. Bu çalışmaya servikal displazisi olan kadınlar dâhil edilmiş olması HPV DNA pozitifliğinin yüksek olmasında rol oynadığını düşünmekteyiz. Yine bu çalışma ve bizim çalışmamızda ortak olarak sadece HPV-16 tipinin tespit edilmesini de iki çalışmada yer alan hasta gruplarının risk durumu açısından farklılığına bağlamaktayız (132). Çalışmamızda servikal displazi olsun olmasın polikliniğe başvuran kadınlardan smear örnekleri alınmış, dolayısıyla Erzurum ilindeki kadınlarda genel HPV prevalansının taranması ve tiplendirilmesi amaçlanmıştır.

HPV ile ilgili yapılan çalışmalara genel olarak bakıldığında, çalışmaya dâhil edilen örneklerin herhangi bir şikâyetle polikliniğe başvuran veya nadiren kontrol amaçlı gelmiş hastalardan elde edildiği görülmüştür. Bu nedenle yapılan çalışmaların büyük bir kısmının toplumun genelini yansıtan çalışmalar olarak değerlendirilmesi mümkün görülmemektedir. Aynı şekilde bizim çalışmamızda da polikliniğe başvuran hastalardan örnekler toplanmıştır. Gerçek prevalansın öğrenilmesi açısından cinsel aktif kadınların taranması daha anlamlı olacaktır.

HPV enfeksiyonlarının çoğu herhangi bir semptom vermeden gerilemektedir. Orta yaşta kadınların kalıcı HPV taşıyıcılıklarının % 4-10 aralığında olduğu tahmin

edilmektedir. Bu kadınlar, serviks kanseri ve HPV ile ilgili muhtemel diğer kanserler yönünden gerçek yüksek riskli grubu oluşturmaktadırlar (133). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, orta yaş diyebileceğimiz 35-44 yaş grubunda (% 9.2) yüksek pozitiflik görülmüştür. Fakat kalıcı ya da geçici enfeksiyonun tespiti yönünde bir araştırmaya gidilmediği için bu konuda bir veri elde edilmedi.

Birçok sanayileşmiş ülkede genç erişkin kadınlarda HPV prevalansı % 40-80 arasında gözlemlenmekte, hayat boyu karşılaşma olasılığı ile % 80-90'ı bulabilmektedir(133). Bruni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 1995-2009 yılları arası 197 çalışmanın sonuçları incelenerek 1,016,719 kadına ait veriye ulaşılmıştır. Elde ettikleri verileri ortak bir havuzda yorumlamışlardır. Bu çalışmada kadınlar 6 yaş grubuna ayrılmış; yaş gruplarındaki mevcut sayılar göz önüne alındığında olguların büyük çoğunluğunun 35-54 yaşındaki kadınlardan meydana geldiği, bundan dolayı da bu yaş aralığının sonuçları baskın olarak etkilediği belirtilmiştir. Bu çalışmada HPV pozitiflikleri yaş gruplarına göre değerlendirilmiş en yüksek pik ≤ 25 yaş grubunda görülmüş; bunu ≥ 45 yaş grubunun takip ettiği bildirilmiştir (94). Tayland'da yapılan çalışmada 20-70 yaş arası 1523 kadın HPV yönünden taranmıştır. Yaş gruplarına göre HPV prevalansına bakıldığında, 20-30 yaş aralığında en yüksek prevalans görülmüş, giderek azalan prevalans 60-70 yaş aralığında yükselerek ikinci en yüksek değere ulaşmıştır (134). Martins ve arkadaşlarının Brazilya kadınlarını inceleyen çalışmasında 665 örnek HPV yönünden taranmış; yaş artışı ile birlikte HPV enfeksiyonu sıklığının azaldığı gözlenmiştir. Bu çalışmada 31 yaş altı kadınlarda HPV DNA prevalansı % 58.2 iken, 31-45 yaş arasında % 52.3, 45 yaş üstünde ise % 40.4 olarak bulunmuş, giderek azalan bir ivme olduğu gözlenmiştir (135). Jennifer ve arkadaşlarının yaşa göre HPV prevalansını inceledikleri küresel bir çalışmada 375 yaygın taranmış 346.160 kadın değerlendirilmiştir. Buna göre çoğu coğrafi bölgede, genel HPV prevalansı ≤ 25 yaş grubunda pik yapmış, yaş artışı ile prevalans azalma göstermiştir. Buna karşılık Orta ve Güney Amerika ve Afrika'daki kadınlarda HPV prevalansı 45 yaş ve üstü kadınlarda artmış veya stabil seyretmiştir. HPV prevalansında farklı coğrafik bölgelerde farklı yaşlarda görülen ikinci pikler göz önüne alındığında ileri yaşlarda görülen HPV prevalansındaki artmanın büyük ölçüde yeni edinilen HPV enfeksiyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür. Küresel bölgelerdeki cinsel davranış

farklılıklarını yansıttığı düşünölen bu durum, ileri yaştaki kadınlarda görölen latent HPV enfeksiyonlarının reaktivasyonuna da bağlanabileceği ortaya atılmıştır (136). Ülkemizden yapılan Dursun ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli çalışmada Ege, Akdeniz, İç Anadolu ve Karadeniz bölgelerindeki örnekler ortak bir havuzda değerlendirilmiştir. Bu çalışmada yaş faktörü incelenmiş, HPV prevalansı en yüksek 25 yaş altı grupta tespit edilmiştir. Bunu da 30-39 yaş ve 60 yaş üstü grup takip etmiştir (95). Bizim çalışmamızda ise en yüksek pozitiflik 35-44 yaş grubunda (% 9.2) görölmüş, 45 yaş üstünde % 4.2, 25 yaş altında ise %3.8 olarak bulunmuştur. İlk koit ve/veya evlilik yaşının sorgulanmadığı çalışmamızda 25 yaş altı gruptaki düşük prevalans hakkında yorum yapmak mümkün gözükmemektedir.

DSÖ'nün dünyadaki son 5 yılın servikal kanser prevalansını özetlediği haritada en düşük servikal kanser görölme dilimi 100.000'de <36.8 olarak bildirilmiş, yine bu çalışmada ölkemizin tahmini prevalansı 16.68 olarak gösterilmiştir (115). Ülkemizde serviks kanserinin başlıca sebebi olan HPV'ye dair çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Eskişehirde yapılan bir çalışmada 30-65 yaş arasındaki kadınlardan servikal smear örnekleri alınmış, %3'ünde HPV pozitifliği tespit edilmiştir (96). Yine Eskişehir'den 615 olgudan oluşan bir çalışma yapılmış, HPV pozitifliği % 4.2 oranında tespit edilmiştir (97). Konyada yapılan çalışmada servikal örnekler retrospektif olarak incelenmiş 48 (%19.2) örnekte HPV pozitifliği saptanmıştir. Çalışmadaki örneklerin % 11.6'sı sadece yüksek riskli, % 4.8 sadece düşük riskli ve %2.8 ise yüksek ve düşük riskli birlikte olarak tespit edilmiştir (98). Dursun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 6388 hasta retrospektif taranmış, sonuçta % 25 oranında HPV pozitifliği tespit edilmiştir. Bu çalışmada anormal sitolojisi olanlarda HPV pozitifliği % 57 iken, pap testi normal olarak değerlendirilen kadınlarda HPV pozitifliği % 27 olarak bildirilmiştir (95). Antalya'da yapılan çalışmada servikal örneklerin % 3.6'sında HPV DNA tespit edilmiş; pozitiflik saptanan örneklerin % 94.5'inde prekanseröz servikal lezyon mevcutken, % 5.5'inde herhangi bir lezyona rastlanmamıştir (99). Yıldırım ve arkadaşlarının Sivas'ta gerçekleştirdiği çalışmada 21-67 yaş (ort. ~40) arasındaki 140 kadından alınan örnekler incelenmiş; % 6.4 oranında HPV pozitifliği saptanmıştir. Çalışmada en fazla (% 25 oranında) HPV-6 bulunmuş, bunu HPV-16 (% 16.6) takip etmiş, daha düşük oranlarda da HPV-18, HPV-45, HPV-51 HPV-56 HPV-58 HPV-59 HPV-66

görülmüştür (100). Altun ve arkadaşlarının Çukurova'dan yaptığı prevalans çalışmasında, 460 servikal sitoloji örneğinden MY09/11 ve GP5+/6+ primerleri ile HPV DNA tayini yapılmıştır. Hastaların % 8'i 20-29 yaş arası, % 19.8'i 30-39 yaş arası, % 35.2'si 40-49 yaş arası, %25.2'si 50-59 yaş arası ve % 11.8'i 60 yaş ve üzeri yaş grubunda yer almıştır. Çalışmada örneklerin % 5.2'si HPV DNA pozitif bulunmuş, % 9.9 oranıyla ilk pikin 30-39 yaşları arasında, ikinci pikin ise % 6.8 oranıyla 50-59 yaşları arasında görüldüğü rapor edilmiştir (101). Bizim çalışmamızda HPV DNA prevalans %6.5 bulunmuş bununda % 1.5'i HR-HPV, % 3.8'i LR-HPV grubunda tespit edilmiştir. Türkiye profiline göre genel olarak verilerimizin daha farklı çıkmış olması metodoloji farkından, numune sayısı değişkenliğinden veya cinsel davranış tercihlerinden kaynaklanıyor olması muhtemeldir. Ülkemizde servikal smear örneklerinde HPV DNA tanısı ve tiplendirmesine dair çeşitli çalışmalar mevcut olmasına rağmen henüz Erzurum ve diğer Doğu illerinde konuya ilişkin yapılmış geniş çaplı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ülkemizde HPV'ye dair filogenetik analiz yapılan sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Ankara'dan Avcı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada servikal anormallik gözlenen ve kolposkopi planlanan hastalardan örnekler toplanmıştır. Elde edilen numuneler MY09/11 ve GP5+/6+ primerleri ile HPV DNA yönünden araştırılmıştır. HPV DNA prevalansı %61 (47/77) saptanmış, en yüksek HPV DNA pozitifliği 31-40 yaş arasında bulunmuştur. Filogenetik analiz sonucunda; 40 hastada HPV-16, 3 hastada HPV-16 ve HPV-11; bir hastada HPV-16 ve HPV-6 tipleri bildirilmiştir. HPV DNA pozitif bulunan 3 hastada ise tiplendirme yapılamamıştır (102). Çalışmamızda benzer şekilde 35-44 yaş arasında en yüksek pozitiflik tespit edilmiştir. Yine çalışmamızda % 6.5 HPV DNA pozitifliği saptanmış, tiplendirmede ise 4 örnekte HPV 16 bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda HPV-70, 54, 72, 81 ve 114 tipleri de tespit edilmiştir. Avcı ve arkadaşlarının çalışmasına göre bizim değerlerimizin daha düşük oranda olduğu görülmüştür. Bahsi geçen çalışmadaki yüksek pozitifliğin sebebi olarak, Avcı ve arkadaşlarının hasta grubunun servikal anomalilik gözlenen hastalardan seçilmiş olması ve doğrudan HPV-16'yı tiplendirmeye yönelik bir yöntem kullanması gösterilebilir. Çalışmamızda yaptığımız

filogenetik analizde, ilimizde elde edilen suşların Dünya Gen Bankası verileri ile akrabalık dereceleri ortaya konulmuştur.

Demirel ve Gölbaşı'nın kadınlara dair taramalara yönelik yaptığı araştırmada, servikal kanser yönünden yapılan tarama yöntemlerine değinilmiştir. Buna göre günümüzde kullanılan tüm servikal tarama testleri içerisinde en objektif ve tekrarlanabilen yöntem olarak HPV DNA testi bulunmuştur. Diğer testlere göre en pahalı test olduğu da vurgulanan çalışmada tekrar eden taramalara tabi tutulamayacak düşük kaynaklara sahip yerlerde hastalık riski taşıyan kadınların belirlenmesinde HPV DNA'nın etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir (137).

Naucler ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada İsveçte 32-38 yaş aralığındaki 6257 kadın hem pap smear hemde HPV DNA yönünden taranmıştır. Bu kadınlardan pap smear taraması için yeterli sitolojik materyale olanlar incelenmiş, 146 (% 2.3)'sında ASCUS ve daha ileri evre sitolojik anomali tespit edilmiştir. Yine PCR için yeterli numuneye sahip olanlarda HPV DNA bakılmış, pozitiflik % 7.1 olarak saptanmıştır. HPV DNA pozitifliği sitoloji anomali artışı ile daha da artmıştır. Pap smearde normal sitoloji tespit edilenlerde % 5.4 pozitiflik saptanırken, CIN2+ olgularda bu oran % 86.5'e yükselmiştir (138). Bansal ve arkadaşlarının Katar'da yaptığı çalışmada 3008 kadından alınan servikal örneklerde GP5+/6+ primerleri ile HPV prevalansı araştırılmış ve HPV prevalansının normal sitoloji tespit edilen kadınlarda % 5.8; anormal sitolojisi olan kadınlarda ise % 18.4 olduğu bildirilmiştir (139). Bizim çalışmamız smear verileri yönünden bir bilgi sağlayamada, bu çalışmalar ve daha birçok çalışma HPV DNA yönünden hasta taranmasının yüksek oranda duyarlılıkta olduğunu ve erken tanı açısından önemini vurgulamaktadır.

HPV ile enfekte olan kadınların hangi tip ile enfekte olduğu morbidite ve mortalite açısından önem arz etmektedir. Servikal lezyonlarda HPV tiplerinin dağılımının kesitsel karşılaştırılmalarından elde edilen kanıtlar bir kadının HSIL veya rahim ağzı kanseri gelişme riskinin HPV tipine göre önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir (70). Güney İtalya'da Coscia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HPV pozitif 477 kadın ve erkek hastadan alınan örneklerin tiplendirilmesi sonucu; HPV-16 (% 35), HPV-31 (% 16), HPV-6 (% 9), HPV-58 ve 66 (% 7), HPV-33 (% 6), HPV-18 ve 56 (% 4), HPV-70 ve 45 (% 3), HPV-53 ve 11 (%2) olarak

bildirilmiştir (140). Zoa-Assoumou ve arkadaşlarının Afrika ülkelerinden Gabon'da yaptığı çalışmada 92'si servikal skuamoz kanser 13'ü adenokanser olan 105 servikal biyopsi örneğinin incelemesi sonucunda sıklık sırasına göre; HPV-16, 33, 18, 70 ve 31 tipleri bulunmuş, HPV-70 muhtemel karsinojenik olarak değerlendirilmiştir (141). Tayland'dan yapılan çalışmada ise yüksek risk grubundan HPV-16 (% 1.31), HPV-51 (% 1.25), ve HPV-52 (% 1.25), muhtemel yüksek ve düşük riskli gruptan da HPV-72 (% 1.51), HPV-62 (% 1.38), ve HPV-70 (% 1.18) bulunmuştur (134). Çalışmamızda da en sık olarak HPV-70'e rastlanmış olup 14 hastadan 6'sında tespit edilmiş; yine bir hastada HPV-72'ye rastlanmıştır.

Kore'den yapılan bir çalışmada sağlıklı rutin kontrol için gelen için gelen kadınların % 16.7'sinde HPV pozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmada en sık olarak HPV-53 (% 9.69)'ün saptandığı, bunu HPV-58 (% 7.90), 52 (% 7.81) ve HPV 54 (% 6.99)'ün takip ettiği rapor edilmiştir(142). Bansal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada servikal örneklerin sıklık sırasına göre HPV tiplendirme sonuçlarına bakıldığında HPV-81, 11, 16 ve 56 tespit edilmiştir. HPV-81 hem normal hemde anormal sitolojili kadınlarda en yüksek oranda saptanan tip olmuştur (139). Benzer şekilde çalışmamızda da birer hastada tip 54 ve 81'e rastlanmıştır.

Türkiye ve dünyada yapılan çalışmalar tarandığında HPV-114 ile ilgili yeterli veriye ulaşılamamıştır. Kuzey İtalya (Milan)'da Marinelli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı incelediğimizde HIV ile enfekte homoseksüel 135 erkek orofaringeal HPV'nin epidemiyolojisi hakkında taranmıştır. Bu çalışmada, orofaringeal enfeksiyonun takibi için en az 12 ay arayla örnekleme yapılmıştır. Çalışmada yüksek ve düşük riskli gruptan çeşitli HPV tipleri bulunmuş ve ayrıca nadir gözlenen HPV-102 ve 114 tiplerinin varlığı da rapor edilmiştir (143). Batı Meksida'da Guadalupe ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada normal servikal sitolojiden servikal kansere kadar değişen profilde 233 servikal örnek incelenmiştir. 35 farklı HPV genotipi tespit edilen bu çalışmada NGS (Next-Generation sequencing) yöntemi ile yapılan dizi analizinin daha hassas olduğuna dikkat çekilmiştir. Bu çalışmada HPV-114 tipi, CIN-I grubundaki birden fazla HPV etkeni ile enfekte bireylerde ve servikal kanser grubundaki bir ve birden fazla etkenle enfekte bireylerde tespit edilmiştir. Yine servikal kanser olgularında çoklu HPV ile enfekte bireylerde HPV-54, 70 ve 81'e de

rastlanmıştır (144). Bizim çalışmamızda da bir örnekte HPV-114' e rastlanmış olup başka çalışmalar ile etkenin prevalansı ve serviks üzerindeki etkisi araştırılmalıdır.

Ülkemiz ve dünyadaki çalışmalara bakıldığında, HPV araştırmalarının genel olarak kadınlara yönelik olduğu görülmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinden Lewis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 14-59 yaş aralığındaki her iki cinsiyet de HPV DNA yönünden taranmış ve erkeklerin herhangi bir HPV ve HR-HPV tipi yönünden daha yüksek prevalansa sahip olduğu görülmüştür (145). Yine Ponsawan ve arkadaşlarının Tayland'dan yaptığı yayında hayat kadınları ve homoseksüel erkeklerdeki veri kısıtlılığında bahsedilmiş ve 300 kişilik çalışma planlanmıştır. Bunun 100'ü normal kadınlardan, 100'ü hayat kadınlarından, 50'si homoseksüel erkeklerden, 50'si de seks işçisi olarak çalışan homoseksüel erkeklerden seçilmiştir. Bunların HPV pozitiflikleri sırasıyla % 9; % 13; % 30; % 30 bulunmuş, toplam prevalans ise % 17.3 olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada filogenetik analiz yapılarak tiplendirilmeye gidilmiş ve bulunan tipler HPV-6, 11, 31, 16, 18, 81 olarak belirtilmiştir (146). Yapılmış çalışmalardan elde edilen yüksek prevalans değerleri göstermiştir ki erkekler bu konuda daha büyük risk altındadır. HPV bulaşı açısından bakıldığında, bulaştırıcılığın yalnızca kadın kaynaklı olmadığı, aynı zamanda erkeğinde bulaş açısından önemli bir yer tuttuğu bilinmesine rağmen erkeklerde yeterli çalışma bulunmamaktadır. HPV'nin erkeklerde de basit sigillerden çeşitli vücut bölgelerinde kanserlere kadar geniş bir yelpazede hastalık oluşturduğu göz önüne alınırsa, erkeklerinde bu konuda taranması faydalı olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

HPV dünyada cinsel yollarla bulaşan en yaygın enfeksiyöz ajandır. En önemli risk faktörü de cinsel aktivite ile ilgili davranışlardır. Enfeksiyonlarının çoğu asemptomatiktir ve büyük kısmı da 2 yıl içinde kendi kendine geriler. Genital HPV enfeksiyonları sonrasında anogenital siğiller, servikal neoplazi, servikal kanser ve diğer anogenital kanserler gibi çeşitli klinik tablolar ortaya çıkmaktadır. Servikal kanserlerin neredeyse hepsi karsinojenik HPV tipleri ile gelişmiş kalıcı enfeksiyonlara bağlanmaktadır.

Yarattığı sağlık sorunlarıyla geniş kitleleri etkileyen HPV genotipleri hakkında ülkemizin Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgelerine ait sonuç bildiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın kısmen de olsa Doğu Anadolu bölgesi açısından bu açığı gideren bir çalışma olarak değerlendirilmesi gerektiği kanaatini taşımaktayız. Aşı çalışmalarına katkı sağlamak ve dünyadaki HPV verilerini zenginleştirmek adına böyle çalışmaların daha sıklıkla ve daha yüksek sayıdaki olgular ile yapılması fayda sağlayacaktır.

HPV ile enfekte hastaların mortalite ve morbiditesinin azaltılması açısından, erken tanı ve tedavinin çok önemli bir fonksiyona sahip olduğunu vurgulamak isteriz. Yapılan çalışmalara bakıldığında HPV'nin tanısında genetik tanının smeara göre çok daha etkin olduğu görülmüştür. Bu sebeple tanıda HPV DNA kullanımının artırılması erken tanı ve tedavi için çok önemlidir. Yine kalıcı HPV enfeksiyonu olan hastalarda maligniteye gidiş gözlemlendiğinden kadınların belli aralıklarla takiplerinin yapılması ve bu konuda bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

HPV tiplendirme çalışmalarına bakıldığında genel olarak sık rastlanan veya yüksek riskli HPV tipleri araştırılmıştır. Klinik seyirler daha çok bu tiplerle ortaya çıksa da ek olarak nadir görülen HPV tipleri içinde çalışmalar planlanmalı prognozdeki etkileri araştırılmalıdır.

Ülkemizdeki ve dünyadaki veriler incelendiğinde HPV'ye dair bilgilerin genel olarak kadınlar üzerinden yapılmış çalışmalardan edinildiği gözlemlenmiştir. HPV erkeklerde de kansere kadar ilerleyen klinik seyir gösterebilmekte olup, aynı zamanda kadınlara bulaş içinde kaynak olan erkeklerin HPV yönünden daha çok araştırılmasını gerektirmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Chia-ching JW, Sparano J, Palefsky JM. Human immunodeficiency virus/AIDS, human papillomavirus, and anal cancer. *Surgical Oncology Clinics*. 2017;26(1):17-31.
2. Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, et al. Sexually transmitted infections among US women and men: prevalence and incidence estimates, 2008. *Sexually transmitted diseases*. 2013;40(3):187-93.
3. Chow LT, Broker TR, Steinberg BM. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *Apmis*. 2010;118(6-7):422-49.
4. Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(1):11.
5. Boscolo-Rizzo P, Del Mistro A, Bussu F, et al. New insights into human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*. 2013;33(2):77.
6. La Rosa G, Fratini M, Accardi L, et al. Mucosal and cutaneous human papillomaviruses detected in raw sewages. *PloS one*. 2013;8(1):e52391.
7. Araldi RP, Assaf SMR, Carvalho RFd, et al. Papillomaviruses: a systematic review. *Genetics and molecular biology*. 2017;40(1):1-21.
8. ICTV Papillomaviridae Virus Taxonomy Budapest, Hungary2016 [cited 2017 15 August]. Available from: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses-2011/w/dsdna_viruses/121/papillomaviridae
9. NCBI The National Center for Biotechnology Information-Taxonomy Browser [cited 2017 August 16]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=151340>
10. Prasasty VD, Eveline I, Noya EJ. Potential Natural Inhibitor Bioactivities against High-Risk HPV-16, HPV-18 and HPV-52 of E6 Oncoprotein through Molecular Docking. 2017;3:39-45.
11. Mandishora D, Racheal S, Christiansen IK, et al. Genotypic diversity of anogenital human papillomavirus in women attending cervical cancer screening in Harare, Zimbabwe. *Journal of medical virology*. 2017;89(9):1671-7.

12. Harden ME, Munger K. Human papillomavirus molecular biology. Mutation research Reviews in mutation research. 2017 Apr - Jun;772:3-12. PubMed PMID: 28528688. Pubmed Central PMCID: PMC5500221. Epub 2017/05/23. eng.
13. Sahasrabudde VV, Parham GP, Mwanahamuntu MH, et al. Cervical cancer prevention in low-and middle-income countries: feasible, affordable, essential. Cancer prevention research. 2012;5(1):11-7.
14. Tamegão-Lopes BP, Sousa-Júnior EC, Passeti F, et al. Prevalence of human papillomavirus infection and phylogenetic analysis of HPV-16 E6 variants among infected women from Northern Brazil. Infectious agents and cancer. 2014;9(1):25.
15. Costa-Lira E, Jacinto A, Silva L, et al. Prevalence of human papillomavirus, Chlamydia trachomatis, and Trichomonas vaginalis infections in Amazonian women with normal and abnormal cytology. Genet Mol Res Genet Mol Res <https://doi.org/10.4238/gmr16029626> PubMed Google Scholar. 2017.
16. Harari A, Chen Z, Burk RD. Human papillomavirus genomics: past, present and future. Human Papillomavirus. 45: Karger Publishers; 2014. p. 1-18.
17. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, et al. Human papillomavirus molecular biology and disease association. Reviews in medical virology. 2015;25(S1):2-23.
18. Syrjänen S, Syrjänen K. The history of papillomavirus research. Cent Eur J Public Health. 2008;16(suppl):S7-S13.
19. Skrabanek P. Cervical cancer in nuns and prostitutes: a plea for scientific continence. Journal of Clinical Epidemiology. 1988;41(6):577-82.
20. Burns D. 'Warts and all'--the history and folklore of warts: a review. Journal of the Royal Society of Medicine. 1992;85(1):37.
21. Duch CE, Williams RA, Timm RM, et al. A century of Shope papillomavirus in museum rabbit specimens. PloS one. 2015;10(7):e0132172.
22. Hu J, Budgeon LR, Cladel NM, et al. Detection of L1, infectious virions and anti-L1 antibody in domestic rabbits infected with cottontail rabbit papillomavirus. Journal of General Virology. 2007;88(12):3286-93.
23. Hoellen F, Bohlmann MK, Brade J, et al. Influence of acetic acid on a pap smear of dysplastic lesion. Anticancer research. 2013;33(3):1125-30.

24. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *Canadian Medical Association Journal*. 2001;164(7):1017-25.
25. Rowson K, Mahy B. Human papova (wart) virus. *Bacteriological reviews*. 1967;31(2):110.
26. Crawford LV. A study of human papilloma virus DNA. *Journal of molecular biology*. 1965;13(2):362-72.
27. Oriel J. Natural history of genital warts. *British Journal of Venereal Diseases*. 1971;47(1):1.
28. Mougin C, Bernard B, Lab M. [Biology of papillomavirus infections. I. General characteristics]. *Annales de biologie clinique*. 1997 Nov-Dec;55(6):555-63. PubMed PMID: 9499915. Epub 1998/03/21. *Biologie des infections a papillomavirus. I. Caracteristiques generales. fre*.
29. Zur Hausen H. Papillomaviruses—to vaccination and beyond. *Biochemistry (Moscow)*. 2008;73(5):498-503.
30. Sangar V, Ghongane B. Development of Prophylactic Bivalent and Quadrivalent Human Papillomavirus (HPV) Vaccines: A Review. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2013;23(2):247-53.
31. Souza RP, Bonfim-Mendonça PdS, Gimenes F, et al. Oxidative stress triggered by Apigenin induces apoptosis in a comprehensive panel of human cervical cancer-derived cell lines. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2017;2017.
32. Dlugonska H. [Harald zur Hausen--a scientist with passion. Vaccine against cervical cancer]. *Wiadomosci parazytologiczne*. 2009;55(3):191-4. PubMed PMID: 19856833. Epub 2009/10/28. Harald zur Hausen--badacz z pasja. Szczepionka przeciw rakowi szyjki macicy. pol.
33. De Villiers E-M, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324(1):17-27.
34. Herrera YA, Piña-Sánchez P. History of the development of screening tests for cervical cancer. *Revista medica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2015;53(6):670-7.

35. Steinau M, Saraiya M, Goodman MT, et al. Human papillomavirus prevalence in oropharyngeal cancer before vaccine introduction, United States. *Emerging infectious diseases*. 2014;20(5):822.
36. de Villiers E-M. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013;445(1-2):2-10.
37. Jin XW, McKENZIE ML, Yen-Lieberman B. Can the test for human papillomavirus DNA be used as the stand-alone, first-line screening test for cervical cancer? *Cleveland Clinic journal of medicine*. 2015;82(4):213.
38. Burd EM. Human papillomavirus laboratory testing: the changing paradigm. *Clinical microbiology reviews*. 2016;29(2):291-319.
39. Burk RD, Harari A, Chen Z. Human papillomavirus genome variants. *Virology*. 2013;445(1-2):232-43.
40. Proby C, Harwood C, Neale R, et al. A case-control study of betapapillomavirus infection and cutaneous squamous cell carcinoma in organ transplant recipients. *American Journal of Transplantation*. 2011;11(7):1498-508.
41. Dutta S, Robitaille A, Rollison DE, et al. Complete Genome Sequence of a Novel Human Betapapillomavirus Isolated from a Skin Sample. *Genome announcements*. 2017;5(13):e01642-16.
42. Hošnjak L, Kocjan BJ, Pirš B, et al. Characterization of two novel gammapapillomaviruses, HPV179 and HPV184, isolated from common warts of a renal-transplant recipient. *PloS one*. 2015;10(3):e0119154.
43. Ure AE, Forslund O. Characterization of human papillomavirus type 154 and tissue tropism of gammapapillomaviruses. *PLoS One*. 2014;9(2):e89342.
44. Organization WH. Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017–Recommendations. *Vaccine*. 2017;35(43):5753-5.
45. Howard N, Gallagher KE, Mounier-Jack S, et al. What works for human papillomavirus vaccine introduction in low and middle-income countries? *Papillomavirus Research*. 2017;4:22-5.
46. Luckett R, Feldman S. Impact of 2-, 4-and 9-valent HPV vaccines on morbidity and mortality from cervical cancer. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2016;12(6):1332-42.

47. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clinical microbiology reviews*. 2003;16(1):1-17.
48. Ault KA. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections in the female genital tract. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*. 2006;2006.
49. Bergin I, Bell J, Chen Z, et al. Novel genital alphapapillomaviruses in baboons (*Papio hamadryas Anubis*) with cervical dysplasia. *Veterinary pathology*. 2013;50(1):200-8.
50. Van Doorslaer K, DeSalle R, Einstein MH, et al. Degradation of human PDZ-proteins by human alphapapillomaviruses represents an evolutionary adaptation to a novel cellular niche. *PLoS pathogens*. 2015;11(6):e1004980.
51. Šterbenc A, Hošnjak L, Chouhy D, et al. Molecular characterization, tissue tropism, and genetic variability of the novel Mupapillomavirus type HPV204 and phylogenetically related types HPV1 and HPV63. *PloS one*. 2017;12(4):e0175892.
52. Köhler A, Gottschling M, Förster J, et al. Genomic characterization of a novel human papillomavirus (HPV-117) with a high viral load in a persisting wart. *Virology*. 2010;399(1):129-33.
53. Burk RD, Chen Z, Harari A, et al. Classification and nomenclature system for human Alphapapillomavirus variants: general features, nucleotide landmarks and assignment of HPV6 and HPV11 isolates to variant lineages. *Acta dermatovenerologica Alpina, Panonica, et Adriatica*. 2011;20(3):113.
54. The International Human Papillomavirus (HPV) Reference Center-Reference clones [cited 2018 08.01]. Available from: http://www.nordicehealth.se/hpvcenter/reference_clones/.
55. Zheng Z-M, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. 2006;11:2286.
56. Brianti P, De Flammoneis E, Mercuri SR. Review of HPV-related diseases and cancers. *New Microbiol*. 2017;40:80-5.
57. Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiology and molecular biology reviews*. 2004;68(2):362-72.

58. Psyrrri A, DeFilippis RA, Edwards AP, et al. Role of the retinoblastoma pathway in senescence triggered by repression of the human papillomavirus E7 protein in cervical carcinoma cells. *Cancer Research*. 2004;64(9):3079-86.
59. Conway M, Meyers C. Replication and assembly of human papillomaviruses. *Journal of dental research*. 2009;88(4):307-17.
60. Guan J, Bywaters SM, Brendle SA, et al. The U4 antibody epitope on human papillomavirus 16 identified by cryo-electron microscopy. *Journal of virology*. 2015;89(23):12108-17.
61. Rautava J, Syrjänen S. Biology of human papillomavirus infections in head and neck carcinogenesis. *Head and neck pathology*. 2012;6(1):3-15.
62. Stanley MA. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clinical microbiology reviews*. 2012;25(2):215-22.
63. Miller DL, Puricelli MD, Stack MS. Virology and molecular pathogenesis of HPV (human papillomavirus) associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Biochemical Journal*. 2012;443(2):339-53.
64. Bergvall M, Melendy T, Archambault J. The E1 proteins. *Virology*. 2013;445(1-2):35-56.
65. Fradet-Turcotte A, Moody C, Laimins LA, et al. Nuclear export of human papillomavirus type 31 E1 is regulated by Cdk2 phosphorylation and required for viral genome maintenance. *Journal of virology*. 2010;84(22):11747-60.
66. Vance KW, Campo MS, Morgan IM. A novel silencer element in the bovine papillomavirus type 4 promoter represses the transcriptional response to papillomavirus E2 protein. *Journal of virology*. 2001;75(6):2829-38.
67. McBride AA. The papillomavirus E2 proteins. *Virology*. 2013;445(1-2):57-79.
68. Chaiwongkot A, Vinokurova S, Pientong C, et al. Differential methylation of E2 binding sites in episomal and integrated HPV 16 genomes in preinvasive and invasive cervical lesions. *International journal of cancer*. 2013;132(9):2087-94.
69. Doorbar J. The E4 protein; structure, function and patterns of expression. *Virology*. 2013;445(1-2):80-98.

70. IARC. IARC(International Agency for Research on Cancer) Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: World Health Organization; 2007.
71. Christensen ND. HPV disease transmission protection and control. *Microbial Cell*. 2016;3(9):476.
72. de Freitas AC, de Oliveira THA, Barros MR, et al. hrHPV E5 oncoprotein: immune evasion and related immunotherapies. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2017;36(1):71.
73. DiMaio D, Mattoon D. Mechanisms of cell transformation by papillomavirus E5 proteins. *Oncogene*. 2001;20(54):7866.
74. Androphy E, Hubbert NL, Schiller JT, et al. Identification of the HPV-16 E6 protein from transformed mouse cells and human cervical carcinoma cell lines. *The EMBO journal*. 1987;6(4):989-92.
75. Kajitani N, Satsuka A, Kawate A, et al. Productive lifecycle of human papillomaviruses that depends upon squamous epithelial differentiation. *Frontiers in microbiology*. 2012;3:152.
76. White EA, Walther J, Javanbakht H, et al. Genus beta human papillomavirus E6 proteins vary in their effects on the transactivation of p53 target genes. *Journal of virology*. 2014;88(15):8201-12.
77. Veldman T, Horikawa I, Barrett JC, et al. Transcriptional activation of the telomerase hTERT gene by human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein. *Journal of virology*. 2001;75(9):4467-72.
78. Park JW, Nickel KP, Torres AD, et al. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein causes a delay in repair of DNA damage. *Radiotherapy and Oncology*. 2014;113(3):337-44.
79. Dok R, Kalev P, Van Limbergen EJ, et al. p16INK4a Impairs Homologous Recombination–Mediated DNA Repair in Human Papillomavirus–Positive Head and Neck Tumors. *Cancer research*. 2014;74:1-13.
80. Van Doorslaer K, Li Z, Xirasagar S, et al. The papillomavirus episteme: A major update to the papillomavirus sequence database. *Nucleic acids research*. 2016;45(D1):D499-D506.

81. Xiao C-Y, Fu B-B, Li Z-Y, et al. Observations on the expression of human papillomavirus major capsid protein in HeLa cells. *Cancer cell international*. 2015;15(1):53.
82. Schädlich L, Senger T, Gerlach B, et al. Analysis of modified human papillomavirus type 16 L1 capsomeres: the ability to assemble into larger particles correlates with higher immunogenicity. *Journal of virology*. 2009;83(15):7690-705.
83. Chan PK, Picconi MA, Cheung TH, et al. Laboratory and clinical aspects of human papillomavirus testing. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2012;49(4):117-36.
84. Wang JW, Roden RB. L2, the minor capsid protein of papillomavirus. *Virology*. 2013;445(1-2):175-86.
85. Finnen RL, Erickson KD, Chen XS, et al. Interactions between papillomavirus L1 and L2 capsid proteins. *Journal of virology*. 2003;77(8):4818-26.
86. Sathish N, Wang X, Yuan Y. Human papillomavirus (HPV)-associated oral cancers and treatment strategies. *Journal of dental research*. 2014;93(7_suppl):29S-36S.
87. Dietz CA, Nyberg CR. Genital, oral, and anal human papillomavirus infection in men who have sex with men. *The Journal of the American Osteopathic Association*. 2011;111(3_suppl_2):S19-S25.
88. Hilton S, Hunt K, Bedford H, et al. School nurses' experiences of delivering the UK HPV vaccination programme in its first year. *BMC infectious diseases*. 2011;11(1):226.
89. Ramanakumar AV, Goncalves O, Richardson H, et al. Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integration in persistent and transient infections in young women. *BMC infectious diseases*. 2010;10(1):326.
90. Evans MF, Peng Z, Clark KM, et al. HPV E6/E7 RNA in situ hybridization signal patterns as biomarkers of three-tier cervical intraepithelial neoplasia grade. *PLoS One*. 2014;9(3):e91142.
91. Mishra GA, Pimple SA, Shastri SS. An overview of prevention and early detection of cervical cancers. *Indian journal of medical and paediatric oncology: official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology*. 2011;32(3):125.

92. Khode SR, Dwivedi RC, Rhys-Evans P, et al. Exploring the link between human papilloma virus and oral and oropharyngeal cancers. *Journal of cancer research and therapeutics*. 2014;10(3):492.
93. De Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *The Lancet infectious diseases*. 2007;7(7):453-9.
94. Bruni L, Diaz M, Castellsagué M, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *Journal of Infectious Diseases*. 2010;202(12):1789-99.
95. Dursun P, Ayhan A, Mutlu L, et al. HPV Types in Turkey: Multicenter Hospital Based Evaluation of 6388 Patients in Turkish Gynecologic Oncology Group Centers/Türkiye'deki HPV Tipleri: Türk Jinekolojik Onkoloji Grubuna Üye Merkezlere Başvuran 6388 Hastanın Retrospektif Analizi. *Turkish Journal of Pathology*. 2013;29(3):210-6.
96. Aslan FG, Us T, Kasifoglu N, et al. The positivity for human papillomavirus (HPV) DNA and evaluation of probable risk factors among women in Eskisehir region. *TAF Preventive Medicine Bulletin*. 2015;14(3):222-8.
97. Özalp SS, Us T, Arslan E, et al. HPV DNA and Pap smear test results in cases with and without cervical pathology. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*. 2012;13(1):8.
98. Fındık D, Dağı HT, Arslan U, et al. Servikal örneklerde human papillomavirus sıklığı ve genotip dağılımı. 2012;22(4):116-20.
99. Ünal B, Sezer C. Analysis of High Risk Hpv Subtypes Associated with Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Single Centre Retrospective Study in the Mediterranean Region of Turkey/Servikal İntraepiteliyal Neoplazi ile İlişkili Yüksek Risk Hpv Alt Tiplerinin Analizi: Türkiye'nin Akdeniz Bölgesinde Tek Merkezli Retrospektif Bir Çalışma. *Turkish Journal of Pathology*. 2014;30(1):85-8.
100. Yıldırım D, Yıldırım ME, Bakıcı MZ. Sivas Bölgesinde Yaşayan Kadınlarda Servikal Örneklerde Human Papillomavirüs Pozitifliği ve Genotiplerinin Sıklığı. *Fırat Tıp Dergisi*. 2013;18(2):094-7.

101. Altun Z, Yarkın F, Vardar MA, et al. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine Başvuran Kadınlarda Genital Human Papilomavirus Enfeksiyon Prevalansı. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2011;31(2):307-14.
102. Avcı GA, Bozdayı G, Taskiran Ç, et al. Phylogenetic Analysis and Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) in Women with Servikal Pathologies. *Journal of Turkish Society of Obstetrics & Gynecology*. 2013;10(3):151-9.
103. Batmaz G, Çetin A, Dane C, et al. Normal ve Anormal Servikal Smear Saptanan Kadınlarda HPV DNA pozitifliği. 2009;1:10-4.
104. Sahiner F, Gümral R, Sener K, et al. Investigation of HPV-DNA in cervical smear samples by two different methods: MY09/11 consensus PCR and type-specific real-time PCR. *Mikrobiyoloji bulteni*. 2012;46(4):624-36.
105. Şahiner F, Şener K, Yapar M, et al. Şüpheli servikal lezyonlu kadınlarda yüksek riskli HPV'lerin genotip dağılımı. *Gulhane Medical Journal*. 2012;54(4).
106. Çoban Ö, Durukan H, Dilek UK, et al. LEEP sonrası rekürren/rezidüel CIN 2-3 belirlenmesi, sitoloji mi, HPV DNA mı? *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*. 2016;47(4):101-5.
107. Yetimalar H, Köksal A, İnceoğlu M, et al. HPV infection in premalign and malignant cervical lesions. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (TJOD Derg)*. 2009;6(4):273-8.
108. Ateşer G, Aydın DS, Günver F, et al. Kronik vajinal akıntılı hastalarda HPV DNA pozitiflik oranı ve sitopatolojik sonuçların değerlendirilmesi. *Med Bull Haseki*. 2014;52:93-7.
109. Barışık NÖ, Keser SH, Gül AE, et al. Prevalence of High-Risk Human Papilloma Virus and Identification of Type Using Real-Time Polymerase Chain Reaction Analysis and Liquid-Based Cytology. *Clin Ist Euras*. 2017;28(3):175-80.
110. Bulut Y, Belhan M, Özercan İH. Uterin Servikal Kanser Örneklerinde Pyrosequencing Yöntemi ile Human Papillomavirus Genotiplerinin Belirlenmesi. *Sağ Bil Tıp Derg*. 2016;30(2):71-5.
111. Eroğlu C, Keşli R, Eryılmaz MA, et al. Serviks Kanseri İçin Riski Olan Kadınlarda HPV Tiplendirmesi ve HPV sıklığının Risk Faktörleri ve Servikal Smearle İlişkisi. *Nobel Med*. 2011;7(3): 72-7.

112. Ari M, Döger FK, Kirdar S, et al. Cervical Biopsy, Smear Evaluation and Comparison of Human Papilloma Virus Subtypes Result. *Meandros Medical and Dental Journal*. 2016;17(1):17.
113. Yavuzer D, Karadayı N, Erdağı A, et al. Serviks kanseri ve prekanseröz lezyonlarında PCR ile HPV tiplemesi. 2009; 20(1):1-6.
114. Ergünay K, Mısırlıoğlu M, Fırat P, et al. Sitolojik Olarak Anomali Saptanan Serviks Örneklerinde İnsan Papilloma Virus DNA'sının Araştırılması ve Virusun Tiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bült*. 2007;41:219-26.
115. WHO. GLOBOCAN 2012, The International Agency for Research on Cancer Cancer Incidence and Mortality Worldwide 2012. Available from: globocan.iarc.fr/.
116. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albero G, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 2015 2017. Available from: <http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>
117. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, et al. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *International journal of cancer*. 2011;128(4):927-35.
118. Rousseau M-C, Pereira JS, Prado JC, et al. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. *The Journal of infectious diseases*. 2001;184(12):1508-17.
119. Campbell CMP, Messina JL, Stoler MH, et al. Cutaneous human papillomavirus types detected on the surface of male external genital lesions: a case series within the HPV Infection in Men Study. *Journal of Clinical Virology*. 2013;58(4):652-9.
120. Vardas E, Giuliano AR, Goldstone S, et al. External genital human papillomavirus prevalence and associated factors among heterosexual men on 5 continents. *Journal of Infectious Diseases*. 2011;203(1):58-65.
121. Senba M, Mori N. Mechanisms of virus immune evasion lead to development from chronic inflammation to cancer formation associated with human papillomavirus infection. *Oncology reviews*. 2012;6(2).

122. Rosales R, Rosales C. Immune therapy for human papillomaviruses-related cancers. *World journal of clinical oncology*. 2014;5(5):1002.
123. Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM, et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. *Jama*. 2002;287(18):2372-81.
124. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine*. 2008;26:K29-K41.
125. Sarian L, Derchain S, Naud P, et al. Evaluation of visual inspection with acetic acid (VIA), Lugol's iodine (VILI), cervical cytology and HPV testing as cervical screening tools in Latin America: This report refers to partial results from the LAMS (Latin AMerican Screening) study. *Journal of medical screening*. 2005;12(3):142-9.
126. Ferreccio C, Barriga MI, Lagos M, et al. Screening trial of human papillomavirus for early detection of cervical cancer in Santiago, Chile. *International journal of cancer*. 2013;132(4):916-23.
127. Chandler RE, Juhlin K, Fransson J, et al. Current safety concerns with human papillomavirus vaccine: a cluster analysis of reports in VigiBase®. *Drug safety*. 2017;40(1):81-90.
128. Vielot NA, Goldberg SK, Zimet G, et al. Acceptability of multipurpose human papillomavirus vaccines among providers and mothers of adolescent girls: A mixed-methods study in five countries. *Papillomavirus Research*. 2017;3:126-33.
129. Costa APF, Cobucci RNO, da Silva JM, et al. Safety of Human Papillomavirus 9-Valent Vaccine: A Meta-Analysis of Randomized Trials. *Journal of immunology research*. 2017;2017.
130. Entiauspe L, Nunes E, Collares T, et al. Comparison between two methods for molecular characterization of human papillomavirus. *DST-J bras Doenças Sex Transm*. 2013;25(1):13-5.
131. Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*. 2011;28(10):2731-9.

132. Cocuzza CE, Martinelli M, Sina F, et al. Human papillomavirus DNA detection in plasma and cervical samples of women with a recent history of low grade or precancerous cervical dysplasia. *PloS one*. 2017;12(11):e0188592.
133. Bosch FX, Broker TR, Forman D, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*. 2013;31:I1-I31.
134. Phoolcharoen N, Kantathavorn N, Sricharunrat T, et al. A population-based study of cervical cytology findings and human papillomavirus infection in a suburban area of Thailand. *Gynecologic oncology reports*. 2017 Aug;21:73-7. PubMed PMID: 28725677. Pubmed Central PMCID: PMC5506866. Epub 2017/07/21. eng.
135. Martins TR, de Oliveira CM, Rosa LR, et al. HPV genotype distribution in Brazilian women with and without cervical lesions: correlation to cytological data. *Virology journal*. 2016;13(1):138.
136. Smith JS, Melendy A, Rana RK, et al. Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. *Journal of Adolescent Health*. 2008;43(4):S5. e1-S5. e62.
137. Demirel G, Gölbaşı Z. Kadın Sağlığı Taramasında Güncel Durum. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi / Gümüşhane University Journal of Health Sciences*. 2015;4(4).
138. Naucler P, Ryd W, Törnberg S, et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101(2):88-99.
139. Bansal D, Elmi AA, Skariah S, et al. Molecular epidemiology and genotype distribution of Human Papillomavirus (HPV) among Arab women in the State of Qatar. *Journal of translational medicine*. 2014;12(1):300.
140. Coscia MF, Monno R, Ballini A, et al. Human papilloma virus (HPV) genotypes prevalence in a region of South Italy (Apulia). *Annali dell'Istituto superiore di sanita*. 2015;51:248-51.
141. Zoa-Assoumou S, Ndjoyi-Mbiguino A, Mabika BM, et al. Human papillomavirus genotypes distribution in cervical cancer cases in Gabon. *Infect Agent Cancer*. 2016;11:42. PubMed PMID: 27532014. Pubmed Central PMCID: PMC4986226. Epub 2016/08/18. eng.

142. Ouh YT, Min KJ, Cho HW, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes and precancerous cervical lesions in a screening population in the Republic of Korea, 2014-2016. *Journal of gynecologic oncology*. 2018 Jan;29(1):e14. PubMed PMID: 29185272. Pubmed Central PMCID: PMC5709524. Epub 2017/12/01. eng.
143. Martinelli M, Mazza F, Frati ER, et al. HPV genotypes detected in the oropharyngeal mucosa of HIV-infected men who have sex with men in Northern Italy. *Epidemiology and infection*. 2016 Sep;144(12):2641-7. PubMed PMID: 27267944. Epub 2016/06/09. eng.
144. Flores-Miramontes MG, Torres-Reyes LA, Alvarado-Ruiz L, et al. Human papillomavirus genotyping by Linear Array and Next-Generation Sequencing in cervical samples from Western Mexico. *Virol J*. 2015 Oct 6;12:161. PubMed PMID: 26444975. Pubmed Central PMCID: PMC4596464. Epub 2015/10/09. eng.
145. Lewis RM, Markowitz LE, Gargano JW, et al. Prevalence of genital human papillomavirus among sexually experienced males and females aged 14-59 years, United States, 2013-2014. *J Infect Dis*. 2017 Dec 27. PubMed PMID: 29294016. Epub 2018/01/03. eng.
146. Leungwutiwong P, Bamrungsak B, Jittmittraphap A, et al. Molecular genotyping of human papillomavirus 11 gene in low-risk and high-risk populations in Bangkok. *Sex Transm Dis*. 2015 Apr;42(4):208-17. PubMed PMID: 25763674. Pubmed Central PMCID: PMC4358745. Epub 2015/03/13. eng.

8. EKLER

Ek-1



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/50
Konu : Etik Kurul Kararı

04.04.2016

Sayın: Arş.Gör.Dr. Ayşe Erdem YAYLA
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Araştırma Görevlisi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz "Servikal Smear Örneklerinde HPV Pozitifliğinin Araştırılması, Virusun Moleküler Karakterizasyonu ve Filogenetik Analizi" isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.


Prof.Dr.Hülya AKSOY
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı

	ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU		

LÜTFEN BU DÖKÜMANI DİKKATLİCE OKUMAK İÇİN ZAMAN AYIRINIZ

Sizi Ayşe Erdem Yayla tarafından yürütülen "HPV (rahim ağzı kanseri taraması) yönünden durumunuzu belirleme" amacı olan araştırmaya davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz.

Bu çalışmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan çıkma hakkınızda sahipsiniz. Çalışmayı yanıtlanmaz, araştırmaya katılım için onam verdiğiniz biçiminde yorumlanacaktır. Size verilen formlardaki soruları yanıtlarken kimsenin baskısı veya telkini altında olmayın. Bu formlardan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacaktır.

Çalışmaya Katılım Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce katılımcıya/gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve katılmam istenen çalışmanın kapsamını ve amacını, gönüllü olarak üzerime düşen sorumlulukları tamamen anladım. Çalışma hakkında yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı, soru sorma ve tartışma imkanı buldum ve tatmin edici yanıtlar aldım. Bana, çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları sözlü olarak da anlatıldı. Bu çalışmayı istediğim zaman ve herhangi bir neden belirtmek zorunda kalmadan bırakabileceğimi ve bıraktığım takdirde herhangi bir olumsuzluk ile karşılaşmayacağımı anladım.

Medeni Durumunuz	<input type="checkbox"/> Evli	<input type="checkbox"/> Bekâr (yada bir partnerle yaşıyor)	<input type="checkbox"/> Dul	<input type="checkbox"/> Boşanmış	
Öğrenim Durumunuz	<input type="checkbox"/> Okuryazar	<input type="checkbox"/> İlkokul	<input type="checkbox"/> Ortaokul	<input type="checkbox"/> Lise	<input type="checkbox"/> Üniversite
Aylık gelir durumu (TL)	<input type="checkbox"/> 500-999	<input type="checkbox"/> 1000-1499	<input type="checkbox"/> 1500-1999	<input type="checkbox"/> 2000- 2499	<input type="checkbox"/> >2500
Çalışma durumu	<input type="checkbox"/> Ev hanımı	<input type="checkbox"/> Çalışan	<input type="checkbox"/> Öğrenci		
Alkol kullanımı	<input type="checkbox"/> Evet	<input type="checkbox"/> Hayır			
Sigara kullanımı	<input type="checkbox"/> Evet	<input type="checkbox"/> Hayır			
Daha önce cinsel yolla bulaşan bir hastalık geçirdiniz mi?	<input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Kondilom (genital siğil) <input type="checkbox"/> Gonore (bel soğukluğu) <input type="checkbox"/> Sifilis (frengi) <input type="checkbox"/> Diğer		<input type="checkbox"/> Hayır		

Bu koşullarda söz konusu araştırmaya kendi isteğimle, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Katılımcının (Kendi el yazısı ile) Adı-Soyadı : İmzası:

(Varsa) Velayet veya Vesayet Altında Bulunanlar İçin; Veli veya Vasisinin (kendi el yazısı ile) Adı-Soyadı: İmzası:

Gerekliyse Olur İşlemine Tanak Olan Kişinin Adı-Soyadı: İmzası:

Araştırmacının Adı-Soyadı: Ayşe Erdem YAYLA İmzası:

Not: Bu form, iki nüsha halinde düzenlenir. Bu nüshalardan biri imza karşılığında gönüllü kişiye verilir, diğeri araştırmacı tarafından saklanır.