

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

**AKCİĞER KANSERLİ OLGULARIN BRONŞ LAVAJI VE
SERUM ÖRNEKLERİNDE HUMAN METAPNEUMOVİRUS
RASTLANMA SIKLIĞI VE AKCİĞER KANSERİ İLE
HUMAN METAPNEUMOVİRUS ARASINDAKİ İLİŞKİ**

UZMANLIK TEZİ
DR. ECE KAYA

TEZ DANIŞMANI
YARD. DOÇ. DR. AYŞİN ŞAKAR

MANİSA, 2006

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman yanımda bana destek olarak en iyi eğitimi almamı sağlayan hocalarım; Sayın Prof. Dr. Arzu Yorgancıoğlu'na, Sayın Prof. Dr. Meral Akın'a, Sayın Doç. Dr. Pınar Çelik'e, Sayın Yard. Doç. Dr. Ayşın Şakar'a,

Aralarında olduğum sürece bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan; Sayın Doç. Dr. Feza Bacakoğlu'na, Sayın Doç. Dr. Rifat Özacar'a, Sayın Doç. Dr. Ufuk Çağırıcı'ya, Sayın Doç. Dr. Alparslan Çakan'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bana daima destek olan sevgili arkadaşlarım; Sayın Dr. Çetin Aydın Yıldırım'a, Sayın Dr. Lale Dağyıldızı'na, Sayın Dr. Levent Sepit'e, Sayın Dr. Evşen Coşkun'a, Sayın Dr. Yavuz Havlucu'ya, Sayın Dr. Nurhan Sarıoğlu'na, Sayın Dr. Nesrin Yaman'a, Sayın Dr. Orhan Temel'e,

Tezimin hazırlanmasında katkısı olan Sayın Yard. Doç. Dr. Sinem Akçalı'ya, Sayın Dr. Ayşın Kısabay'a,

Her zaman yanımda olan ve beni her zaman destekleyen sevgili anneme, babama ve kardeşime, varlıklarıyla beni mutlu kılan yeğenlerime teşekkür ederim.

Hastanemizin tüm hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Dr. Ece Kaya

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER	2
A. Akciğer Kanseri	2
A. 1. Epidemiyoloji	2
A. 2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri.....	2
A. 3. Patogenez.....	12
A. 4. Sınıflama ve Patolojik Özellikler	13
A. 5. Klinik Bulgular	16
A. 6. Tanı	17
A. 7. Evreleme.....	18
B. Human Metapneumovirus (hMPV).....	22
B. 1. Genel Bilgiler	22
B. 2. Epidemiyoloji	24
B. 3. Mevsimsel Özellikler	25
B. 4. Semptom ve Bulgular.....	25
B. 5. Radyoloji	26
B. 6. Klinik Seyir	26
B. 7. Tanı	26
B. 8. hMPV İle Akciğer Hastalıkları İlişkisi	28
III. GEREÇ YÖNTEM	29
IV. BULGULAR.....	31
V. TARTIŞMA	34
VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	41
VII. ÖZET	42
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	44
IX. KAYNAKLAR	45

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Yirminci yüzyılın başlarında nadir bir hastalık olan akciğer kanseri, günümüzde erkeklerde ve kadınlarda kanser mortalitesinin en sık nedenidir. Erkeklerde kansere bağlı ölüm nedenleri arasındaki yeri uzun zamandır bilinmekteyken, kadınlarda da sigara kullanımının artması ile ölüm sıklığı açısından birinci sırayı almıştır. Üzerinde en çok çalışılan ve suçlanan etken sigara içiciliğidir. Sigara içiciliği ile akciğer kanseri arasında istatistiklere, klinik bulgulara ve bazı laboratuvar deneylere dayanan güçlü bağlantılar bulunmaktadır. Diğer olası etiyolojik etkenler arasında, radyoaktif maddeler, asbest, arsenik, krom, nikel, vinil klorür ve hardal gazı gibi çevresel etkenler sayılabilir.

Akciğer kanseri etiyolojisinde virüslerle ilgili çalışmalar da sürmektedir. Human papilloma virus (HPV), Epstein Barr virus (EBV), simian virus 40 (SV-40) tümör geliştirme potansiyeli kanıtlanmış virüslere aittir. Genel özellikleri epiteliotropizm olan bu virüsler, tipe özgü olarak benign ya da malign proliferasyonlara neden olabilirler. HPV'nin skuamöz hücreli akciğer kanseri ile ilişkisine özellikle dikkat çekilmiştir.

İlk kez 2001 yılında tanımlanan human metapneumovirus (hMPV), küçük çocuklarda, yaşlılarda ve immün yetmezlikli hastalarda solunum yolu hastalıklarıyla ilişkili olduğu bilinen yeni bir virüsdür. Akciğer kanserli olgular çoğunlukla ileri yaşta, yoğun sigara içimi olan olgulardır ve tanı konduğu anda çoğunlukla ileri evrededir. Bu nedenle hMPV açısından risk grubu olarak tanımlanabilir.

Bu tezin amacı, akciğer kanserinde hMPV görülme sıklığı ve hMPV ile akciğer kanseri arasında ilişki olup olmadığının araştırılmasıdır.

II. GENEL BİLGİLER

A. Akciğer Kanseri

A. 1. Epidemiyoloji

Akciğer kanseri, sigara kullanım alışkanlığındaki artışa paralel olarak sıklığı giderek artış göstererek, dünyada en çok görülen kanser türü haline gelmiştir. Gelişmiş ülkelerde sigara karşıtı kampanyalar ve içeriğinde yapılan değişiklikler sonucu akciğer kanseri görülme sıklığı 1980'den sonra erkeklerde azalma eğilimine girmiştir. Ancak kadınlarda sigara kullanımındaki artışa bağlı olarak akciğer kanseri sıklığı giderek artmaktadır (1, 2).

Tüm dünyada kanser olgularının % 12.8'i ve kanser ölümlerinin % 17.8'i akciğer kanserine bağlıdır (2). Ülkemizde de 15.78/1.000.000 oranı ile görülme sıklığı en fazla olan kanser türüdür (3).

A. 2. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

A. 2. a. Sigara

Akciğer kanseri önlenabilir bir hastalıktır. Bilinen risk faktörleri ortadan kaldırıldığında % 85-100 oranında gelişiminin engellenebileceği düşünülmektedir. Akciğer kanseri gelişiminden % 94 oranında sigara sorumludur (2). Skuamöz hücreli kanserlerin % 90'ı, küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK)'nin önemli bir bölümü sigara ile ilişkili iken, adenokanserlerde bu oran % 40'dır (2). Sigara içenlerde akciğer kanseri riski, içmeyenlerden 24-36 kat daha fazladır. Uzun süreli sigara içicilere oluşan mutasyonların kalıcı olması nedeniyle sigarayı bıraksalar bile, hiç sigara içmeyen bireylerin akciğer kanseri riskine dönemezler. Pasif sigara içiminde risk % 3.5'dir (3, 4).

Sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi, içilen sigara sayısı ile tütün ve sigara tipi (filtreli, filtresiz, puro, düşük tar ve nikotin içeriği vb.) akciğer kanseri gelişme riskini etkiler (4). Erkekler kadınlara göre sigara içmeye daha küçük yaşlarda başlamaktadırlar ve daha uzun süreli, yüksek tar içerikli ve derin inhalasyonlu sigara alışkanlığına sahiptirler. Filtresiz ve yüksek tar içeren sigara içilmesi akciğer kanseri gelişiminde çok daha risklidir. Filtreli sigaralarda nikotin ve katran oranı azalmaktadır. Ancak kişiler günlük sigara sayısını ve içme derinliğini arttırarak aynı miktarda nikotini almaktadırlar. Böylece akciğer kanseri riski değişmez (3).

Sigara içenlerde plazma nikotin derişimi içilen sigara sayısı ile ve her sigaranın içiş tarzı ile bilinçsiz olarak düzenlenmektedir. Eğer alışılmış sigara markası, standart sigara makinesi ile saptanmış dumanın ana akımına daha çok miktarda nikotin salgılayan bir başka marka ile değiştirilirse, tüketilen sigara sayısında azalma olur ve sigara içme tekniği sigara kullanıcı tarafından modifiye edilir. Nikotinin aşırı miktarlarda içe çekilmesi önlenmiş olur. Tam tersine, düşük-nikotin içeren sigaraların tüketilmesi, sigara sayısının artmasına ve daha çok nikotinin alıkonulması için sigara içme tekniğinin modifiye edilmesine neden olur (5).

Sigara yakılmasıyla 980-1050 °C'lik sıcaklık meydana gelir. Bu sıcaklıkta tütün bileşikleri kısmen veya tamamen yeni bileşiklere dönüşürler. Sigara dumanında, 4.000'den fazla kimyasal bileşen vardır. Sigara dumanının katran fazında karsinojen ve tahriş edici maddeler bulunur (3).

Sigara dumanındaki aktif karsinojenlerden polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH)'ların en önemlisi benzo (a) piren maddesidir. PAH'lar mikrozomal enzimler tarafından epoksit türevlerine dönüştürülür. Epoksit türevleri hücrelerde DNA moleküllerinin arillenmesine neden olurlar. Tütünün işlenmesi sırasında içindeki nikotin ve diğer alkaloidler oldukça karsinojen olan tütüne özgü nitrozaminler oluşur (3).

Tütünün yanması iki tip duman oluşturur. Bunlar ana duman ve yan dumandır: Sigara içen kişinin dışarıya üflediği hava "ana duman" olup, yan dumana göre daha yüksek ısıda (950 °C) oluşur ve içen kişi için duman maruziyetinin asıl

kaynağıdır. "Yan duman" ise sigara kendiliğinden yanarken (600 °C) havaya yayılan dumandır ve çevresel sigara dumanı adını da alır (3, 4).

Çevresel sigara dumanında duman bileşiklerinin konsantrasyonları ve total miktarı sigara içen kişi tarafından inhale edilenden çok daha düşüktür. Maruziyet dozundaki bu fark sigara içmeyenlerdeki düşük hastalık oranını açıklamaktadır. Bununla beraber çevresel tütün dumanı maruziyeti, aktif sigara içiminden daha erken başlar. Özellikle sigara içenlerin çocuklarında, karsinojen maruziyet süresi akciğer kanseri riskinin güçlü bir belirleyicisidir (3, 4).

Duman partikülleri çökünce normal akciğerin temizleme mekanizmalarıyla temizlenir. Bunlar alveoler makrofajlar ve mukosilier transporttur. Bununla birlikte dumanın akut ve kronik solunumu bu klirens mekanizmalarını değiştirebilir (4). Sigara dumanındaki tahriş edici maddeler siliatoksiktir. Sigara dumanını akut inhalasyonu siliostaz ve mukosilier klirens azalmasıyla sonuçlanır. Kronik inhalasyonu ise hava yolunun inflamatuvar amfizematöz daralmasıyla mukus miktar ve karakterini değiştirerek silli epiteli silsiz epitele dönüştürür. Klirensin değişimi, karsinojenlerin hava yollarında daha uzun süre birikimiyle sonuçlanır. Akciğer kanseri gelişme riski yüksek olan sigara içicilerde eksfoliatif sitoloji, metaplaziden displaziye ve karsinoma insituya doğru progresyon gösterir (3).

A. 2. b. Yaş

Akciğer kanseri insidansının yüksek olduğu ülkelerde yaş en önemli belirleyici faktördür. Akciğer kanseri insidansı yaşla artmakta, 6-7. dekadlarda pik yapmaktadır. Ancak % 5'ten azı 40 yaş altındadır (3).

A. 2. c. Cinsiyet

Akciğer kanseri erkeklerde daha sık görülmektedir. Ancak son yıllarda akciğer kanseri insidansı kadınlarda erkeklere göre daha hızlı bir artış göstermektedir. Bu sonuçların sigara içme alışkanlığındaki değişikliklerle ilgili

olduğu düşünölmektedir. Kadınlarda akciğer kanseri gelişiminde giderek artan sigara kullanımı dışında başka faktörler de suçlanmaktadır. Özellikle adenokarsinom gelişmesinde ekzojen ve endojen östrojenlerin rol oynayabileceği bildirilmiştir (3).

Histolojik tip ve sağkalım açısından cinsiyetler arasında farklılıklar vardır. Sigara içmeyen kadınlarda ve erkeklerde adenokarsinom daha sık görölmektedir. Adenokarsinomun göreceli yüksek insidansı, özellikle sigara içmeyen kadınlarda erkeklere göre yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni, kadınların akciğerlerinin sigara dumanının karsinojenik etkilerine erkeklerden daha duyarlı olması olabilir (3). Ayrıca adenokanser oranındaki artıştan, giderek artan light sigara kullanımı ve bu sigaranın dumanının akciğerin daha periferine kadar çekilmesinin de sorumlu olduğu düşünölmektedir.

A. 2. d. Irk

Siyah ırkta beyazlara göre 1.4 kez daha sık görölmektedir. En fazla zencilerde, en az İspanyol kökenlilerde görölmektedir (3, 4).

A. 2. e. Diyet

Vitamin A ve β -karotenden fakir diyet akciğer kanseri riskini artırır. Diyetinde β -karoten/retinol miktarı yüksek olan olgularda akciğer kanseri göreceli riski 0.59'a düşmektedir (3, 4). Karotenoid alımının ve serum karoten seviyelerinin, skuamöz hücreli ve KHAK'nde, diğer histolojik tiplere oranla daha koruyucu olduğu gösterilmiştir.

Retinolün hücrenel farklılaşmayı artırarak antineoplastik etki gösterdiği ileri sürölürken, karotenin antioksidan etkisi nedeniyle antikanserojen etkiye sahip olduğu düşünölmektedir (6).

Vitamin E, C ve selenyum benzer şekilde antioksidan etkiyle riski azaltmaktadır. Yüksek yağlı diyetle beslenen sigara içicilerinde akciğer kanseri

riskinin arttığı gösterilmiştir. ay (özellikle yeşil çay) tüketimi de koruyucu etki gösterir (3, 4). Sigarayı bırakan kişilerden yeşil ve sarı sebze tüketimi az olanlarda, akciğer kanserinden ölüm sıklığı çok tüketenlere göre 3 kez daha fazla izlenmektedir (6).

A . 2. f. Çevresel ve Mesleksi Etkenler

Akciğer kanseri etiyolojisinde pek çok çevresel ve mesleksi karsinojen tanımlanmıştır. Bu karsinojenler Tablo 1'de özetlenmiştir (4).

Tablo 1. Akciğer kanseri ile ilgili karsinojenler

Karsinojen	Risk Oranı	İlgili Meslekler
Asbest Sigara içmeyen Sigara içen	5 92	Madenciler, tekstil, izolasyon ve tersane işçileri
Uranyum Sigara içmeyen Sigara içen	7 38	
Kömür kurumu, katran	2-6	Havagazı işçileri, asfalt, katran, kok fırını işçileri, baca temizleyicileri, madenciler
Hardal gazı	2-36	Hardal gazı işçileri
Vinil klorür	4.2	Plastik sanayi işçileri
Arsenik	3-8	Maden ve kaynak işçileri, böcek öldürücüler, şarap üreticileri, petro-kimya işçileri
Krom	3-40	Krom çıkaran, işleyen ve kullananlar, asetilen ve anilin işçileri, çamaşır suyu üreticileri, cam seramik, muşamba ve batarya işçileri
Nikel		Nikel rafinerisi
Biskloremetileter		Tekstil, boya, ev izolasyonu
Demir-çelik		Dökümhaneler, çelik işçileri
Dizel-egzoz		Kamyon sürücüleri, demiryolu işçileri
Berilyum		Berilyum işçileri
Kadmiyum		Eritme işçileri
Elektromanyetik alanlar		Radar işçileri, telekomünikasyon, mikro dalga
Silis		Silis tozuna maruz kalanlar
Formaldehid		Kimya endüstrisi

A. 2. f. 1. Mesleksel Etkenler

Arsenik, krom, nikel gibi metallere maruziyet akciğer kanseri gelişimine neden olabilir. Arseniğin trivalan formunun inhalasyon yolu ile alınması akciğer kanserine yol açmaktadır (6). Silika maruziyetinin akciğer kanserindeki rolü çok kesin değildir. Sigara içilmesi, bilinen mesleksel akciğer karsinojenlerinin etkinliğinin arttırmaktadır (3). Sigara içen madencilerde, sigara içmeyen madencilere göre akciğer kanseri riskinin 10 kez daha fazla olduğu bildirilmektedir (6).

A. 2. f. 2. Radyasyon

İyonize radyasyon ve mineral fibrilleri akciğer kanseri gelişiminde rol oynamaktadır. Akciğer kanseri riski, maruziyet süresine bağlı olarak 3-30 kez artış göstermektedir.

1950'li yıllarda akciğere zararı olan radyasyonun radona bağlı olduğu anlaşılmıştır (3). Radon maruziyetinin daha çok KHAK'e yol açtığı çalışmalarla gösterilmiştir (6). Mesleksel radon maruziyetinde risk 20 kat artmaktadır. Ev içi radon maruziyetinin akciğer kanserlerinin % 10'unda etken olduğu tahmin edilmektedir (3,4).

A. 2. f. 3. Asbest

Akciğer kanseri gelişiminde rol oynayan diğer bir etken de asbesttir. Asbestin değişik tipleri arasında karsinojenik potansiyel açısından farklılıklar bulunur. Krizotil asbeste maruz kalanlarda 2-4 kez daha fazla solunum sistemi kanseri görülmektedir. Krizotil ve kromidolit asbeste birlikte maruz kalanlarda kontrollere göre 5.3 kez ölüm hızı daha yüksek bulunmuştur. Amozit asbeste maruz kalanlarda solunum sistemi kanserinden ölüm 10 kez fazla izlenmektedir (6). Asbest maruziyeti ve sigara içimi birbirinden bağımsız olarak akciğer kanserine neden olur, ancak birlikte olduklarında akciğer kanseri riskini arttırmada sinerjistik etkiye sahiptirler (3).

A. 2. f. 4. Hava Kirliliği

Hava kirliliği ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi kurmak zordur. Bununla birlikte PAH'ın yoğun olduğu b6lgelelerde akciğer kanserinin y6ksek olduğu bildirilmektedir. Őehirlerde yaşayanlarda kırsal b6lgede yaşayanlara g6re akciğer kanseri gelişimi 1.2 - 2.3 kat daha y6ksektir (3).

Hava kirliliği yapan fakt6rler fosil, yakıt yanma 6r6nleri, motorlu araçlar ve dizel motor egzozları, enerji santralleri, end6stri ve ev yakıtlarıdır (3).

Ev içi hava kirliliğinin oluşmasından ya dışarıdan evin içine giren hava ya da ev içinde oluşan sigara içimi, inşaat malzemeleri, ısıtma ve pişirme amaçlı ortaya çıkan gazlar sorumludur (3).

T6m bu karsinogenler ile spesifik histolojik tipte akciğer kanseri gelişimi arasında kesin bir bağlantı g6sterilememekle birlikte, radon ve klormetil karşılaşımında KHAK sıklığının arttığı bildirilmektedir (6).

A. 2. g. Geçirilmiş Akciğer Hastalıkları

Lokalize pulmoner skar alanlarına yakın oluşan ve yaygın akciğer fibrozisi olan hastalarda gelişen akciğer kanserleri bildirilmiştir. Skar ve fibrozis sonucu gelişen avask6larite ve doku anoksisinin epitel metaplazisine yol açtığı ve karsinogenezi hazırladığı d6ř6n6lmektedir (4). T6berk6loz, bronşektazi, pn6moni, abse, pulmoner emboli, interstisyel akciğer hastalıklarında olduğu gibi akciğerlerde skar dokusunun kanser gelişimine zemin oluşturduğu ve akciğer t6berk6lozu geçiren olgularda akciğer kanseri gelişme riskinin 8 kat fazla olduğu belirtilmektedir (2). Fibrozisle giden skleroderma ve sarkoidoz gibi hastalıklarda da akciğer kanseri riskinin arttığı değişik çalışmalarda bildirilmiştir (7).

Akciğer kanser riskinin arttığı diğer bir hastalık ise kronik obstr6ktif akciğer hastalığı (KOA) 'dır. Riskteki artış, fibrozis ya da KOA sonucu oluşan yapısal bozukluklar nedeni ile karsinogenlerin klirensinin azalmasına bağlanmaktadır.

Skvamöz metaplazi ve atipik epitelyal proliferasyonun, malign değişikliklere zemin hazırladığı saptanmıştır (7).

A. 2. h. Genetik Faktörler

A. 2. h. 1. Ailesel Agregasyon

Akciğer kanserli hastaların sigara içen akrabaları, kontrol bireylerinin sigara içen akrabaları ile karşılaştırıldığında, bunlarda akciğer kanserinden ölüm relatif riski 2-2.5 olarak bulunmuştur. Ayrıca akciğer kanserli hastaların akrabalarında akciğer dışı kanser sıklığında da artış gözlenmiştir. Tüm bu araştırmaların sonucunda, akciğer kanseri için ailesel bir yatkınlığın söz konusu olabileceği düşünölmektedir (7).

A. 2. h. 2. Genotipik İlişkiler

KHAK ve skuamöz hücreli akciğer kanserlerinde HLA-B12 antijeninin beklenenden daha fazla olduğu görölmüştür. Normal kontrol grubunda a4 *Ha-ras* onkojenik alleli % 15 sıklığında izlenirken, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) hastalarında bu allele % 29 oranında rastlanmıştır. Özellikle KHAK'li hastalarda 3, 13 ve 17 numaralı kromozomlarda delesyonlara rastlanmaktadır. Bu kromozomlardan kopan bölgelerin resesif *rb* ve p53 onkogenlerini barındırdığı düşünölmektedir (6). KHAK'de hücre dizilerinin % 50'sinden fazlasında *myc* ve *myc* ile ilişkili genlerde (*C-myc*, *L-myc*, *N-myc*) artış saptanmıştır. Bazı akciğer adenokarsinomlarında da *K-ras* geninin aktivasyonu gösterilmiştir (4).

A. 2. h. 3. Fenotipik İlişkiler

Bazı fenotipik enzim yetersizliklerinde kansere yatkınlığın artabileceği düşünölmektedir. Bunlardan en çok incelenen, sitokrom p-450 sistemidir. Bu

sistemin substratları, tütün ürünleri, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve nitrozaminler gibi prokanserojenlerdir (6). p-450 sisteminde yer alan aril hidrokarbon hidroksilaz (AHH) enziminin yüksek aktivite gösterdiği kişilerde, akciğer kanseri riski 8 kat artar (2). AHH, sigara dumanında bulunan polisiklik hidrokarbonları metabolizma yolu ile aktif karsinojenlere çeviren enzim sistemidir (4). Bu enzim, benzopiren ve aromatik hidrokarbonların metabolizmasının ilk basamağında görev alır ve ortaya çıkan metabolitler DNA mutasyonları ve hücrelerde malign transformasyonlara neden olur. AHH'ı denetleyen genin 2. kromozomda olduğu bilinmektedir. Bunun aksine, CYP2D6 geni 22 numaralı kromozomda yer almaktadır. p-450 enzimi CYP2D6'nın antihipertansif bir ilaç olan debrizokin sülfatı metabolize etme yeteneği ile, artmış akciğer kanseri riski arasında bir ilişkinin varlığı gösterilmiştir (6).

Hücre büyümesi ile ilgili işlevlerde rol alan genlerin radyasyon, kimyasal ajanlar ve virüsler gibi dış etkenlerle "onkogen" haline geçerek karsinogenezde çok yönlü gelişmelere yol açtıkları anlaşılmıştır (4).

A. 2. j. Viral Etkenler

Solunum yolu infeksiyonları tüm dünyada özellikle küçük çocuklarda mortalite ve morbiditenin başlıca nedenidir. Solunum yolu infeksiyonuna en sık neden olan virüsler, human respiratory syncytial virus (RSV), parainfluenza virus, adenovirus ve influenza virustur (8, 9).

Çeşitli virüslerin akciğer kanseri gelişiminde rol aldıkları ileri sürülmüştür. Kanser gelişim süresince bulunurlar ve tümör hücrelerinde saptanabilirler. Bunlar arasında HPV, EBV, "Human Cytomegalo Virus" (CMV), Human Herpes Virus-8 (HHV-8), SV-40, "Human T-cell Lösemi Virus-1" (HTLV-1) bulunur (10).

HPV tip 16 ve tip 18, insan karsinojenleri olarak kabul edilmişlerdir. Özellikle skuamöz hücreli pek çok kanserde etiyolojik önemi vurgulanmıştır (11, 12).

Gastrik adenokarsinom ve nazofarengeal kanserlerde EBV genomları in situ hibridizasyon ile saptanmıştır (13).

CMV epitelyal, glial hücreleri içeren çeşitli insan hücre tiplerini infekte edebilen bir herpes virüsdür. Prostat kanserleri, kolon kanserleri ve malign gliomaların patogeneğinde CMV'nin olduğu belirtilmektedir (10).

Kanser virüs ilişkisi araştırılan bir başka virüs de SV-40 virüsüdür. İnsanlardaki farklı tümörlerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile SV-40 varlığı gösterilmiştir. SV-40 genomunun mezotelyomada da bulunduğu saptanmıştır (10).

Akciğer kanseri ve virüs ilişkisi değerlendirildiğinde, HPV, EBV, SV-40'ın akciğer kanseri gelişimi ile ilgili olabileceği ileri sürülmüştür. Akciğer kanserlerinin viral etiolojisinde, virüsün asıl onkogenik bir faktör olarak kabul edilebileceği (genital sistemdeki HPV gibi) ya da mezotelyomadaki gibi önemli bir kofaktör olabileceği (asbestozis ve SV-40) düşünülür. Akciğer karsinomasındaki viral infeksiyon insidansı, EBV ile infekte nadir olgular ve HPV ile ilişkili birkaç olgu ile sınırlıdır (10).

A. 3. Patogeneze

Kanser gelişimi, bir dizi bağımsız moleküler olaydan oluşan karmaşık bir süreçtir. Kronik karsinojen maruziyeti sonucunda genetik yapıda hasar oluşmaktadır. Hücreyi kanserleşmeye götüren hasarın temelinde hücre çoğalması kontrol eden genlerdeki değişiklik yatar. Moleküler incelemeler akciğer kanseri hücrelerinde çekinik onkogenlerde baskın olmak üzere bir takım genetik lezyonların oluştuğunu göstermiştir. Mutasyonlar iki ana gen sınıfını hedef alır: Baskın onkogenler (hücre çoğalmasını uyarıcı genler) ve çekinik onkogenler (tümör baskılayıcı genler). Epitelyal büyüme faktörü (EGF) reseptörünü kodlayan *ERBB1* geni ve *RAS* protoonkogenleri daha çok KHDAK olgularında izlenen mutasyonlardan sorumludur. Baskılayıcı genler içinde ise en fazla araştırılanı ise p53 geni mutasyonudur. p53, 17p kromozomuna yerleşmiş bir nükleer fosfoprotein olup özellikle DNA hasarına yanıt olarak hücre siklusunu, DNA sentezi ve onarımını, hücre diferansiyasyonunu ve apoptozisi kontrol eden genleri düzenleyen proteini kodlar. KHAK olgularının % 90'ında ve KHDAK olgularının ise % 50'sinden fazlasında bu kromozom lokalizasyonunda anormal mutasyonlar izlenebilir (6).

Bütün kanserlerde olduğu gibi, tümör baskılayıcı genleri ve onkogenleri tutan genetik değişikliklerin biraraya gelmesi sonucu akciğer kanserleri oluşur. KHAK'leri, *myc* ailesi (*L-myc*, *N-myc*) de amplifikasyon ve raf geninde mutasyon gibi çeşitli onkogenlerdeki değişikliklerle karakterizedir. *L-myc* amplifikasyonu özellikle agresif davranışlıdır. Tümör baskılayıcı genleri olan p53 ve rb'nin mutasyonel inaktivasyonu KHAK'lerde oldukça sıktır ve ikincisi neoplastik transformasyon sırasındaki ilk değişiklik olabilir. Ek olarak, bütün KHAK'nde, bir tümör baskılayıcı genin bulunduğu 3. kromozomun kısa kolunda delesyon vardır. KHDAK'nde ise genetik değişiklikler az çok farklıdır. Skuamöz diferansiyasyonu olan birçoğunda epidermal büyüme faktör reseptörlerinde aşırı ekspresyonu görülmesi bu kanserlerin gelişmesinde bu polipeptidin rolü olduğunu düşündürmüştür. *K-ras* onkogeninde mutasyon özellikle adenokarsinomlarla ilgilidir. Çünkü bu onkogenlerin aktivasyonunda küçük bir tümöre radikal rezeksiyon bile yapılsa, prognoz kötüdür (14).

A. 4. Sınıflama ve Patolojik Özellikler

Günümüzde sigara içme sıklığı ve alışkanlıklarındaki değişiklikler tüm dünyada akciğer kanseri insidansını ve mortalitesini büyük ölçüde değiştirmektedir. Bu değişikliklerin akciğer kanserlerinin histolojik tipleri ve bunların görülme oranları üzerine de etkisi olmaktadır. Tümörlerin sınıflandırılması; hastaların tedavisinde uyum sağlanması yanı sıra epidemiyolojik ve biyolojik çalışmaların temelini oluşturması açısından oldukça önem taşımaktadır. Akciğer kanserlerinin sınıflaması Tablo 2'de gösterilmiştir (2).

Tablo 2. Malign akciğer kanserleri-yeni sınıflandırma (DSÖ-1999)

<p>1. Skuamöz hücreli karsinom</p> <p>Varyantlar;</p> <ul style="list-style-type: none">• Papiller• Berrak hücreli• Küçük hücreli• Bazaloid <p>2. Küçük hücreli karsinom</p> <p>Varyant;</p> <ul style="list-style-type: none">• Kombine küçük hücreli karsinom <p>3. Adenokarsinom</p> <ul style="list-style-type: none">• Asiner• Papiller• Bronkioloalveoler <p>Non-müsinöz</p> <p>Müsinöz</p> <p>Mikst müsinöz ve non-müsinöz</p> <p>ya da intermedier hücre tipi</p> <p>Müsin salgılayan solid</p> <p>Mikst subtipler</p> <p>Varyantlar;</p> <ul style="list-style-type: none">• İyi diferansiye fotal• Müsinöz (kolloid)• Müsinöz kistadenom• Taşlı yüzük hücreli• Berrak hücreli	<p>4. Büyük hücreli karsinom</p> <p>Varyantlar;</p> <ul style="list-style-type: none">• Büyük hücreli nöroendokrin k. (Kombine büyük hücreli)• Bazaloid karsinom• Lenfoepitelyoma benzeri k.• Berrak hücreli karsinom• Rabdoid fenotipinde büyük hücreli karsinom <p>5. Adenoskuamöz karsinom</p> <p>6. Pleomorfik, sarkomatoid ya da sarkomatöz elemanlar içeren karsinomlar</p> <ul style="list-style-type: none">• İğ hücreli ve/veya dev hücreli karsinom (Pleomorfik, iğ hücreli, dev hücreli karsinom)• Karsinosarkom• Pulmoner blastom• Diğerleri <p>7. Karsinoid tümörler (Tipik, atipik)</p> <p>8. Tükrük bezi tipindeki karsinomlar</p> <ul style="list-style-type: none">• Mukoepidermoid karsinom• Adenoid kistik karsinom• Diğerleri <p>9. Sınıflandırılmayan karsinomlar</p>
---	---

A. 4. a. Skuamöz Hücreli Karsinom

Skuamöz hücreli karsinomların % 90'ı lob, segment veya subsegment bronşlarından köken alır. Genellikle santral yerleşimlidir (7).

A. 4. b. Küçük Hücreli Karsinom

Kronik mukozal irritasyona bağlı olarak özellikle bronş bifürkasyonlarında görülür. Kulchitsky hücrelerinden köken aldığı düşünülmektedir. Tümör hücreleri lenfatikler ve damarlar içinde de ilerler. Skuamöz hücreli karsinomlardan farklı olarak santral erime ve kavitasyon nadirdir (7).

A. 4. c. Adenokarsinom

Sıklıkla periferde, plevranın altında yerleşir. Nekroz ve kavite oluşumu nadirdir. En belirgin histolojik özelliği bez yapısı oluşturabilmesi ve müsin salgılayabilmesidir. Soliter ya da multifokal olabilen bronkioloalveoler karsinomlar morfolojik özellikleri yanı sıra klinik seyir ve davranışlarındaki farklılıklar nedeniyle adenokarsinomların alt tipi olarak korunmuşlardır (7).

A. 4. d. Büyük Hücreli Karsinom

Büyük hücreli karsinom primer akciğer tümörlerinin en az % 10'unu oluşturur. Yetişkinlerde daha sık görülmektedir. Akciğer periferinde gelişirler. Erkek/kadın oranı 4/1 veya 5/1'dir (7).

A. 4. e. Nöroendokrin Karsinomlar

Akciğer karsinomlarının % 2-3 kadarını karsinoid tümör oluşturur. Karsinoid tümör; atipik karsinoid tümör, büyük hücreli nöroendokrin karsinom, KHAK ve

nöroendokrin ayrımlaşmanın gösterildiği KHDAK nöroendokrin tümörler arasındadır (7).

A. 5. Klinik Bulgular

Hastaların yaklaşık % 5'i semptomsuzdur. Tablo 3'de akciğer kanserinde semptomlar belirtilmiştir (2).

Tablo 3. Akciğer kanserinde semptomlar

Semptom ve Bulgular	Yaklaşık Sıklık (%)	Olası Neden
Öksürük	75	Hava yolu obstrüksiyonu, infeksiyon, akciğer kompresyonu
Kilo Kaybı	68	İlerlemiş kanser, karaciğer metastazı
Dispne	58-60	Büyük hava yolu obstrüksiyonu, plevral effüzyon, diyafragma paralizisi
Göğüs Ağrısı	45-50	Toraks duvarı invazyonu, brakial pleksus tutulumu
Hemoptizi	29-35	Hava yolunun tümör ile invazyonu
Kemik Ağrısı	25	Kemik metastazı
Çomak Parmak	20	Tırnak kökü ve uzun kemiklerde periost reaksiyonu, hipertrofik pulmoner osteoartropati, yeni kemik oluşumu
Ses Kısıklığı	5-18	Rekürren laringeal sinir tutuluşu
V. Cava Superior Sendromu	4	V. Cava Superior'a bası veya invazyon
Disfaji	2	Özefagus basısı
Stridor	2	Trakea obstrüksiyonu

A. 6. Tanı

A. 6. a. Radyolojik Yöntemler

Tanıda kullanılan yöntemlerin başında radyolojik incelemeler gelir. Radyolojik incelemeler tanının yanı sıra operabilitenin değerlendirilmesi ve hastaların izlenmesinde de önemlidir. Posteroanterior akciğer grafisi akciğer kanseri tanısında % 70-88 doğru sonuç verir.

Yan akciğer grafileri de oldukça önemlidir. Düz grafide görülmeyen olguların % 2'sinde yan grafide tanı konabilir (6).

Toraks bilgisayarlı tomografisi (BT), lezyonun iç yapısını, kenar özelliklerini, çevre dokularla ilişkilerini, plevral sıvı, kalsifikasyon, kavite varlığını daha net gösterebildiği gibi mediastinal ve periferik lenf bezi büyümeleri ile organ metastazlarını ortaya çıkarmada da yardımcı olur (7). Konvansiyonel akciğer tomografisi özellikle ana bronşlar ve karinada yerleşen tümörleri göstermede yararlıdır. 1 cm'den küçük nodüllerin saptanmasında spiral BT, konvansiyonel BT'den üstündür. Pulmoner nodüllerin BT ile değerlendirilmesinde nodülün lokalizasyonu, dansitesi, kontrastla boyanma paterni ve morfolojisi mutlaka tanımlanmalıdır. 1-3 cm arası sferik, homojen soliter pulmoner nodüller ayırıcı tanı yönünden mutlaka dinamik spiral BT ile değerlendirilmelidir.

Toraks manyetik rezonans görüntüleme, mediastinal yağ dokusu ve damarsal yapılara invazyonu değerlendirmede ya da hiler vasküler yapılarla lenfadenopati ayırımında yarar sağlar. Özellikle superior sulkus tümörlerinde ve göğüs duvarı invazyonlarında yardımcı olmaktadır (2).

Akciğer kanserlerinin tanı, evreleme ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesi ile operabl akciğer kanserlerinde operasyon sonrası tahmini akciğer fonksiyonlarını belirlemede nükleer tıp teknikleri de kullanılabilir. Bu amaçla Single Photon Emission Tomography (SPECT), Pozitron Emisyon Tomografisi (PET), kantitatif akciğer ventilasyon-perfüzyon sintigrafisi kullanılan yöntemler arasındadır.

A. 6. b. Diğer Yöntemler

Balgam sitolojisi, bronkoskopi, transtorasik iğne biyopsisi, torasentez, plevra biyopsisi, cerrahi yöntemler kullanılabilir.

A. 7. Evreleme

Akciğer kanserinin doku tanısının belirlenmesinden sonra, hastalığın yaygınlığının saptanması, doğru tedavinin seçilmesi ve prognozunun belirlenmesi amacıyla evrelendirme yapılır (7).

A. 7. a. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserlerinde Evreleme

Akciğer kanserli hastaların evrelendirilmesinde, tedavinin planlanmasında ve etkinliğinin değerlendirilmesinde bölgesel lenf bezlerinin durumu önemli bir faktördür. Tablo 4'da TNM sınıflaması, Tablo 5'de TNM evrelendirme sistemi görülmektedir (2).

Tablo 4. KHDAK'de TNM sınıflaması

PRİMER TÜMÖR (T)
Tx: Primer tümörün belirlenememesi veya balgam ya da bronş lavajında malign hücrelerin tespit edilip görüntüleme teknikleri ya da bronkoskopi ile tümörün gösterilememesi
T0: Primer tümör belirtisi yok
T1: En geniş çapı ≤ 3 cm, akciğer veya visseral plevra ile çevrili, bronkoskopik olarak lob bronşundan daha proksimale (ana bronşa) invazyon göstermeyen tümör
T2: Tümörün aşağıdaki özelliklerden en az birine sahip olması: En geniş çapı > 3 cm, ana bronşa invaze ancak ana karinaya uzaklık ≥ 2 cm, visseral plevra invazyonu, hiler bölgeye ulaşan ancak tüm akciğer kapsamayan atelektazi ya da obstrüktif pnömoni
T3: Tümörün herhangi bir büyüklükte olup göğüs duvarı (superior sulkus tümörleri dahil), diyafragma, mediastinal plevra, paryetal perikard gibi yapılardan herhangi birine direkt invazyon göstermesi; veya karinaya 2 cm'den daha yakın ancak karinayı tutmayan ana bronştaki tümör; veya bütün bir akciğeri kapsayan atelektazi veya obstrüktif pnömoni ile birlikte olan tümör
T4: Tümörün herhangi bir büyüklükte olup mediasten, kalp, büyük damarlar, trakea, özefagus, vertebral kolon, karina gibi yapılardan herhangi birini invaze etmesi; veya malign plevral veya perikardial sıvı ile birlikte olan tümör*, veya tümörle aynı lob içindeki satellit nodül ve nodüllerin varlığı

BÖLGESEL LENF NODU (N)
Nx: Bölgesel lenf bezlerinin değerlendirilememesi
N0: Bölgesel lenf bezi metastazı yok
N1: Aynı taraf peribronşial ve/veya aynı taraf hiler lenf bezlerine metastaz ve primer tümörün direkt yayılması ile intrapulmoner bezlerin tutulması
N2: Aynı taraf mediastinal ve/veya subkarinal lenf bezlerine metastaz
N3: Karşı taraf mediastinal, hiler; aynı taraf supraklavikular veya skalen lenf bezi metastazı
UZAK METASTAZ (M)
Mx: Uzak metastaz varlığının değerlendirilememesi
M0: Uzak metastaz yok
M1: Uzak metastaz var**

* Akciğer kanseri ile birlikte olan plevral effüzyonların çoğu tümöre bağlıdır. Bununla birlikte bazı hastalarda plevral sıvının yinelenen sitolojik incelemesinde tümör saptanamaz. Bu olgularda sıvı hemorajik ve eksuda özelliğinde değildir. Klinik ve sıvının özellikleri tümörü düşündürmüyorsa sıvı evrelemede dikkate alınmamalı ve hasta da T1, T2 veya T3 olarak değerlendirilmelidir.

** Tümörün olduğu lob dışındaki tümör nodülleri M1 olarak sınıflandırılır.

Tablo 5. TNM'ye göre evreleme

	T _x N ₀ M ₀ *
EVRE 0	T _{is} N ₀ M ₀
EVRE I A	T ₁ N ₀ M ₀
EVRE I B	T ₂ N ₀ M ₀
EVRE II A	T ₁ N ₁ M ₀
EVRE II B	T ₂ N ₁ M ₀
	T ₃ N ₀ M ₀
EVRE III A	T ₃ N ₁ M ₀
	T ₁ N ₂ M ₀
	T ₂ N ₂ M ₀
	T ₃ N ₂ M ₀
EVRE III B	T ₄ N ₀ M ₀
	T ₄ N ₁ M ₀
	T ₄ N ₂ M ₀
	T ₁ N ₃ M ₀
	T ₂ N ₃ M ₀
	T ₃ N ₃ M ₀
	T ₄ N ₃ M ₀
EVRE IV	Herhangi bir T-N, M ₁

* Gizli karsinom için evreleme yapılmaz, T_xN₀M₀ olarak tarif edilir.

A. 7. b. Küçük Hücreli Akciğer Kanserlerinde Evreleme

TNM evreleme sisteminin kullanılması önerilmiş olsada, pratik uygulamada “Veterans Administration Lung Cancer Group” (VALG) tarafından önerilen sınırlı ve yaygın hastalıktan oluşan ikili sistem daha çok kullanılmıştır. Evre I, II ve III’ü sınırlı, Evre IV’ü yaygın hastalık olarak değerlendirmek mümkündür. Bu evreleme sistemi Tablo 6’de görülmektedir (2).

Tablo 6. KHAK’de evreleme

Sınırlı Hastalık: Bir hemitoraksa sınırlı tümör; aynı ya da karşı tarafa hiler, mediastinal ve supraklavikular lenf bezi metastazı; aynı taraf malign plevral effüzyon
(TNM’ye göre Evre I, II, III)
Yaygın Hastalık: Sınırlı hastalık kapsamına girmeyen tümör
(TNM’ye göre Evre IV)

B. Human Metapneumovirus (hMPV)

B. 1. Genel Bilgiler:

hMPV, küçük çocuklarda ve erişkinlerde üst ve alt solunum yolu infeksiyonlarına yol açan, ilk kez 2001 yılında Hollanda’da tanımlanmış yeni bir virüstür (15). Virüs, retrospektif çalışmalarda, başlangıçta etiyolojik bir ajan saptamak için solunum yolu infeksiyonlu kişilerden alınan solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir (16). Yeni tanımlanmış olmasına rağmen en azından 50 yıldır toplum içinde olduğu tahmin edilmektedir (15, 17). Hollanda’nın ardından

Avustralya, Kanada, Amerika, Finlandiya, İngiltere, Fransa, Japonya ve İspanya gibi pek çok ülkede de bulunmuştur (8, 16, 18). Moleküler çalışmalar, gen organizasyonu, elektron mikroskopi bulguları ve nükleik asit sırası ile *Metapneumovirus* genusu, *Pneumovirinae* subfamilyası, *Paramyxoviridae* familyasının bir üyesi olarak kabul edilmiştir (15, 16, 19-22).

hMPV'nin bulunmasından önce bu genusun tek üyesi avian metapneumovirus (APV) idi (20). hMPV izolatlarının RNA sekans analizleri onun, APV C subtipi ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (16). Bu virüs, bütün APV'larla, insan solunum patojenlerinden "Human Respiratory Syncytial Virus" (RSV) ve parainfluenza virusları içeren diğer paramikzoviruslara göre daha yakından ilişkilidir.

Avian influenza, *Orthomyxoviridae* ailesinden influenza grubuna ait RNA genetik materyali bulunan influenza A virüsüdür. Kanatlı hayvan türlerinden izole edilen bir çok serotipi bulunmaktadır. Bilinen 15 farklı Hemaglütinin (HA) ve 9 farklı Nörominidaz (NA) tipinin varlığı söz konusudur. Hastalığın insanlara bulaşması, enfekte hayvanlara veya enfekte hayvanların dışkı, burun salgısı ile kontamine olmuş yüzeylere temas sonucu ya da kontamine materyallerden havaya karışan virüslerin solunması ile olabilir. İnsandan insana bulaşmanın olmadığı, virüsün mutasyonla bu karaktere de sahip olabileceği ifade edilmektedir. İnsanlarda influenza A H5N1 serotipinin neden olduğu infeksiyonlarda ateş, boğaz ağrısı, öksürük, solunum güçlüğü gibi solunum sistemine ait belirtiler ve viral pnömoni görülebilmektedir (23).

Metapneumoviruslar, pleomorfik, sarmal virüonlu, 150-1000 nm arasında değişmekle birlikte ortalama uzunluğu 200 nm olan, helikal bir nükleokapsid formunun negatif polarite gösterdiği, nonsegmente, çift zincirli RNA içeren, yüzey glikoproteinleri ve çıkıntıları olan virüslerdir. Çubuk benzeri filamentöz parçaları, elektron mikroskobu tarafından görülebilir. hMPV 13.350 nükleotid içermektedir. Genomik oluşumu nükleoprotein (N), fosfoprotein (P), matriks protein (M), füzyon protein (F), matriks proteinleri M2-1, M2-2 (M2), glikoprotein (G), küçük hidrofobik protein (SH), polimeraz (L) şeklinde sıralanmıştır. Gen sırası 3'-N-P-M-F-M2-SH-G-

L-5' şeklindedir (24). Böylece hMPV 9 proteinden oluşur (15, 20, 25). Bu virüs kırmızı kan hücreleri ile aglütinasyon yapamamaktadır (16). hMPV'nin "tertiary" maymun böbrek hücrelerindeki viral replikasyonunun tripsine bağımlı olduğu bulunmuştur (15, 20).

B. 2. Epidemiyoloji:

hMPV infantlarda, küçük çocuklarda, yaşlılarda ve immün yetmezliği olan kişilerde ciddi alt solunum yolu infeksiyonlarına neden olabilmektedir. 2 yaşından küçük çocukları, özellikle de 12 aylıktan küçük olanları etkilemektedir (8, 17, 18, 25, 26). Cinsiyet açısından fark görülmemekle birlikte, erkeklerde daha çok (% 70) mikst tip viral infeksiyon izlendiği bildirilmektedir (27).

hMPV için olası risk faktörleri prematürite, konjenital kalp hastalığı, gastroözefagial reflü hastalığı ya da aspirasyon, multipl konjenital anomaliler, kistik fibrozis, nonhogkin lenfoma, lösemi gibi hastalıklar, kemik iliği veya böbrek transplant alıcısı olmak, kronik akciğer hastalığı, sigara içimi veya önceden sigara içmiş olmak, uzun süre oral steroid alımı ve evde oksijen kullanımınıdır (17, 26, 28, 29).

hMPV'nin yol açtığı solunumsal infeksiyonlar akut bronşit, bronşiolit, astım akut atak ve pnömonidir (17, 22).

hMPV, RSV ile aynı epidemiyolojik ve klinik özellikleri paylaşır (8, 17). hMPV'nin şiddetli RSV hastalığına katkıda bulunmadığını savunanlar da vardır (30). hMPV'nin, RSV, influenza virus, CMV, adenovirus, rhinovirus ile birlikteliği bildirilmiştir (8, 31-35). Şiddetli hastalığıdaki bu yüksek RSV-hMPV ko-infeksiyon oranı ve hastalık şiddeti, RSV subtip/genotip içeren önceki çalışmaları desteklemektedir ve RSV hastalığındaki kemokin ve sitokin ekspresyonunu yeniden değerlendirmeyi gerektirir (33). Ancak RSV ve hMPV arasında ko-infeksiyon bulamadıklarını bildiren çalışmalarda vardır (25).

hMPV'nin coronavirus ile ko-infeksiyonu da görülebilir (36). "Severe Acute Respiratory Syndrome" (SARS) düşünülen hastaların % 52'sinde hMPV

bulunmuştur. SARS'ın etiyolojisinde hMPV'nin rolü olduğu onaylanmıştır (37). hMPV ile hastane kökenli infeksiyon olabilir (8).

B. 3. Mevsimsel Özellikler:

hMPV, RSV gibi mevsimsel dağılım özelliğine sahiptir (16, 21, 26, 30, 38). RSV infeksiyonu Mart - Aralık ayları arasında sıktır (39). hMPV'nin kış - ilkbahar aylarında sık görülür (16, 25, 26, 27, 29, 30, 34, 39, 40).

B. 4. Semptom ve Bulgular:

Klinik bulguları asemptomatik infeksiyondan komplike pnömoniye kadar değişebilir. Diğer semptomlar arasında, rinore, nazal konjesyon, konjonktivit, farengeal eritem, miyalji, ateş, öksürük, diyare, takipne, daha ciddi olgularda ise stridor, wheezing, bronşiolit, pnömoni, respiratuar distres, hipoksi, siyanoz, kusma, beslenme güçlüğü, ses kısıklığı ve solunum yetmezliği bulunur (8, 9, 26, 30). Yaygın klinik özellikleri arasında bronşiolit (% 27-59), pnömoni (% 8-27), larengotrakeobronşit (% 3-18), apne (% 12) ve otitis media (% 12) sıralanmıştır (17, 39). Diğer virüslerle infekte hastaların çok az bir kısmında akciğer tutulumu varken, pnömoni gelişen hastaların çoğunun nazal sürüntü örneklerinde hMPV saptanmıştır (16). hMPV'nin en az influenza kadar önemli bir febril konvulziyon nedeni olduğu vurgulanmıştır (35).

Çok küçük çocuklarda, hMPV ile ilişkili klinik semptomlar RSV'dekilere benzerdir. RSV ile infekte çocuklarda, dispne, hipoksemi ve beslenme güçlüğü'nün daha sık olduğu, hMPV ile infekte çocuklarda kortikosteroidler ve antibiyotikler ile daha sık tedavi gerektiği bildirilmiştir (26).

Fizik muayenede, göğüste retraksiyonlar, ince krepitasyonlar, kaba raller, bazen ronküs olduğu saptanmıştır (9).

B. 5. Radyoloji:

Akciğer grafisinde peribronşial kalınlaşma, hiler dolgunluk, fokal infiltratlar, bilateral pnömonik infiltratlar, interstisyel, perihiler, yamalı infiltrasyonlar, hiperinflasyon, atelektazi izlenebilir (8, 9, 17).

B. 6. Klinik Seyir:

hMPV ile infekte infantlarda hospitalizasyon ve mekanik ventilasyon gereksinimi, hastanede kalma süresi daha yüksektir, hastalık daha ağır seyreder (9, 15, 18, 35). Ancak genç çocuklarda klinik bulgular daha hafiftir (27). Ko-infeksiyon varlığında klinik ağırlaşabilir (41).

B. 7. Tanı:

Yapılan çalışmalarda solunum örnekleri olarak bronkoalveoler lavaj (BAL), nazofarengeal ve nazal sürüntü, nazofarengeal ve nazal yıkama, nazofarengeal ve trakeal aspirasyon örnekleri, boğaz sürüntüsü, balgam ve serum kullanılmaktadır (8, 26, 34, 42). Nazal sürüntü örneklerinde nazal yıkama örneklerine göre hMPV pozitifliği anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (34).

Bu virüsün izolasyonu oldukça zordur. İzolasyonundaki zorluğun nedeni, viral tanı laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan doku kültür hücrelerinde kolay ürememesi ve replikasyonunun çok yavaş olması nedeniyle "tertiary" maymun böbrek hücrelerinde yavaş üremesidir (15, 16). Çalışmalarda "tertiary" maymun böbrek hücreleri (tMK), "rhesus" maymun böbrek hücrelerinde (LLC-MK2), insan larengeal karsinoma hücreleri (HEp-2), "Madin Darby canine kidney" hücreleri (MDCK), Vero ve A549 hücreleri, civciv embriyo fibroblastları (CEF) kullanılmıştır (15, 36).

hMPV'nin hücre kültürlerinde replikasyonu zordur ve klasik saptama metodları yetersiz kalmaktadır. hMPV için çalışmalarda seroloji, IgG Enzim "immunoassay" (EIA), "immunofloresans" yöntem, hücre kültürü kullanılmıştır. "İmunofloresans" yöntem ya da enzim "immunoassay" için monoklonal antikolar gerekir, güvenilirliği sağlamak için başka testlere gerek duyulur ve hazırlanması çok kolay değildir. Hücre kültürlerinde izolasyon etkin değildir (40). Kültür hücreleri kullanılarak hMPV izolasyonu oldukça zordur ve "real-time" PCR (RT-PCR) ile karşılaştırıldığında etkili değildir (25).

Nükleik asit çoğaltma yöntemleri içerisinde ilk geliştirilen yöntem olan ve DNA zincirinin önceden belirlenen bir bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR, halen uygulaması ve kontrolü en kolay olan, bu nedenle de araştırmalarda en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Son yıllarda PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlamak için kullanılan cihazların "(thermocycler)" hassas ölçüm aletleriyle birleştirilmesi, RT-PCR olarak adlandırılan yeni bir yöntemin gelişmesine neden olmuştur. RT-PCR, geleneksel PCR'ın uygulama alanlarını artırırken PCR'la ilişkili pek çok laboratuvar sorununa da çözüm getirmiştir. Bu yöntem sayesinde DNA ve RNA örnekleri kalitatif ve kantitatif olarak kısa sürede analiz edilebilmekte, çok sayıda örnek son derece az kontaminasyon riskiyle güvenle çalışılabilmektedir.

RT-PCR'da ürünlerin analizi reaksiyon sırasında yapılmaktadır. Bu nedenle, agaroz jel elektroforezi, DNA bantlarının mor ötesi ışık altında görüntülenmesi gibi işlemlerin uygulanmasına gerek kalmamaktadır. RT-PCR ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde, diziyeye özgün olmayan floresan boyalardan ya da diziyeye özgün problemlerden yararlanılmaktadır. Böylece sonuçlar anında alınmakta, kontaminasyon riski azalarak tüm işlemler sıcaklık döngüleri başlayınca otomatik olarak devam etmektedir (43).

Yukarıdaki avantajlar nedeniyle RT-PCR, hMPV ile ilgili hastalıkları ve epidemiyolojisini aydınlatmak için duyarlı bir testtir (34, 38). Ayrıca virüsün üremesi ve elde edilmesinin güç olması ve hızlı antijen saptama testlerinin kolay ulaşılabilir bir yöntem olmaması, PCR yönteminin avantajını daha da arttırmaktadır (27).

B. 8. hMPV İle Akciğer Hastalıkları İlişkisi

hMPV infeksiyonunun astım ya da KOAH atağına yol açtığını destekleyen kanıtlar vardır. Özellikle astım-hMPV infeksiyonu birlikteliğine daha sık rastlanır ve hMPV infeksiyonu sonrasında bronşial hiperreaktivite gelişebilir (17, 18, 26, 42). Virüslerin astımı tetiklemesi yüzünden çocuklarda ve infantlarda atopi gelişmesine neden olduğu ileri sürülmüştür (35).

Benzer şekilde KOAH akut ataklı hastalarda hMPV görülme sıklığı % 0-12 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (37, 44, 45).

Yapılan taramalarda literatürde hMPV ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Akciğer kanseri olgularında sigara içimi, ileri yaş, kansere bağlı immün yetmezlik ya da kemoterapi, radyoterapi gibi bağışıklık sistemini baskılayan tedavilerin uygulanması ve sık hastane yatışları hMPV varlığı açısından risk oluşturan durumlardır (17, 26, 29).

III. GEREÇ YÖNTEM

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda 01/10/2005 ve 15/02/2006 tarihleri arasında akciğer kanseri tanısı alan 70 hasta çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak tarama testleri tamamlanmış (HBV, HCV, HIV, Sifiliz açısından) ve kan donörü olarak kabul edilmiş 30 sağlıklı kişi seçildi. Kan donörlerine rutin hemogram bakılarak lökositozu ve anemi olup olmadığı değerlendirildi, bakteriyel ve viral infeksiyon ekarte edildi. Olgulardan bilgilendirilmiş onam formu doldurulup izinleri alındıktan sonra, 5 cc periferik kan örneği alındı. Kan örnekleri 4000 devirde, 5 dakika santrifüje edildikten sonra çalışılmak üzere -80°C' de saklandı. Akciğer radyogramında kitle lezyonu olan, ardından çekilen toraks tomografisi ile kitle lezyonu doğrulanan ve akciğer kanseri ön tanısıyla ileri tetkik planlanan hastalara bronkoskopi işlemi uygulandı.

Bronkoskopi öncesi olgular işlem konusunda bilgilendirildi, onam formu dolduruldu. İşlem öncesi premedikasyon amacıyla atropin + midazolam kullanıldı. Lokal anestezi % 2'lik lidokain solüsyonu ile sağlandı. Üst solunum yollarının anestezisi sağlandıktan sonra yatarak ve ağız yoluyla işlem yapıldı. Aspirasyon, biyopsi ve fırçalama yeri radyolojik lokalizasyon ve bronkoskobik bulgularla belirlendi. Biyopsi materyali formollü şişelerde saklandı. Aspirasyon materyali lamlara püskürtülerek hemen alkol ile tesbit edildi ve en kısa sürede patoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Materyaller Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarında değerlendirildi. Bronkoskopi sırasında alınan bronş lavajı örneklerinden 5 cc ayrılarak çalışılmak üzere -80 °C'de saklandı.

Hasta ve kontrol grubundan alınan örnekler hMPV açısından RT-PCR yöntemiyle araştırıldı.

Total Serum İzolasyonu: Total RNA 200 µl serum örneğinden RTP DNA/RNA Virüs Mini Kit (Invitec, Berlin, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda ekstrakte edildi. Örnekler çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

Primer Prop Dizaynı: hMPV saptamaya yönelik;
“forward primer” 5'-CATATAAGCATGCTATATTAAGAGTCTC-3',
“reverse primer” 5'-CCTATTTCTGCAGCATATTTGTAATCAG-3',
prob 5'-FAM-TGYAATGATGAGGGTGTCACTGCGGTTG-TAMRA-3' kullanıldı.

“Real-time” PCR: Çalışma ve kontrol grubuna ait izolasyon örneklerinde hMPV 7700 DNA “sequenser” [Perkin-Elmer (Applied Biosystems, Inc.)] kullanılarak florojenik RT-PCR yöntemiyle araştırıldı. Her reaksiyon örneği için total volüm 25 µl olacak şekilde (5 µl RNA, 500 nM “forward primer”, 250 nM “reverse primer”, 500 nM prob) hazırlandı. 42 °C'de 45 dakika revers transkripsiyon basamağından sonra, 95 °C'de 30 saniye ve 60 °C'de 1 dakika 50 siklus olacak şekilde amplifikasyon gerçekleştirildi.

IV. BULGULAR

Çalışmaya alınan 70 akciğer kanserli olgunun 65'i (% 93) erkek, 5'i (% 7) kadın idi. Yaş ortalaması 61.44 ± 9.65 (44-81 yaş) idi. Bunların 50'si (% 72) aktif içici, 15'i (% 21) sigarayı bırakmış, 5'i (% 7) hiç sigara kullanmamıştı. Ortalama sigara paket yılı 63.37 ± 30.81 (20-150 paket yılı) idi (Tablo 7).

Kontrol grubunu oluşturan 30 sağlıklı kan donörünün 10'u (% 33) kadın, 20'si (% 67) erkek ve yaş ortalaması 51 (40-55 yaş) idi.

Tablo 7. Kontrol grubu ve kanserli olgu grubunun yaş, cinsiyet ve sigara içme durumu

	Cinsiyet		Yaş ortalaması	Sigara içme durumu		
	Erkek n (%)	Kadın n (%)		İçiyor	İçmiyor	Bırakmış
Olgular (n=70)	65 (%93)	5 (%7)	61.44 ± 9.65	50 (%72)	5 (%7)	15 (%21)
Kontrol grubu (n=30)	20 (%67)	10 (%33)	51	-	-	-

Akciğer kanserli 70 olgunun 54'ü (% 77) KHDAK tanısı alırken, 16'sı (% 23) KHAK tanısı aldı (Tablo 8). KHDAK tanısı alan 54 olgunun 22'si (% 41) skuamöz hücreli karsinom, 14'ü (% 26) adenokarsinom, 2'si (% 4) diğer gruptu (1 olgu nöroendokrin tümör, 1 olgu büyük hücreli tümör). 16 olguda (% 29) ayırılma yapılamadı, KHDAK olarak kabul edildi.

KHDAK tanısı alan olguların 2'si (% 4) evre I, 1'i (% 1) evre II, 2'si (% 4) evre IIIA, 27 'si (% 50) evre IIIB, 16'sı (% 30) evre IV olarak değerlendirildi. Olguların 6'sı (% 11) tanı sonrası takiplerine gelmedikleri için evreleme yapılamadı (Tablo 9). KHAK tanısı alan 16 olgunun 9'u (% 56) sınırlı hastalık, 7'si (% 44) yaygın hastalık olarak değerlendirildi (Tablo 9).

Tablo 8. Olguların histolojik tipleri

Tip	Olgu Sayısı (n=70)	Yüzde (%)
KHDAK	54	77
-adeno	14	26
-skuamöz	22	41
-diğer	2	4
-ayrılanamayan	16	29
KHAK	16	23

Tablo 9. Akciğer kanserli olguların evrelere göre sınıflandırılması

Evre	Olgu Sayısı (n=70)	Yüzde (%)
KHDAK		
Evre I	2	4
Evre II	1	1
Evre IIIA	2	4
Evre IIIB	27	50
Evre IV	16	30
Evrelenemeyen	6	11
KHAK		
Sınırlı	9	56
Yaygın	7	44

Akciğer kanserli olgulardan alınan bronş lavajı ve serum, kontrol grubundan alınan serum örneklerinde PCR yöntemi ile hMPV araştırıldı. Hiç bir örnekte hMPV pozitifliği saptanmadı. Araştırma sonuçları Tablo 10 ve Tablo 11 'de belirtilmiştir.

Tablo 10. Akciğer kanserli olguların ve kontrol grubunun serum hMPV sonuçları

	hMPV pozitif (n)	hMPV negatif (n)	Toplam (n)
Hasta Grubu	0	70	70
Kontrol Grubu	0	30	30
Toplam	0	100	100

Tablo 11. Akciğer kanserli olguların bronş lavajı hMPV sonuçları

	hMPV pozitif (n)	hMPV negatif (n)	Toplam (n)
Hasta Grubu	0	70	70

V. TARTIŞMA

Akciğer kanseri yaygınlığı ve tedavisinin erken evreler dışında çok zor olması nedeniyle günümüzde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Etiyoloji ve patogeneze yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen, hala tam anlamıyla açıklanmış değildir (1). Akciğer kanserinden sorumlu tutulan ajanlardan biri de solunum yolu infeksiyon etkenleri olan virüslerdir.

Solunum yolu infeksiyonları tüm dünyada özellikle küçük çocuklarda mortalite ve morbiditenin başlıca nedenidir. Pediatrik popülasyonda, bronşiolit ve pnömoni olgularının önemli nedeni RSV, parainfluenza virus, adenovirus ve influenza virustur (8, 9).

hMPV, küçük çocuklarda ve erişkinlerde üst ve alt solunum yolu infeksiyonlarına yol açan, ilk kez 2001 yılında Hollanda'da tanımlanmış yeni bir virüstür (15). Virüs, solunum yolu infeksiyonlu kişilerden alınan solunum yolu örneklerinden izole edilmiştir (16). En az 50 yıldır toplum içinde olduğu sanılmaktadır (15, 17). Elektron mikroskopi bulguları ve nükleik asit sırası ile *Metapneumovirus* genusu, *Pneumovirinae* subfamilyası, *Paramyxoviridae* familyasının bir üyesi olarak kabul edilmiştir (15, 16, 19-22).

hMPV'nin, diğer solunum virüsleri kadar yaygın olduğu, küçük çocuklarda, özellikle preterm infantlarda, yaşlılarda ve immün yetmezlikli hastalarda ciddi alt solunum yolu infeksiyonlarına yol açabileceği gösterilmiştir (16, 22). Bunun dışında virüs için risk faktörleri, konjenital kalp hastalığı, gastroözefagial reflü hastalığı ya da aspirasyon, multipl konjenital anomaliler olarak belirtilmiştir (28). Genç erişkinlerde infeksiyonun nedeninin çocuklarla yakın temas olduğu düşünülmektedir. Yaşlı olgularda infeksiyon sıklıkla kronik kalp veya akciğer hastalığı olanlarda izlenmektedir. Sigara kullanımı veya kullanmış olmak, uzun süreli oral steroid alımı ve evde oksijen kullanımı da virüs için risk oluşturan durumlardandır (29). Aynı zamanda hMPV, hastane kökenli infeksiyonlara da yol açabilir (8).

Çalışmamızda akciğer kanseri olguları hMPV açısından taranmıştır. Etiyolojisinde sigara içiminin en büyük etken olduğu akciğer kanserinde oluşan

immün yetmezlik de düşünülduğünde, akciğer kanserinde hMPV varlığı beklenebilir. Ayrıca yaş ortalamasının 60'lı yaşlar olduğu göz önüne alındığında, yaşlı popülasyonun virüs varlığı açısından risk oluşturması nedeniyle, yaşlı akciğer kanseri olgularında virüsün saptanması söz konusu olabilir. Bunun yanısıra akciğer kanseri olgularında sık hastane yatışları olmaktadır. hMPV'nin hastane kökenli infeksiyonlara da neden olduğu bilinmektedir. Ancak akciğer kanserli hasta grubumuzda, örnekler ilk tanı konduğu dönemde alındığı için uzun süreli ve sık hastane yatışları olmadan çalışma gerçekleştirilmiştir.

Klinik bulguları asemptomatik infeksiyondan komplike pnömoniye kadar değişebilir. Diğer semptomlar arasında, rinore, nazal konjesyon, konjonktivit, faringeal eritem, miyalji, ateş, öksürük, diyare, takipne, daha ciddi olgularda ise stridor, wheezing, bronşiolit, pnömoni, respiratuar distres, hipoksi, siyanoz, kusma, beslenme güçlüğü, ses kısıklığı ve solunum yetmezliği görülebilir (8, 9, 26, 30). Fizik muayenede, göğüste retraksiyonlar, ince krepitasyonlar, kaba raller, bazen ronküs duyulabilir (9).

Çalışmamızda taranan hem akciğer kanserli olgular, hem de kontrol grubu olarak alınan olgular semptomatik değildi. Çalışmamızın amacı, akciğer kanseri ile hMPV ilişkisini saptamak olduğu için, solunum yolu infeksiyonu klinik bulguları olmayan olgular alınmıştır. Asemptomatik olgularda pozitif hMPV saptanmasının virüs-kanser ilişkisi açısından daha anlamlı olabileceği düşünüldü.

Yapılan çeşitli çalışmalarda hMPV araştırılan örnekler; bronkoalveoler lavaj (BAL), nazofarengeal ve nazal sürüntü, nazofarengeal ve nazal yıkama, nazofarengeal ve trakeal aspirasyon örnekleri, boğaz sürüntüsü, balgam ve serumdur (8, 26, 34, 42). Yaptığımız araştırmada akciğer kanserli olguların ve sağlıklı kontrol grubunun serum örnekleri alınmıştır. Akciğer kanserli olgulara tanı için uygulanan bronkoskopi işlemi sırasında bronş lavaj örnekleri de alınmıştır. Sağlıklı kontrol grubuna bronkoskopi işlemi uygulaması etik olmadığı için sadece serum örneklerinden çalışılmıştır. Yapılan diğer çalışmaların çoğunda hMPV araştırılması nazal sürüntü örneklerinde yapılmıştır. Ancak çalışmamızda akciğer kanseri ile ilişkisi değerlendirildiği için öncelikle bronş lavaj örnekleri tercih edilmiştir.

hMPV izolasyonu ve doku kültürlerinin zor olması, tanı için başka yöntem arayışlarını doğurmuştur. Ek olarak, hızlı antijen saptama testleri kolay ulaşılabilir bir yöntem değildir (27). Bu nedenlerle tanıda kullanılan en etkin yöntemlerden biri PCR ile virüs RNA'sının saptanmasıdır. RT-PCR, hMPV ile ilgili hastalıkları ve epidemiyolojisini aydınlatmak için duyarlı bir testtir (34).

Yaptığımız çalışmada, akciğer kanserli olgulardan bronkoskopik inceleme sonucu elde edilen bronş lavajı örnekleri ve serumlarından, sağlıklı kontrol grubundan alınan serum örneklerinden hMPV RNA araştırılmak üzere RT-PCR yöntemi ile çalışılmıştır.

hMPV'nin daha çok orta şiddetli alt solunum yolu infeksiyonu ile ağır bronşiolit ve pnömonisi olan hastalarda saptandığı gözönüne alındığında, bizim çalışma ve kontrol grubumuzun alt solunum yolu infeksiyonları açısından semptomsuz olması, aldığımız "negatif" sonuçları bir ölçüde açıklamaktadır.

Bununla birlikte tanıda moleküler yöntemlerin kullanıldığı araştırmalarda, kullanılan örneklerden ve yöntemden kaynaklanabilen hatalı negatif sonuçlara da rastlanabilmektedir. Seçilen örnek tipi, alınış zamanı, transfer ve çalışılincaya kadar geçen süre içindeki saklanma koşulları, hazırlık aşamasında uygulanan işlemler PCR yönteminin duyarlılığını önemli oranlarda etkilemektedir. Tam kan veya hemolizli serumlarda bulunan "heme", amplifikasyonda kullanılan enzimler üzerine inhibe edici etki yaparak hatalı negatif sonuç alınmasına yol açabilmektedir. Çalışmamızda örneklerimizle ilgili olabilecek tek sorun bazı örneklerimizin hemolizli olması olabilir.

Yöntemle ilgili sorunlar arasında ilk akla gelmesi gereken hedef molekülün izolasyonu ve saflaştırılmasından kaynaklanan sorunlardır. Amplifikasyon yöntemlerinin en kritik aşaması, hücreyi parçalayarak sitoplazması içinde bulunan hedef nükleik asitleri serbest hale getirmek ve saflaştırmaktır. Bu amaçla oldukça farklı yöntem ve kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bazı ekstraksiyon kitlerinin hemolizli örneklerde inhibitörleri uzaklaştırmada yeterli olmadığı saptanmıştır (46). Bu bağlamda, tekrarı mümkün olmadığı için çalışmada

kullanmak zorunda kaldığımız hemolizli örneklerde bununla ilgili bir problem yaşanmış olabilir.

Kullanılan yöntemle ilgili olabilecek bir diğer sorun amplifikasyon aşamasından kaynaklanan sorunlardır. Burada amplifikasyon ürünü yok ya da çok az olabilir. Bu duruma neden olabilecek muhtemel hata kaynakları arasında hedef molekülün yapısı bozulmuş veya konsantrasyonunun çok düşük olması, primer baz dizilimlerinin hatalı ya da konsantrasyonlarının çok düşük olması, reaksiyon tüpünde inhibitörlerin (DNAz, RNAz, proteaz, eldiven pudrası gibi) bulunması, “thermal cyclers” koşullarının optimal olmaması sayılabilir. Ancak bizim çalışmamızda alınan negatif sonuçların nedeninin bunlardan biri olabileceğini düşünmemekteyiz. Çünkü yaptığımız tüm testlerde internal ve eksternal pozitif kontroller kullanılmış ve bunların çalıştığı görülmüştür (47).

Falsey ve ark tarafından yapılan bir çalışmada erişkinlerde serum ve nazofarengeal sürüntü örneklerinde hMPV varlığı araştırılmış ve asemptomatiklerde % 4.1 pozitiflik saptamışlardır. Ancak bu çalışma üst üste iki kış sezonunda yapılmış ve asemptomatik yaşlılarda pozitiflik oranı % 1.4-1.5 oranında bulunmuştur (29). Çalışmamızda, akciğer kanserli olgu grubunda ve sağlıklı kontrol grubunda hMPV virüsü saptanamadı. Çalışma grubununa alınan akciğer kanserli olgularda ve kontrol grubunda üst ve alt solunum yolu infeksiyonu bulguları yoktu. Bu durum hMPV saptanamamasına getirilebilecek bir açıklama olabilir. Ayrıca çalışmamızda mevsimsel bir dönem seçilmemiştir. Diğer çalışmalar hemen daima virüs infeksiyonlarının pik yaptığı kış aylarında yapılmıştır. Bu da pozitif olgu bulamamızın bir nedeni olarak düşünülebilir. Yöntem açısından değerlendirdiğimizde PCR'in hMPV tanısında duyarlı bir yöntem olduğu net olarak vurgulanmış ve yapılan birçok çalışmada bu yöntem seçilmiştir (27, 34, 38). Bu açıdan PCR yöntemiyle yaptığımız tarama çalışması uygun bir seçim olarak değerlendirilebilir.

hMPV ile ilgili bazı çalışmalarda ise astım ve KOAH ile ilişkisi vurgulanmıştır (17, 18, 26, 42). Ancak literatürde akciğer kanseri ile hMPV arasındaki ilişkiyi

araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle akciğer kanseri olgularında sağlıklı kişilerle karşılaştırmalı olarak bu çalışma planlanmıştır.

BALB/c farelerinde yapılan bir hayvan deneyinde, genomik hMPV RNA PCR ile akciğerlerde saptanmıştır. Bununla birlikte hMPV RNA serum, dalak, böbrek, kalp, trakea ve beyin dokusunda gösterilememiştir. Akciğerin histopatolojik incelemelerinde interstisyumdaki yaygın mononükleer hücre infiltrasyonunun 2. günde başladığı, 4. gün pik yaptığı ve hava yolu epitel hasarı ve remodelingi ile ilişkili olarak 14. gün azaldığı gösterilmiştir. hMPV enfeksiyonunun ardından, hava yollarındaki hücresel döküntüler ve hava yolu epiteline komşu miyofibroblastlarda yoğunluk artışı, Clara hücresi sekretuar protein boyanma paterninde değişim ile karakterize hava yolu epitel hasarı ve remodeling gözlenmiştir. Bronşial ve bronşiolar inflamasyon ile mukus üretimindeki artış uyumlu bulunmuştur. hMPV-spesifik antikorlar 14. günde saptanmıştır, T hücreleri ya da doğal öldürücü hücreler (NK) hücrelerinin antikor depleasyonu ile akciğerdeki hMPV titrelerindeki artış sonlanmıştır. T hücreleri ve NK hücrelerinin erken ve geç hMPV replikasyonunu sınırlayan bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür. hMPV'nin bronşiollerdeki Clara hücreleri ile etkileştiği ve küçük hava yollarını infekte edebileceği vurgulanmıştır (24). BALB/c farelerinde yapılan başka bir çalışmada, viral replikasyonla uyumlu olarak 4 gün sonra hava yollarında artmış metakolin hiperreaktivitesi saptanmıştır. Bronkoalveolar lavajda interlökin-4 ve interferon-gamma bulunurken, serumda hMPV-spesifik antikorlar IgG1 VE IgG2a bulunmuştur (48). hMPV ile infekte "Cynomolgus Macaques" (*Macaca fascicularis*)'lerde viral replikasyon, alveollerdeki makrofaj sayısındaki artış, hava yollarındaki multifokal eroziv ve inflamatuvar değişiklikler ile ilişkilidir ve hava yollarında sınırlıdır. Viral ekspresyon, alveoler makrofaj ve Tip 1 pnömositler ve solunum yolu boyunca silialı epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde görülmüştür. Bu çalışma hMPV'nin viral replikasyonunun kısa süreli, apikal yüzeye polarize ve öncelikle silialı solunum epitel hücrelerinde meydana geldiğini gösterir ve bir solunum yolu patojeni olduğunu açıklar (49).

hMPV enfeksiyonu sırasında hücre hasarı ve remodeling olduğunu gösteren bu iki çalışma, kanser-virüs ilişkisini araştırmada yol gösterici olmuştur. Enfeksiyona

bağlı hücre hasarı, hücrenin tamir mekanizmaları ve apoptozis üzerinden kansere zemin hazırlayabilir.

Çeşitli virüslerin kanser gelişiminde rol aldıkları ileri sürülmüştür. Bu virüsler karsinogeneizde kritik bir rol oynar. Kanser gelişim süresince bulunurlar ve tümör hücrelerinde saptanabilirler. Bunlar arasında HPV, EBV, CMV, HHV-8, SV-40, HTLV-1 bulunur (10).

PCR ile akciğerin skuamöz hücreli akciğer karsinomalarında HPV saptamak amacıyla 1998'de yapılan bir çalışmada, HPV tip 6, 11, 16, 18, 31 ve 33 incelenmiştir. 34 olgunun 2'sinde HPV tip 18 saptanmıştır. HPV'nin skuamöz epitelyal hücrelerin malign transformasyonunda etiyolojik bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (12). Başka bir çalışmada da, HPV tip 16 ve 18 infeksiyonunun akciğer kanseri için etiyolojik önemi vurgulanmıştır (11).

Skuamöz-kolumnar bileşkeler farenks ve larenks mukozasında solunum epiteli ve stratifiye skuamöz epitel arasında bulunmaktadır. Bu bileşkeler bronşiollerde de bulunur ve HPV'nin yayılmasında önemli bir rol oynar. HPV Tip 16 ve 18, KHAK olan 9 olgunun 9'unda, skuamöz hücreli KHDAK'li 16 olgunun 9'unda, adenokarsinomlu 12 olgunun 5'inde bulunmuştur. Çin'den yapılan bir çalışmada da HPV 16 infeksiyonu akciğer adenokarsinomlu 18 olgunun 2'inde pozitif bulunmuştur. Başka bir çalışmada, skuamöz hücreli KHDAK'li hastanın % 11'inde, adenokarsinomlu hastaların % 25'inde, nöroendokrin tümörlerin % 28'inde, KHAK'lerin % 16'sında HPV 6, 11, 16, 18 saptanmıştır (50).

Prostat, kolon, meme ve akciğer kanserlerinin benign ve malign karsinomlarında EBV saptanmıştır. Bu organların preneoplastik ve hiperplastik epitelyal proliferasyonlarında EBV gösterilmiştir. Akciğer karsinomlu hastaların % 7.4'ünde EBV bulunduğu, akciğer karsinomlarının bütün major tipleri arasında pozitif olgular bildirilmiştir. Tüm bu bulgular eşliğinde EBV'nin akciğer karsinogeneizde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (51). Başka bir çalışmada 80 pulmoner adenokarsinom ve 50 mezotelyomalı olgu araştırılmış, ancak EBV'nin mezotelyoma ya da pulmoner adenokarsinom gelişiminde etiyolojik rolü adına bir bulgu saptanamamıştır (13).

Kanser virüs ilişkisi araştırılan bir başka virüs de SV-40 virüsüdür. İnsanlardaki farklı tümörlerde SV-40 varlığı gösterilmiştir, çalışmaların çoğunda viral genomunun saptanmasında PCR güvenilir bulunmuştur. SV-40'ın kanser gelişmesiyle direkt bağlantısı olup olmadığı hala tartışmalıdır. SV-40 genomunun mezotelyomada bulunduğu gösterilmiştir (10).

Akciğer kanserlerinin viral etyolojisinde virüsün asıl onkogenik bir faktör olarak kabul edilebileceği (genital sistemdeki HPV gibi) ya da mezotelyomadaki gibi önemli bir kofaktör olabileceği (asbestozis ve SV-40) düşünülmektedir. Akciğer karsinomasındaki viral infeksiyon insidansı, EBV ile infekte nadir olgular ve HPV ile ilişkili birkaç olgu ile sınırlıdır (10). Akciğer kanseri ve virüs ilişkisini araştırmak üzere yapılan çalışmamızda KHAK ve KHDAK tanılarını içeren 70 olgunun bronkoskopi ile elde edilen bronş lavaj örnekleri ve serum örnekleri çalışılmıştır. 30 sağlıklı kontrol grubunun serum örneğinde de hMPV çalışılmıştır. Ancak akciğer kanserli olgularda hMPV saptanamamıştır.

VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Etiyolojisinde sigara içiminin önemli bir etken olduğu akciğer kanserinde oluşan immün yetmezlik de düşünüldüğünde, akciğer kanserinde hMPV varlığının söz konusu olabileceği düşünüldü. Ayrıca yaş ortalamasının yüksek olduğu göz önüne alındığında, yaşlı popülasyonun virüs varlığı açısından risk oluşturması nedeniyle, yaşlı akciğer kanseri olgularında virüsün saptanması söz konusu olabilir. Akciğer kanserlerinin etiyolojisinde virüslerin de rol aldığı gerçeğinden yola çıkılarak, çalışmamızda akciğer kanseri olguları hMPV açısından taranmıştır. Akciğer kanseri ön tanısı ile bronkoskopi yapılan olguların bronş lavajı örneklerinde ve serumlarında PCR yöntemiyle hMPV araştırılmış, ancak akciğer kanserli grupta ve sağlıklı kontrol grubunda virüs saptanmamıştır. Akciğer kanseri ile hMPV arasında belirgin bir ilişki bulunamamıştır. Ancak daha geniş serilerde yapılacak çalışmalara gereksinim duyulduğu düşünülmektedir.

VII. ÖZET

Akciğer kanseri etiyolojisinde bazı virüslerin varlığı kanıtlanmıştır. Araştırmamızda, akciğer kanserli olguların bronş lavajı ve serum örneklerinde hMPV rastlanma sıklığının ve akciğer kanseri ile hMPV arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmaya, akciğer kanseri tanısı alan 70 hasta ve kontrol grubu olarak kabul edilmiş 30 sağlıklı kişi seçildi. Olgulardan, 5 cc periferik kan örneği alındı ve -80 °C'de saklandı. Akciğer kanseri ön tanısıyla bronkoskopi işlemi yapılan hastalardan işlem sırasında alınan bronş lavajı örneklerinde 5 cc ayrılarak çalışılmak üzere -80 °C'de saklandı. Hasta ve kontrol grubundan alınan örnekler hMPV açısından PCR yöntemiyle araştırıldı.

Çalışmaya alınan 70 akciğer kanserli olgunun 65'i (% 93) erkek, 5'i (% 7) kadın idi. Yaş ortalaması 61.44 ± 9.65 (44-81 yaş) idi. Kontrol grubunu oluşturan 30 sağlıklı kan donörünün 10'u (% 33) kadın, 20'si (% 67) erkek ve yaş ortalaması 51 (40-55 yaş) idi. Akciğer kanserli 70 olgunun 54'ü (% 77) KHDAK tanısı alırken, 16'sı (% 23) KHAK tanısı aldı. KHAK tanısı alan 16 olgunun 9'u (% 56) sınırlı hastalık, 7'si (% 44) yaygın hastalık olarak değerlendirildi. KHDAK tanısı alan 54 olgunun 22'si (% 41) skuamöz hücreli karsinom, 14'ü (% 26) adenokarsinom, 2'si (% 4) diğer grupta (1 olgu nöroendokrin tümör, 1 olgu büyük hücreli tümör). 16 olguda (% 29) tip ayırlanma yapılamadı. KHDAK tanısı alan olguların 2'si (% 4) evre I, 1'i (% 1) evre II, 2'si (% 4) evre IIIA, 27 'si (% 50) evre IIIB, 16'sı (% 30) evre IV olarak değerlendirildi. Olguların 6'sı (% 11) tanı sonrası takiplerine gelmedikleri için evreleme yapılamadı.

Akciğer kanseri olgularında ve kontrol grubunda serum ve kanser grubunda bronş lavajı örneklerinde PCR yöntemi ile hMPV varlığına rastlanmadı.

Bu çalışmada ileri yaş, immün yetmezlik ve sigara içimi nedeniyle virüs açısından riskli olarak düşünülen akciğer kanseri ile hMPV arasında belirgin bir ilişki bulunamamıştır. Ancak olgu sayısının azlığı, olguların asemptomatik olması ve

yöntemle ilgili sorunlar sonuçları etkilemiş olabilir. Bu nedenle daha geniş serilerde yapılacak çalışmalara gereksinim duyulduğu düşünülmektedir.

VIII. İNGİLİZCE ÖZET

Presence of some viruses in the etiology of lung cancer has been described. In our study, it is aimed to investigate the prevalence of hMPV in bronchial lavage and serum of patients with lung cancer and the relation of hMPV with lung cancer.

70 patients with lung cancer and 30 healthy subjects as a control group were included in the study. 5 cc peripheral blood sample was obtained from all subjects and was kept at -80 °C. 5 cc bronchial lavage from patients who underwent bronchoscopy for the diagnosis of lung cancer was obtained and kept at -80 °C. Specimens obtained from all subjects were investigated for presence of hMPV with PCR method.

The mean age of 65 (93 %) male and 5 (7 %) female cases was 61.44 ± 9.65 (44-81) years in lung cancer patients. In control group the mean age of 20 (67 %) male and 10 (33 %) female cases was 51,00 (40-55) years. There were 54 (77 %) nonsmall cell lung carcinoma and 16 (23 %) small cell lung carcinoma. In patients with small cell lung carcinoma, there were 9 (54 %) patient with limited disease. Histopathologic diagnosis of patients with nonsmall cell lung carcinoma were 22 (41 %) squamous cell carcinoma, 14 (26 %) adenocarcinoma, 2 (4 %) others (1 neuroendocrine tumour, 1 large cell carcinoma). In 16 (29 %) patients, type of cancer were not identified. Stage of patients with nonsmall cell carcinoma was 2 (4 %) Stage I, 1 (1 %) Stage II, 2 (4 %) Stage IIIA, 27 (50 %) Stage IIIB, and 16 (30 %) Stage IV. In 6 patients, staging was not done due to the lack of follow up.

hMPV was not found in bronchial lavage and serum in patients with lung cancer and serum in control subjects with PCR method. Any relation with lung cancer and hMPV was not shown in our study.

It was thought that there may be risk for the presence of virus due to the old age of patients, immune deficiency and smoking, but relationship between hMPV and lung cancer was not observed. This may be the result of small number of subjects, asymptomatic patients, and methodological problems. For this reason, studies done with large series are needed.

IX. KAYNAKLAR

1. Zafer E. Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri Tümör Dokusu Örneklerinde Polimeraz Zincir Tepkimesi (PCR) Ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizm Analizleri İle İnsan Papillomavirüslerinin Tanımlanması Ve Tiplendirilmesi [Tez]. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2000. 38 s.
2. Akkoçlu A, Öztürk C. Akciğer Kanseri Multidisipliner Yaklaşım. Bilimsel Tıp Yayınevi, 1999.
3. Çelik P. Risk faktörleri. Türkiye Klinikleri Göğüs Hastalıkları 2004; 2: 172-176.
4. Haydaroğlu A. Akciğer Kanseri Tanı Ve Tedavi. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 2000.
5. Özalp Ü. Sigara dumanının kimyasal bileşimi. Özyardımcı N, ed; Sigara ve Sağlık (içinde). Bursa, 2002: 30-44.
6. Gönüllü U. Akciğer kanserleri. Numanoğlu N, ed; Klinik Solunum Sistemi ve Hastalıkları (içinde). Ankara: Antıp A.Ş. Yayınları, 2001: 593-631.
7. Carr DY, Holoye PY, Hong WK. Bronchogenic Carcinoma. In: Murray Nadel, eds. Textbook of Respiratory Medicine, 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994: 1528-82.
8. Esper F, Boucher D, Weibel C, et al. Human metapneumovirus infection in the United States: clinical manifestations associated with a newly emerging respiratory infection in children. Pediatrics 2003; 111: 1407-10.

9. Samransamruajkit R, Thanasugarn W, Prapphal N, et al. Human metapneumovirus in infants and young children in Thailand with lower respiratory tract infections; molecular characteristics and clinical presentations. *J Infect* 2006; 52: 254-63.
10. Brouchet L, Valmary S, Dahan M, et al. Detection of onkogenic virus genomes and gene products in lung carcinoma. *Br J Cancer* 2005; 92: 743-6.
11. Niyaz H, Zhao C, Li Y. Detection and significance of HPV16, 18 infection, p53 overexpression and telomerase activity in patients with lung cancer. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2000; 23 (11): 679-82.
12. Bohlmeier T, Le TN, Shrover AL, et al. Detection of human papillomavirus in squamous cell carcinomas of the lung by polimerase chain reaction. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 18: 265-9.
13. Conway EJ, Hudnall SD, Lazarides A, et al. Absence of evidence for an etiologic role for Epstein-Barr virus in neoplasms of the lung and pleura. *Mod Pathol* 1996; 9: 491-5.
14. Tel N. *Solunum Sistemi*. Çevikbaş U, ed; *Temel Patoloji (içinde)*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1995: 427-32.
15. Van Den Hoogen BG, De Jong JC, Groen J, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001; 7: 719-24.
16. Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M, et al. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infants in Italy. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2987-91.

17. Mahalingam S, Schwarze J, Zaid A, et al. Perspective on the host response to human metapneumovirus infection: what can we learn from respiratory syncytial virus infections?. *Microbes Infect* 2006; 8: 285-93.
18. Mullins JA, Erdman DD, Weinberg GA, et al. Human metapneumovirus infection among children hospitalized with acute respiratory illness. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 700-5.
19. Pelletier G, Dery P, Abed Y, et al. Respiratory tract reinfections by the new human metapneumovirus in an immunocompromised child. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 976-8.
20. Domachowske JB. Human metapneumovirus: a newly described respiratory pathogen of humans. *Clinical Microbiology Newsletter* 2003; 25: 17-20.
21. Ludewick HP, Abed Y, Van Niekerk N, et al. Human metapneumovirus genetic variability, South Africa. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1074-8.
22. Boivin G, Abed Y, Pelletier G, et al. Virological features and clinical manifestations associated with human metapneumovirus: a new paramyxovirus responsible for acute respiratory-tract infections in all age groups. *J Infect Dis* 2002; 186: 1330-4.
23. Beigel JH, Farrar J, Han AM. Avian influenza A (H5N1) infections in humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374-85.
24. Alvarez R, Harrord KS, Shieh WJ, et al. Human metapneumovirus persist in BALB/c mice despite the presence of neutralizing antibodies. *J Virol* 2004; 78: 14003-11.

25. Kaida A, Iritani N, Kubo H, et al. Seasonal distribution and phylogenetic analysis of human metapneumovirus among children in Osaka City, Japan. *J Clin Virol* 2006; 35: 394-9.
26. Van Den Hoogen BG, Van Doornum GJ, Fockens JC, et al. Prevalence and clinical symptoms of human metapneumovirus infection in hospitalized patients. *J Infect Dis* 2003; 188: 1571-7.
27. Boivin G, De Serres G, Cote S, et al. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 634-40.
28. Robinson JL, Lee BE, Bastien N, et al. Seasonality and clinical features of human metapneumovirus infection in children in Northern Alberta. *J Med Virol* 2005; 76: 98-105.
29. Falsey AR, Erdman D, Anderson LJ, et al. Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis* 2003; 187: 785-90.
30. Lazar I, Weibel C, Dziura J, et al. Human metapneumovirus and severity of respiratory syncytial virus disease. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:1318-20.
31. Nicholson KG, McNally T, Silverman M, et al. Rates of hospitalisation for influenza, respiratory syncytial virus and human metapneumovirus among infants and young children. *Vaccine* 2006; 24: 102-8.
32. Scheltinga SA, Templeton KE, Beersma MF, et al. Diagnosis of human metapneumovirus and rhinovirus in patients with respiratory tract infections by an internally controlled multiplex real-time RNA PCR. *J Clin Virol* 2005; 33: 306-11.

33. Greensill J, McNamara PS, Dove W, et al. Human metapneumovirus in severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 372-5.
34. Kuypers J, Wright N, Corey L, et al. Detection and quantification of human metapneumovirus in pediatric specimens by real-time RT-PCR. *J Clin Virol* 2005; 33: 299-305.
35. Peiris JS, Tang WH, Chan KH, et al. Children with respiratory disease associated with metapneumovirus in Hong Kong. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 628-33.
36. Chan PK, Tam JS, Lam CW, et al. Human metapneumovirus detection in patients with severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1058-63.
37. Vicente D, Montes M, Cilla G, et al. Human Metapneumovirus and chronic obstructive pulmonary disease. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1338-9.
38. Falsey AR, Criddle MC, Walsh EE, et al. Detection of respiratory syncytial virus and human metapneumovirus by reverse transcription polymerase chain reaction in adults with and without respiratory illness. *J Clin Virol* 2006; 35: 46-50.
39. Xepapadaki P, Psarras S, Bossios A, et al. Human metapneumovirus as a causative agent of acute bronchiolitis in infants. *J Clin Virol* 2004; 30: 267-70.
40. Lobez-Huertas MR, Casas I, Acosta-Herrera B, et al. Two RT-PCR based assays to detect human metapneumovirus in nasopharyngeal aspirates. *J Virol Methods* 2005; 129: 1-7.
41. Cuevas LE, Nasser AM, Dove W, et al. Human metapneumovirus and respiratory syncytial virus, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1626-8.

42. Takao S, Shimozone H, Kashiwa H, et al. Clinical study of pediatric cases of acute respiratory diseases associated with human metapneumovirus in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2003; 56: 127-9.
43. Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time in virology. *Nucleic Acids Research*, 2002; 30: 1292–305.
44. Martinello RA, Esper F, Weibel C, et al. Human metapneumovirus and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J Infect* 2006; 10: 1-7.
45. Vicente D, Montes M, Cilla G, et al. Human metapneumovirus and chronic obstructive pulmonary disease. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1338-9.
46. Klein A, Barsuk R, Dagon S, et al. Comparison of methods for extraction of nucleic acid from hemolytic serum for PCR amplification of hepatitis B virus DNA sequences. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1897-9.
47. R Durmaz. Nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinde sorunlar ve standardizasyon. *Mikrobiyoloji Bülteni* 2000; 34: 157-63.
48. Darniot M, Petrella T, Aho S, et al. Immune response and alteration of pulmonary function after primary human metapneumovirus (hMPV) infection of BALB/c mice. *Vaccine* 2005; 23 (36): 4473-80.
49. Kuiken T, Van Den Hoogen BG, Van Ridel DA, et al. Experimental human metapneumovirus infection of cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) results in virus replication in ciliated epithelial cells and pneumocytes with associated lesions throughout the respiratory tract. *Am J Pathol* 2004; 164: 1893-900.

50. Grinstein S, Preciado MV, Gattuso P, et al. Demonstration of Epstein-Barr virus in carcinomas of various sites. *Cancer Res* 2002; 62: 4876-8.

51. Chen YC, Chen JH, Richard K, et al. Lung adenocarcinoma and human papillomavirus infection. *Cancer* 2004; 101: 1428-36.