

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ KOORDİNATÖRLÜĞÜNE

Proje Türü : Bağımsız Proje 50000 TL Üzeri (B+)
Proje No : 18B0230007
Proje Yürütücüsü : Prof. Dr. Mustafa Kürşat Gökcan
Proje Başlığı : HPV Enfeksiyonu Türk Toplumunda Baş Boyun Kanseri Bir Risk Faktörü müdür ?
Baş Boyun Kanseri Karsinogenezi Risk ve Prognoz ilişkisinin İncelenmesi

Yukarıda bilgileri yazılı olan projemin sonuç raporunun e-kütüphanede yayınlanmasını;

İSTİYORUM

İSTEMİYORUM GEREKÇESİ
:

..... / / 20
Prof. Dr. Mustafa Kürşat Gökcan
İmza

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
SONUÇ RAPORU**

HPV Enfeksiyonu Türk Toplumunda Baş Boyun Kanserinde Bir Risk Faktörü müdür ? Baş Boyun Kanserlerinde Karsinogenez Risk ve Prognoz ilişkisinin İncelenmesi

Prof. Dr. Mustafa Kürşat Gökcan

Prof. Dr. SERPİL DİZBAY SAK
Prof. Dr. Zeynep Ceren Karahan
Doç. Dr. Zahide Çiler Tezcaner
Öğretim Görevlisi Dr. Hazan Başak
Arş. Gör. Dr. Hatice Seçil Akyıldız
Uzm. Dr. Seher YÜKSEL
Arş. Gör. Dr. Ahmed Majid Najji Agha Oghali
Arş. Gör. Dr. Merve GÜRLER

18B0230007

23.05.2018 - 23.05.2021

23.08.2021

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - 2021

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve zetleri

Türkçe Adı : HPV Enfeksiyonu Türk Toplumunda Baş Boyun Kanserinde Bir Risk Faktörü müdür? Baş Boyun Kanserlerinde Karsinogenez Risk ve Prognoz ilişkisinin İncelenmesi

İngilizce Adı : HPV INFECTION AS A RISK FACTOR IN HEAD NECK CANCER IN TURKISH SOCIETY: İNVESTİGATION OF CARCİNOGENESIS RİSK AND PROGNOSİS RELATİON AND NECK CANCERS

Özetleri

: HPV Enfeksiyonu Türk Toplumunda Baş Boyun Kanserinde Bir Risk Faktörü müdür? Baş Boyun Kanserlerinde Karsinogenez Risk ve Prognoz ilişkisinin İncelenmesi

I. Proje Özeti

Baş ve boyun kanserleri, tüm kanserler içerisinde %5.3 oranındadır ancak; dünya genelinde insidansı her yıl giderek artmaktadır (1). Bu kanserler içinde de en sık üst solunum-sindirim yoluna (ÜSSY) ait oral kavite, orofarenks ve supraglottik larenks yassı hücreli karsinomu görülmektedir. Global Kanser İstatistiği 2012 verilerine göre; gelişmiş ülkelerde bu kanserlerin insidansı sıra ile erkeklerde yüz binde 7, 4.7, 5.1; kadınlarda ise yüz binde 2.6, 0.8, 0.6'dır ve sıklıkla 5.-6. dekatta görülmektedir (2). Sebepleri arasında sigara ve alkol kullanımı ilk sırayı almaktadır. İlginç olarak gelişmiş ülkelerde sigara ve alkol ile ilişkili kanserlerin insidansında azalma görülmesine rağmen, ÜSSY tümörleri içinde bazı bölgelerde YHK insidansının giderek arttığı bildirilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan epidemiyolojik araştırmada sigara kullanım oranının 1960 yılından 2010 yılına, 50 yıl içinde, erkeklerde %52'den %22'ye; kadınlarda %34'ten %17'e anlamlı bir düşüş gösterdiği görülmektedir (3). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2013 yılında yaptığı epidemiyolojik çalışmada, Türkiye'deki sigara kullanma oranının da, 2008 yılında %31.2'den 2012 yılında %27.1'e düştüğü gösterilmiştir (4). Bu durum ÜSSY'da YHK etyolojisinde yeni ve/veya yükselen bir etken varlığını düşündürmektedir (3). Yapılan araştırmalarda insidans artışının nedenleri arasında ÜSSY mukozasında riskli Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonu öne çıkmaktadır (5, 6).

Dünya genelinde (HPV) ile ilişkili kanserlerin oranı yaklaşık %5.2'dir. HPV'ye bağlı kanser gelişimi mekanizmaları gelişen teknolojiyle birlikte günden güne daha iyi aydınlatılmaktadır. 1980'li yıllarda anogenital bölge kanserleri ile olan ilişkisinin gösterilmesini müteakiben HPV'nin ÜSSY-YHK gelişiminde de rolü olduğu gösterildi (7,8). Günümüze kadar 170'in üzerinde türü tanımlanan HPV'nin insan ÜSSY- YHK ile ilişkili alt tipleri daha çok 16, 18, 31 ve 45'dir.

Sıklığın artması ile dikkat çeken diğer bir durum da, bu kanserlerin daha erken yaşta görülmeye başlanmasıdır. HPV 16 pozitif ve negatif tümörlerin karşılaştırıldığı birçok çalışmada HPV pozitif tümörlerin daha genç yaşta görüldüğü istatistiksel olarak gösterilmektedir. Maura L. Gillison ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada HPV pozitif tümörlerin daha genç yaşta, eğitilmiş ve sosyokültürel seviyesi daha yüksek olan kişilerde daha sık olduğu belirtilmektedir

(9). Anatomik HPV pozitif tümörlerin orofarinks, lingual ve palatin tonsil bölgelerinde daha sık ortaya çıktığı bilinmektedir (10).

Kanserlerin sağ kalım süresi evreye bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte, etyolojik faktörlere de göre değişkenlik göstermektedir. HPV pozitif tümörlerin HPV negatif tümörlere göre daha uzun sağ kalım sahip oldukları bilinmektedir (10). Bu iki grup arasında tedavi protokolleri farklılık göstermektedir. Tedavide cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi kombinasyonları gerekmektedir. Sağ kalım açısından ve tedavi protokollerinin farklılığı açısından HPV taramasına harcanan maliyet giderek artmaktadır.

Ülkemizde ÜSSY-YHK bulunan hastalarda HPV'nin patogeneze ne oranda etkisi olduğu bilinmemektedir. Çalışmamızın amacı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Baş ve Boyun Cerrahisi bölümünde 2000-2016 yılları arasında opere edilerek ÜSSY-YHK tanısı ile takip edilen hastalarda papilloma virüsü varlığı ve bunun klinik prognoz ile ilişkisini incelemektir. Çalışmamızda, malign hasta grubunda 53 hastada (%17,7) HPV antijeni saptanmış olup, HPV antijeni saptanan hastaların lezyonları, 32 hastada (%60,4) supraglottik larenks, 13 hastada (%24,5) oral kavite ve 8 hastada (%15,1) orofarenksde idi. Çalışmamızda, baş boyun bölgesindeki benign lezyonlarda 26 hastada (%13) HPV pozitifliği

saptanmış olup, 23'ü (%88,5) orofarenks, 3'ü (%11,5) oral kaviteden gönderilen örneklerin incelenmesi sonucu saptandı. 22 hastada (%11) asemptomatik olarak gönderilen tonsil dokusundan yapılan incelemeler sonucunda saptandı.

Papillom virüsünün bulaş ve kanser gelişimindeki mekanizmaları aydınlatıldıkça bu virüsün bulaş yollarını engelleme yöntemleri, risk altındaki bireylerin tespitini sağlayan tanı yöntemleri ve bağışıklık gelişimini sağlamak için aşılarda geliştirilmektedir. Zamanla gerek tanı yöntemlerinin kullanımının sıklığını artması gerekse aşılama programlarının toplum geneline yayılması sağlık endüstrisi için önemli bir ticari kazanç durumu ortaya çıkarmaktadır. Batı toplumu verilerine dayanarak yapılan bu çıkarımların ülkemiz verileri ile nedenli örtüştüğü bilinmemektedir. Bu çalışmanın sonuçları ile HPV'nin ÜSSY kanser gelişimindeki rolü ile ilgili önemli bilgiler sağlanacak, böylelikle sağlık politikalarına ve/veya ülke bazı çalışmalara projekte edilebilecek veriler elde edilebilecektir.

Is HPV Infection a Risk Factor for Head and Neck Cancer in Turkish Society?
Investigation of the Relationship between Carcinogenesis, Risk and Prognosis
in Head and Neck Cancers

Project Summery

Head and neck cancers represents 5,3 % of all cancers in human and the incidence is increasing every year worldwide (1). Among these cancers, upper aerodigestive tract (UAT) cancers like oral cavity, oropharynx and supraglottic laryngeal squamous cell cancers (SCC) are the most common ones. According to Global Cancer Statistics 2012 data the incidence of these cancers in developed countries were 7, 4.7 and 5.1 per 100,000 for males and 2.6, 0.8, 0.6 per 100.000 for females, respectively (2). Smoking and alcohol take the first place in etiology. Interestingly, in the developed countries despite the decrease in smoking and drinking related cancers, the incidence of SCC is increasing among the UAT tumors. An epidemiologic report from USA in a time period of 50 years from 1960 to 2010, revealed that the smoking rate dropped significantly from 52% to 22% in males and from 34% to 17% in females (3). According to an epidemiologic report from Turkey smoking rate also showed a decrease from 31.2% to 27.1% in 5 years, from 2008 to 2013 (4). These findings suggest a new and / or rising factor in the etiology of UAT carcinomas (3). Increasing amount of research have been focused on high risk HPV infection as an etiologic factor in UAT carcinomas.

HPV related cancers is reported to consist 5.2 % of all cancers worldwide. Mechanism of cancer transformation due to HPV is enlightened with the advanced technology by time. Relationship between HPV and the anogenital cancers were revealed by reports after 1980s and within the same year Syrjanen and coworkers pointed out that the HPV also has a role in UAT SCC development (7,8). Until recently 170 subtypes of HPV have been identified, subtypes that were shown to be associated with the UAT SCC are 16, 18, 31, and 45.

Another interesting phenomenon is the onset of these cancers at an earlier age. Many studies comparing HPV 16 positive and negative tumors have shown that HPV positive tumors are seen at younger ages. The study by Maura L. Gillison and colleagues suggests that HPV positive tumors are more frequent in younger and better educated patients and in higher socio-economic populations (9).

HPV positive tumors are known to occur more frequently in the oropharynx, lingual and palatine tonsil regions (10). The biological behaviour of HPV positive UAT-SCC also differ significantly from HPV negative carcinomas: HPV positive patients are shown to have significantly better prognosis with better survival rate than HPV negative patients (10). Therefore modifications in treatment protocols

have been proposed between these two groups. Combinations of surgery, chemotherapy and radiotherapy are needed for treatment. De-intensification and de-escalation of chemo-radiotherapy protocols have been accepted in the treatment of HPV positive tonsil carcinomas (10). In our study, HPV antigen was detected in 53 patients (17.7%) in the malignant patient group. The lesions of the patients with HPV antigen were in the supraglottic larynx in 32 patients (60.4%), the oral cavity in 13 patients (24.5%) and the oropharynx in 8 patients (15.1%). In our study, HPV antigen positivity was detected in 26 patients (13%) in benign lesions in the head and neck region, 23 (88.5%) were found to be from the oropharynx and 3 (11.5%) from the oral cavity. It was detected in 22 patients (11%) as a result of examinations performed on tonsil tissue that was sent asymptotically.

This study will both provide odds ratio of HPV positivity in tumor tissue when compared with normal mucosa, and prognostic value of HPV positivity with survival analysis and life tables. As the transmission ways and the role of HPV in cancer development is better understood, preventive methods can be implicated as vaccination programs for the population that is under risk of infection. Clarification of HPV positivity rate in UAT tumors would enable better healthcare with necessary alterations in treatment protocols. This study aims to put the current status with figures, for better planning of country-wide studies and/or healthcare measures.

II. Amaç ve Kapsam

Baş ve boyun kanserleri, Uluslararası Kanser Araştırmaları İstatistiği 2017 çalışma verilerine göre, tüm kanserler içerisinde %5.3 oranındadır ancak; dünya genelinde insidansı her yıl giderek artmaktadır. Bu kanserler içinde de en sık üst solunum-sindirim yoluna (ÜSSY) ait oral kavite, orofarenks ve supraglottik larenks yassı hücreli karsinomu görülmektedir. En sık dudak ve oral kavite, ikinci sırada larenks kanserleri görülmektedir. Mortalite oranı, tüm kanser ölümleri içinde % 5.3'dür (1). Sıklıkla 5-6. dekatta görülmektedir. Yaşa göre standardize edilmiş insidans oranları değerlendirildiğinde (100.000'de), dudak ve oral kavite 4.84, larengeal kanser 2.59, diğer farengeal kanserler 2.19, nazofarengeal kanserler 1.35 olarak görülmektedir (1).

Majör risk faktörleri arasında sigara ve alkol kullanımı gelmektedir ancak; gelişmiş ülkelerde sigara ve alkol ile ilişkili kanserlerin insidansı azalmaktadır. Diyet, sosyoekonomik düzey, oral hijyen, fiziksel inaktivite ve kadınlarda hormonal faktörler diğer risk faktörleri arasında yer alır. Son zamanlarda etyolojide ÜSSY mukozasında riskli Human Papilloma Virüs (HPV) enfeksiyonu öne çıkmaktadır (11).

HPV, papillomaviridea ailesinde yer almakta olup, günümüzde 200'den fazla HPV tipi tanımlanmıştır. Bu virüsler 50-55 nm çapında, zarfsız, çift sarmallı, ikozahedral nükleokapsitli ve proteinle çevrili DNA genomu içermektedir (12). Diğer birçok virüsün aksine HPV'ler, antijenik yapılarından çok DNA yapısına göre sınıflandırılır ve genotipler olarak ve keşfedildikleri sıraya göre adlandırılmaktadır (13). HPV'lerin sınıflandırılmasında viral genomlar arasındaki homolojinin derecesi önemli olup, DNA sekanslarına göre de papilloma virüslerin filogenetik sınıflandırılması yapılmaktadır. Papilloma virüslerin alt tiplendirilmesinde majör viral protein L1 gen bölgesinin homolojisi değerlendirilir (14). HPV tipleri klinik olarak üç kategoriye ayrılır. Bunlar; kanser açısından düşük riskli HPV'ler (6,11,40,42,43,44,54,55,62), olası yüksek riskli HPV'ler (26,53,66) ve yüksek riskli HPV'ler (16,18,31,33,35,39,45,51,56, 58,59,68,73,82) olarak gruplandırılır (15).

HPV enfeksiyonu tanısında kullanılan çeşitli yöntemler mevcuttur. Moleküler olmayan ve olan yöntem olarak incelenebilir. Moleküler olmayan teknikler içinde, çıplak gözle muayene, kolposkopi, sitoloji ve histoloji yer almaktadır. Moleküler tekniklerde ise; HPV'nin varlığını saptamada iki ana yöntem bulunur: Bunlar polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve hibrid yakalama (Hybrid Capture-HC) yöntemleridir. PZR, nükleik asitlerin in vitro koşullarda replikasyonu için geliştirilmiş hedef DNA'nın amplifikasyonuna izin veren çok yaygın kullanılan bir yöntemdir. HC yönteminde ise, yüksek riskli HPV tipleri analiz edilebilir, ancak bu testte gruplar halinde tanımlama yapılabilmektedir (14,15).

HPV, kontamine yüzeylerden, doğum kanalından, ciltteki lezyonlardan ve en önemlisi cinsel yoldan olmak üzere birçok şekilde bulaşmaktadır. Şiddetli enfeksiyonlar için, cinsel aktivite sırasında skuamöz ya da mukozal epiteldeki aşınmalar veya hasarlarla bazal hücrelere doğru HPV'nin ulaşması gerekir. Cinsel ilişki ile bulaşta en önemli faktör, cinsel partner sayısı ve virüsün alındığı yaştır. Özellikle ilk cinsel ilişki yaşının erken olması, HPV enfeksiyonu bulaşının olmasında ve daha sonra gelişebilecek malign lezyonlar açısından önemlidir (16). Ayrıca HPV indirekt bulaş ile, kontamine yüzeylerden veya deriden deriye temas ile de bulaşabilmektedir. HPV sadece serviks kanserine değil, diğer deri ve baş boyun kanserlerine, vulvar, vajinal, penil ve anal kanserlere de yol açmaktadır (17).

HPV, hücrelerin kontrolsüz bölünmesini önleyen faktörleri baskılayarak aşırı çoğalmaya neden olmaktadır. Papilloma virüs genotipleri hem farklı anatomik bölgelere yerleşme eğilimi hem de neden oldukları lezyon tipleri açısından farklılık göstermektedir. HPV enfeksiyonlarının çoğunluğu asemptomatik olmakla birlikte değişik klinik tablolara yol açmaktadır. Değişken klinik tablo, virüsün tipine, lezyonun lokalizasyonuna, bireyin immün yanıtına, lokalize olduğu epitelin özelliğine bağlıdır. Dünya genelinde HPV ile ilişkili kanserlerin oranı yaklaşık %5,2'dir. Günümüze kadar 170'in üzerinde türü tanımlanan HPV'nin ÜSSY kanserleri ile ilişkili alt tipleri daha çok 16, 18, 31 ve 45'dir (18).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansına göre 13 HPV tipi kanserojen olarak sınıflandırılmaktadır (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66). HPV'ye bağlı baş boyun kanserleri içinde en çok neden olan HPV tipi, HPV 16 görülmektedir. Orofarengeal ve oral kavite kanserlerinin %91'ine ve larengeal kanserlerin %53'ne neden olmaktadır (19). Cinsel davranış biçimleri, baş boyun kanserleri için özellikle de orofarengeal kanserler için risk faktörleri arasında yer alır (20). Oral HPV, zellikle HPV ilişkili orofarengeal kanser gelişiminde başlıca faktördür. HPV ilişkili kanserler erkeklerde kadınlara göre daha sık görülmektedir ve 60-64 yaş aralığında insidans peak değere ulaşır (21,22). HPV ilişkili baş boyun kanserleri daha genç yaşta, sigara ve alkol kullanmayan popülasyonda daha çok görülür. Daha nadiren uzak organ metastazı yapar ve ikinci pırmere sahiptirler. HPV pozitif ilişkili kanserler daha ileri evrede izlense de, HPV negatif kanserlere göre daha iyi prognoza ve sağ kalıma sahiptir (23). AJCC Kanser evreleme sisteminde HPV pozitif kanserler ayrı TNM evrelemesi olarak tanımlanır (24). Kemoterapi ve radyoterapiye artan duyarlılığı nedeniyle daha fazla sağ kalım oranına sahiptirler (25). 5 yıllık sağ kalım oranı HPV pozitif baş boyun kanserlerinde %60-90, HPV negatif baş boyun kanserlerinde %20-70'dir (26).

Benign siğil benzeri HPV lezyonları yaygın olarak görülmektedir ve immün sistem, virüsün vücuttan temizlenmesinde önemli rol oynar. HPV'nin kolonize olduğu esas bölge, anogenital alandır. Orogenital temas yoluyla baş boyun bölgesine yayılım olmaktadır. Fazla sayıda orogenital sex partnerlerinin olması, erken cinsel ilişki yaşı ve oral seks yapma, HPV enfeksiyonlarında artışa neden olmaktadır (27). Orogenital sex, HPV ilişkili baş boyun kanserlerinde ilişkili bulunmuştur (28). Orogenital seks prevelansı HPV pozitif baş boyun kanserlerinde HPV negatif olanlara göre 4,2 kat daha yüksektir (29). Batı lkelerinde HPV ilişkili baş boyun kanserleri 20-40 yaş arası erkek hastalar arasında yaygın olarak görülmektedir (30). HPV seroprevelansı kadınlarda daha yüksek olmakla beraber kadınlardan erkeklere HPV bulaşma oranı, erkeklerden kadınlara bulaşma oranına göre daha yüksek izlenir (31). Erkeklerin daha fazla cinsel partnere sahip olması, kadın genital mukozasının erkeklere göre daha dirençli olması ve kadınların immün sisteminin oral HPV enfeksiyonlarına karşı koruyucu olması gibi çeşitli hipotezler söz konusudur (31,32)

HPV, epitelyumda bulunduğu için konak immün yanıtı ile minimal etkileşim halinde olması nedeniyle kısa süreli ve geçici immün yanıt oluşur. HPV aşıları, onkojenik HPV türlerine karşı geliştirilmiştir. Profilaktik bivalan (HPV 16,18) ve kuadriyalan (HPV 6,11,16,18) aşıları, ciddi yan etkileri olmaksızın HPV enfeksiyonuna karşı yüksek koruyuculuk göstermektedir. Profilaktik aşılar, hedef bölgede immün yanıt oluşturarak primer enfeksiyonu ve reenfeksiyonu önler. Yeni nesil HPV aşıları (HPV 16 ve 18 L1 VLP) HPV ilişkili kanserlerin önlenmesi açısından umut vericidir (33). Bu aşılar, prekanseröz servikal lezyonların, servikal ve non-servikal kanserlerin önlenmesini yardımcı olmaktadır. Hastalık Kontrol ve nleme merkezinin tavsiyesine göre 6-12 ay ara ile 2 doz aşı ğeklinindedir (34).

Sonuç olarak HPV ilişkili baş boyun kanserleri sosyoekonomik düzeyi yüksek olan, korunmasız orogenital cinsel davranış öyküsü olan genç erkeklerde daha sık görülmekle beraber HPV ilişkili baş boyun kanserlerinin önlenmesinde hastaların cinsel davranışların değiştirilmesi konusu önemli bir yer alır (35).

Ülkemizde oral kavitede papilloma virüsü taşıyıcılığı bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Baş ve Boyun Cerrahisi bölümünde 2000-2016 yılları arasında opere edilerek dudak hariç oral kavite, orofarenks ve supraglottik larenks karsinomu ile takip edilen hastalarda papilloma virüsü varlığı ve bunun klinik prognoz ile ilişkisini incelemektir. Papillom virüsünün bulaş ve kanser gelişimindeki mekanizmaları aydınlatıldığı bu virüsün bulaş yollarını engelleme yöntemleri, risk altındaki bireylerin tespitini sağlayan tanı yöntemleri ve bağışıklık gelişimini sağlamak için aşılar geliştirilmektedir. Zamanla gerek tanı yöntemlerinin kullanımının sıklığını artması gerekse aşılama programlarının toplum geneline yayılması sağlık endüstrisi için önemli bir ticari kazanç durumu ortaya çıkarmaktadır. Batı toplumu verilerine dayanarak yapılan bu çıkarımların ülkemiz verileri ile nedenli örtüştüğü bilinmemektedir.

Bu çalışmanın sonuçları ile lkemizde HPV'nin st solunum yolları kanser gelişimindeki rolü ile ilgili önemli bilgiler sağlanacak, böylelikle sağlık politikalarına ve/veya ülke bazlı çalışmalara projekte edilebilecek veriler elde edilebilecektir.

III. Materyal ve Yöntem

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2000-2016 yılları arasında opere edilen dudak hariç oral kavite, orofarenks ve supraglottik larenks kanserli 300 olgu ve benign oral kavite tümörleri ve tonsillektomi vb. gibi ağız, orofarenks, supraglottik larenks biyopsi ve cerrahi uygulanan 200 olguya ait veriler retrospektif incelendi. Çalışmada yer alan hastalardan bilgi paylaşımı için onam alındı. Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 20.02.2018 tarihinde 04-290-18 belge numarası ile onaylandı. Hastaların demografik özellikleri, tanı ve tedavi yöntemleri, prognozları, nüks ve sağ kalım oranları değerlendirildi.

Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri:

1. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2000-2016 yılları arasında opere edilen dudak hariç oral kavite, orofarenks ve supraglottik larenks kanserli olguların parafin blokları araştırma için kullanılacaktır. Bu hastaların Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Hastalıkları polikliniğinde rutin 3 aylık, 6 aylık, yıllık kontrolleri yapılmaktadır, bu kontrollerde rutin fizik muayene, görüntüleme ve laboratuvar testleri haricinde test istenmemektedir.

2. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 2000-2016 yılları arasında opere edilen benign oral kavite tümörleri ve tonsillektomi vb. gibi ağız, orofarenks, supraglottik larenks biyopsi veya cerrahi spesmenlerinin parafin blokları kullanılacaktır.

Çalışmaya Dahil Olmama Kriterleri:

1-Kanser tanısı konulduktan sonra takibe gelmeyen ve kendisine ulaşamayan hastalar

Patolojik değerlendirme ve P16 immünohistokimya incelemesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden hastalara ait H&E boyalı kesitler incelenerek, uygun olan dokuların parafin bloklarından "Thermo Shendon" mikrotomlar ile 4 mikrometre kalınlıkta kesitler elde edildi ve parafin kesitlerde indirekt biotinleştirilmiş immünohistokimya sekonder kitleri ile Ventana Benchmark XT veya Ultra cihazları kullanılarak, primer antikor olarak p16INK4A (GeneAb, Clone: IHC116, 1/50 dilüsyon) immünohistokimya antikoruna araştırıldı. p16INK4A immünohistokimya incelemesi pozitif ve negatif kontroller eşliğinde değerlendirildi. İmmünohistokimyasal değerlendirme şu şekilde yapıldı (Resim-1):

1. Pozitif: Tümör hücrelerinde %70'ten fazla, blok tarzında, diffüz, kompakt nükleer ve sitoplazmik boyanma

2. Negatif:

- Tümör hücreleri tümüyle negatif

- Parsiyel ekspresyon:

Marjinal (Bazal veya tümör tomurcuklarına sınırlı ekspresyon), Mozaik (yamalı ekspresyon),

Nükleer (sadece nükleer ekspresyon) (Negatif)

İmmünohistokimya için kesit alımı sırasında yaklaşık 0,1 mm kalınlığındaki doku kesitleri elde edildi ve moleküler test için numaralandırıldı.

Uygun olan kesitlerden Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından DNA örnekleri PZR ile analiz edildi, HPV varlığı nested-PZR yöntemi ile araştırıldı ve HPV pozitif bulunan örneklerde hazır ticari kit kullanılarak "reverse line blot hibridizasyon" yöntemi ile genotiplenme yapıldı. Benign ve malign preperatlarda HPV varlığı ve immünohistokimyasal olarak P16 immünoaktivitesi araştırıldı.

HPV Tespiti ve Genotiplenmesi:

Tümör doku örneklerinde ve benign mukoza örneklerinde total nükleik asit ekstraksiyonunu takiben nested-PCR yöntemi ile HPV genomu varlığı araştırılmış, ardından pozitif örnekler sekans analizine tabii tutularak HPV genotiplenmesi yapılmıştır.

Total nükleik asit ekstraksiyonu:

Tümör dokusundan nükleik asit ekstraksiyonu, hazır ticari kit [Qiagen DNeasy Blood and Tissue Kit, Qiagen, ABD] kullanılarak üreticinin önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

Tümör dokusunda HPV varlığının araştırılması:

Konak dokusuna ait β -globin geni amplifikasyon ürünü internal kontrol olarak kullanılarak HPV varlığı iki ayrı primer çifti (MY09/MY11 ve GP5+/GP6+) kullanılarak literatürde belirtildiği şekilde nested-PCR yöntemi kullanılarak araştırıldı (36).

HPV tespiti için kullanılan iki primer çiftinden herhangi birisi ile amplifikasyon ürünü elde edilmesi durumunda sonuç “pozitif” olarak kabul edildi. HPV varlığını göstermek için kullanılacak primer dizileri ve elde edilecek ürünler tablo-1’de gösterilmiştir. HPV genotiplenmesi:

HPV-pozitif bulunan dokularda, HPV genotiplerinin belirlenmesi için iki ayrı yöntem kullanıldı. İlk olarak, Avrupa Birliği ülkeleri için onay almış hazır ticari kit [Linear Array HPV Genotyping Test, Roche, Almanya veya muadili] kullanılarak “reverse line blot hibridizasyon” yöntemi ile tümör dokusunda tespit edilmesi en olası 37 HPV genotipi (HPV-6, -11, -16, -18, -26, -31, -33, -35, -39, -40, -42, -45, -51, -52, -53, -54, -55, -56, -58, -59, -61, -62, -64, -66, -67, -68, -69, -70, -71, -72, -73 (MM9), -81, -82 (MM4), -83 (MM7), -84 (MM8), IS39, CP6108) araştırıldı (37).

İkinci olarak GP5+ ve GP6+ primerleri ile elde edilen amplifikasyon ürünleri, aynı primerler kullanılarak iki yönlü sekans analizine tabi tutuldu ve elde edilen dizi üzerinde yer alan 34-50 bç’lik aşırı değişken bölge, GenBank’da kayıtlı dizilerle BLAST programı kullanılarak karşılaştırılarak ve HPV genotipi belirlendi (38).

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS for Windows 15 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler dağılımı normal olan değişkenler için ortalama \pm standart sapma, dağılımı normal olmayan değişkenler için median (min - maks), nominal değişkenler ise vaka sayısı ve (%) olarak gösterildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği t testi ile ortanca değerler yönünden farkın önemliliği mann whitney testi ile araştırıldı. Nominal değişkenler Pearson Ki-Kare veya Fisher exact testi ile değerlendirildi. Sağkalım ve nüks oranları yüzde olarak hesaplandı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. Analiz ve Bulgular

Kliniğimizde 2000-2016 yılları arasında opere edilen dudak hariç oral kavite, orofarenks ve supraglottik larenks kanserli 300 olgu ve benign oral kavite tümörleri ve tonsillektomi vb. gibi ağız, orofarenks, supraglottik larenks biyopsi ve cerrahi uygulanan 200 olguya ait veriler retrospektif incelendi.

Çalışmaya dahil edilen malign hastaların 229'u erkek (%76,3) ve 71'i kadın (%23,7) olup yaş ortalaması 63,7 (23-91 yaş) idi. 251 hastada (%83,7) sigara, 53 hastada (%17,7) alkol kullanımı mevcuttu. Hastaların 5 yıllık sağ kalım oranı %72 olarak saptandı. 51 hastada (%17) uzak metastaz saptanırken; 204 hasta (%68,9) postoperatif dönemde kemoradyoterapi tedavisi olduğu saptandı. Hastaların 157'si (%52,3) supraglottik larenks, 129'unda (%43) oral kavite, 14'ünde (%4,7) orofarenks kaynaklı lezyonları mevcuttu.

Malign gruptaki olguların 24'ünde (%8) immünohistokimyasal olarak p16 pozitifliği izlenmiştir. P16 pozitif olgular; 8'i orofarenks (dil kökü, yumuşak damak, tonsil), 3'ü dil, 3'ü ağız tabanı, 10'u larenks yerleşimli tümörlerdir. Bu olguların yerleşim yerine göre sıklığı, orofarenkste %40 (8/20), oral kavitede %4,8 (6/124), larenkste %6,4 (10/156) saptanmıştır.

P16 pozitif orofarenkse ait 8 olgunun 6'sında (%75) yüksek risk HPV varlığı saptanmıştır. Dil yerleşimli tümörlerde p16 pozitifliği saptanırken yüksek riskli HPV saptanamamıştır. Ağız tabanı yerleşimli 3 olgunun 2'sinde, larenks yerleşimli 10 olgunun 3'ünde yüksek riskli HPV saptanmıştır. Malign gruptaki p16 pozitif 24 olgunun 7'sinde HPV tip 16, 1'inde HPV tip 67, 3'ünde HPV tip 18 varlığı saptanmıştır. Kalan 13 olguda p16 ile pozitif iken HPV varlığı saptanamamıştır.

Malign gruptaki olguların 53'ünde (%18) yüksek riskli HPV varlığı saptanmıştır. Bunlardan 7'si orofarenks, 31'i larenks, 15'i oral kavite yerleşimli tümörlü olgulardır. Yüksek riskli HPV pozitif 15 oral kavite yerleşimli tümörlü olguların 2'sinde, 7 orofarenks tümörlü olgunun 6'sında, 31 larenks yerleşimli olgunun 3'ünde p16 pozitifliği saptanmıştır. Larenks yerleşimli yüksek riskli HPV pozitif 5 olguda p16 ile negatif olarak değerlendirilen boyanma saptanmıştır.

Malign grupta p16 immünohistokimyasal boyanması ile farklı oranlarda ve farklı paternlerde boyanma izlenen ancak negatif olarak değerlendirilen 41 olgu bulunmaktadır. Bunların 23'ü larenks, 12'si oral kavite, 6'sı orofarengeal SCC olgularıdır. 6 orofarengeal SCC olgusunun 1'inde HPV16 pozitifliği saptanmış, bu tümörde p16 ile %80 oranında mozaik ve marjinal boyanma varlığı dikkati çekmiştir. 23 larenks SCC olgusunun 7'sinde yüksek riskli HPV (4'ü HPV18, 2'si HPV33, 1'i HPV16) bulunduğu saptanmıştır. 12 oral kavite SCC olgusunun hiçbirinde yüksek risk HPV saptanamamıştır.

P16 immünohistokimyasal olarak negatif grupta yer alan olguların 8'inde yüksek riskli HPV varlığı saptanmıştır. HPV tip 16 varlığı saptanan 2 olgudan (1'i orofarengeal, 1'i larenks) biri immünohistokimyasal olarak %80 oranında mozaik ve marjinal paternde boyanma, diğeri ise %30 oranında mozaik paternde p16 boyanması göstermiştir. HPV tip 18 varlığı saptanan 4 olgudan (4'ü de larenks) biri immünohistokimyasal olarak %50 oranında nükleer, ikincisi %50 oranında marjinal ve nükleer, üçüncüsü %60 oranında marjinal paternde, sonuncusu ise %40 oranında blok tarzında nükleer ve sitoplazmik p16 boyanması göstermiştir. HPV tip 33 varlığı saptanan 2 olgudan (2'si de larenks) birinde immünohistokimyasal olarak %60 oranında mozaik, diğeri %30 oranında mozaik p16 boyanması izlenmiştir.

Malign hasta grubunda etiyolojide 53 hastada (%17,7) HPV antijeni saptanmış olup ve bu grupta 11 hasta (%20,8) sigara-alkol ilişkisiz olup, 11 hastada da (%20,8) P16 ekspresyonu saptandı. HPV antijeni saptanan hastaların lezyonları, 32 hastada (%60,4) supraglottik larenks, 13 hastada (%24,5) oral kavite ve 8 hastada (%15,1) orofarenksde idi. HPV genotip değerlendirildiğinde 23 hastada (%43,4) tip 18, 14 hastada (%26,4) tip 16, 8 hastada (%15,1) tip 33, 6 hastada (%11,3) mix, 1 hastada (%1,9) tip 67 ve 1 hastada (%1,9) tip 6 olduğu saptandı. HPV antijeni pozitif ve p16 ekspresyonu izlenen hastaların HPV genotipleri incelendiğinde, 7 hastada (%63,6) tip 16, 2 hastada (%18,2) tip 18, 1 hastada (%9,1) tip 67 ve 1 hastada (%9,1) mix olduğu saptandı. HPV antijeni pozitif ve p16 ekspresyonu saptanan hastaların lezyonları, 6 hastada (%54,5) orofarenks, 3 hastada (%27,3) supraglottik ve 2 hastada (%18,2) oral kavitede saptandı. Supraglottik bölgede karsinom saptanan 33 hastada, 19 hastada (%57,6) tip 18, 6 hastada (%18,2) tip 16, 4 hastada (%12,1) tip 33, 2 hastada (%6,1) mix tip, 1 hastada (%3) tip 67 ve 1 hastada (%3) tip 6 saptandı. Oral kavitede karsinom saptanan

12 hastada, 4 hastada (%33,3) tip 18, 3 hastada (%25) tip 33, 3 hastada (%25) mix tip, 2 hastada (%16,7) tip 16 saptandı. Orofarenks karsinomu izlenen 8 hastada, 7 hastada (%87,5) tip 16, 1 hastada (%12,5) tip 33 saptandı. Hastaların 9'unda (%81,8) postoperatif kemoradyoterapi tedavisi olduğu, 3 hastada (%27,3) uzak metastaz saptandığı ve 5 yıllık sağ kalım oranının %72,7 olduğu değerlendirildi. HPV antijeni pozitif olan ancak p16 ekspresyonu saptanmayan hasta grubunda, 29 hastada (%69) supraglottik, 11 hastada (%26,2) oral kavitede ve 2 hastada (%4,8) orofarenksde saptandı. Hastaların 29'unda (%69) postoperatif kemoradyoterapi tedavisi olduğu, 4 hastada (%9,5) uzak metastaz saptandığı ve 5 yıllık sağ kalım oranının %73,8 olduğu değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilen benign hastaların 106'sı erkek (%53) ve 94'ü kadın (%47) olup yaş ortalaması 42,5 (18-89 yaş) idi. 89 hastada (%44,5) sigara, 35 hastada (%17,5) alkol kullanımı mevcuttu. Benign hasta grubunda 26 hastada (%13) HPV antijeni saptanmış olup, bu hasta grubunda sadece 1 hastada (%3,9) p16 ekspresyonu olduğu izlendi. HPV antijeni saptanan hastaların 13'ü erkek- (%50) ve 13'ü kadın (%50) olup yaş ortalaması 30,2 idi. 23 hastada (%88,5) orofarenksde, 3 hastada (%11,5) oral kaviteden yapılan histopatolojik incelemede HPV pozitifliği saptandı. HPV genotip değerlendirildiğinde 16 hastada (%61,5) tip 33, 5 hastada (%19,2) tip 16, 3 hastada (%11,5) tip 18, 1 hastada (%3,8) tip 32 ve 1 hastada (%3,8) mix olduğu saptandı. HPV antijeni pozitif olan ve p16 ekspresyonu izlenen 1 hastada, orofarenksden yapılan incelemede tip 16 saptandı.

V. Sonuç ve Öneriler

Baş boyun kanserleri, oral kavite, orofarenks, nazal kavite, paranasal sinüs, orofarenks ve larenksin sıklıkla epitelinden köken alan tümörler olup, epitelyal tümörlerin çoğunluğunu skuamöz hücreli karsinomlar oluşturmaktadır (39). En önemli risk faktörü sigara ve alkol kullanımı olmakla birlikte, son zamanlarda Human papilloma virüsünde baş boyun tümörleri gelişiminde önemli bir yeri olduğu vurgulanmaktadır ve özellikle HPV tip 16 ve 18'in yakın ilişkili olduğu gösterilmektedir. Baş boyun tümörlerinin yaklaşık %25'inde HPV antijeni varlığı belirtilmektedir (40).

p16, CDKN2A tümör supresör geninin protein ürünüdür ve hücre siklusunda anahtar role sahiptir. HPV ilişkili tümörlerde E7 viral onkoproteini RB1 degrade ederken, p16' yı arttırır. HPV ilişkili orofarengeal skuamöz hücreli karsinomlarında HPV enfeksiyonu için "surrogate" marker olarak kabul edilmektedir (41).

Amerika ve bazı Avrupa ülkelerinde yeni tanı almış orofarengeal skuamöz hücreli karsinomlarının yaklaşık %60-70' inin HPV ilişkili olduğu bildirilmiştir (42). Çalışmamızda orofarengeal SCC olgularında 8 olguda (%40) p16 pozitifliği, 7 olguda (%35) yüksek riskli HPV varlığı, 6 olguda (%30) hem p16 pozitifliği hem de yüksek riskli HPV varlığı saptanmıştır. Bu oran literatür verilerine göre düşük olarak saptanmıştır.

Amerika' da yapılan bir çalışmada; orofarengeal karsinomlarda %70,1, oral kavite tümörlerinde %32, larengeal kanserlerde %20,9 oranında HPV DNA varlığı saptandığı bildirilmiştir (43). Bizim çalışmamızda orofarengeal SCC' lerin %35' inde; oral kavite tümörlü olguların %12' sinde; larenks tümörlü olguların %19,8' inde HPV DNA varlığı saptanmıştır. Larenks tümörlü olgularda literatür ile benzer oranda HPV DNA varlığı saptanmıştır. Ancak orofarengeal ve oral kavite tümörlerinde daha düşük oranda HPV DNA varlığı saptanmıştır.

Orofarengeal tümörlerde yüksek riskli HPV varlığını saptamada p16 immünohistokimyasal boyamasının %80-90 oranında sensitiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (44). Bizim çalışmamızda literatüre benzer şekilde, HPV saptanan 7 orofarengeal SCC olgusunun 6' sında p16 pozitif ve p16 sensitivitesi %85,7 oranında bulunmuştur.

Sgaramella ve ark. yaptığı bir çalışmada; 109 dil tümörlü olgunun 36' sında p16 ile pozitiflik saptanmış ancak hiçbirinde HPV16 DNA varlığı bulunmadığı bildirilmiştir (45). Bu çalışmada p16 ekspresyonunun HPV enfeksiyonundan bağımsız olduğunu ileri sürülmüştür. Benzer şekilde bizim çalışmamızda yer alan p16 ekspresyonu gösteren 3 dil SCC tanılı olguda HPV saptanamamıştır. Palve ve ark. yaptığı başka bir çalışmada, oral kavite tümörlerinde HPV varlığını saptamak için p16 ekspresyonunun "surrogate" marker olmadığını bildirdikleri veriler elde etmişlerdir (46).

P16 ekspresyonu gösteren larenks SCC olgularının p16 negatif larenks SCC olgularına göre iyi prognozlu olduğunu bildirilen çalışmalar bulunmaktadır (47). Ancak daha önce yapılan başka bir çalışmada HPV varlığının veya p16 ekspresyonunun larenks karsinomlarında prognostik bir role sahip olmadığı bildirilmiştir (48). Aynı çalışmada larenks karsinomlarının (8/101 olgu) %7,9' unda p16 ekspresyonu, (16/101 olgu) %15,8' inde HPV DNA varlığı saptanmıştır. HPV saptanan 16 olgunun 2' sinde (%12,5) p16 ekspresyonu bildirilmiştir (48). Bizim çalışmamızda bu çalışmaya benzer şekilde larenks karsinomlu olguların (10/157) %6,4' ünde p16 ekspresyonu, (32/157) %20,4 oranında HPV varlığı saptanmıştır. HPV saptanan olguların 3' ünde (%9,6) p16 ekspresyonu izlenmiştir. Orofarengeal bölge karsinomlarına göre larenks karsinomlarındaki p16 ekspresyonu ve HPV korelasyonu daha düşük oranda saptanmıştır. Larengeal karsinogenezde p16' nın artmış ekspresyonunun, HPV ilişkili olmayan, somatik kromozomal değişiklikleri yansıtabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (48,49).

HPV ilişkili orofarengeal SCC' lerin az diferansiye veya andiferansiye tümörler olduğu ve sıklıkla tonsiller kripte epitelinden geliştiği bildirilmektedir (50). Ayrıca non-keratinize bazaloid görünüme sahip olabilecekleri ve HPV negatif orofarengeal SCC' lerin iyi diferansiye görünüme sahip oldukları bildirilmektedir (51).

Yüksek risk HPV pozitifliği , baş boyun skuamöz hücreli karsinomda en sık orofarenksde saptanmakla birlikte nadiren de olsa anterior oral kavitede ve sinonazal yolda saptanmaktadır (52). Bizim çalışmamızda literatürdeki aksine en sık supraglottik bölge karsinomlarında, 2.sırada oral kavitede ve en az orofarenksde izlenen karsinomlarda HPV antijeni saptandı. Son yıllarda sigara ile

ilişkili baş boyun karsinom insidansında azalma izlenmekle birlikte, HPV ilişkili orofarengal karsinom insidansında artış saptanmaktadır (53). Dünya çapında 1975'den 2012'ye kadar orofarengal skuamöz hücreli karsinom (OSHK) insidansında %26,6'lık artış rapor edilirken, ABD'de HPV ilişkili OSHK prevalansında %225'lik artış rapor edilmiştir (54). Çalışmamızda, malign hasta grubunda 53 hastada (%17,7) HPV antijeni saptanmış olup, HPV antijeni saptanan hastaların lezyonları, 32 hastada (%60,4) supraglottik larenks, 13 hastada (%24,5) oral kavite ve 8 hastada (%15,1) orofarenksde idi.

Orofarengal skuamöz hücreli karsinomların nerdeyse %90'ında HPV 16 saptandığı gösterilmiştir. Bu subtip servikal kanserlerde de en sık karşılaşılan suştur. HPV 18, 33 ve daha az oranda diğer onkojenik subtipler de saptanabilmektedir. Ancak daha az görülen subtiplerde prognozun daha kötü olduğu düşünülmektedir (32,33). Çalışmamızda orofarenksde karsinom saptanan olgularda en sık tip 16 (%87,5), oral kavite karsinomlarında en sık tip 18 (%33,3) ve supraglottik karsinomlarında en sık tip 18 (%57,6) saptanmıştır.

HPV pozitif orofarengal skuamöz hücreli karsinomlarda prognozun, sigara ve alkol ilişkili oral kavite skuamöz hücreli karsinoma göre daha iyi olduğu gösterilmiştir ancak; başka yerde saptanan skuamöz hücreli karsinomda aynı olumlu prognozu taşımadığı gösterilmiştir (55). Çalışmamızda malign hastaların 129'unu (%43) oral kavitede saptanmış olup, oral kavite lezyonlarının da 13'ünde (%10,1) HPV antijeni pozitif saptandı. Oral kavite karsinomlarında literatüre benzer şekilde sağ kalım oranı HPV antijeni saptananlarda %84,6 , HPV antijeni saptanmayanlarda ise %72,4 olarak izlendi.

HPV ilişkili orofarengal skuamöz hücreli karsinomlar klasik olarak alkol kullanımı olmayan ya da daha az kullanım öyküsü olan daha genç erkeklerde (5-6.dekat) görülmektedir. Ayrıca genç hastaların yaşlı hastalardan farklı olarak daha fazla sayıda oral seks partneri ya da artan cinsel ilişki öyküsünün olması daha genç popülasyonda (<50 yaş) daha sık görülmesinde rol oynayabilir (56). Çalışmamızda HPV ilişkili baş boyun kanserlerinde hastaların yaş ortalaması 66,4 (37-81 yaş) idi. Literatürdekine benzer şekilde erkek cinsiyette daha fazla oranda (%75,5) HPV ilişkili baş boyun kanseri olduğu saptandı. Ayrıca hem HPV antijeni pozitif olan hem P16 ekspresyonu saptanan malign hasta grubunun tamamının erkek cinsiyette olduğu ve yaş ortalamasının 69,4 (59-81 yaş) olduğu izlendi.

HPV DNA'sı ağız mukozasında bulunur ancak; hala tartışmalı bir konu olarak asemptomatik olarak herhangi bir klinik lezyon olmadan saptanabilir (57). Kreimer ve arkadaşlarının yayınladığı 4000 hastanın dahil edildiği çalışmada, asemptomatik HPV enfeksiyonu (HPV tip 16 ve diğerleri) oranı % 1.3-4.5 olarak saptanmıştır (58). Çalışmamızda ise, baş boyun bölgesindeki benign lezyonlarda 26 hastada (%13) HPV pozitifliği saptanmış olup, 23'ü (%88,5) orofarenks, 3'ü (%11,5) oral kaviteden gönderilen örneklerin incelenmesi sonucu saptandı. 22 hastada (%11) asemptomatik olarak gönderilen tonsil dokusundan yapılan incelemeler sonucunda saptandı. HPV subtipleri değerlendirildiğinde ise; sırasıyla 33,16 ve 18 sıklıkla izlendi. ?

VI. Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkılar

Ülkemize ait HPV enfeksiyonu ve oral kavite, orofarenks ve larenks karsinomu arasındaki ilişkiyi irdeleyen net bir veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada oral kavite, orofarenks ve larenkse ait yüksek sayıda malign ve benign doku örneklerinde arasındaki p16 ve riskli HPV suş prevalansları karşılaştırılmıştır. Bilgimiz dahilinde bu kapsamda bir çalışmanın literatürde daha önce örneği bulunmamaktadır.

Bu projede hastaların retrospektif olarak taranması ve HPV varlığı ile olguların prognozunun karşılaştırılması literatürde tanımlanan tedavi protokollerinin değişiminin Türkiye için de geçerli olup olmadığını göstermek açısından oldukça önemlidir. Türkiye de HPV pozitif ÜSSY kanserlerinin yaygınlığının belirlenmemiş olmasının yanı sıra dünyada da tümör dokusunda HPV tespitini sağlayan testlerin doğruluğunu, maliyet ve uygulama kolaylığını karşılaştıran çalışma bulunmamakta ve yapılan yayınlarda bunun gerekliliği vurgulanmaktadır. Bu çalışma hem p16 immün reaktivitesi, hem de PZR ile HPV genomu varlığı ve sekans analizi sunması açısından özgündür.

Çalışmamızda elde ettiğimiz özgün verilerden bazıları şunlardır :

- Yüksek risk HPV pozitifliği , baş boyun skuamöz hücreli karsinomda en sık orofarenksde saptanmakla birlikte nadiren de olsa anterior oral kavitede ve sinonazal yolda saptanmaktadır. Bizim çalışmamızda literatürdekinin aksine en sık supraglottik bölge karsinomlarında, 2.sırada oral kavitede ve en az orofarenksde izlenen karsinomlarda HPV antijeni saptanmıştır.
 - Çalışmamızda, malign hasta grubunda 53 hastada (%17,7) HPV antijeni saptanmış olup, HPV antijeni saptanan hastaların lezyonları, 32 hastada (%60,4) supraglottik larenks, 13 hastada (% 24,5) oral kavite ve 8 hastada (% 15,1) orofarenksde idi.
 - Çalışmamızda orofarengeal SCC olgularında 8 olguda (%40) p16 pozitifliği, 7 olguda (%35) yüksek riskli HPV varlığı, 6 olguda (%30) hem p16 pozitifliği hem de yüksek riskli HPV varlığı saptanmıştır. Bu oran literatür verilerine göre düşük olarak saptanmıştır.
 - Çalışmamızda orofarenksde karsinom saptanan olgularda en sık tip 16 (%87,5), oral kavite karsinomlarında en sık tip 18 (%33,3) ve supraglottik karsinomlarında en sık tip 18 (%57,6) saptanmıştır.
 - Larenks karsinomlu olguların (10/157) %6,4' ünde p16 ekspresyonu, (32/157) %20,4 oranında HPV varlığı saptanmıştır. HPV saptanan olguların 3' ünde (%9,6) p16 ekspresyonu izlenmiştir. Orofarengeal bölge karsinomlarına göre larenks karsinomlarındaki p16 ekspresyonu ve HPV korelasyonu daha düşük oranda saptanmıştır. Larengeal karsinogeneziste p16' nın artmış ekspresyonunun, HPV ilişkili olmayan, somatik kromozomal değişiklikleri yansıtabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır.
 - Çalışmamızda malign hastaların 129'unu (%43) oral kavitede saptanmış olup, oral kavite lezyonlarının da 13'ünde (%10,1) HPV antijeni pozitif saptandı. Oral kavite karsinomlarında literatüre benzer şekilde sağ kalım oranı HPV antijeni saptananlarda %84,6 , HPV antijeni saptanmayanlarda ise %72,4 olarak izlendi.
 - Ayrıca hem HPV antijeni pozitif olan hem P16 ekspresyonu saptanan malign hasta grubunun tamamının erkek cinsiyette olduğu ve yaş ortalamasının 69,4 (59-81 yaş) olduğu izlendi.
 - Çalışmamızda ise, baş boyun bölgesindeki benign lezyonlarda 26 hastada (%13) HPV pozitifliği saptanmış olup, 23'ü (%88,5) orofarenks, 3'ü (%11,5) oral kaviteden gönderilen örneklerin incelenmesi sonucu saptandı. 22 hastada (%11) asemptomatik olarak gönderilen tonsil dokusundan yapılan incelemeler sonucunda saptandı. HPV subtipleri değerlendirildiğinde ise; sırasıyla 33,16 ve 18 sıklıkla izlendi.
- Yukardaki verilerin ışığında alanında öncü olan çalışmamızın baş boyun kanseri epidemiyolojisine önemli katkı sağlayacağı açıktır.

VII. Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler

HPV Enfeksiyonu Türk Toplumunda Baş Boyun Kanseri Bir Risk Faktörü müdür ? Baş Boyun Kanseri Karsinogenez Risk ve Prognoz ilişkisinin İncelenmesi

VIII. Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları

Papillom virüsünün bulaş ve kanser gelişimindeki mekanizmaları aydınlatıldıkça bu virüsün bulaş yollarını engelleme yöntemleri, risk altındaki bireylerin tespitini sağlayan tanı yöntemleri ve bağışıklık gelişimini sağlamak için aşılar geliştirilmektedir. Zamanla gerek tanı yöntemlerinin kullanımının sıklığını artması gerekse aşılama programlarının toplum geneline yayılması sağlık endüstrisi için önemli bir ticari kazanç durumu ortaya çıkarmaktadır. Batı toplumu verilerine dayanarak yapılan bu çıkarımların ülkemiz verileri ile nedenli örtüştüğü bilinmemektedir. Bu çalışmanın sonuçları ile HPV'nin ÜSSY kanser gelişimindeki rolü ile ilgili önemli bilgiler sağlanacak, böylelikle sağlık politikalarına ve/veya ülke bazlı çalışmalara projekte edilebilecek veriler elde edilebilecektir.

Ülkemize ait HPV enfeksiyonu ve oral kavite, orofarenks ve larenks karsinomu arasındaki ilişkiyi irdeleyen net bir veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada oral kavite, orofarenks ve larenkse ait yüksek sayıda malign ve benign doku örneklerinde arasındaki p16 ve riskli HPV suş prevalansları karşılaştırılmıştır. Bilgimiz dahilinde bu kapsamda bir çalışmanın literatürde daha önce örneği bulunmamaktadır. Elde edilen verilerin ışığında alanında öncü olan çalışmamızın baş boyun kanseri epidemiyolojisine önemli katkı sağlayacağı açıktır.

IX. Kaynaklar

- 1- Global Burden of Disease Cancer Collaboration. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* 2019; 5:1749–1768
- 2- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2015;65(2):87-108.
- 3- Hashibe M, Sturgis EM. Epidemiology of oral-cavity and oropharyngeal carcinomas: controlling a tobacco epidemic while a human papillomavirus epidemic emerges. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2013;46(4):507-20.
- 4- Organization WH. World Health Organization report on the global tobacco epidemic. 2013.
- 5- Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29(32):4294-301.
- 6- Miller CS, Johnstone BM. Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982-1997. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2001;91(6):622-35.
- 7- Peters R, Mack T. Patterns of anal carcinoma by gender and marital status in Los Angeles County. *British Journal of cancer*. 1983;48(5):629.
- 8- Syrjänen KJ, Pyrhönen S, Syrjänen SM, Lamberg MA. Immunohistochemical demonstration of human papilloma virus (HPV) antigens in oral squamous cell lesions. *British Journal of Oral Surgery*. 1983;21(2):147-53.
- 9- Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16–positive and human papillomavirus type 16–negative head and neck cancers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(6):407-20.
- 10- Enomoto LM, Bann DV, Hollenbeak CS, Goldenberg D. Trends in the incidence of oropharyngeal cancers in the United States. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery*. 2016:0194599816633690
- 11- Auperin A. Epidemiology of head and neck cancers: an update. *Curr Opin Oncol*. 2020 May;32(3):178-186.
- 12- Ramael M, Gudleviciene Z, Didziapetriene J. Natural history and biological behaviour of human papillomavirus: implications for cervical cancer screening. *ACTA Med Lituanica* 2004; 11: 1-7.
- 13- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
- 14- De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 17-27
- 15- Dehn D, Torkko KC, Shroyer KR. Human papillomavirus testing and molecular markers of cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer* 2007; 111: 1-12.
- 16- Stanley MA, Pett MR, Coleman N. HPV: from infection to cancer. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 1456-60
- 17- Moscicki AB, Hills N, Shiboski S et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 2001; 285, 2995–3002.
- 18- Rettig EM, Zaidi M, Faraji F, et al. Oropharyngeal cancer is no longer a disease of younger patients and the prognostic advantage of human papillomavirus is attenuated among older patients: analysis of the National Cancer Database. *Oral Oncol* 2018; 83:147–153.
- 19- De Sanjose S, Serrano B, Tous S, et al. Burden of human papillomavirus (HPV)-related cancers attributable to HPVs 6/11/16/18/31/33/45/52 and 58. *JNCI Cancer Spectr* 2019; 2:pk045.
- 20- Gillison ML, Chaturvedi AK, Anderson WF, Fakhry C. Epidemiology of human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2015; 33:3235–3242
- 21- Mahal BA, Catalano PJ, Haddad RI, et al. Incidence and demographic burden of HPV-associated oropharyngeal head and neck cancers in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2019; 28:1660–1667.
- 22- Faraji F, Rettig EM, Tsai HL, et al. The prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal

cancer is increasing regardless of sex or race, and the influence of sex and race on survival is modified by human papillomavirus tumor status. *Cancer* 2019; 125:761–769

23- O'Sullivan B, Huang SH, Su J, et al. Development and validation of a staging system for HPV-related oropharyngeal cancer by the International Collaboration on Oropharyngeal cancer Network for Staging (ICON-S): a multicentre cohort study. *Lancet Oncol* 2016;17:440–51

24- Amin MB. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th edition. Springer, 2016:43 p. <https://cancerstaging.org/About/news/Documents/NCRA/AJCC/Cancer/Staging/Manual/8th/Edition/Update.pdf>.

25- Kimple RJ, Smith MA, Blitzer GC, et al. Enhanced radiation sensitivity in HPV-positive head and neck cancer. *Cancer Res* 2013;73:4791–800.

26- Martín-Hernán F, Sánchez-Hernández JG, Cano J, et al. Oral cancer, HPV infection and evidence of sexual transmission. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013; 18:e439–e444.

27- D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, et al. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2009;199:1263–9.

28- Smith EM, Ritchie JM, Pawlita M, et al. Human papillomavirus seropositivity and risks of head and neck cancer. *Int J Cancer* 2007;120:825–32.

29- Ritchie JM, Smith EM, Summersgill KF, et al. Human papillomavirus infection as a prognostic factor in carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Int J Cancer* 2003;104:336–44

30- Ramqvist T, Gruhn N, Dalianis T. Human papillomavirus and tonsillar and base of tongue cancer. *Viruses* 2015;7:1332–43.

31- Giuliano AR, Nyitray AG, Kreimer AR, et al. EUROGIN 2014 roadmap: differences in human papillomavirus infection natural history, transmission and human papillomavirus-related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. *Int J Cancer* 2015;136:2752–60

32- Reiter PL, Pendergraft WF 3rd, Brewer NT. Meta-analysis of human papillomavirus infection concordance. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19:2916–31

33- Baden LR, Curfman GD, Morrissey S, et al. Human papillomavirus vaccine-opportunity and challenge. *N Engl J Med* 2007;356:1990–1.

34- Reisinger KS, Block SL, Lazcano-Ponce E, et al. Safety and persistent immunogenicity of a quadrivalent human papillomavirus types 6, 11, 16, 18 L1 virus-like particle vaccine in preadolescents and adolescents: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:201–9.

35- Shah A, Malik A, Garg A, Mair M, Nair S, Chaturverdi P. Oral sex and human papilloma virus-related head and neck squamous cell cancer: a review of the literature. *Postgrad Med J* . 2017 Nov;93(1105):704-709.

36- Venceslau EM, Bezerra MM, Lopes ACM, et al. HPV detection using primers MY09/MY11 and GP5+/GP6+ in patients with cytologic and/or colposcopic changes. *J Bras Patol Med Lab* 2014; 50: 280-285.

37- Stevens MP, Garland SM, Tabrizi SN. Human papillomavirus genotyping using a modified linear array detection protocol. *J Virological Methods* 2006; 135: 124-126; Woo YL, Damay I, Stanley M, Crawford R, Sterling J. The use of HPV Linear Array Assay for multiple HPV typing on archival frozen tissue and DNA specimens. *J Virological Methods* 2007; 142: 226-230.

38- Carvalho NO, Castillo DM, Perone C, et al. Comparison of HPV genotyping by type-specific PCR and sequencing. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2010; 105: 73-78; Lee SH, Vigliotti VS, Vigliotti JS, Pappu S. Routine human papillomavirus genotyping by DNA sequencing in community hospital laboratories. *Infectious Agents and Cancer* 2007, 2: 1-11.

39- Tachezy R, Klozar J, Rubenstein L, Smith E, Salakova M, Smahelova J, Ludvikova V, Rotnaglova E, Kodet R, Hamsikova E. Demographic and risk factors in patients with head and neck tumors. *J Med Virol*. 2009 May;81(5):878-87.

40- Bray F, Parkin DM. Evaluation of data quality in the cancer registry: principles and methods. Part I: comparability, validity and timeliness. *Eur J Cancer*. 2009 Mar;45(5):747-55.

41- EI-Naggar, A.K., et al., Tumours of the oropharynx (base of tongue, tonsils, adenoids), in WHO Classification of Head and Neck Tumours. 2017. p. 136-138.

42- Kim, K.Y., J.S. Lewis, Jr., and Z. Chen, Current status of clinical testing for human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Pathol Clin Res*, 2018. 4(4): p. 213-226.

43- Saraiya, M., et al., US assessment of HPV types in cancers: implications for current and 9-valent

- HPV vaccines. *J Natl Cancer Inst*, 2015. 107(6): p. djv086.
- 44- Augustin, J.G., et al., HPV Detection in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas: What Is the Issue? *Front Oncol*, 2020. 10: p. 1751.
- 45- Sgaramella, N., et al., Expression of p16 in squamous cell carcinoma of the mobile tongue is independent of HPV infection despite presence of the HPV-receptor syndecan-1. *Br J Cancer*, 2015. 113(2): p. 321-6.
- 46- Palve, V., et al., Detection of High-Risk Human Papillomavirus in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma Using Multiple Analytes and Their Role in Patient Survival. *J Glob Oncol*, 2018. 4: p. 1-33.
- 47- Zhu, Y., et al., Prognostic implications of human papillomavirus status and p16 expression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck*, 2019. 41(12): p. 4151-4163.
- 48- Hernandez, B.Y., et al., p16(INK4A) expression in invasive laryngeal cancer. *Papillomavirus Res*, 2016. 2: p. 52-55.
- 49- Larque, A.B., et al., P16(INK4a) overexpression is associated with CDKN2A mutation and worse prognosis in HPV-negative laryngeal squamous cell carcinomas. *Virchows Arch*, 2015. 466(4): p. 375-82.
- 50- Westra, W.H., The pathology of HPV-related head and neck cancer: implications for the diagnostic pathologist. *Semin Diagn Pathol*, 2015. 32(1): p. 42-53.
- 51- De Santis, S., et al., Oropharyngeal squamous cell carcinoma and HPV. Systematic review on overall management. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*, 2017. 118(2): p. 103-108.
- 52- Paver E, Currie AM, Gupta R, Dahlstrom JE. Human papilloma virus related squamous cell carcinomas of the head and neck: diagnosis, clinical implications and detection of HPV. *Pathology*. 2020 Feb;52(2):179-191.
- 53- de Martel, C.; Ferlay, J.; Franceschi, S.; Vignat, J.; Bray, F.; Forman, D.; Plummer, M. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: A review and synthetic analysis. *Lancet Oncol*. 2012, 13, 607–615.
- 54- Chaturvedi, A.K.; Engels, E.A.; Pfeiffer, R.M.; Hernandez, B.Y.; Xiao, W.; Kim, E.; Jiang, B.; Goodman, M.T.; Sibug-Saber, M.; Cozen, W.; et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J. Clin. Oncol*. 2011, 29, 4294–4301
- 55- Li H, Torabi SJ, Yarbrough WG, et al. Association of human papillomavirus status at head and neck carcinoma subsites with overall survival. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2018; 144: 519–25.
- 56- Fakhry, C.; Waterboer, T.; Westra, W.H.; Rooper, L.M.; Windon, M.; Troy, T.; Koch, W.; Gourin, C.G.; Bender, N.; Yavvari, S.; et al. Distinct biomarker and behavioral profiles of human papillomavirus-related oropharynx cancer patients by age. *Oral Oncol*. 2020, 101, 104522
- 57- D'souza G, Wentz A, Kluz N, Zhang Y, Sugar E, Youngfellow Rm, Guo Y, Xiao W, Gillison MI. Sex Differences In Risk Factors And Natural History Of Oral Human Papillomavirus Infection. *J Infect Dis* 2016; 213: 1893–1896.
- 58- Kreimer Ar, Bhatia Rk, Messegue Al, Gonzalez P, Herrero R, Giuliano Ar. Oral Human Papillomavirus In Healthy Individuals: A Systematic Review Of The Literature. *Sex Transm Dis* 2010; 37: 386–391.

X. Ekler

a) Mali Bilanço ve Açıklamaları:

Moleküler analizler için gerekli kit ve sarf malzemelerin temini
Örnek içerisindeki DNA'nın izolasyonu DNA örneklerinin
PZR ile analiz edilmesi

HPV varlığının nested-PZR yöntemi ile araştırılması

HPV (+) bulunan örneklerde hazır ticari kit kullanılarak "reverse line blot hibridizasyon" yöntemi ile genotipleme yapılması

HPV (+) bulunan örneklerde sekans analizi ile HPV genotiplerinin belirlenmesi

Kanserli hastalara ait tümörün histopatolojik değerlendirilmesinin yapılması

Kanserli hastalara ait tümör dokusunda immünohistokimyasal olarak p16 immünreaktivitesinin tespiti

Kanserli hastalara ait tümör dokusunda İn-Situ Hibridizasyon yöntemi ile yüksek riskli ve düşük riskli HPV genomu varlığının araştırılması

Benign oral kavite ve orofarenks biyopsi spesmenlerinde HPV varlığı ve immünohistokimyasal olarak P16 immünreaktivitesinin araştırılması

Ameliyat spesmenlerine ait preparatların ve blokların elde edilmesi

Dokuların histopatolojik değerlendirilmesinin yapılması

Dokularda immünohistokimyasal olarak p16 immünreaktivitesinin tespiti

Dokularda İn-Situ Hibridizasyon yöntemi ile yüksek riskli ve düşük riskli HPV genomu varlığının araştırılması

Benign oral kavite ve orofarenks biyopsi spesmenlerinde HPV ve p16 aranması işlemleri gerçekleştirilecektir.

Projedeki toplan ödenek 148.330,00 TL

Toplam harcanan tutar 95.707,60 TL

Toplam kalan tutar 52.622,40 TL

b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar:

Oral kavite, orofarenks ve larenkse ait yüksek sayıda malign ve benign doku örneklerinde arasındaki p16 ve riskli HPV suşların belirlenmesi

Dokularda immünohistokimyasal olarak p16 immünreaktivitesinin tespiti

Dokularda İn-Situ Hibridizasyon yöntemi ile yüksek riskli ve düşük riskli HPV genomu varlığının araştırılması

c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar :

d) Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) (Altyapı ve Yönlendirilmiş Projeler için uygulanmaz):

e) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler (Altyapı ve Yönlendirilmiş Projeler için uygulanmaz):