



**T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANOGENİTAL HUMAN PAPİLLOMAVİRÜS (HPV) ENFEKSİYONLARINDA  
SİTOKİN VE MANNOZ BAĞLAYICI LEKTİN(MBL) GEN  
POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ**

**Doç. Dr. Kenan AYDOĞAN**

**(DOKTORA TEZİ)**

**BURSA-2012**



**T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANOGENİTAL HUMAN PAPİLLOMAVİRÜS (HPV) ENFEKSİYONLARINDA  
SİTOKİN VE MANNOZ BAĞLAYICI LEKTİN (MBL) GEN  
POLİMORFİZMİNİN BELİRLENMESİ**

**Doç. Dr. Kenan AYDOĞAN**





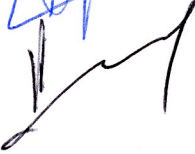
**(DOKTORA TEZİ)**

**Danışman: Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN**

**BURSA-2012**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu tez, jürimiz tarafından Doç.Dr.Kenan AYDOĞAN'IN tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Adı ve Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN	
Üye	Prof. Dr. Güher GÖRAL	
Üye	Prof. Dr. Barbaros ORAL	
Üye	Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ	
Üye	Prof. Dr. Hayriye SARICAOĞLU	

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... tarih, .....  
sayılı toplantısında alınan ..... numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

.....  
Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

<b>TÜRKÇE ÖZET</b> .....	v
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b> .....	vii
<b>1.GİRİŞ</b> .....	1
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>2.1. Human papillomavirüsler (HPV)</b> .....	3
2.1.1. HPV'nin önemi.....	3
2.1.2.HPV'nin tarihçesi.....	4
2.1.3.HPV'nin sınıflandırmadaki yeri ve taksonomisi.....	4
2.1.4. HPV viroloji ve yaşam döngüsü.....	6
2.1.4.1. HPV viroloji.....	6
2.1.4.2. HPV yaşam döngüsü .....	9
2.1.5.HPV ile immun sistem etkileşimi.....	11
2.1.6. HPV'nin onkojenik potansiyeli.....	15
2.1.7. Mukokutanöz HPV enfeksiyonları.....	15
<b>2.2. Anogenital HPV enfeksiyonları</b> .....	15
2.2.1. Epidemiyoloji.....	15
2.2.2. HPV enfeksiyonu doğal seyri.....	17
2.2.3. Anogenital HPV enfeksiyonlarında risk faktörleri.....	18
2.2.4. Anogenital HPV enfeksiyonlarında klinik özellikler.....	18
2.2.5. Patoloji .....	20
2.2.6. Tanı yöntemleri.....	20
2.2.7. Ayırıcı tanı .....	21
2.2.8. Tedavi ve HPV aşılıarı.....	21
<b>2.3 Sitokinler ve sitokin gen polimorfizmi</b> .....	22
2.3.1. Sitokinler.....	22
2.3.2. Sitokin gen polimorfizmi.....	23
<b>2.4. Mannoza bağlayıcı lektin (MBL) ve MBL gen polimorfizmi</b> .....	25
2.4.1. Mannoza bağlayıcı lektin.....	25
2.4.2. Kompleman aktivasyonunda MBL yolu.....	26
2.4.3. MBL gen polimorfizmi.....	28
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	30
<b>3.1.Hastalar ve Sağlıkli Kontroller</b> .....	30
<b>3.2. Sitokin ve MBL2 gen polimorfizminin saptanması</b> .....	30
3.2.1. Th1 tip sitokin, Th2 tip sitokin ve TGF- $\beta_1$ gen ile MBL2 gen.....	32
polimorfizmlerinin belirlenmesi	
3.2.1.1. Th1 tip sitokin (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), Th2 tip sitokin ( IL-6, IL-10) ve .....	32
TGF- $\beta_1$ ve MBL2 için genomik DNA izolasyonu	
3.2.1.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); PCR-SSP ve RFLP-PCR yöntemi....	33
3.2.1.2.1. Th1 tip sitokin (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), Th2 tip sitokin (IL-6, IL-10) ve .....	33
TGF- $\beta_1$ gen bölgesi için	

3.2.1.2.2. MBL2 gen bölgesi için.....	35
3.2.1.3. Agaroz jel elektroforezi.....	37
<b>3.3. İstatistiksel analiz.....</b>	<b>37</b>
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>38</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>45</b>
<b>6. EKLER.....</b>	<b>50</b>
6.1. Kısaltmalar ve açıklamalar.....	50
6.2. Hasta grubu sitokin ve MBL gen polimorfizm genotipleri.....	52
6.3. Kontrol grubu sitokin ve MBL gen polimorfizm genotipleri.....	53
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>54</b>
<b>8. TEŞEKKÜR.....</b>	<b>61</b>
<b>9.ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>62</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil-1.** HPV filogenetik şema

**Şekil-2.** HPV partikülü; pentavalent ve hekzavalent kapsomerler

**Şekil-3a.** HPV genomu yapısı

**Şekil-3b.** HPV genomu yapısı

**Şekil-4a** HPV yaşam döngüsü

**Şekil-4b.** HPV yaşam döngüsü

**Şekil-5.** HPV enfeksiyonlarında konak immün cevabı modelleri

**Şekil-6.** Human papillomavirus enfeksiyonunun doğal seyri

**Şekil-7a.** Kondilomata aküminata

**Şekil-7b.** Kondilomata plana

**Şekil-7c.** Bowenoid papulozis

**Şekil-7d.** Buschke-Löwenstein tümörü

**Şekil-8 a.** HPV enfeksiyonunda histopatolojik değişiklikler

**Şekil-8 b.** Koilosit hücresi

**Şekil-9.** MBL yapısı

**Şekil-10.**Kompleman sisteminin üç aktivasyon yolağı ve lektin yolu

**Şekil-11a.** İlk 6 hastanın % 2 agaroz jelde sitokin gen polimorfizm görüntüsü

**Şekil 11b.**İlk hastanın % 2 agaroz jelde sitokin gen polimorfizm görüntüsü.

**Şekil-11c.** Hasta grubunda ilk 7 hastanın MBL-2 gen kodon 54 ekzon1'in restriksiyon enzimi ile kesildikten sonraki % 2 agaroz jel elektroforezdeki DNA fragmanları

**Şekil-12.** Kümeleme analizi

**Şekil-13.** IL-6 için G/G ve ve MBL-2 için AA gen polimorfizmlerinin anogenital HPV enfeksiyonlarında olası etki ve sonuçları

## TABLolar DİZİNİ

**Tablo-1.** HPV tiplerinin kansere yol açma risklerine göre dağılımları

**Tablo-2.** HPV genomundaki genlerin(ORF) fonksiyonları

**Tablo-3.** HPV enfeksiyonunun konak immün cevabını düzenlemesi

**Tablo-4.** HPV subtipleri ile ilişkili hastalıklar

**Tablo-5.** Gen polimorfizmlerini araştırdığımız sitokinlerin özellikleri ile sitokinlerin belli başlı gen polimorfizm örnekleri ve sonuçları

**Tablo-6a.** Kondilomata aküminatalı hasta ve kontrol gruplarının sitokin gen polimorfizmlerinin allel sıklığını ve genotipik özelliklerinin karşılaştırılması

**Tablo-6b.** TGF- $\beta$ 1 ve IL-10'un farklı pozisyonlarındaki kombine polimorfizmlerin dağılımları

**Tablo-6c.** Kondilomata aküminatalı olgularda ve sağlıklı kontrollerde sitokin gen polimorfizmi ve ilişkili oldukları fenotipik özellik

**Tablo-6d.** Kondilomata aküminatalı hasta ve kontrol gruplarının MBL2 gen polimorfizmlerinin allel sıklığını ve genotipik özelliklerinin karşılaştırılması

**Tablo-7.** Kümelerde anlamlı değişkenler ve tanımlayıcı istatistik analizi

**Tablo-8.** Literatürde KA olgularında gen polimorfizm sonuçları

## ÖZET

Human papillomavirüsler (HPV), Papillomavirüsler ailesinden zarfsız, çift sarmallı DNA virüsleridir. 100'den fazla farklı tipte sınıflandırılırlar. Anogenital HPV enfeksiyonları (Kondilomata aküminata; KA) son yıllarda giderek artan bir şekilde önemli infeksiyöz ajanlar olarak tanınmaktadır. Kondilomata aküminatalı hastalarda, yardımcı T hücresi 1 (Th1) ve Th2 sitokinleri arasındaki dengenin antiviral immünitelyi düzenlediği düşünülmektedir. Sitokin üretim kapasitesi çeşitli sitokin gen polimorfizmleri ile ilişkili olduğu için sitokinleri kodlayan sitokin genleri konağın HPV enfeksiyonuna yatkınlığında önemli rol oynayabilir. Mannoos bağlayıcı lektin (MBL) fagositozu ve kompleman aktivasyonunu düzenleyen bir serum lektinidir ve doğal immünitenin bir üyesidir. MBL gen polimorfizmleri de MBL üretim miktarı ile ilişkilidir. Mannoos bağlayıcı gen polimorfizmlerinin birçok enfeksiyon hastalığı ile ilişkisi ortaya konmuştur.

Bu çalışmada sitokin ve MBL gen polimorfizmi ile anogenital HPV enfeksiyonları arasındaki ilişki incelenmiştir.

Bu amaçla çalışmaya KA tanısı almış 40 hasta ve 40 sağlıklı gönüllü alındı. Bu hastaların tamamı en az bir tedaviye (elektrokoterizasyon, kriyoterapi, topikal imikimod, kimyasal ablatif yöntemler vb.) cevap vermeyen ve rekürren lezyonlara sahip olan hastalardı. Sitokin gen polimorfizmleri (Th1 sitokinleri; tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interferon gama (IFN- $\gamma$ ), Th2 sitokin; interlökin 6(IL-6), T düzenleyici/baskılayıcı sitokinler IL-10 ve transforming growth factor beta-TGF- $\beta$ ) sekans spesifik primerler kullanarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu- Sekans Spesifik Primer (PCR-SSP) yöntemi ile, MBL gen polimorfizmi ise PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi ile çalışıldı. Aglomeratif hiyerarjik kümeleme analizi yardımıyla olguları iki majör kümeye ayrıldı ve IL-6 ve MBL genotip dağılımlarında anlamlı farklılıklar bulundu. IL-6(-174); G/G görülme oranı hastaların fazla olduğu kümede (küme 1) anlamlı olarak daha fazla iken ( $p<0.001$ ), G/C görülme oranı sağlıklıların fazla olduğu kümede (küme 2) anlamlı olarak daha fazlaydı ( $p=0.046$ ). MBL (kodon 54); AA görülme oranı küme 1'de anlamlı olarak daha fazla iken ( $p<0.001$ ), AB görülme oranı küme 2'de anlamlı olarak daha fazlaydı ( $p<0.001$ ).

Bu çalışmadaki sonuçlar, IL-6 G/G ve MBL AA gen polimorfizmlerinin anogenital HPV enfeksiyonlarının gelişimi ve rekürrensi için bir risk faktörü, IL-6 G/C ve MBL AB polimorfizminin ise koruyucu bir faktör olabileceğini göstermektedir. Türkiye'de anogenital



HPV enfeksiyonlarının insidansı gittikçe artmaktadır. Bu nedenle anogenital HPV enfeksiyonlarının patogenezinde gen polimorfizmlerinin rolü için geniş serili çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** HPV, sitokin gen polimorfizmi, mannoz bağlayıcı lektin gen polimorfizmi

## SUMMARY

### **Determination of Cytokine and Mannose Binding Lectin (MBL) Gene Polymorphisms in Anogenital Human Papillomavirus(HPV) Infections**

Human papillomaviruses (HPV) are naked double stranded DNA viruses belonging to the family of Papillomaviruses. They are classified into more than 100 types. Anogenital HPV infections (Condyloma acuminatum,CA) are being increasingly recognized as important infectious agents. The balance between type Th1 and Th2 cytokines in patients with CA is thought to modulate antiviral immunity. Several genes encoding different cytokines may play crucial roles in host susceptibility to HPV infections, since cytokine production capacity varies among individuals and depends on cytokine gene polymorphisms. Mannose-binding lectin (MBL) is a serum lectin that mediates complement activation and it is a member of innate immune system. MBL genes are also related to the amount of the MBL produced. MBL gene polymorphisms are considered to be associated with several infectious diseases.

In this study, we investigated the association between cytokines and MBL gene polymorphisms with anogenital HPV infections.

Fourty patients with CA and 40 healthy controls were enrolled in this study. These patients had no responded to at least a therapy modality (electrosurgery, cryotherapy, topical imiquimod, chemical ablation methods, etc.) and all patients had recurrent lesions. Polymorphism of cytokine (Th1 cytokines; TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ , Th2 cytokine; IL-6, T regulatory/supressor cytokines; IL-10 and TGF- $\beta$ ) genes studies were performed using sequence-specific primers Polymerase chain reaction (PCR-SSP) method and MBL genotyping were studied by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) method. With the aid of agglomerative hierarchical cluster analysis, we categorized subjects into 2 major cluster, which were found to have significantly different distributions of IL-6 and MBL genotypes. Frequencies of IL-6 (-174) G/G ( $p<0.001$ ) and MBL (codon 54) AA ( $p<0.001$ ) polymorphisms were significantly greater in the cluster 1 (cluster formed by the majority of patients with CA). In contrast, significantly lower frequencies of the IL-6 G/C ( $p=0.046$ ) genotype and MBL (codon 54) AB ( $p<0.001$ ) genotype were observed in cluster 1 compared with cluster 2 (cluster formed by the majority of healthy controls).

These results suggest that the IL-6 G/G and MBL AA gene polymorphisms are potential risk factors, and that the IL-6 G/C and MBL AB polymorphisms are a protective factor, for

occurrence and recurrence of anogenital HPV infections in this study group. The incidence of anogenital HPV infections in Turkey is growing day by day and larger studies are therefore necessary to investigate the role the gene polymorphisms involved in the pathogenesis of anogenital HPV infections.

**Key words:** HPV, cytokine gene polymorphisms, mannose binding lectin gene polymorphisms

## 1. GİRİŞ

Human papillomavirüs (İnsan papilloma virüsler;HPV) deri ve mukoza skuamöz epitellerini enfekte eden (epitelyotropik özellik) 100'den fazla genotipe sahip DNA tümör virüslerinin geniş bir grubudur. Mukokutanöz alanların HPV tiplerinin farklı bir alt grubu tarafından enfekte edilmesi ile benign, premalign ve malign HPV enfeksiyonları ortaya çıkar. Son yıllarda giderek artan bir şekilde önemli enfeksiyöz ajanlar olarak tanınmaktadır. HPV'lere bağlı anogenital enfeksiyon oldukça yaygın olup, en belirgin bulgusu anogenital siğillerdir (*Kondilomata aküminata-KA* olarak da bilinir) ve toplumun %1'ini etkilemektedir. Genital siğiller erkeklerde genellikle penis üzerinde ve anüs çevresinde bulunur. Kadınlarda sık görülen alanlar arasında vulva, vajina girişi, perianal bölge ve serviks gelir. Tüm anogenital HPV enfeksiyonlarının %90'ından fazlası düşük riskli tiplerden kabul edilen HPV-6 ve HPV-11'den kaynaklanır. Yüksek riskli HPV tipleri, özellikle HPV-16 ve HPV-18 ile oluşan inatçı enfeksiyon servikal kanserlerin, vajinal, vulvar, penil, anal ve orofaringeal neoplazilerin bir alt grubunun en önemli sebebidir. Servikal kanserlerin %99'unda ve diğer anogenital kanserlerin yaklaşık %50'sinde onkojenik HPV enfeksiyonları rol oynar. Servikal karsinom dünyada kadınlarda ikinci sıklıkta görülen kanser tipidir. Anogenital HPV lezyonları spontan olarak gerileyebilir veya karsinoma ilerleyebilir. Hücresel immün yetmezliği olan hastalar inatçı HPV enfeksiyonu ve ilerleyici hastalık için yüksek risk taşırlar. Etkin bir antiviral tedavisi yoktur ve tedavilerin çoğu görünen lezyonların ortadan kaldırılmasını veya hücresel immün cevabın indüksiyonunu hedefler (1-4).

Birçok temel mikrobiyal hastalıkta enfeksiyona duyarlılık predominant olarak Th2 sitokinleri ile, patojene karşı direnç ya da eliminasyon Th1 sitokin profili ile ilişkilendirilmektedir(5,6). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda temel viral enfeksiyonlarda interlökin-2 (IL-2) ve interferon gama (IFN- $\gamma$ ) ile IL-4 ve IL-10 sitokinlerinin aynı zamanda eksprese edilerek miks tip immün yanıtı neden olabileceği gösterilmiştir. Th1 ve Th2 hücre subsetleri arasındaki bu dengenin antiviral immün yanıtı düzenlediği düşünülmektedir (7-9). Bununla birlikte *in vivo* olarak viral papillomlar ve KA'nın regresyon ya da persistansında sitokin gen ekspresyonları ile immünolojik olaylar arasındaki ilişki yeterince açıklanamamıştır. Kompleman aktivasyonunda klasik ve alternatif yolların yanı sıra, diğer bir yol olan lektin yolu doğal immün yanıtın önemli bileşenlerindedir. Karaciğerden sentezlenen C-tipi (kalsiyuma bağımlı) serum lektin proteini olan mannoz bağlayıcı lektin (MBL), antikör aktivasyonundan bağımsız olarak

patojen mikroorganizmalara yapışarak kompleman sistemini aktive eden immün sistemin ilk savunma hattıdır (proenflamatuvar etki). MBL eksikliğinin birçok enfeksiyon hastalığına duyarlılıkta artış ile ilişekli olduğu gösterilmiştir (10-12). Son yıllarda sitokin ve MBL proteinlerinin kodlandığı gen bölgelerindeki mutasyonlar ve gen ifadesini düzenleyen bölgedeki nükleotid değişikliklerinin sitokin üretimindeki bireysel farklılıkların nedeni olabileceği ve bu genetik polimorfizmin hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamda sitokinlerin ve MBL salınımını etkilediği gösterilmiştir (13-18). Sitokin ve MBL-2 gen polimorfizmleri ile enfeksiyon hastalıkları arasında hastalığın oluşum aşamasında, seyrinde ve tedaviye yanıtlarında ilişki olduğu bildirilmiştir (10-18). Literatürde HPV enfeksiyonlarına yatkınlık ile sitokin ve MBL-2 gen polimorfizmi arasındaki ilişkide, sadece servikal yüksek onkojenik riskli HPV genotipleri ile servikal enfeksiyon/kanser gelişme açısından çok az çalışma yapıldığı dikkat çekmektedir (19-22). Aynı ilişki düşük onkojenik riskli HPV enfeksiyonlarında ise ele alınmamıştır.

Bu araştırma; çoğu kez tedavisinde zorlanılan ve klinik tablo şiddetinde, tedavi yanıtlarında, tedavi sonrası nükslerinde kişisel farklılıkların görüldüğu rekürren genital HPV enfeksiyonları gelişmesinde Th1 (IFN- $\gamma$ , tümör nekrozis faktör-TNF- $\alpha$ ), Th2 tip sitokin (IL-6), T düzenleyici/baskılayıcı tip sitokinler (IL-10, transforming growth factor-TGF- $\beta$ ) ile MBL gen (MBL-2) polimorfizmi arasındaki ilişkisinin incelenmesi amacı ile yapıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Human papillomavirüsler (HPV)

#### 2.1.1. HPV'nin önemi

HPV enfeksiyonları cinsel yolla bulaşan enfeksiyonların başında gelir. Dünya çapında HPV ile ilişkili hastalıklar çok büyük bir toplumsal sorun teşkil etmektedir. Genital HPV enfeksiyonu Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) en yaygın cinsel yolla bulaşan hastalıktır. Her yıl yaklaşık 6.2 milyon kişinin yeni enfeksiyona yakalandığı tahmin edilmektedir. HPV 6 ve 11 ile enfekte insanların ancak %1'inde klinik lezyonlar görülmesi ve bulaşmanın genellikle klinik lezyonu olmayan insanlardan olması enfeksiyonu kontrol etmenin yanında ek olarak önlemenin de önemini ortaya çıkarmaktadır. Subklinik veya asemptomatik seyrinden dolayı çoğu kişi HPV taşıdıklarını bilmemektedir; bu yüzden virüs kolayca ve bilmeden cinsel temas sırasında bulaşabilmektedir. HPV enfeksiyonları bu sebeple çok yaygındır ve dünyada çok ciddi bir enfeksiyon yüküne yol açmaktadır. Seksüel olarak aktif olan kadınların %50'si iki yıl içinde HPV ile enfekte olurken, bu risk tüm yaşam boyunca % 80'dir. Genital HPV'ler serviks kanserine yol açma riskine göre yüksek ve düşük riskli olarak sınıflandırılmaktadır. Çoğu HPV enfeksiyonu müdahalesiz olarak kaybolursa da onkojenik HPV tipleriyle (tip 16 ve 18) persistan enfeksiyonlar geniş bir kapsamdaki genital malignitelerin riskini artırmaktadır. Dünyada serviks kanserlerinin %64-79'unda bu iki tip bulunmaktadır. HPV, her yıl dünyada 500,000 yeni serviks kanseri olgusu ve 250,000 servikal kansere bağlı ölüme sebep olur. HPV ile enfekte olanların %25'inde servikal intraepitelial neoplazi (CIN) ve <%1'da ise invaziv servikal kanser gelişmektedir. İmmün sistem süpresyonu olanlarda ise tüm bu riskler değişik oranlarda yükselmektedir. Servikal kanser, 2000'li yıllarda kadınlarda rastlanan kanserler arasında meme kanserinden sonra ikinci sırada yer alırken, ABD'de alınan sıkı önlemlerle (tarama) 2003 yılında servikal kanserler bu ülkede 14'üncü sıraya gerilemiştir. Anogenital bölgeyi enfekte eden 40'tan fazla HPV tipiyle enfekte oldukları gösterilmiştir. HPV 6 ve 11 ise anogenital bölgeyi tutan daha benign lezyonların %90'ndan fazlasından sorumludur. Bunlar arasında KA, serviks, vulva, vajen, anal ve penil düşük dereceli yassı hücreli intraepitelial lezyonları (CIN, VIN, VAIN, AIN, PIN), ve laringeal papillomatozise de yol açabilmektedir. Fakat düşük riskli bir HPV tipiyle oluşmuş genital siğili olan bir hasta aynı zamanda yüksek riskli bir HPV tipiyle de enfekte olmuş olabilir, özellikle immün sistemi baskılanmış (HIV enfekte, transplantasyon hastaları) kişilerde bu risk oldukça yüksektir(1-4,23-25).

### 2.1.2 HPV'nin tarihçesi

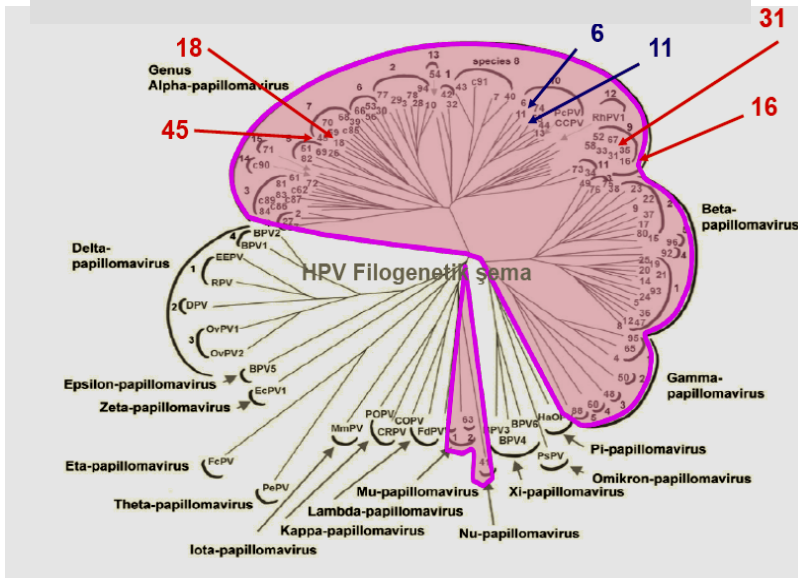
HPV'lerin etken olduğu siğillerin varlığı ve bulaşıcı oldukları Antik Yunan ve Roma'dan beri bilinmekteydi. Ancak 19. yüzyılın başlarına kadar genital siğillerin, sifiliz veya gonoreenin bir formu olduğu düşünülmekteydi. HPV bir konaktan diğerine deneysel olarak geçirilen ilk tümör virüsüdür. İlk olarak Licht, kardeşinden kendisine siğil materyalini inoküle ederek siğilleri geçirmeyi başarmıştır. Ciuffo 1907 yılında, Serra 1924'de siğil materyalinin hüresiz filtratları ile siğillerin oluşturulabileceğini göstermişlerdir. Mandell ve ark.,1995 yılında steril ekstratlar kullanarak gönüllülere siğilleri başarı ile aktarabilmişlerdir. Straus ve ark., Melrick ve ark., 1940-1968 yılları arasında elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarında kutanöz siğiller için viral etyolojiyi doğrulamıştır. Belshe 1991 yılında papillomavirüsleri, polyomavirüslerle birlikte *Papovaviridae* familyasına dahil etmiştir. Kreb, 1989 yılında siğillerin geçisi ile ilgili ilk raporlarda insan siğil virüsünün sadece bir tipinin olduğu, enfeksiyon bölgesinin ve muhtemelen hastanın genetik yapısının kutanöz siğil, mukozal kondiloma ve papillomaların klinik görünümünü tayin ettiği açıklamıştır. Ancak kanser virüslerini hücre kültürlerinde üretilmemesi nedeniyle, 1970'lerde moleküler klonlama tekniklerinin kullanıma girmesine kadar papillomavirüslerle yapılan çalışmalar yavaş ilerlemiştir. 1970'in sonlarında ilk papillomavirüs genomunun bakteride klonlanmasını takiben insan ve hayvan papillomavirüslerinin olağanüstü çoğalabilirlikleri açığa çıkmıştır. Hibridizasyon teknikleri ile genom zinciri temelinde HPV tipleri, mukozal ve kutanöz tipler, yüksek riskli ve düşük riskli genital HPV'ler, *Epidermodisplazia verrusiformis (EV)* ile birliktelik gösteren HPV'ler gibi biyolojik verilerle belirgin bağlantılı olarak filogenetik ağaçlar oluşturularak gruplanabilmiştir. 1976 yılında zur Hausen papillomavirüslerle servikal kanserler arasındaki ilişkiyi ilk kez ileri sürmüş, bundan sonraki moleküler çalışmalar ile '**yüksek riskli**' ve '**düşük riskli**' mukozal HPV tipleri arasındaki biyolojik farkın aydınlatılması onkojenik HPV ile enfeksiyonun servikal kanser lezyonlarının asıl sebebi olduğunu doğrulamıştır. Buna karşılık son yıllarda HPV'nin farklı tiplerinin tanınması ve özellikle bazı HPV tiplerinin benign, premalign ve malign skuamöz lezyonların oluşmasında rolünün belirlenmesi bu virüslere ilgiyi arttırmıştır. Bugün hızla gelişen teknolojilerle de HPV ile ilgili pek çok bilgi gün ışığına çıkmaktadır (1-4,26).

### 2.1.3 HPV'nin sınıflandırmadaki yeri ve taksonomisi

Tarihsel olarak, papillomavirüsler polyomavirüslerle birlikte gruplanmışlardır, ancak son zamanlarda önemli derecede farklı biyolojileri ve genetik organizasyonları onların ayrı

aileler olarak “*Papillomaviridea ailesi*” şeklinde yeniden sınıflanmalarına yol açmıştır (27). *Papillomaviridea ailesi* pek çok canlı türünü enfekte edebilen tüm papillomavirüsleri barındırmaktadır. National Center for Biotechnology Information (NCBI) nukleotid dizi veri tabanı günümüzde 96 farklı HPV tipi listelemiştir ve çok sayıda, tam olarak tanımlanmamış, yeni olduğu kabul edilen 200’den fazla HPV tiplerinin listesini de hazırlamaktadır (26,27).

Papillomavirüsler cins, tür, alt tip ve varyant olarak detaylı bir şekilde sınıflandırılmıştır. HPV’ler alfa, beta, gamma, mü ve nü cinslerine sahiptir. İki tür  $\alpha$  ve  $\beta$  papillomavirüsler; hemen hemen bütün bilinen HPV tiplerini kapsar,  $\alpha$  papillomavirüs türü genital, mukozal ve kutanöz HPV içerir. HPV 16, tür 9’da, HPV 18, tür 7’de, HPV 6 ve 11 ise tür 10’da yer almaktadır (Şekil-1) (27).



Şekil-1. HPV filogenetik şeması (27).

Papillomavirüsler hayvanlarda da insanlardaki kadar yaygın olarak bulunmaktadır. Virüsler yüksek oranda türe özgüdür. Türler arasında çapraz enfeksiyonlar ve bulaşma bildirilmemiştir. HPV’nin bilinen tek konağı insandır. HPV deri veya dokuların iç sınırını döşeyen bazal epitel hücreleri enfekte eden DNA virüsleridir. Buna göre de kutanöz ve mukozal olarak sınıflanırlar. HPV tipleri arasında genetik rekombinasyon yoktur (26,27).

Genital HPV’ler serviks kanserine yol açma riskine göre de sınıflandırılmaktadır (Tablo-1). Farklı coğrafik bölgelerdeki kadınlarda yapılan çalışmalarda farklı HPV tiplerinin görüldüğü saptanmıştır. Bu durum tipe özgü tarama testleri ve aşuların uygulanması açısından bölgesel farklılıklar gözetilmesini gerektirebilir, fakat lezyonlar maligniteye doğru ilerledikçe HPV tipi 16 ve 18’de yoğunlaşmaktadır (1-4,26-28).



Tablo-1. HPV tiplerinin kansere yol açma risklerine göre dağılımları (1-4,26-28).

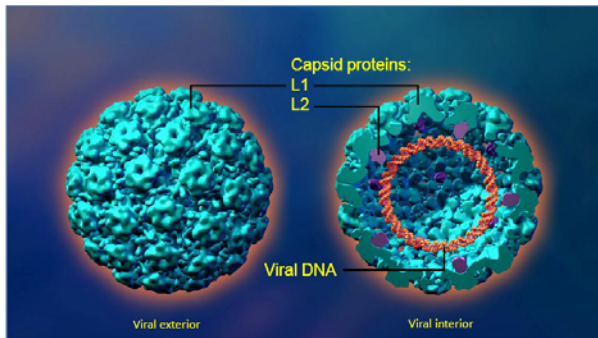
Onkojenite	HPV tipi
<b>Yüksek riskli</b>	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,59,68,73,82 (15 tip)
<b>Olası yüksek risk</b>	26,53,66 (3 tip)
<b>Düşük risk</b>	6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81veCP6108(12 tip)

## 2.1.4. HPV viroloji ve yaşam döngüsü

### 2.1.4.1 HPV viroloji

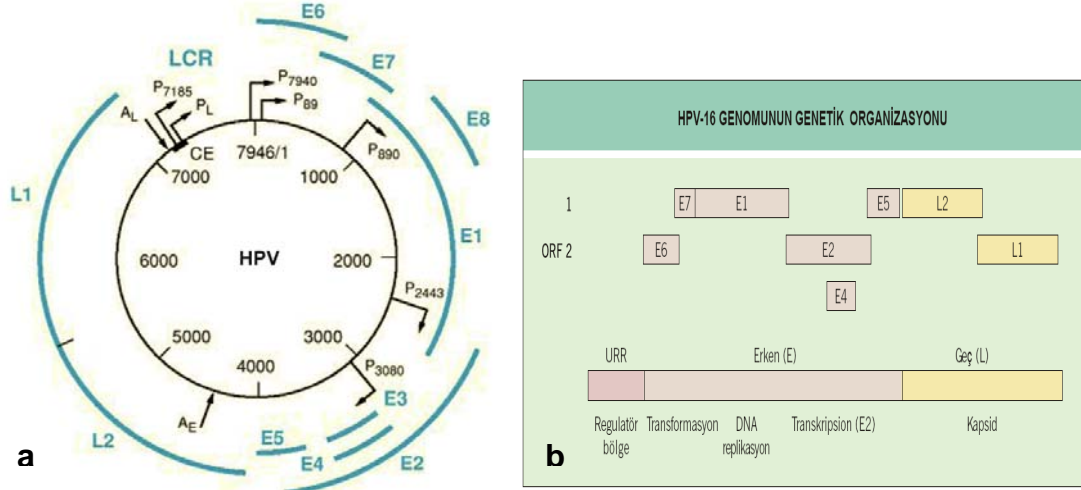
Papillomavirüsler yaklaşık 55 nm çapında, zarfsız, ikozahedral kapsidi olan yaklaşık 7900 bp uzunluğunda sirküler çift sarmallı DNA virüsleridir. Virüs partikülü ısıya dayanıklı olup DNA içeriği 5.2 milyon daltondur. Küresel dış katmanı veya kapsidi protein yapıdadır. Kapsid kodlanmış toplam viriyon proteininin %95'ni oluşturan elektron mikroskopik olarak 12 penton ve 60 hekzon olmak üzere toplam 72 adet kapsomerden oluşan majör yapısal protein L1 ve minör bir yapısal protein olan L2 olmak üzere iki proteinden oluşur. Hücrede viriyon toplanması sırasında L1, kapsomer denilen pentamerlere multimerize olur ve 72 kapsomer, T=7 yüzey kafesi şeklinde düzenlenmiş olan ikozahedral simetrik viral kapsidi oluşturmak üzere multimerize olur. Kapsid viral DNA'yı çevrelediğinden onu bozulmaktan korur, ayrıca virüsün hedef hücrelere etkin şekilde bağlanmasını sağlar (Şekil-2)(29).

Epitelyotropik virüslerdir ve sadece skuamöz hücrelerin nükleusunda çoğalırlar. Kültürü mümkün değildir. Sadece az sayıda HPV tipleri fare ksenogref veya sıçan kültür sistemlerinde başarılı şekilde üretilmiştir ve çok az enfeksiyöz viriyon oluşturulmuştur. Zarfları olmadığından dolayı kuruluğa nispeten dirençli ve stabildir, en fazla bir hafta ekstrasellüler olarak canlılığını koruyabilirler. Organik çözücülere dirençlidir ve 56 C<sup>0</sup>'de enfektivitesinde minör kayıp meydana gelir (1-4, 29-32).



Şekil-2. HPV partikülü, pentavalent ve hekzavalent kapsomerler (29).

HPV'nin genomu küçüktür ve 8 tane gen kodlamaktadır. Yaklaşık 8 kilobaz (kb) uzunluğunda olan HPV genomu üç bölümden oluşur : **1- Yukarı akımı düzenleyici bölge** (upstream regulatory region: URR, ya da **noncoding region** ya da **long control region- LCR**), **2-Erken bölge** ve **3-Geç bölge** (Şekil 3a ve b) (29,30).



Şekil-3a ve 3b. HPV genomu yapısı : E: Erken proteinlerin kodlandığı bölge, E1-E8 erken proteinler, L1-L2: geç kapsid proteinlerinin kodlandığı bölge, L1 ve L2 geç kapsid proteinleri (29,30).

Yaklaşık 1 kb uzunluğundaki **LCR ya da URR**, açık okuma iskeleti içermez (Open Reading Frames; ORFs) replikasyonun kaynağı, transkripsiyon ve replikasyon için gerekli olan pek çok kontrol elemanlarını içerir, esas olarak kodlama yapmayan bölgedir. Yaklaşık 4 kb uzunluğundaki **erken bölge(E)** genleri başlıca papillomavirüslerin yaşam döngüsünün erken döneminde görülür. Bu genlerin ürünleri E3 dışında görevleri tam olarak bilinen 6 adet yapısal olmayan erken proteindir (E1, E2, E4, E5, E6, E7). Erken bölge virüsün erken yaşam döngüsünde önemli olan ve hücrel genomun konak genomuna yeni viral DNA oluşturmak üzere ilişkisini sağlayan proteinlerin transkripsiyonunda rol oynar. Bunlar viral replikasyonu ve onkogenezi içerirler. Bu genler, yüksek hücre içi viral kopya sayısı ve transkripsiyonları normal hücrelerin neoplastik hücrelere dönüşümünü sağlayacak olan iki onkogenik proteinin (E6 ve E7) kodlandığı genlerdir. Bunlar sırasıyla p53 ve retinoblastoma(Rb) geni gibi insan hücrelerinde tümör süpresör genleri tarafından kodlanan proteinleri etkisizleştiren proteinleri kodlar. Yaklaşık 3 kb uzunluğundaki **geç bölge(L)** tam virionu oluşturmak üzere DNA'yı çevreleyen majör ve minör viral kapsid proteinlerinin (L1 ve L2) kodlandığı bölgedir. L1 tarafından kodlanan protein, kapsidde bulunan başlıca proteindir ve papillomavirüsler arasında oldukça korunmuş ve her HPV tipinde benzer olan proteindir. Diğer yandan L2 tarafından kodlanan protein, değişik HPV tipleri arasında çok farklıdır ve HPV tipleri arasındaki antijenite farklılığını ortaya çıkarır.

Geç bölgede transkribe olan tüm proteinler hücre kökenli transkripsiyonel proteinler tarafından düzenlenir ve sadece terminal matürasyon gösteren skuamöz epitelyal hücrelerde üretilir. L1 ve L2 tarafından kodlanan kapsid proteinlerinin miktarı epitelyum terminal matürasyonu ile yüksek oranda korelasyon gösterir. Kondilom gibi iyi diferansiye HPV tarafından oluşturulan lezyonlar L1 ve L2 tarafından kodlanan proteinlerden zenginken yüksek dereceli CIN lezyonları gibi oldukça az diferansiye olan lezyonlarda çok az miktarda kapsid proteinleri bulunur(29-31). Tablo-2’de HPV genomunda bulunan genlerin fonksiyonları özetlenmiştir (1-4,29-31).

Tablo-2. HPV genomundaki genlerin(ORF) fonksiyonları (1-4, 29-31).

**Human papillomavirüs (HPV) genomunda bulunan genlerin(ORF) fonksiyonları**

<b>Viral protein/gen</b>	<b>Moleküler ağırlık</b>	<b>Fonksiyon</b>
<b>Kodlamayan elementler</b>		
Uzun kontrol bölgesi	500-1000bp	HPV gen replikasyon ve regülasyonun orjini
<b>Erken proteinler</b>		
<b>E1</b>	68-85 kD	Helikaz enzimi; gen transkripsiyonu kontrolü ve viral replikasyon için esas; tüm tiplerde aynı
<b>E2</b>	48 kD	Transkripsiyon faktörü; gen transkripsiyon ve viral replikasyon için esas genetik kopyalamayı kontrol eder, E1’in işlevini tamamlar
<b>E3</b>	?	Fonksiyonu bilinmiyor; çok az HPV tipinde var
<b>E4</b>	10-44 kD	Sitoskeletal protein ile etkileşir Virusun olgunlaşmasını, virionların oluşturulmasını ve serbest kalmasını sağlar
<b>E5</b>	14 kD	Zayıf translokasyon aktivitesi var. Büyüme faktör (EGF/PDGF) reseptör sayılarının up-regülasyonunu sağlar Ayrıca MHC Class I proteinlerinin ifadesini azaltarak enfekte ettikleri hücreyi, katil T hücrelerine karşı korudukları düşünülmektedir
<b>E6</b>	16-18 kD	Pek çok hücrel proteinle etkileşim, p53’e bağlanır. En önemli görevi tümör supressör protein olan p53’ü inaktive etmektir. Telomeraz aktivasyonu E7 ile birlikte keratinositlerin immortalizasyonuna neden olur. (Onkoprotein)
<b>E7</b>	10 kD	E6 ile birlikte keratinositlerin İmmortalizasyonuna neden olur. Rb genine bağlanır Rb tümör supressör proteinleri ailesinin üyelerinin inaktivasyonundan sorumludur. E7 aynı zamanda enfekte hücrenin telomerazını aktive ederek hücreye ölümsüzlük kazandırır (Onkoprotein).
<b>E8</b>	20 kD	Represor protein, replikasyonu ve uzun süreli transkripsiyonu sağlar, füzyon proteinidir
<b>Geç proteinler</b>		
<b>L1</b>	57 kD	Majör kapsid proteini,Pentamerik kapsomerlerin kapsid oluşturmak üzere bir araya gelmelerini sağlar
<b>L2</b>	43-53 kD	Minör kapsid proteini,Viral DNA’nın virion içinde paketlenmesinde L1 ile beraber çalışır

EGF: epidermal growth factor, PDGF: platelet derived growth factor

#### 2.1.4.2. HPV yaşam döngüsü

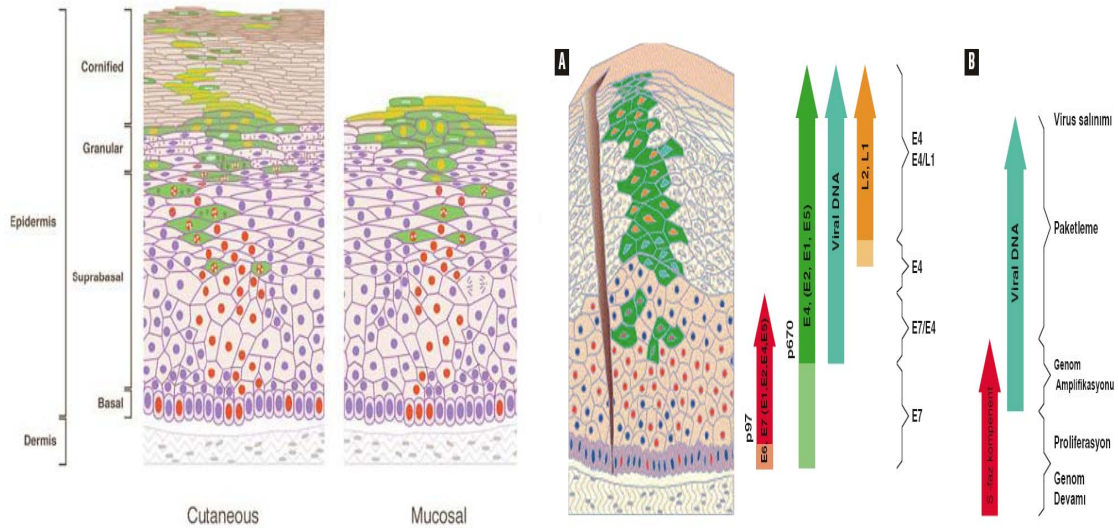
Papillomavirüsler yüksek oranda türe özgüdürler ve doğal konak dokusu dışında prodüktif enfeksiyon gözlenmemiştir. Papillomavirüs yaşam döngüsü, sadece tam olarak farklılaşmış skuamöz epitelde tamamlanır. Bu onun geç gen ekspresyonunun ve viriyon üretiminin olmadığı tek tabakalı doku kültür hücrelerinde çalışılmasını engellemiştir. Mukozal HPV tiplerinin daha iyi karakterize olan yaşam siklusu ile kutanöz HPV tiplerinin yaşam siklusu arasında belirgin farklar bulunabilir. Virüs ilk olarak bazal keratinositleri enfekte eder, fakat yüksek orandaki viral proteinlerin ekspresyonu farklılaşmış epitelyal hücrelerde olur. HPV enfeksiyonları non-sitolitik karakterdedir ve virüsle enfekte hücre doğal süreç sonunda ölür. Sistemik enfeksiyon meydana getirmez ve enfeksiyon kapasitesi epitel tabakasıyla sınırlıdır (1-4, 29-31,33).

Hücre içinde HPV'nin yaşam siklusu iki evreden oluşur; (Şekil-4a ve 4b) (29,30).

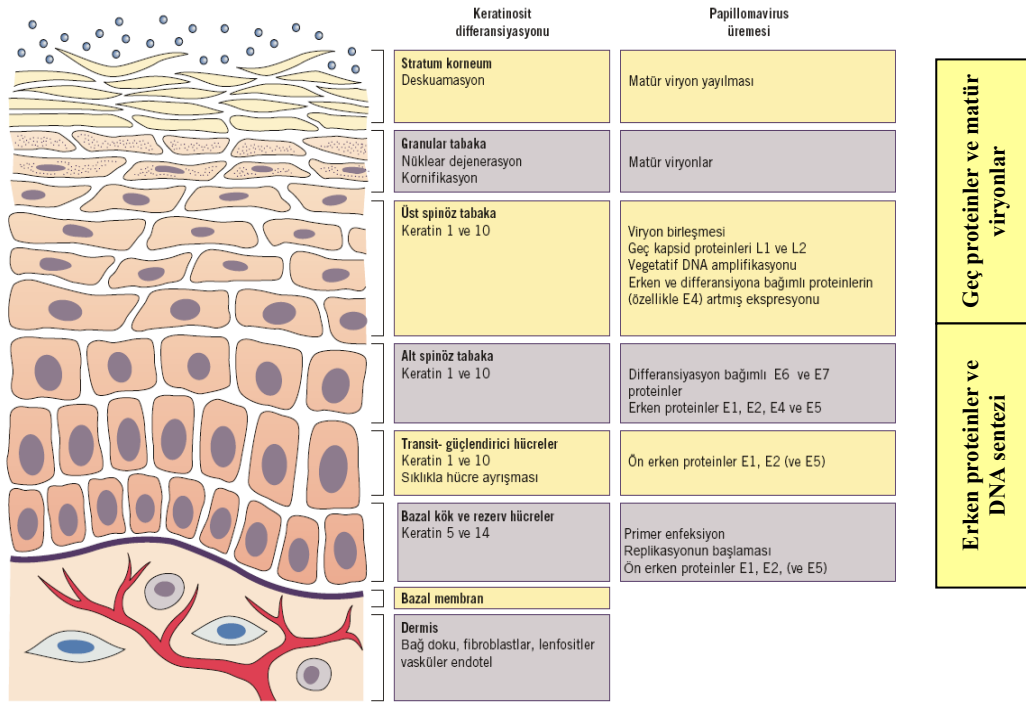
-*Non-produktif enfeksiyon*; henüz çoğalma ve farklılaşma göstermeyen bazal hücrelerde sabit ve düşük oranda çoğalma (<10-50 kopya/hücre başına)

-*Produktif enfeksiyon ya da vejetatif replikasyon*; enfekte bazal hücrenin farklılaşma sürecine girmesiyle hızlı çoğalma (1000 genom/hücre başına). Suprabazal tabakadaki keratinositler yukarı yükseldikçe ve terminal differansiyasyona uğradıkça yeni yapı dolayısıyla viral DNA replikasyonu hızlanır.

Prodüktif enfeksiyon ve hiperproliferasyonun indüksiyonu virüs çoğalan bazal epitel hücrelerine girdiğinde başlar. Enfeksiyon gelişmesi için muhtemelen virüse karşı bazal hücreleri korumasız bırakan bir yıpranma veya epitele uygulanan diğer travmaların olması gerekir. Virüsün epitele bağlanmasına aracılık eden reseptörler tam olarak açıklanmamıştır, fakat bağlanma L1 major kapsid proteinine bağlı gibi görünmektedir ve etkin *in vitro* enfeksiyon için hücre yüzey heparan sülfatı gereklidir (34). Virüs bir kez tutunduğunda, L2 minör kapsid proteini spesifik olarak bir hücre yüzey proteinine bağlanarak ve viral girişi kolaylaştırıp prodüktif enfeksiyonu genişletebilir (34,35). Bundan sonra virus, konak hücrenin DNA replikasyon sistemlerini kendi replikasyonu için kullanmaya başlar. Viral genom nükleusta persiste olur ve hücrelerin mitozu ile diğer yeni hücrelere aktarılır. Enfeksiyon oluştuğunda, kovalent olarak kapanmış sirküler DNA genomu bazal hücrelerin nükleusu içinde düşük kopyalı (<10 kopya) otonom bir replikon olarak gelişir. Enfekte bazal hücreler bölününce bazıları bazal tabakadan uzaklaşırken, bazıları burada kalarak viral DNA için uzun süreli bir rezervuar oluştururlar(Şekil-4b) (29,30).



Şekil-4a. HPV yaşam döngüsü (mukokutanöz epitelde) (29,30).



Şekil-4b. HPV yaşam döngüsü (29,30)

Hücrelerde karakteristik **koilositoz** görülürken, papillomatöz çıkıntılar **kondilom** adı verilen lezyonları meydana getirir. Enfeksiyonun oluşumu sırasında, bazal bölge dışında tüm epidermis tabakalarında aşırı proliferasyon (akantoz) gerçekleşir. Hiperkeratoz yüzeyel bölgenin kalınlaşmasından sorumludur ve koilositler ara bölgede bulunabilir(1-4,29-35). Yüzeydeki keratinositler öldüklerinde, yeni oluşmuş viryonlar salarlar ve yeni enfeksiyon döngüsünü başlatırlar. Dökülen her koilositte 50-100 virion bulunmaktadır (29,30).

Erken genler bazal hücre tabakasında düşük seviyelerde kopyalanır. Enfeksiyonu takiben eksprese edilen ilk genler olan E1 ve E2 genleri viral genlerin transkripsiyonunun ve viral genomun replikasyonunun kontrolünden sorumludur. HSV ve Molluscum contagiosum virus gibi virüslerden farklı olarak HPV viral DNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonu için gerekli enzimleri kodlamaz. Replikasyonun erken dönemlerinde E6 ve E7 parabazal hücrelerce eksprese edilir. HPV proteinleri olan E5, E6 ve E7'nin önemli bir etkisi suprabazal-spinöz tabakası hücrelerinde normalde bloke olmuş olan epidermal hücre siklusunun devam etmesidir ki böylece HPV genom kopya sayısı viriyona bağlanma için vejetatif viral replikasyon sırasında yüksek seviyelere kadar artırılabilir. Yüksek riskli mukozal HPV tiplerinden E6 ve E7 proteinleri viral onkoproteinler olarak rol oynarken, düşük riskli mukozal ve EV tiplerinde benzer proteinlerin böyle bir görevi yoktur (35). Virionların toplanması ve DNA paketlemesinden sorumlu L1 ve L2'nin ekspresyonu ise oldukça geç ve tamamen farklılaşmış olan matür skuamoz epitelyumda olur. Üretimin son basamağı olan enfekte virion oluşumu için enfekte epitelyal hücrelerin terminal farklılaşması gereklidir. Enfekte virüslerin salınımı ise epitelyal hücrelerin döngüsü içindeki son basamak olan deskuamasyon sırasında oluşur. Sonuçta HPV enfeksiyonunun devamı kesinlikle epitelyal hücrelerin farklılaşma sürecine bağlıdır. Enfeksiyonun ilk aşamasında hücre başına 50-100 kopya replikasyonu olurken, enfekte hücrelerin farklılaşmaya başlaması ile hücre başına en az 1000 kopya ile birlikte aşırı E6, E7 ve geç proteinler üretilmeye başlanır. Daha yüzeysel epitel hücreleri de daha yüksek seviyede E1 ve E2 eksprese ederler ve daha yüksek DNA amplifikasyonları vardır, ancak vejetatif DNA amplifikasyonunu harekete geçiren mekanizma bilinmemektedir. Amplifiye olan genomlar L1 ve L2 kapsid proteinleri ile kaplanarak enfeksiyöz viriyonları oluştururlar ve virüs partikülleri sadece immünolojik olarak daha ayrıcalıklı tam olarak farklılaşmış olan epitelin granüler ve daha üst tabakalarında gözlenir(29-35). Virüs birikiminin hücreyi yıkmaktan çok, enfeksiyöz viryonların hücreler yüzeyden dökülürken kornifiye tabaka ile birlikte atıldığı düşünülmektedir (Şekil-4a ve 4b) (29-30).

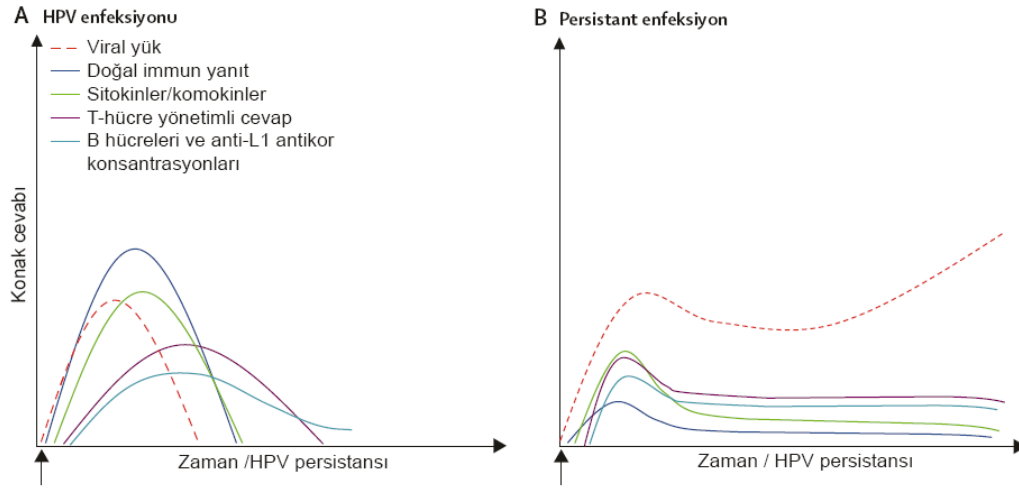
### **2.1.5. HPV ile immün sistem etkileşimi**

Lezyonların ortaya çıkması için gerekli süre ortalama 3 aydır (6 hafta ile 2 yıl arasında değişebilir). Hastaların çoğunda (yaklaşık 2/3'ü) mekanizması açık olmamakla birlikte 6 ay-3 yıl içinde klinik olarak spontan remisyon gerçekleşmektedir. Bununla birlikte aynı sürede, bu hastaların yarısında yeni lezyon çıkışları da gözlenebilmektedir. İmmünsüprese

hastalarda persistan klinik enfeksiyonun sıklığının fazla olması hastalığın immünite ile ilişkisinin önemini göstermektedir (1-4).

HPV'nin tüm viral proteinlerinin potansiyel immünojenik olduğu bilinmektedir. HPV'lerin en immünolojik bölümü major kapsid proteini L1'dir. Patojenik HPV ile meydana gelen enfeksiyon ile oluşan humoral bağışıklık viral kapside karşı oluşur. Kazanılmış bağışıklık yanıtı diğer virüs enfeksiyonlarına göre daha yavaş meydana gelmektedir (36,37). HPV'nin temizlenmesi için hem “Doğal”, hem de “Edinsel” immünite gereklidir (Şekil 5). “Doğal” immün sistem enflamasyon ve kemotaksis ile patojenin tanımlanması için kompleks bir cevap oluşturarak, edinsel immün sisteme bir köprü gibi işlev görür. “Doğal” immün sistemdeki en önemli özellik ise dendritik hücre ve makrofajlarda bulunan patojen ve ilişkili moleküler paternleri tanıyan “Toll-like” reseptörlerin (TLR) olmasıdır(25,36-43). TLR aktivasyonu ile sonuçlanan “doğal” immün sistem mekanizması sitokinler (interferonlar; IFN- $\alpha$  ve - $\beta$ ), enflamasyon başlatıcılar ve kemotaksis ile oluşur. HPV'ye karşı doğal immünite genellikle zayıftır, çünkü HPV non-litiktir ve çok az miktarda antijen serbestleşmesi olmaktadır ve az miktarda lokal sitokin salınımı olmaktadır. Enfeksiyondan kurtulmak için sitotoksik T hücrelerinin ve güçlü bir Th1 yanıtının uyarılması gerekmektedir. Hücresel immün sistemin HPV kontrolündeki yeri, immünesi baskılanmış kişilerdeki HPV enfeksiyonunun persistansının gözlemlerine dayanmaktadır. HPV ve ilişkili hastalıklarda E6 ve E7'ye karşı CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T-hücre cevabının HPV kontrolündeki yeri açıktır. Antijene özgü efektör T hücre yanıtları proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler salgılayarak ve virüs ile enfekte hücreleri öldürecek sitotoksik ve proapoptotik makromoleküller üreterek enfeksiyonu temizler. Son zamanlarda dikkatler çeşitli görevleri olan E2, E4, E5 ve L1/L2 proteinlerine karşı oluşan hücre-bağımlı cevaplar üzerine yoğunlaşmıştır (25,36-39). Hücresel immün yanıtlar klinik hastalıkta lezyonlarda infiltrat görülmesiyle de gözlenmektedir. Anogenital HPV enfeksiyonlarının regresyonu sırasında önemli derecede mononükleer (MN) hücreler ve diğer hücrelerden oluşan infiltratlar gözlenebilir. E2 ve E6'ya karşı CD4'lerin hücresel immün yanıtları siğillerin regresyonunu sağladığı gösterilmiştir (40). Bu bilgiler ışığında CD4<sup>+</sup> yanıtlarının HPV'nin temizlemede önemli bir rolü olduğu aydınlatılmıştır, fakat bunun nasıl olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir. Alt epidermal hücre tabakalarında düşük miktarlarda viriyon kapsid proteini üretilmesine rağmen düşük grade veya asemptomatik genital HPV-16 enfeksiyonları olan kadınların yarısından fazlasında yüksek riskli HPV-16'nın uygun virion epitoplarna L1 kapsid proteinlerine spesifik serum nötralizan antikörleri saptanmıştır (39). Bu antikörlerin aynı tiple otoinokulasyon veya

enfekte bir cinsel partner yoluyla alınan reenfeksiyonu sınırlama konusunda rolleri olup olmadığı bilinmemektedir. HPV ile enfekte olan olguların yarısında serolojik yanıtın olduğu gösterilmiştir (Şekil-5) (40).



Şekil 5. HPV enfeksiyonlarında konak immün cevabı modelleri (40).

Hücre aracılı immün süpresyonu olan hastalarda da siğil prevalansı artmıştır. Aksine, humoral immünitesinde altta yatan bir defekt bulunan hastaların HPV enfeksiyonlarından etkilenmiyor gibi görünmesi hücre aracılı cevapların papillomavirüs enfeksiyonlarının kontrolünde primer olarak sorumlu olduğunu göstermektedir. HPV 16 ve 18'e karşı geliştirilen aşılar viral kapside karşı humoral yanıtların oluşmasını sağlar ve uzun süreli bağışıklık oluşturur. Doğal yollardan gelişen enfeksiyonlarda ise viral kapsidlere karşı gelişen yanıt bu kadar kalıcı veya güçlü olmamaktadır. Daha önce başarılı bir şekilde yok edilmiş bir HPV enfeksiyonundan sonra aynı tip ile tekrar enfeksiyona karşı bağışıklık geliştiği bilinmektedir (24-27).

**Latent HPV enfeksiyonları** klinik veya sitolojik olarak normal görünen epitelde HPV DNA'sının kalıcılığı olarak tanımlanır. Gerçek viral gizliliği düşük DNA replikasyon seviyeleri olan inatçı enfeksiyondan ayırt etmek zordur. HPV'nin latent durumdan aktive duruma geçiş mekanizması bilinmemektedir (26). Sonuçta HPV enfeksiyonlarının çoğu konağı öldürmez veya üreme yeteneğini etkilemez. Konak hücrelerine zarar vermemesi konağın minimal bağışıklık yanıtı oluşturmasını sağlar ve böylece aylar ile yıllarca süren vejetatif enfeksiyonlar meydana gelmektedir (24-27, 30,36-43).

İnatçı papillomavirüs enfeksiyonlarının yaygın olması HPV'lerin immün gözetimden kaçmalarını sağlayan gelişmiş mekanizmalara sahip olduklarını işaret etmektedir (Tablo-3) (40). Papillomavirüslerin yaşam siklusunun bazı özellikleri viral gen ürünlerinin konağın immün sistemiyle sınırlı temasının, HPV'nin immün yanıt indüksiyonunu engellediğini



göstermektedir. Yaşam siklusu sırasında viremik faz yoktur, böylece sistemik immün sistemden uzak durulmuş olur. Kapsid proteinlerinin ekspresyonunu yüzeyel epitelyum hücrelerine sınırlı olması da kapsid proteinlerinin bağışıklık sistemine sunulmasını azaltmaktadır. Ayrıca epidermisin bazal hücre sırasında ve stratum malpigide düşük seviyelerde eksprese edilen viral proteinler muhtemelen sadece Langerhans hücreleri ve infiltre olmuş lenfositlerce tanınırlar. Sadece immünolojik olarak daha ayrıcalıklı tam olarak farklılaşmış tabakalarda viriyon proteinlerinin yaygın bir üretimi ile birlikte enfeksiyöz virüsün sadece epitelin dış yüzeyinden ayrılması söz konusudur (24-26,,40-43).

Tablo-3. HPV enfeksiyonunun konak immün cevabını düzenlemesi (40).

<b>Doğal immün cevap</b>	
Dendritik hücreler	Tolerizasyon
Langerhans hücreleri	Viriyonlar / VLP tarafından aktive edilmezler E kaderin ekspresyonunda azalma ve LC'nin enfekte hücre adherensini ve antijen prezentasyonu kısıtlar
TLR9	Ekspresyonunda azalma( HPV E6 ve E7 ile)
NK hücreleri	NK hücrelerinde azalma, NK hücrelerinin IFN- $\gamma$ sentezini baskılar
<b>Edinsel immün yanıt</b>	
CD4+ T hücresi	HPV 16'ya zayıf yanıt
CD8+ sitotoksik T lenfositler	HPV E6 ve E7'ye karşı zayıf cevap, CD8+ Tc $\downarrow$
Treg	Treg frekansı artar
B hücresi ya da antikorlar	HPV'ye karşı düşük antikor yanıtı
TAP1	HPV E7 tarafından down-regülasyon
Sitokinler	Servikal transformasyon zonunda IL-10 ekspresyonunda artma, IL-1 $\beta$ , IL-15 ve CXL10 azalması, IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4,IL-6, IL-18 ve IL-12 ekspresyonunun modülasyonu IL-12 /IFN - $\gamma$ /TNF nin IL-4 ya da IL-10 oranını değiştirir
Kemokinler	CCL3,CCL5,CCL20 ve CXCL8 azalması ile antijen prezentasyon modülasyonunun bozulması
<b>Epigenetik faktörler</b>	
p16 metilasyon	Antiviral genlerin metilasyonunu artırır
Diğer tümör süpressör genler	DNA metilasyon yoluyla antiviral aktivitenin baskılanması
HPV uzun kontrol bölgesi	Aseptomatik enfeksiyon sırasında metilasyonda artma
Moleküler benzerlik	Hastalık progresyonunda alan spesifik metilasyonda azalma HPV 16 E7 çeşitli insan proteinleri ile yüksek homolojiye sahiptir

CCL3-C-C motif kemokin (önceki adı MIP1 $\alpha$ ), CCL5-C-C motif kemokin 5 (önceki adı RANTES), CCL20-C-C motif kemokin 20 (önceki adı MIP3 $\alpha$ ), CXCL8-C-X-C motif kemokin (önceki adı IL-8), CXL10-C-X motif kemokin 10. TAP1- antijen protein -1 ile ilişkili transporter, TLR9-Toll benzeri reseptör, TNF- tümör nekrozis faktör, VLP-virus benzeri partikül

### **2.1.6. HPV'nin onkojenik potansiyeli**

HPV ilişkili skuamöz hücreli mukokutanöz kanser gelişiminde risk faktörleri arasında ultraviyole, immün yetmezlik, çeşitli genetik bozukluklar, sigara ve oral kontraseptif ilaç sayılabilir. HPV ile ilişkili en önemli kanser serviks kanseridir. HPV ile servikal kanser arasında %99.9 oranında nedensel bir ilişki saptayan zur Hausen 2008 Nobel Tıp Ödülünün sahibi olmuştur. Güncel bir karsinogenez modelinde hem inatçı HPV enfeksiyonu hem de ilave genetik mutasyonların birikmesi gerekmektedir (29). E6 ve E7 yapısal olmayan proteinlerin pleotropik aktiviteleri mevcuttur ve hücre farklılaşmasını geciktirmektedir. Özellikle E6 ve E7 proteinleri, p53 ve Rb tümör supresör genleri p53 ve Rb (hücresinin hücre siklusunun G1 fazında kalmasına veya apoptotik hücre ölümüne yol açarlar) ile kompleks yaparak, hücrenin ölümsüzleşmesine ve kontrolsüz çoğalmasına neden olmaktadır. E6 p53'ü degrade ederken, E7 Rb genini baskılar. Yüksek riskli HPV tiplerinden elde edilen E7 proteinleri, düşük riskli HPV tiplerinden elde edilen E7 proteinlerinden daha yüksek etkinlikle Rb ve Rb ile ilişkili epidermal transkripsiyon faktör (E2F) ile etkileşir ve düşük riskli HPV-16 ve -18 tiplerinden elde edilen E6, yüksek riskli HPV-6 veya -11'den elde edilenden daha etkin şekilde p53'ü baskılar (9,23-29,44,45).

### **2.1.7. Mukokutanöz HPV enfeksiyonları**

Kutanöz ve mukozal HPV tipleri deriyi veya mukozayı enfekte eden iki ayrı gruptan oluşur. Bununla birlikte, kutanöz tiplerinin DNA'sı genital veya oral verrülerde bulunduğu ve nadir olgularda, mukozal tipler deri lezyonlarıyla birliktelik gösterebildiklerinden virüs tropizmi mutlak değildir. Klinik belirtiler HPV tipine, anatomik lokalizasyona ve konağın immün durumuna bağlıdır (Tablo-4) (1-4, 24-29).

## **2.2. Anogenital HPV enfeksiyonları**

### **2.2.1. Epidemiyoloji**

Anogenital HPV enfeksiyonu, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar içerisinde en sık görülenidir. ABD'de cinsel olarak aktif kişilerin %1'inin görünür genital HPV enfeksiyona sahip olduğu ve ek olarak %15'ten fazla kişinin subklinik enfeksiyona sahip olduğu bildirilmektedir. Subklinik veya asemptomatik seyirinden dolayı çoğu kişi HPV taşıdıklarını bilmemekte ve virüs kolayca ve bilmeden cinsel temas sırasında bulaşabilmektedir. HPV enfeksiyonları bu sebeple dünyada çok ciddi bir enfeksiyon yüküne yol açmaktadır. Her iki cinsiyette her iki kişiden biri hayatlarında bir kez genital

HPV enfeksiyonu geçirecektir. 50 yaşına gelindiğinde bu oran kadınlarda %80'i bulmaktadır (1-4). Yalnızca A.B.D.'de her yıl 14-44 yaş grubunda 6.2 milyon yeni enfeksiyon meydana gelmektedir. Genital HPV enfeksiyonunun ekonomik yükü ABD'de her yıl 2.25- 4.6 milyar dolar gibi neredeyse HIV'e yakındır (24-29,46).

Tablo-4. HPV subtipleri ile ilişkili önemli hastalıklar (1-4, 24-29).

<b>Nongenital Kutanöz hastalık</b>	<b>HPV Tipi</b>
Verruka vulgaris	1, 2, 4, 26, 27, 29, 41, 57, 65
Plantar verruka (myrmecias)	1, 2, 4, 63
Verruka plana	3, 10, 27, 28, 38, 41, 49
Kasap siğili	1, 2, 3, 4, 7, 10, 28
Mozaik verruka	2, 27, 57
Ungual skuamöz hücreli karsinoma	16
Epidermodizplazia verrusiformis (benign)	2, 3, 10, 12, 15, 19, 36, 46, 47, 50
Epidermodizplazia verrusiformis (malign ya da benign)	5, 8, 9, 10, 14, 17, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 37, 38
<b>Nongenital Mukozal hastalık</b>	<b>HPV Tipi</b>
Respiratuvar papillomatozis	6, 11
Akciğerin skuamöz hücreli karsinoma	6, 11, 16, 18
Laringeal papilloma	6, 11, 30
Laringeal karsinoma	16, 18
Maksillar sinüs papilloması	57
Sinüslerin skuamöz hücreli karsinoması	16, 18
Konjunktival papillomalar / karsinomalar	6, 11/ 16
Oral fokal epitelial hiperplazi (Heck hast.)	13, 32
Oral karsinoma ve oral lökoplaki	16, 18
Özefagusun skuamöz hücreli karsinoması	16, 18
<b>Anogenital Hastalıklar</b>	<b>HPV Tipi</b>
Kondilomata akuminata	6, 11, 30, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 54
Bowenoid papulozis /Bowen hastalığı	16, 18, 34, 39, 42, 45/ 16, 18, 31, 34
Dev kondilomata (Buschke-Löwenstein tümörü)	6, 11
Katogorize edilememiş intraepitelial neoplazi	30, 34, 39, 40, 53, 57, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69
Düşük dereceli intraepitelial neoplazi	6, 11, 43
Orta dereceli intraepitelial neoplazi	31, 33, 35, 42, 44, 45, 51, 52
Yüksek dereceli intraepitelial neoplazi	16, 18, 56, 58
Vulval karsinoma	6, 11, 16, 18
Vajinal karsinoma	16
Servikal karsinoma	16, 18, 31
Anal karsinoma	16, 31, 32, 33
Penisin in situ karsinoması(Queyrat eritroplazisi)	16
Penis karsinomu	16, 18

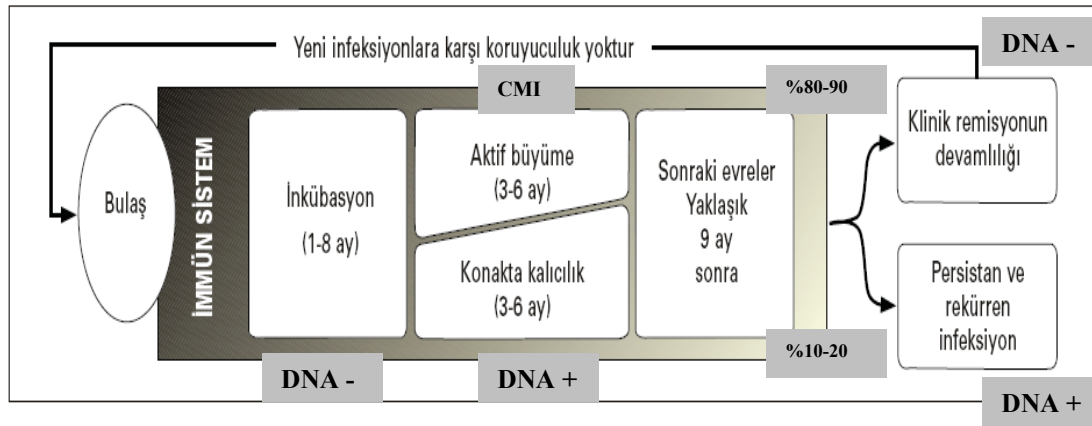
HPV neredeyse tamamen cinsel temas sonucu bulaşmakla beraber mutlaka vajinal, anal vs. penetrasyon şart değildir. Genital HPV tipleri genital bölge dışında da yerleşip hastalık yapabilir. Örneğin HPV-16 periungual bölge verrukalarında da bulunabilir ve nonseksüel geçişte rol oynayabilir. Bulaşmış materyallerden (Fomit) geçiş olabileceği öne sürülmüş, ancak ispatlanamamıştır. Vertikal geçişle düşük bir oranda HPV-6 ve 11 ile vokal kordlarda laringeal papillomatozis oluşabilmektedir (1-4, 24-29,46).

### **2.2.2. HPV enfeksiyonu doğal seyri**

HPV temas sırasında epitelde meydana gelen mikroabrazyonlardan bazal keratinositlere ulaşır. Başlangıçta HPV DNA'sı yalnızca bazal epitel tabakasında latent dönemde kalır. Latent fazda her yeni oluşan bazal hücre enfektedir. Ancak, bu dönemde hastalığın sitolojik, kolposkopik ya da morfolojik hiçbir bulgusu yoktur, yalnızca ultrasensitif PCR teknikleri ile HPV DNA'sı gösterilebilir. Bazal hücreler farklılaştıkça HPV genomu E1 ve E2 proteinleri aracılığı ile çoğalır. Belli bir inkübasyon döneminden sonra ( %70'i ilk 3-4 ay içinde olmasına karşın, 6 hafta-2yıl arasında değişebilir) konak hücresinin DNA'sını kullanarak L1 ve L2 proteinleri, DNA, kapsidler ve partiküllerini sentezler ve viral yapılanma sağlanır. E6 ve E7'nin etkisiyle enfekte hücreler enfekte olmayanlara göre daha fazla çoğalır. Hücrelerde karakteristik koilositoz görülürken, papillomatöz çıkıntılar kondilom adı verilen lezyonlar meydana getirir. Kondilom lezyonlarında daha çok HPV 6 ve HPV 11 tespit edilir. Yüksek onkojenik potansiyelli HPV tipleriyle enfekte hücreler differansiye olamaz ve viral siklusun tamamlanabilmesi mümkün olamaz. Bu safhada yüksek dereceli displazi ve invaziv kansere kadar ilerleyen neoplastik değişimler görülür (1-4, 24-30, 43-46).

Genel olarak çoğu genital HPV enfeksiyonunun immünkompetan vücut savunmasında öncelikle hücresel ve humoral yanıt tarafından spontan olarak kısa sürede temizlendiği kabul edilmektedir. HPV'ye karşı doğal immünite genellikle zayıftır, çünkü HPV non-litiktir ve çok az miktarda antijen serbestleşmesi olmaktadır ve az miktarda lokal sitokin salınım olmaktadır (1-4). Enfeksiyondan kurtulmak için sitotoksik T hücrelerinin ve güçlü bir Th1 yanıtının uyarılması gerekmektedir. Yeni enfeksiyonların %70'i 1 yıl içinde, %90'ı ise 2 yıl içerisinde geçer, fakat yeni bir tip bulaşabilir. Yüksek riskli tiplerin daha düşük risklilere göre daha kalıcı olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni daha önce de anlatıldığı gibi virüsün immün saldırıyı azaltıp kendisi için avantaj oluşturma yöntemleri arasında nonlitik virüs olması ve vireminin olmaması nedeniyle düşük seviyede lokal enflamasyona yol açması, önemli sitokinlerin viral gen ekspresyonu ile azaltılması ve immün yanıtı Th1'den

ziyade Th2 yönüne itmesi vardır. Ayrıca yüksek derecede onkojenik riskli HPV tiplerinde eksprese edilen HPV E6 ve E7 proteinleri doğuştan ve edinsel bağışıklıktan kaçınmayı sağlayan ana etkenlerdir. Enfeksiyonun kalıcılığı malignite gelişmesi açısından en önemli risk faktörüdür. Çoğu olguda HPV enfeksiyonu kendiliğinden gerilese de nadiren enfeksiyon kalıcı hale dönebilir, persistan rekürren enfeksiyon görülebilir (Şekil 6) (24-30, 43-46). Kalıcı enfeksiyon 12 ay arayla alınan iki örnekte aynı HPV tipinin saptanması şeklinde tanımlanmaktadır. HPV-16 en kalıcı enfeksiyona yol açmaktadır. HPV enfeksiyonunun neden bazı kişilerde spontan iyileşip bazılarında daha şiddetli ya da rekürren seyrettiği bilinmemektedir. İmmünitesi bozuk konaklarda aynı tip HPV ile nöksler görülürken, sağlam konaklarda ancak başka HPV tipleriyle başka partnerlerle ilişkiye bağlı olarak enfeksiyon ve lezyonlar görülmektedir (1-4,23-30, 44-46).



Şekil-6. Human papillomavirüs enfeksiyonunun doğal seyri. Yüksek riskli HPV'ler 12-18 ayda, düşük riskli HPV'ler 4-9 ayda temizlenir. CMI; hücresel yönetimli immün sistem (24-30, 43-46).

### 2.2.3. Anogenital HPV enfeksiyonlarında risk faktörleri

Anogenital HPV enfeksiyonlarında risk faktörleri arasında, ilk cinsel ilişkinin başlama yaşı, yaşam boyu cinsel partner sayısı ve partnerin şimdiki ve geçmişteki partner sayısı, ilk cinsel aktivite ile yeni seksüel partner arasında kısa süreli interval, sünnetsiz olma, yüksek parite (>5), diğer cinsel ilişki ile bulaşan hastalık koinsidansı, immünsüpresyon (HIV enfeksiyonu, renal transplant), korunmasız ilişki(kondomun riski %100 azalttığına dair epidemiyolojik kanıt yok) ve potansiyel risk faktörleri (oral kontraseptif kullanımı, sigara) sayılabilir (1-4, 24-28);

### 2.2.4. Anogenital HPV enfeksiyonlarında klinik özellikler

Kondilomatöz lezyonlar klinik olarak 4 ayrı tablo halindedir (1-4,26,29):

### 1- *Kondilomata aküminata(KA)*

Tüm klinik olguların 2/3'ünü kondilomata aküminata oluşturmakta ve temastan 3 ay sonra kendini göstermektedir. Genellikle sünnet derisi, anüs ve vulva gibi nemli bölgelere yerleşir (Şekil-7a). Klinik muayenede tek veya çok sayıda papül, filiform veya plak şeklinde görülebilir. Lezyon rengi deri renginden, eritemli veya hiperpigmentasyona kadar değişebilir. Hastalarda diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklara ait ülserasyon, adenopati, vezikül ve akıntı gibi özellikler de değerlendirilmelidir ve bu hastalarda rutin olarak HIV, HBV ve HCV bakılmalıdır

### 2-*Kondilomata plana*

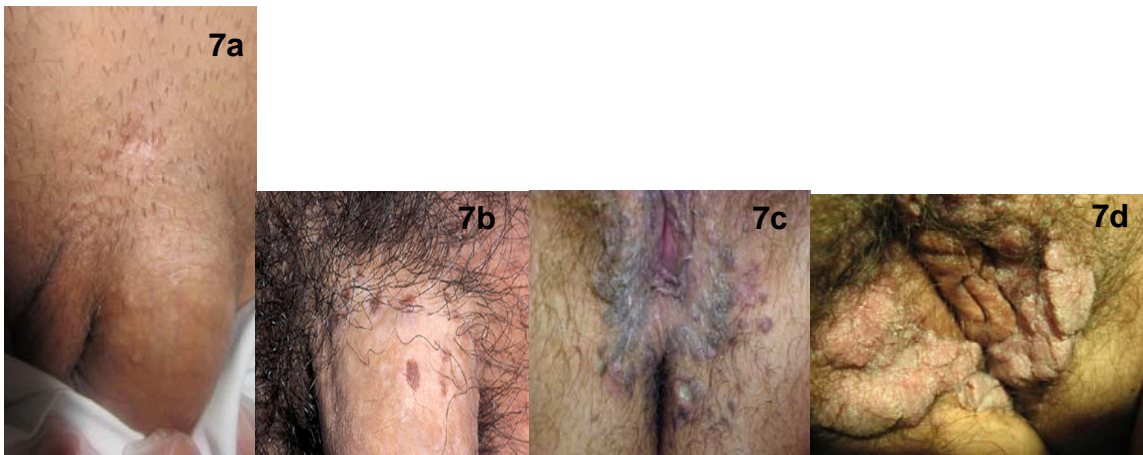
Erkeklerde en sık penis gövdesinin lateral bölgelerini ve koronal sulkusu etkiler. Penis gövdesindeki lezyonlar tipik olarak küçük, düz siğiller şeklindedir (Şekil-7b).Kadınlarda vulvovajinal ve servikal bölge tutulumu saptanır.

### 3- *Bowenoid papüloz*

Daha nadir görülen bir genital belirtisidir. Klasik lezyonları dış genitalde yer alan kırmızımsı veya hiperpigmente, 2-3 mm'lik iyi sınırlı papüllerdir (Şekil-7c). Bowenoid papülozun yüksek riskli HPV 16 tarafından oluşturulmasına karşın benign davranış göstermesi kendine has bir durumdur. İnvaziv gelişim çok nadir de olsa bildirilmiştir ve bu yüzden etkili tedavi ve ömür boyu yakından takip gerekmektedir.

### 4- *Buschke-Löwenstein tümörü*

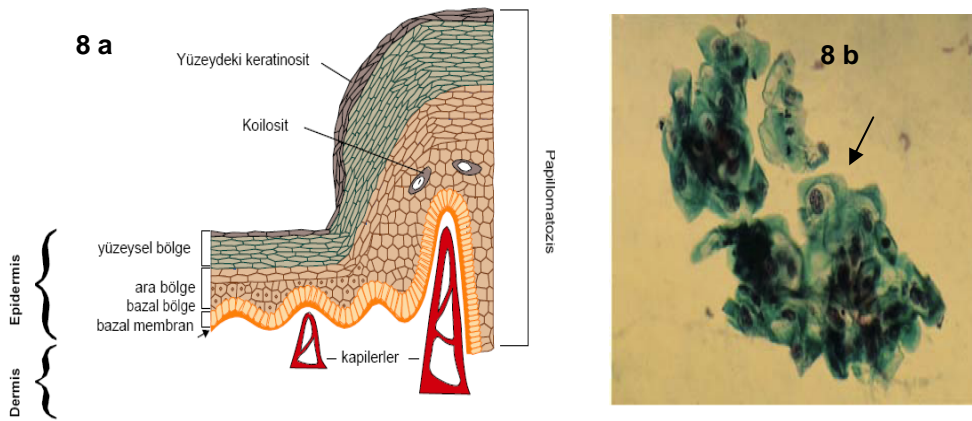
Genital bölgede görülen bu tümör klinik olarak dev ve yaygın siğiller şeklinde görülür (Şekil-7d). Bu lezyonlarda klinik olarak benign, malign ve karsinomatoz ayırımı yapmak zordur. HPV 6, 11 ile bağlantılı olup çevresine yayılma eğilimi ve bazen de invaziv karsinoma ilerlemesi sınırda bir malignite olarak değerlendirilmektedir.



Şekil-7. Klinik resimler (Klinik arşivimizden); a. Kondilomata akuminata, b.Kondilomata plana, c.Bowenoid papulozis, d.Buschke-Löwenstein tümörü

### 2.2.5. Patoloji

Genital siğillerde papillomatöz, hiperkeratoz ve rete çıkıntılarının ileri derecede uzamasıyla giden belirgin akantoz görülür. En tipik ve tanı için önemli özelliği HPV'nin epitelial hücreler üzerindeki etkisi ile oluşan belirgin vakuolizasyonu olan koilosit denilen hücre topluluklarıdır. Bu hücreler nisbeten büyüktür ve hiperkromatik yuvarlak küçülmüş nükleuslara sahip perinükleer açıklığı olan hücrelerdir. Kondilom tanısı koymak için bu hücrelerin stratum spinosuma doğru uzanmaları gerekmektedir. Kapillerler kalınlaşmış, artmıştır ve dermal lenfositik infiltrasyon da görülebilir (Şekil-8a ve 8b) (1-4,26,30).



Şekil-8 a. HPV enfeksiyonunda histopatolojik değişiklikler, b.Koilosit hücresi (1-4,26,30).

### 2.2.6. Tanı yöntemleri

HPV enfeksiyonlarında tanı genellikle klinik bulgular ile konur. Şüpheli lezyonların tanısında ise aşağıda açıklanan tanı yöntemleri kullanılabilir (1-4,26,30);

**1.Asetik asitle beyazlaşma:** Epitelial yüzeylerdeki subklinik HPV enfeksiyonlarını ortaya çıkartan pratik ve duyarlı bir testtir. % 5 oranındaki asetik asit solüsyonu sürüldükten dakikalar sonra mukoza üzerinde beyaz yamalar görülecektir.

**2.Sitoloji (Papanicolau smear):** HPV ve oluşturduğu neoplazmalara ait koilositoz, multinükleasyon, diskeratoz, atipi gibi bulgular görülebilir.

**3.Kolposkopi, Anoskopi, Üreteroskopi:** Anogenital ve üretra yerleşimli HPV enfeksiyonlarının tanı ve taramasında kullanılan endoskopik testlerdir .

**4.Histopatoloji :** Biyopsi rutin olarak yapılmamakla birlikte tedaviye yanıtız olgularda ve neoplazi şüphesinde yapılabilir.

**5.Elektron mikroskopi:** Bu yöntemle enfekte keratinositler içindeki virionlar, nükleus içinde dizilmiş 55 nanometre çaplı kristalize partiküller şeklinde saptanabilir.

**6. Moleküler tanı yöntemleri (HPV Grup ve Tip Tayini; immünohistokimya veya immünositokimya çalışmaları):** Günümüzde rutinde genotip tayini HPV tiplendirilmesi için kullanılmaktadır. Moleküler tanı yöntemleri , Southern blot, Dot blot, Northern blot, FISH (Filter *in-situ* hibridizasyon), Hybrid capture ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR). Bunlar arasında duyarlılığı en fazla olan PCR ve en pratik yöntem olan Southern blot için HPV tiplere özel kitler geliştirilmiştir.

7. Viral kapsid proteinlerine karşı tespit edilen antikor yanıtının güvenilir olmaması nedeniyle **serolojinin** rutin tanıda yeri yoktur. HPV'nin çoğu **kültür** ortamında üretilmemesi viral kültürün kullanılmasını engellemektedir.

### 2.2.7. Ayırıcı tanı

Kondiloma lata ile ayırım klinik olarak kolaydır. Lezyonlar genellikle geniş, düz tabanlı, nemli ve maseredir. Pemfigus vejetans masere KA lezyonları ile karışabilir. Hiperpigmente lezyonlar seboreik keratoz ile karışabilir. Vulvar neoplaziden yalnızca bakarak ayırt etmek her zaman mümkün olmayabilir. Genelde hiperpigmente, endüre, fikse veya ülseratif lezyonlar veya tedaviye iyi yanıt vermeyen veya tedaviyle kötüleşen lezyonlardan biyopsi yapılmalıdır. Genital siğili olan kadınlara rutin olarak servikal kanser taraması yapılmalıdır. Ayrıca “asetobeyazlaşma testi” de yapılabilir. HPV tip tayini için de testler yapılabilir (1-4,26,29,30).

### 2.2.8. Tedavi ve HPV aşılı

Anogenital HPV enfeksiyonlarında uygulanan çok değişik tedavi yöntemleri bulunmakla beraber, %100 etkili bir yöntem henüz geliştirilememiştir. Kimyasal ablasyona dayalı yöntemler, lokal kemoterapi yöntemleri, fiziksel ablasyon yöntemleri, immünoterapi yöntemleri ve cerrahi yöntemler gibi tedavi modaliteleri vardır (1-4,26-30). Genel yanıt oranları %30-80 arasında değişir ve üç aylık dönemde hastaların yaklaşık %25-75'inde nüks görülür. Anogenital siğillerin tedavi ile regresyon göstermesi virüsün tam olarak temizlendiği anlamına gelmez. Görünür hastalığın kaybolmasının ardından aylarca normal görünümlü epitelde virüs latent olarak tespit edilebildiği bilinmektedir. Kondilomatöz lezyonların 2-5 cm'lik çevresindeki klinik olarak tutulmamış deride HPV-DNA'ları saptanmıştır. Bu durum tedavi sonrası yüksek yinelenme durumunun en önemli nedeni olarak yorumlanmaktadır. Subklinik lezyonların bulaşıcılığı hakkında bazı kanıtlar olmakla birlikte latent hastalığın bulaşıcılığı hakkında sadece spekülasyonlar vardır (26-30). L1 major kapsid proteininin kendi kendine virüs benzeri parçacıklar haline gelebilmesinin



gösterilmesi HPV aşılarının gelişimini sağlamıştır. Aşılar yalnızca profilakside yararlıdır ve yalnızca içerdikleri tipe karşı korumaktadırlar. Bivalan aşı HPV 16 ve 18'e karşı korurken, kuadrivalan aşı bunlara ek olarak 6 ve 11'e karşı da korumaktadır. Her iki aşı Food Drug Administration (FDA) ve Avrupa Birliği onayına sahiptir. En az 5 yıl etkinliğini sürdürürler. Aşının 9-26 yaş grubu arasında yapılmasının amacı cinsel hayatın başlangıcından önceki döneme denk getirmektir. Aşı intramüsküler olarak 0, 2 ve 6. aylarda yapılmaktadır. Aşının önemli bir özelliği de, içermediği diğer HPV tiplerine karşı bir derece çapraz koruyuculuk sağlamasıdır. Aşılama sırasında enfekte olanlarda aşıların terapötik fayda sağladığı henüz gösterilmemiştir. (1-4, 26,29,30).

## **2.3 Sitokinler ve sitokin gen polimorfizmi**

### **2.3.1. Sitokinler**

Sitokinler adaptif ve doğal immün sistem hücreleri tarafından salgılanan ve hücre-hücre, hücre-nükleus arası etkileşimi sağlayan sinyal molekülleridir. Mikroorganizma ve diğer antijenlere karşı gelişen immün cevabın aktivasyon fazında lenfositlerin çoğalma ve farklılaşmasını; efektör fazı ile bu maddelerin elimine edilmesi için efektör hücreleri stimüle ederek proenflamatuvar ve/veya antienflamatuvar immün yanıt oluşmasında temel rol oynamaktadır. Molekül ağırlıkları 6-60 kD arasında değişen sitokinler, polipeptid/glikoprotein yapıya sahiptir. Aktif T lenfositleri tarafından sentezlenip salınan sitokinler lenfokin, aktif monosit ve makrofajlardan salınan sitokinler monokin, lökositler arasında etkileşim yapan sitokinler ise interlökin adı altında toplanmıştır (47-49).

Sitokinler, çeşitli hücreler tarafından sentezlenir ve birçok hücre üzerinde etkilerini gösterirler(pleiotropizm). Sitokinler, diğer sitokinlerin sentezini de etkiler. Yani bir sitokin diğer sitokinlerin üretimini arttırıcı ya da baskılayıcı yönde etki edebilir. Bu etki, otokrin, parakrin ya da endokrin bir etki olarak kendini gösterir. Sitokinlere hedef hücrenin yanıtı gen ekspresyonunun değişimi şeklindedir. Gen ekspresyonundaki bu değişiklik yeni fonksiyonların oluşmasına, bazen de hücrenin çoğalmasına neden olur (48,49).

Sitokinler fonksiyonel olarak başlıca üç grupta sınıflanabilir (47-49);

*Doğal(Innate) immüntenin düzenlenmesi:* Enfeksiyöz ajanlara karşı genellikle mononükleer hücreler tarafından sentezlenirler. Doğal immünitede rol alan sitokinler; TNF, IL-1, IL-12, IFN- $\alpha$  ve IFN- $\beta$ , kemokinler, IL-10,IL-6, IL-15, ve IL-8'dir.

*Spesifik(adaptif) immünite sitokinleri:* Yabancı antijenlerin spesifik tanımlanmasını takiben genelde T lenfositleri tarafından sentezlenir. T hücreleri ile ilişkili bazı sitokinlerin sentezlenip salınması sonucu lenfosit popülasyonu farklılaşır ve çeşitlilik kazanır. Böylece

T hücrelerine bağlı immün cevabın aktivasyonu giderek güçlenir. Adaptif immünitede rol alan sitokinler; IL-2, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , lenfotoksin ve IL-13'tür.

*Hematopoez uyarıcı sitokinler:* Stroma hücreleri, lökositler ve diğer hücrelerden salınıp immatür lökositlerin uyarılması ve farklılaşmasında rol oynarlar. Hematopoitik sitokinler; stem cell faktör (c-kit) , IL-7, IL-3, GM-CSF, M-CSF ve G-CSF'dir

Th hücrelerinin çeşitli alt grupları bilinmektedir. Th1 hücrelerinden salınan pro-enflamatuvar sitokinler IL-2, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ 'dır. Th-2 hücrelerinden salınan IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 ise anti-enflamatuvar sitokin profilini oluşturur. Yeni olarak tanımlanan Th3 alt grubunun karakteristik sitokini, çok yönlü etkisi olan T düzenleyici/baskılayıcı tip sitokin TGF- $\beta$ 'dir . TGF- $\beta$ 'nin immün sistemde en belirgin etkisi, lenfositlerin ve diğer lökositlerin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe etmektir. İnsanlarda Th1, Th2 ve T düzenleyici/baskılayıcı tipi sitokinlerin fonksiyonları arasındaki ayırım net olarak yapılamamıştır (47-55).

### 2.3.2. Sitokin gen polimorfizmi

Th1(proenflamatuvar), Th2 (antienflamatuvar) ve T düzenleyici/ baskılayıcı hücreler tarafından üretilen sitokinler pek çok enfeksiyon, otoimmün ve malign hastalıkların etiyopatogenezinde rol oynamaktadır. Hücrelerin bazal ve uyarılmış sitokin düzeyleri bireysel farklılıklar göstermekte olup, bu farklılık genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Burada esas nokta sitokin gen ekspresyonlarının regülasyonu olup; konu ile ilgili çalışmalarda sitokin genlerindeki polimorfizmin, m-RNA ekspresyonu ile buna bağlı olarak protein sentezini etkilediğini böylece immün yanıtın etkilendiğini göstermektedir. İnsan hastalıklarında rasyonel sitokin gen polimorfizm çalışmaları ana başlıklar halinde şöyle özetlenebilir (47,50);

- Hastalıkların patolojisi ve etiyolojisinin anlaşılması
- Hastalığın ortaya çıkışı ve şiddetinin tanımlanması
- Tedaviye yanıt ya da yanıtızlıktaki etkileri
- Tedavi hedeflerin ve hastalığın önlenmesi için yeni stratejilerin belirlenmesi.

Sitokin gen polimorfizmleri ile insanlarda hastalık gelişimini içeren çalışmalar *in vitro* ve *in vivo* gen ekspresyon çalışmaları ile ortaya konmaktadır (47).

Gen polimorfizmlerini araştırdığımız sitokinleri belli başlı fonksiyonları ve gen polimorfizmlerinin sonuçları Tablo-5'de gösterilmiştir (47-55).

Tablo-5. Gen polimorfizmlerini araştırdığımız sitokinlerin özellikleri ile sitokinlerin belli başlı gen polimorfizm örnekleri ve sonuçları (47-55)

Sitokin	Gen sayısı	Polipeptid büyüklüğü	Hücresel kaynak	Hedef hücre	Hedef hücredeki primer etki	Sitokin Gen polimorfizmi
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	20	18kD (monomer)	Mononükleer fagositler, T lenfositler, NK hücreleri	T ve B hücresi	Hücreyel immüneyi aktive eder. Apoptozisin inhibisyonu, IL-2 yapımının artması, anti-anjiojenik etki, ICAM-1, B7,MHC-1 ve II, CD40, Fas indüksiyonu, hücre yüzey antijenlerinin baskılanması	Geni 12q24.1'de lokalizedir. IFN- $\gamma$ +874 T>A promoter bölge polimorfizmi hastalıklarla ilişkisi en çok araştırılan gen bölgesidir Homozigot TT aleli yüksek sitokin düzeyine neden olurken, homozigot AA aleli düşük miktarlarda sitokin üretimine neden olur.
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	1	17 kD (heterodimer)	Mononükleer Fagositler, T hücresi, B lenfositler, somatik hücreler	Nötrofil, endotel hücresi, genel	Enflamasyonda anahtar rol oynayan pro-inflamatuvar sitokindir. Enflamatuvar, immün yanıtı artırıcı ve apoptozisi indükleyici, stromal hücrelerden sitokin üretimi, anti-anjiojenik etki, CTL etkisinin artırılması ve ko-stimulasyonu, MHC-I ve II, ICAM-1, fas, IL-6 IL-8 indüksiyonu, nötrofil aktivasyonu	Üretimi 6p21.3 kromozomu tarafından kontrol edilir. TNF- $\alpha$ 308 G>A en sık görülen promoter bölge polimorfizmdir. Homozigot GG aleli yüksek sitokin düzeyine neden olurken, homozigot AA aleli düşük sitokin düzeyine neden olur.
<b>IL-6</b>	1	26 kD (homodimer)	Fibroblastlar, T hücreleri, makrofajlar, polimorf nüveli lökositler somatik hücreler, endotel hücreleri, mesane epiteli	B hücreleri, timosit	Ko-stimulasyon, T hücrelerinden IL-2 reseptör sayısının artması, tümör hücresi büyümesinin inhibisyonu veya stimulasyonu, IL-1, IL-8, TNF indüksiyonu, akut faz reaktanı ( akut ve kronik enflamasyonda hastalık progresyonunda önemli)	En sık promoter bölge polimorfizmi IL-6-174 G>C görülmektedir. Homozigot CC aleli düşük IL-6 üretimine neden olurken, homozigot GG aleli yüksek IL-6 üretimine neden olur
<b>IL-10</b>	1	18kD (homodimer)	T ve B hücreleri, monositler, makrofajlar, PNL	T ve B hücreleri,monositler, makrofajlar	Proenflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eden immünmodülatör sitokindir. Th2'ye farklılaşma, TNF, ICAM-1, B7 ve MHC indüksiyonunun baskılanması, Mast hücre/ B hücre proliferasyonu ve antikör üretimi, monosit/Th hücreleri tarafından üretilen sitokinlerin baskılanması	IL-10 üretimi 1q31-32 kromozomu tarafından kontrol edilir ve IL-10 geninin promoter bölgesinde çeşitli polimorfik bölgeler tanımlanmış olsada IL-10 1082 G>A en sık görülen polimorfik bölgedir ve homozigot GG alleli yüksek IL-10 üretimine yol açmaktadır.
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	çok	14 kD (homodimer)	T hücreleri, mononükleer fagositler	T hücresi, mononükleer fagositler	İmmünsüpresif etkili bir sitokindir. T hücrelerinde proliferasyonun inhibisyonu ve efektör fonksiyon B hücrelerinde proliferasyonun inhibisyonu ve IgA üretimi, makrofajlarda inhibisyon	Kodon-10 T>A ve kodon-25 G>C polimorfizmleri TGF- $\beta$ sitokin düzeyinin yüksek, normal veya düşük üretimine neden olur.

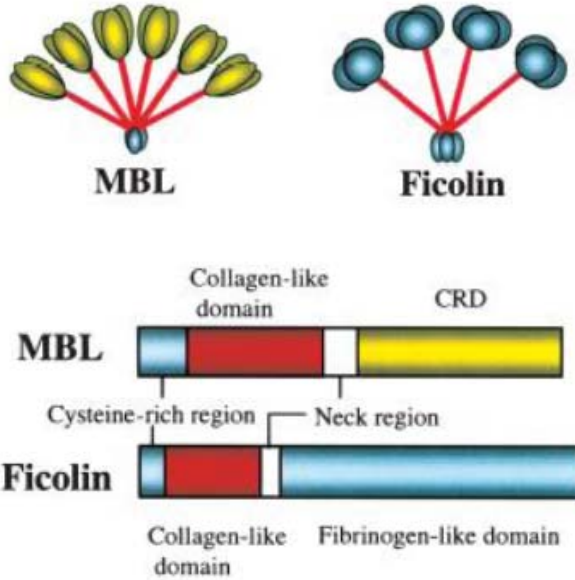
Polimorfizm, popülasyonda bir lokus için iki ya da daha fazla allelin mutasyonla oluşabileceğinden daha yüksek sıklıkla birlikte bulunmasıdır. Bu sıklığın %1'den fazla olması durumunda bu lokus polimorfik olarak kabul edilmektedir. Sitokin profilleri arasındaki bireysel farklılıkların bir kısmı, sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki allelik polimorfizmlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sitokin genlerinin değişik polimorfik bölgeleri tanımlanmış olup bu polimorfizm popülasyonlara göre farklılık gösterebilmektedir. Son yıllarda giderek artan sayıda enfeksiyon, otoimmün, T hücre aracılı hastalıklar ve lenfoproliferatif maligniteler olmak üzere çeşitli hastalıkların etiyopatogenezi ile sitokinler arası ilişkiyi kapsayan çalışmalar bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda sitokin düzeyleri bireysel farklılık göstermekte ve bu farklılık; gen düzenleyici bölgelerdeki allelik polimorfizmlerle açıklanmaktadır. Sitokinlerin üretimini kontrol eden genlerdeki polimorfik lokuslar, sitokinlerin anormal üretimine ve fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır ve birçok sitokinin promotör bölge polimorfizmlerinin sitokin düzeylerinde değişime yol açarak patolojik yanıtı neden olduğu gösterilmiştir. Böylece organizmanın, patojene vereceği cevabın şekli, tedaviye yanıtı, otoimmüniteye ve/veya maligniteye gidişi belirlenebilmektedir (47).

## **2.4. Mannoza bağlayıcı lektin (MBL) ve MBL gen polimorfizmi**

### **2.4.1. Mannoza bağlayıcı lektin**

Konak ile temas bölgesindeki fiziksel ve kimyasal bariyerleri aşan enfeksiyöz ajanlar “patern tanıyan moleküller” olarak adlandırılan bir grup protein ile karşılaşır. Bu moleküller temel olarak enfeksiyöz etkenin fagositozu ve lizisine neden olurken diğer yandan edinsel immün sistemin uyarılmasını da sağlar. TLR, kollektin ve fibrolinler patern tanıyan moleküllere örnek olarak gösterilebilir. MBL, karaciğer tarafından yapılan bir akut faz reaktanı olup disülfid köprüleriyle bağlanmış her biri 3 özdeş 32 kD ağırlığında polipeptid zincirleri ve 96 kD ağırlığında altı alt-üniteyi kapsayan çok zincirli üçlü heliks yapısında bir moleküldür (Şekil 9). MBL insan kollektinleri arasında en iyi tanımlanmış C-tip lektindir. Fikolinler, akciğer surfaktan proteini A (SP-A) ve D (SP-D) insanlardaki diğer ana kollektinlerdir. MBL enfeksiyonlara karşı ilk basamak savunmada, doğal bağışıklıkta rol oynar. Çeşitli mikroorganizmalara bağlanarak opsonin gibi davranarak kompleman sisteminin klasik ve alternatif yollarından farklı bir üçüncü yolak olan lektin yolunu aktive ettiği bilinen tek kollektindir (Şekil 10). Lektinler hem vertebralı hem de vertebrasız canlılarda doğal immünitinin birer parçasıdır(56-61).

MBL'nin bir polipeptid zinciri; sisteinden zengin bir NH<sub>3</sub> terminal bölümü, kollajen benzeri bölüm, bir boyun bölümü ve bir COOH terminal bölümü içerir. COOH terminal bölgesinde, MBL'lerde karbonhidrat tanıma bölgesi (carbonhydrate recognition domain-CRD-lektin alanları; kalsiyum bağımlı lektin bölgesi) vardır. CRD'ler maya, mantar, bakteri ve virüs gibi birçok patojenin yüzeyindeki N-asetil-D-glukozamin, mannoz, N-asetil mannozamin, L-fruktoz ve glukoz oligosakkaritlerine spesifik olarak yapışabilme yeteneğine sahiptir. Polimer sayısı arttıkça MBL'nin oligosakkaridlere affinitesi artar ve MBL ilişkili serin proteazlar (MASP) aktive olur. MBL bağlayan bu şekerler genellikle memeli hücre yüzeylerinde bulunmamaktadır. MBL yapısal ve fonksiyonel olarak komplemanın C1q komponentine benzer ancak farklı olarak MBL antikor olmaksızın patojenleri bağlayabilir(57-62).



Şekil-9. MBL yapısı ve CRD; carbonhydrate recognition domain (57).

#### 2.4.2. Kompleman aktivasyonunda MBL yolu

Kompleman sistemi hem doğal hem de adaptif immün yanıtta önemli rol oynayan bir dizi protein ve enzim kompleksidir. Plazmada inaktif olarak bulunan enzimlerin sırasıyla aktivasyonu ile enflamatuvar peptidlerin, opsoninlerin ve hücre zarı atak kompleksinin oluştuğu bir yoldur. Kompleman sistemi klasik, alternatif ve lektin yolu ile aktive olmaktadır. Doğal immün yanıtta kompleman sistem karşılaştığı mikroorganizmlara karşı fagositozu güçlendirme, B hücrelerinin antijen duyarlılığını artırma, immün kompleksleri dolaşımdan uzaklaştırma ve büyük immün agregatların oluşumunu önleme gibi

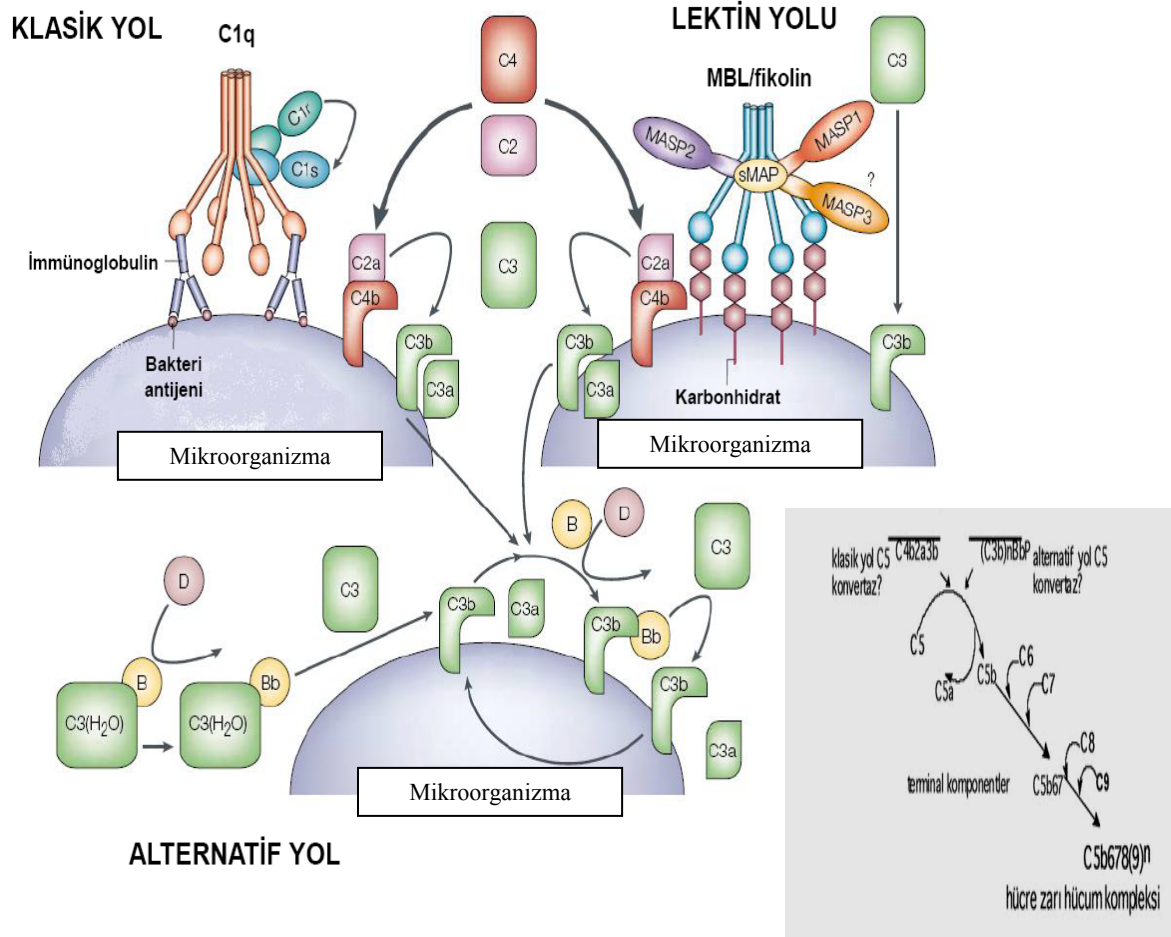
enflamatuvar reaksiyonlar ile cevap verir. Kompeman yolundaki komponentlerden birinin eksikliği durumunda, bu aktivasyon yolağı durur ve reaksiyon sonlanır (59-62).

MBL yolu, MBL'nin mikroorganizmalardaki karbonhidrat yapılarına bağlanması ile aktive olur. Bağlandığı karbonhidratların çoğu memeli hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunmayan spesifik aminoasit motifi taşıdığından, self yapıları ayırt edebilir, sıklıkla mikrobiyal hücrelerin yüzeyleri ile iyi uyum gösterir. Bu hücrelerle bağlanması; fagositlerin MBL ile kaplanan mikroorganizmaya tutunması, mikroorganizmanın hücre içine alınması ve öldürülmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle MBL, direkt olarak bir opsonin olarak görev yapmaktadır. Lektin yolu, MBL ve fikolinler aracılığıyla karbonhidratların tanınması, bunu takip eden ilgili enzimlerin aktivasyonunu ve MBL ilişkili serin proteazları (MASPs) içerir. MASP'ler, C1r/C1s benzeri proteazlar olup C4, C2 ve C3 kompleman komponentlerini aktive etme kapasiteleri vardır. Lektin-proteaz kompleksi yapısal ve fonksiyonel olarak klasik kompleman sisteminin ilk komponenti olan C1'e eşittir. MBL, MASP ile birleşerek, "serum bakterisidal faktör" olarak adlandırılan bir kompleks oluşturmaktadır. MASP1 ve MASP2 C1r ve C1s benzeri proteazlar olup, son zamanlarda MASP-3 tanımlanmıştır. MBL, esas olarak MASP1 ve MASP2 proteazları ile birlikte çalışır. MASP2, fonksiyonel olarak aktive C1s'ye benzerdir ve bu molekülün MBL ile yaptığı kompleks hem C4 hem de C2'yi parçalayıp komplemanın klasik yoldan aktivasyonu ile ilişkili olarak C3 konvertazı (C4b2a komplekslerini) oluşturur. C4b2a kompleksleri kompleman aktivasyon yolunun kesişme noktasıdır. C4'ün aktivasyonu ile başlayan kaskad klasik yoldakine benzer biçimde ilerler. Bu C1q'dan bağımsız mekanizma, "kompleman aktivasyonunun lektin yolu" olarak isimlendirilmektedir. MBL, C1q'dan bağımsız olarak C1r2-C1s2 kompleksleri ile ilişkiye girerek klasik yoldan da komplemanı aktive etmektedir. MBL ve MASP-1 komplekslerinin, C3'ü direkt olarak parçalayabilecek bir yapıya sahip olduğundan, alternatif yoldan da komplemanı aktive edebileceği düşünülmektedir (Şekil-10). Lektin yolu, klasik kompleman yolu ile ortak şekilde ilerler ve sonuçta membran atak kompleksinin(C5→C9) oluşumunu sağlayarak mikroorganizmaların lizisini gerçekleştirir. C3 konvertaz aynı zamanda C3'ü parçalarken anafilotoksin C3a ve opsonik C3b'yi oluşturur. C3b hedefi opsonize ederek fagositik hücreler tarafından fagositozu sağlar. Bu önemli fonksiyonel aktivite opsonik fonksiyon bozukluğu olan ve tekrarlayan enfeksiyonlarda MBL defektinin ne denli önemli olduğunu açıklamaktadır (56-62).

Sonuçta bu proteinin etkileri 4 ana fonksiyon üzerinden gerçekleşir (56-62);

1. Kompleman sisteminin aktivasyonu (lektin yolu aktivasyonu)

2. Opsanofagositozun arttırılması(komplemandan bağımsız olarak)
3. Apoptotik hücrelerin ortamdaki uzaklaştırılması
4. Enflamasyonun düzenlenmesi (enflamasyon modülatörü); monositlerden TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi proinflatuvar sitokinlerin salınımını tetikler, nötrofillerin adhezyon molekül profilinde değişiklikler yapar.



Şekil-10. Kompleman sisteminin üç aktivasyon yolağı ve lektin yolu, MBL: Mannoza bağlayıcı lektin, MASP: MBL ilişkili serin proteaz, sMAP; küçük MBL ilişkili protein, B ve D: faktör B ve D faktörü (56-62).

### 2.4.3. MBL gen polimorfizmi

MBL insan 10. kromozomun uzun kolunun q11.2-q21 bölgesinde 4 ekzondan oluşan MBL2 geninde kodlanmaktadır. MBL-2 geni 6321 baz çiftlik nükleotid içermektedir. Dolaşan MBL konsantrasyonu MBL'nin yapısal ve promotor bölgesindeki genetik varyasyonlarla ilişkilidir. MBL-2 geninin birinci ekzonunda şimdiye kadar üç tip yanlış anlamlı mutasyon saptanmıştır. Ekzon 1'de kodon 52, 54 ve 57'de oluşan mutasyonlar MBL yapısını bozmakta ve trimerizasyonu engellemektedir. Mutant MBL, trimerleri dayanıksız oldukları için enzimatik yıkıma uğrayarak serum MBL seviyelerinin düşmesine

dolayısıyla da MBL fonksiyonunun kaybına neden olurlar. Ayrıca MASP-2 geninde meydana gelen bazı mutasyonlar, MBL-MASP-2 kompleksinin oluşumunu engelleyerek enfeksiyonlara yatkınlık ve immünolojik hastalık gelişimine neden olmaktadır. Mutasyona uğramamış allel 'A' olarak tanımlanmaktadır. Kodon 54'teki (GGC®GAC, Gly54Asp; Gly→Asp) mutasyon 'B' alleli, kodon 57'deki (GGA®GAA, Gly57Glu; Gly→Glu) mutasyon 'C' 'allelini ve kodon 52'deki (CGT®TGT, Arg52Cys; Arg→Cys) mutasyon 'D' allelini oluşturur. Homozigot ya da heterozigot mutasyonlar serum MBL düzeylerinde azalmaya neden olur. Mutasyon taşımayan bireylerde(AA) serum MBL düzeyi heterozigot mutantlara (AB, AC, AD) ve homozigot mutantlara (BB,CC,DD) göre çok daha fazladır. MBL eksikliği toplumun yaklaşık %30-40'ında görülür ve ırklara göre farklılık göstermektedir. Kodon 54 mutant alleleri Beyazlarda, Eskimolarda ve Çinlilerde, kodon 57 alleleri ise Afrika'da daha sık görülmektedir. Bu bulgulara dayanarak kodon varyantlarının, MBL düzeylerinin genetik göstergesi olarak kullanılabileceği önerilmiştir (63-66).

Hem homozigot hem de heterozigot MBL gen polimorfizmleri sonucu oluşan dünyadaki en yaygın immün yetmezlik olan MBL eksikliğinin tekrarlayan birçok enfeksiyon hastalığına duyarlılıkta artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Günümüzde yapılan çok sayıda çalışma MBL gen polimorfizmlerinin ve düşük serum düzeyinin birçok enfeksiyonun (başta HBV, HCV, HIV-1, influenza-A, gibi viral enfeksiyonlar olmak üzere kandidiyazis, Helicobacter pylori vb.) sıklığını arttırdığını göstermiştir. Ayrıca MBL gen polimorfizmi, sistemik enflamatuvar yanıt sendromu, gebelikte tekrarlayan düşükler ve prematür doğum, iskemik kalp hastalığı, sistemik lupus eritematosuz, romatoid artrit ve Sjögren gibi kollajen doku hastalıkları ve Behçet hastalığı ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir (57-66).

Görülüyor ki immün cevabın düzenlenmesinde rol oynayan sitokin ve MBL sentezinde polimorfik yapılardan kaynaklanan bireysel farklılıklar vardır. Gen polimorfizmlerine bağlı olarak sitokinlerin moleküler ekspresyonları, sinyal iletimleri, üretimleri, bağlanma özellikleri ve aktiviteleri değişmektedir. Son yıllarda moleküler tekniklerin gelişmesi sonucu hem tek- nükleotid polimorfizmleri (single nucleotid polymorphism;SNP) hem de mikrosatellit bölgeler tanımlanabilmiştir (67).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hastalar ve Sağlıklı Kontroller

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonlar (CYBE) polikliniğine başvuran Kondilomata aküminata tanısı alan 40 olgu hasta grubu olarak; yaş ve cinsiyet yönünden karşılaştırılmış sistemik bir hastalığı, akut veya kronik bir enfeksiyon bulgusu olmayan sağlıklı gönüllülerden oluşan 40 kişi de kontrol grubu olarak kabul edildi.

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 08.12.2009 tarih, 2009-6/12 no'lu onayı ile gerçekleştirildi. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden çalışmaya katılmayı kabul ettiklerine dair onam belgesi alındı.

#### 3.2. Sitokin ve MBL 2 gen polimorfizminin saptanması

##### Testin Prensipleri:

Gen polimorfizmlerinin saptanmasında genellikle 3 basamaklı yol izlenir; genomik DNA izolasyonu, PCR ile hedef DNA'nın çoğaltılması ve elde edilen hedef DNA'nın görüntülenmesi amacıyla jel elektroforez yöntemi(67).

**Genomik DNA izolasyonu;** moleküler genetik ile ilgili çalışmaların temelidir. DNA izolasyonunda amaç, saf olarak genomik DNA'nın elde edilmesidir. Genel olarak iki aşamada gerçekleşir. İlk aşamada hücreler parçalanıp DNA çözülürken, ikinci aşamada enzimatik veya kimyasal metodlarla protein veya RNA gibi istenmeyen moleküller uzaklaştırılır.

**PCR tekniği,** iki DNA sekansı (primer) arasında kalan belirli bir DNA segmentinin (hedef bölge) *in vitro* olarak, uygun koşullar altında çoğaltılması esasına dayanan moleküler biyoloji ve moleküler genetiğin her alanında kullanılan önemli ve güçlü bir tekniktir. PCR, istenilen sayıda tekrarlanabilen döngülerden oluşur. Bir PCR döngüsü sırasıyla, deoksiribonükleik asidin (DNA) iki zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılması (Denatürasyon-Denaturation); sentetik oligonükleotidlerin (primer) hedef DNA'ya bağlanması ve zincirin yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzaması şeklinde 3 aşamadan meydana gelir. Bu aşamaların her biri farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilir. Sıcaklık aralıkları genel olarak aşağıda belirtildiği gibidir;

94°C-98°C Denatürasyon

37°C-65°C Primerin yapışması

72°C Polimerizasyon

PCR tekniği, tek ve çift sarmallı DNA ya da RNA için kullanılabilir. PCR ile bir hedef DNA parçasından milyonlarca çoğaltmak mümkündür. Siklus sonrası oluşan yeni DNA iplikçikleri bundan sonraki siklus için birer kalıp DNA işlevi görmekte ve 30 siklus sonrası başlangıçtaki DNA örneği 1.000.000 kez çoğaltılabilmektedir. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özđü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı olan, 18-25 baz uzunluğunda bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırılan bölgenin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. PCR'ın önemli bir avantajı da çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamasıdır (17, 67).

Bir PCR döngüsü için gerekli olan beş ana madde vardır: DNA örneği, bu genelde genomik DNA'dır; çoğaltılacak bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen bir çift sentetik primer; deoksinükleotid trifosfatlar (dNTP:A,T,C,G); yüksek ısıya dayanıklı, 70-72 °C'de işlev gören DNA-polimeraz enzimi (Taq polimeraz enzimi), uygun pH ve iyon koşullarını sağlayan tampon karışımı ve MgCl<sub>2</sub>. Bu karışım PCR üç basamağını düzenlemek için ısıyı arttıran ve azaltan bir ısı düzenleyicisi (termocycler) içine konur (17, 67).

PCR yöntemi ile çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özđü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı özellikte 18-25 baz uzunluğunda, sentetik olarak sentezlenebilen oligonükleotidlere "primer" denir. Bu diziler çeşitli tasarım programları kullanılarak hedeflenen gen bölgesine özđü olarak sentezlenmektedir.

Canlıların çoğunda tek iplikçikli DNA'yı kalıp olarak kullanan Taq DNA polimeraz enzimi, ortamdaki dNTP'leri kullanarak kalıp DNA iplikçiğine tamamlayıcı bir DNA ipliğini meydana getirecek sentez reaksiyonunu katalizler. Enzim, tamamlayıcı DNA sentezini başlatmak için primerlere ihtiyaç duymaktadır. Sentezin yönü 5' ucundan 3' ucuna doğru olup, primerin serbest 3' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin fosfodiester bağları ile bağlanması sonucu yeni DNA ipliğinin polimerizasyonu sağlanır. MgCl<sub>2</sub> ortamda bulunan serbest dNTP'ler ile bir araya gelerek Taq DNA polimerazın tanyabileceği çözünebilir bileşikler oluşturmaktadır (17, 67).

DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması analizinde çok çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte tüm laboratuvarlarda rutin olarak yararlanılan en basit yöntemlerden birisi jel elektroforezidir. DNA'nın elektroforetik analizinin temeli, bu molekülün elektriksel bir alanda, negatif yüklü fosfat gruplarından dolayı jel üzerinde negatif elektrottan pozitif elektroda (anod) hareketine dayanmaktadır. Bu hareketin hızı molekülün büyüklüğüne, yapısına, jelde kullanılan maddenin konsantrasyonuna, iyonik kuvvete ve uygulanan akıma bağlı olarak değişmektedir. Yöntemin avantajları basit ve hızlı olması, ayrıca diğer yöntemlerle yeterli düzeyde ayrılamayan DNA fragmanlarının ayrılabilmesini

sağlamasıdır. UV ışığı altında fluoresan etki gösteren etidyum bromür (EtBr) boyasının kullanımı ile çok düşük konsantrasyonlarda (0.5-25 kilobazlık segmentleri) olsa bile, DNA'nın **agaroz jel elektroforez yönteminde** jel üzerindeki yerini belirlemek mümkündür (17, 67).

Hasta ve kontrol grubundan, etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüplere alınan 3 ml venöz kan örneği, çalışılincaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de derin dondurucuda saklandı. Kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıp, elde edilen DNA örnekleri, araştırılan polimorfizm bölgelerinin saptanması amacıyla PCR ile çoğaltıldı. PCR ürünleri jel elektroforez yöntemi ile belirlendi. Genetik çalışma için genomik DNA'nın saflaştırılması ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile amplifikasyon işlemi ve agaroz jel elektroforez yöntemi Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı İmmünoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

### **3.2.1. Th1 tip sitokin, Th2 tip sitokin ve TGF- $\beta_1$ gen ile MBL2 gen polimorfizmlerinin belirlenmesi**

Genetik belirlemede tek nükleotid polimorfizmleri için 5 sitokin (IL-6,IL-10, IFN- $\gamma$ ,TNF- $\alpha$  ve TGF- $\beta_1$ ) ile MBL 2 gen analizi aşağıda belirtildiği gibi yapılmıştır;

#### Promoter bölge-kodonda-İntron 1'de nükleotid değişimi

IL-6	Promoter bölge, pozisyon -174'de (G $\rightarrow$ C)
IL-10	Promoter bölge, pozisyon -1082'de (G $\rightarrow$ A), pozisyon -819'da ( C $\rightarrow$ T), pozisyon - 592'de (C $\rightarrow$ A)
IFN- $\gamma$	İntron 1, pozisyon +874'de (A $\rightarrow$ T)
TNF- $\alpha$	Promoter bölge, pozisyon-308'de (G $\rightarrow$ A)
TGF- $\beta_1$	Kodon 10'da (T $\rightarrow$ C), kodon 25'de (G $\rightarrow$ C)
	<u>Ekzon 1'de nokta mutasyonlar</u>
MBL2	Kodon 54 (GGC $\rightarrow$ GAC, Gly $\rightarrow$ Asp) ve Kodon 57'de (GGA $\rightarrow$ GAA, Gly $\rightarrow$ Glu) nokta mutasyonlar

#### **3.2.1.1. Th1 tip sitokin (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), Th2 tip sitokin ( IL-6, IL-10) ve TGF- $\beta_1$ ve MBL2 için genomik DNA izolasyonu**

DNA izolasyon işlemi ticari bir kit (QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN, Almanya) kullanılarak firmanın talimatlarına göre aşağıdaki şekilde yapıldı;

İşleme başlamadan önce;

- Örnekler oda sıcaklığına ( $15-25^{\circ}\text{C}$ ) getirildi.
- Su banyosu veya ısı bloğu  $56^{\circ}\text{C}$  dereceye ayarlandı.
- Elüsyon işlemi için Buffer AE oda sıcaklığına getirildi.

- Buffer AW1 ve buffer AW2 protokole göre hazırlandı.
- Buffer AL içinde kristalleşme varsa 56 °C derecede inkübe edildi.

1. 1,5 ml isim yazılı eppendorf tüplerinin içine 20 µl protease konu ve her bir tüpe 200 µl kan ve 200 µl Buffer AL eklenerek 15 saniye vortekslenip homojenize edildi.
2. 56°C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra 200 µl %100 etanol eklenerek 10-15 saniye vortekslendi.
3. Tüplerin içindeki karışım QIAGEN spin kolona aktarıldı ve tüplerin kapağı kapatıldıktan sonra 8000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edildi. Spin kolonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp spin kolon temiz 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirildi.
4. QIAGEN spin kolona dikkatlice açıldı ve kolon üzerine 500 µl Buffer AW1 eklendi ve tekrar 8000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edildi. Spin kolonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp spin kolon temiz 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirildi.
5. QIAGEN spin kolona dikkatlice açıldı ve kolon üzerine 500 µl Buffer AW2 eklendi. Tüplerin kapağı kapatıldıktan sonra 14.000 rpm hızda 3 dakika santrifüj edildi ve Spin kolonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp spin kolon temiz 2 ml'lik toplama tüplerine yerleştirildi.
6. 14.000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edildi. Spin kolonun yerleştiği tüp atıldı. QIAGEN spin kolon 1.5 ml'lik isim yazılı eppendorf tüplere yerleştirildi.
7. Son olarak spin kolonun tam ortasına gelecek şekilde 200 µl Buffer AE eklenerek oda ısısında 1 dakika inkübe edildikten sonra 1 dakika 8000 rpm hızda santrifüj edilerek DNA izolasyon işlemi sonlandırıldı.

İzole edilen DNA örnekleri -20 °C'de derin dondurucuda saklandı.

### **3.2.1.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR); PCR-SSP ve RFLP-PCR yöntemi**

#### **3.2.1.2.1. Th1 tip sitokin (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), Th2 tip sitokin IL-6, IL-10) ve TGF- $\beta$ 1 gen bölgesi için**

İstenen sitokin gen (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ 1) allellerinin (promoter bölgesindeki değişimin olduğu) çoğaltılması için sekans-spesifik oligopeptid primerlerinin (özgün primerler) sağlandığı Sitokin Genotiplendirme kiti (One Lambda, Inc, Canoga Park, CA, USA) kullanılarak PCR-SSP(Single specific primer) metodu uygulandı. Bu kit

sitokin polimorfizminin tespit etmek için spesifik primerler, sitokin reseptörleri ve reseptör antagonistlerinin içermektedir. Primer zincirler grup allelleri ya da sadece tek allel ile çok iyi uyuma sahip olarak dizayn edilmiştir. Primer zincir ile mükemmel şekilde uyum hedef sekansların amplifikasyonu ile sonuçlanırken (pozitif sonuç), uyumsuz primerler amplifikasyonu ile sonuçlanmaz (negatif sonuç). Her bir PCR reaksiyonunun integrasyonunu doğrulama için tüm DNA örneklerinde insan beta-globin gen bölgesini amplifiye eden internal kontrol primer zincir kullanıldı. Her bir test için 19 µl DNA, 180 µl D-miks (PCR buffer, dNTP, MgCl<sub>2</sub>) ve 1 µl Taq-polimeraz ( 5 U/ µl) kullanıldı.

### **İşlem basamakları (her bir test kiti için):**

Tüm basamaklar oda sıcaklığında yapılır.

1. PCR kaset mikrotüplerde 19 µl DNA, 180 µl D-miks ve 1 µl Taq-polimeraz ile hazırlanan mastermiks 5 dakika vorteks ile karıştırıldı
2. Mastermiksten, hedeflenen polimorfik yapılara ait değişik primerlerin bulunduğu her tüpe 10 µl ilave edildi.
3. Primerler ile mastermiks damlacıklarının karışması sağlandı
4. Tüplerin kapakları sıkıca kapatıldı, tüpler arasında çapraz kontaminasyon önleildi.
5. PCP plağı termocycler'a (Corbett Research, Avustralya) yerleştirildi ve en kısa sürede amplifikasyon başlatıldı.

PCR siklus parametreleri önerildiği gibi aşağıdaki şekilde programlandı.

### **One lambda PCR Program (OLI-1)**

<u>Siklus</u>	<u>Adım</u>	<u>Isı (°C)</u>	<u>Zaman</u>	<u>Durum</u>
1	1.	96	130 sn.	Başlangıç denatürasyonu
	2.	63	60 sn.	
9	1.	96	10 sn.	Denatürasyon
	2	63	60 sn.	Primer yapışması ve uzaması
20	1	96	10 sn.	Denatürasyon
	2	59	50 sn.	Primer yapışması ve uzaması
	3	72	30 sn.	Primer uzaması
Bitiş	1	4	Sürekli	Saklama

Elde edilen PCR ürünlerini görüntülemek için tüplerin kapakları dikkatlice açılıp önceden hazırlanan % 2'lik agaroz jele yüklendi.

### 3.2.1.2.2. MBL2 gen bölgesi için

PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemi uygulandı (RFLP-PCR yöntemi).

#### **PCR/RFLP Metodunun prensibi:**

Bu yöntem polimorfizm çalışmalarında, özellikle tek nokta mutasyon analizlerinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Tek nokta mutasyonları ile meydana gelen veya zarar gören enzim kesim noktaları kullanılarak bu bölgelerde oluşan mutasyonları tespit etmek mümkündür. Yöntem temelde dört adımdan meydana gelmektedir; **DNA izolasyonu, PCR, elde edilen PCR ürününün restriksiyon enzimleri kullanılarak kesimi ve elektroforez** ile kesilen fragmanların ayrımı, görüntülenmesi(68).

PCR/RFLP yöntemi ile mutasyonun araştırılacağı gen bölgesi, mutasyonu içine alacak şekilde PCR ile çoğaltıldıktan sonra tek nokta mutasyon bölgesinden kesen bir enzim seçilerek analiz edilir. Analizin daha kolay uygulanır olabilmesi açısından seçilen enzim büyük önem taşımaktadır. Seçilen restriksiyon enzimleri, uzunluğunu bildiğimiz genomik DNA parçası üzerinde yaklaşık 5-10 baz uzunluğunda belirli bir nükleotid dizisini tanıyarak bu noktada kesim yapar ve DNA'yı ikiye ayırır. İlki Hamilton tarafından keşfedilen Hind III başta olmak üzere, 200 den fazla farklı bakteri türünden, her biri bakterinin orijinal isminin kısaltması ile anılan çok sayıda restriksiyon endonukleaz enzimi bulunmuştur. Her DNA molekülü farklı kesim noktalarına sahip bölgeleri içerir. Bu DNA bölgeleri aynı restriksiyon enzimi kullanılarak kesildiğinde bireylerin taşıdığı mutasyonlara bağlı olarak değişik miktar ve uzunlukta parçalar elde edilebilmektedir. Kesilen genomik DNA, parçalarının büyüklüğüne göre agaroz ya da poliakrilamid jelde elektroforez işlemi ile yürütülür. Jel tercih edilen yöntemle ilgili olarak, hazırlanmadan önce veya elektroforezden sonra etidyum bromür ile boyanıp ardından ultra viyole (UV) ışıkta görüntülenir. Kesim noktalarına göre uzunlukları önceden bilinen parçalar değerlendirilerek mutasyonların varlığı ya da yokluğuna karar verilir. Değerlendirme şu şekilde yapılır; hedef gen bölgesindeki nokta mutasyon, çoğaltılan DNA'da seçilen restriksiyon enziminin tanıma bölgesine özgülse mutasyonlu üründe kesim gerçekleşirken normal üründe kesim gerçekleşmez. Böylece kesilen ürünlere sahip bireyler mutasyonlu diğerleri normaldir. Tam tersine restriksiyon enziminin tanıma bölgesi mutasyona özgül değil de normal olan ürüne özgül ise kesim normallerde gerçekleşir, mutasyon olanlarda

kesim gerçekleşmez. Değerlendirme, kesim olan ürünlere sahip bireyler normal, olmayanlar ise mutasyonludur şeklinde yapılır (68).

İzole edilen DNA, PCR yöntemi ile amplifiye edildi. Her bir hasta için PCR karışımı; forward primer(F); 5'-TAGGACAGAGGGCATGCTC-3' ve reverse primer(R); 5'-CAGGCAGTTTCCTCTGGAAGG-3' baz dizilimini içeren primer sekanstan (68) 0,5'er µl, nükleotidleri içeren dNTP karışım solüsyonundan 1 µl, DNA polimeraz enzimi olan Taq DNA polimeraz enziminden (Thermo Scientific, ABgene House, Blenheim Road, Epsom, UK; 5 u/µl) 0,25 µl, Taq polimerazın tampon solüsyonu olan Taq Buffer'dan 5 µl ve MgCl<sub>2</sub>'den 3 µl eklenerek hazırlandı. Son olarak, izole edilen hasta DNA'ları her bir tüpe 10 µl eklendi ve üzerine 50 µl' ye tamamlayacak şekilde 29,75 µl distile su ilave edildi. Elde edilen karışımlar önceden programlanmış olan Thermocycler' a (Corbett Research, Avustralya) yerleştirildi. DNA denatürasyonu için 94°C'de 30 saniye, primerlerin DNA'ya bağlanması için 60°C'de 1 dakika, polimerizasyon için 72°C'de 2 dakika ve en son olarak yarım kalan zincirlerin tamamlanması için 72°C'de 5 dakika inkübe edildi ve bu şekilde 40 döngü yapılarak amplifikasyon tamamlandı. Elde edilen MBL gen ürünlerinde gen polimorfizmlerinin saptanması amacıyla her hasta için 2 ayrı tüpe 17,5 µl çoğaltılmış DNA kondu. Bir tüpe 5 ünite BshNI(BanI) restriksiyon enzimi (5'...G↓ G Y R C C...3', 3'...C C R Y G↓ G...5' bölgesinde kesim yapar; Fermantas, Vilnius, Lithuania, 10ü/µl) ve 2 µl tampon solüsyonundan (10XBuffer) eklenerek 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Diğer tüpe ise 3,5 ünite MbolI restriksiyon enzimi (GAAGA↓, ve CTTCT↓ bölgesinde nonsimetrik kesim yapar, Takara Bio Inc, Shiga, Japan, 5ü/µl) ve 2 µl tampon solüsyonu (10x Buffer) ilave edilerek 37°C'de 90 dakika inkübe edildi (68).

MBL geni kodon 54 ve kodon 57 mutasyonlarının tesbitinde kullanılan, primer çiftiyle yapılan amplifikasyon sonucu 349 baz çiftlik (bp) PCR ürünü elde edildi. 349 baz dizilimli PCR ürünü kodon 54 ve kodon 57 için sırasıyla BanI ve MbolI enzimi ile kesilmektedir. BshNI (BanI) restriksiyon enzimi ile kesilip 2 fragman (260 bp ve 89 bp) oluşan mutasyonsuz DNA "A alleli", MbolI ile kesilip 2 fragman (270 bp ve 79 bp) oluşan DNA "C alleli", her iki enzimle de kesilme gözlenmeyen DNA "B alleli" ve her iki enzimle de kesilme olanlar DNA "D alleli" olarak tanımlandı. Elektroforez sırasında kesilen bölgelerde oluşan çift bant heterozigot mutasyon, tek bant ise homozigot mutasyon olarak değerlendirildi (68).

Restriksiyon işlemi tamamlandıktan sonra oluşan fragmanlar (ürünler) %2'lik agaroz jelde elektroforez ile yürütülüp ve ultraviyole ışık kaynağında görüntülendi.

### **3.2.1.3. Agaroz jel elektroforezi**

PCR işleminden sonra çoğaltılan DNA'lardan (Th1, Th2 ve Th3 sitokinler ve MBL-2 DNA genomu) 10 µl alınarak % 2'lik agaroz jel üzerinde 140-150 volt uygulanarak 45 dakika elektroforez uygulandı. DNA bantları etidyum bromür ile boyanarak görülür hale getirilip 260 nm dalga boyundaki ultraviyole transluminatör (Major Science,Taiwan) altında fotoğraflandı.

PCR-SSP sonuçların yorumlanması spesifik bir amplifiye DNA fragmantlarının olup olmamasına göre yapıldı.

### **3.3.İstatistiksel analiz**

İstatistiksel analiz Epi Info Software version 3.2.2 (CDC, Atlanta GA,USA) ve SPSS for Windows version 16.0 (Chicago, IL, USA) programları ile yapıldı. Kümeleme analizi için Clustan Graphics v8.00 (Clustan Graphics, Edinburgh, UK) programı kullanıldı. Grup oranlarının karşılaştırılmasına ki-kare veya Fisher'in kesin  $\chi^2$  testi kullanıldı. Genomik polimorfizm düzeyinde risk faktörlerinin ve koruyucu faktörlerin belirlenmesinde odds oranı (OR) değerleri dikkate alındı. İki grup arasındaki yaş ve cinsiyet değişkeni student t testi ve  $\chi^2$  testi ile karşılaştırıldı.  $p < 0.05$ , istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

Hasta grubu 33 erkek( % 82.5), 7 kadın (% 17.5 ) olmak üzere toplam 40 kişiden oluşuyordu. Hasta grubundaki olguların yaşları 35-43 arasında değişmekte olup, ortalama  $39.5 \pm 12.6$  saptandı. Kontrol grubu ise 28 erkek (%70), 12 kadın (%30) toplam 40 kişiden oluşuyordu. Kontrol grubunun yaşları 34- 43 arasında değişmekte olup, ortalama  $36.7 \pm 7.6$  saptandı. Her iki grup arasında hasta yaşları ve cinsiyetleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla,  $p > 0.05$  ve  $p > 0.05$ ). Hasta grubundaki olguların tamamı en az bir tedavi seçeneği (elektrokoterizasyon, kriyoterapi, topikal imikimod, kimyasal ablatif yöntemler vb.) uygulanan, yanıt alınamamış ya da tedavi sonrasında nüks gelişen olgulardan oluşmaktadır. Şüpheli olgularda VDRL ya da RPR testi ile sifiliz dışlanmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarının, IFN- $\gamma$ (+874), IL-10 (-592,-819 ve -1082), IL-6(-174), TGF- $\beta_1$  (kodon-10 ve kodon-25), TNF- $\alpha$  (-308) sitokin genleri ile MBL2 genlerinin fenotipik özellikleri Tablo 6a-6d'de özetlenmiştir. İncelenen 5 sitokin ve MBL2 genotipleri karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi. Hasta grubu olgularında bir grupta (ilk 6 hasta) % 2 agaroz jel elektroforezindeki sitokin gen polimorfizmleri Şekil-11a ve Şekil-11b'de gösterilmiştir.

Hastaların MBL gen polimorfizmleri bakıldığında 30 (%76.9) hastada mutasyon olmadığı (AA), 7(%17.9) hastanın heterozigot kodon 54 mutasyon taşıdığı ve 2(%5.1) hastanın da homozigot kodon 54 mutasyonu (BB) taşıdığı görüldü. Hastaların hiçbirinde kodon 57(C alleli) ya da kodon 52 (D alleli) saptanmadı. Gruplar arasında MBL genotipi bakımından farklılık saptanmadı (Tablo 6d). Hasta grubu olgularında bir grupta (ilk 7 hasta) % 2 agaroz jel elektroforezindeki MBL2 gen polimorfizmleri Şekil-11c'de gösterilmiştir.

Tablo-6a. Kondilomata aküminatalı hasta ve kontrol gruplarının sitokin gen polimorfizmlerinin allel sıklığını ve genotipik özelliklerinin karşılaştırılması

Sitokin gen	Allel sıklığı (%)		Genotip (%)		
	G	A	G/G	G/A	A/A
<b>TNF-<math>\alpha</math> (-308)</b>					
Hasta (n=40)	72 (90.00)	8 (10.00)	32 (80.00)	8 (20.00)	0 (0.00)
Kontrol (n=40)	74 (92.50)	6 (7.50)	34 (85.00)	6 (15.00)	0 (0.00)
<i>p</i>	0.576	0.576	0.576	0.576	-
<b>OR(95% CI)</b>	-	-	-	-	-
<b>TGF-<math>\beta</math>1 (cod. 10)</b>	T	C	T/T	T/C	C/C
Hasta (n=40)	40 (50.00)	40 (50.00)	8 (20.00)	24 (60.00)	8 (20.00)
Kontrol (n=40)	44 (55.00)	36 (45.00)	9 (22.50)	26 (65.00)	5 (12.50)
<i>p</i>	0.527	0.527	0.785	0.644	0.363
<b>OR(95% CI)</b>	-	-	-	-	-
<b>TGF-<math>\beta</math>1 (cod. 25)</b>	G	C	G/G	G/C	C/C
Hasta (n=40)	78 (97.50)	2 (2.50)	38 (95.00)	2 (5.00)	0 (0.00)
Kontrol (n=40)	75 (93.75)	5 (6.25)	35 (87.50)	5 (12.50)	0 (0.00)
<i>p</i>	0.443	0.443	0.432	0.432	-
<b>OR(95% CI)</b>	-	-	-	-	-
<b>IL-10 (-1082)</b>	G	A	G/G	G/A	A/A
Hasta (n=40)	25 (31.25)	55 (68.75)	4 (10.00)	17 (42.50)	19 (47.50)
Kontrol (n=40)	29 (36.25)	51 (63.75)	3 (7.50)	23 (57.50)	14 (35.00)
<i>p</i>	0.504	0.504	1.000	0.180	0.256
<b>OR(95% CI)</b>	-	-	-	-	-
<b>IL-10 (-819)</b>	C	T	C/C	C/T	T/T
Hasta (n=40)	52 (65.00)	28 (35.00)	18 (45.00)	16 (40.00)	6 (15.00)
Kontrol (n=40)	53 (66.25)	27 (33.75)	16 (40.00)	21 (52.50)	3 (7.50)
<i>p</i>	0.868	0.868	0.651	0.262	0.481
<b>ORs(95% CI)</b>	-	-	-	-	-
<b>IL-10 (-592)</b>	C	A	C/C	C/A	A/A
Hasta (n=40)	52 (65.00)	28 (35.00)	18 (45.00)	16 (40.00)	6 (15.00)
Kontrol (n=40)	53 (66.25)	27 (33.75)	16 (40.00)	21 (52.50)	3 (7.50)
<i>p</i>	0.868	0.868	0.651	0.262	0.481
<b>OR(95% CI)</b>	-	-	-	-	-
<b>IL-6 (-174)</b>	G	C	G/G	G/C	C/C
Hasta (n=40)	47 (58.75)	33 (41.25)	22 (55.00)	15 (37.50)	3 (7.5)
Kontrol (n=40)	50 (62.50)	30 (37.50)	16 (40.00)	18 (45.00)	6 (8.20)
<i>p</i>	0.627	0.627	0.179	0.496	0.481
<b>OR(95% CI)</b>	-	-	-	-	-
<b>IFN-<math>\gamma</math> (+874)</b>	T	A	T/T	T/A	A/A
Hasta (n=40)	40 (50.00)	40 (50.00)	9 (22.50)	22 (55.00)	9 (22.50)
Kontrol (n=40)	40 (50.00)	40 (50.00)	10 (25.00)	20 (50.00)	10 (25.00)
<i>p</i>	1.000	1.000	0.793	0.654	0.793
<b>OR(95% CI)</b>	-	-	-	-	-

Tablo-6b. TGF- $\beta$ 1 ve IL-10'un farklı pozisyonlarındaki kombine polimorfizmlerin dağılımları

Sitokin Gen Polimorfizmleri	Genotip	Hastalar n (%)	Kontrol n (%)	p değeri	OR (95% CI)
<b>TGF-<math>\beta</math>1 (codon 10-25)</b>	T/T-G/G	8 (20.0)	9 (22.5)	0.784	-
	T/C-G/G	23 (57.5)	22 (55.0)	0.821	-
	T/C-G/C	1 (2.5)	4 (10.0)	0.360	-
	C/C-G/G	7 (17.5)	4 (10.0)	0.330	-
	T/T-G/C	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-
	C/C-G/C	1 (2.5)	1 (2.5)	1.000	-
	C/C-C/C	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-
	T/T-C/C	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-
T/C-C/C	0 (0.0)	0 (0.0)	-	-	
<b>IL-10 (-1082, -819, -592)</b>	GCC/GCC	4 (10.0)	3 (7.5)	1.000	-
	GCC/ACC	9 (22.5)	10 (25.0)	0.792	-
	GCC/ATA	8 (20.0)	13 (32.5)	0.203	-
	ACC/ACC	5 (12.5)	3 (7.5)	0.711	-
	ACC/ATA	8 (20.0)	8 (20.0)	1.000	-
	ATA/ATA	6 (15.0)	3 (7.5)	0.481	-

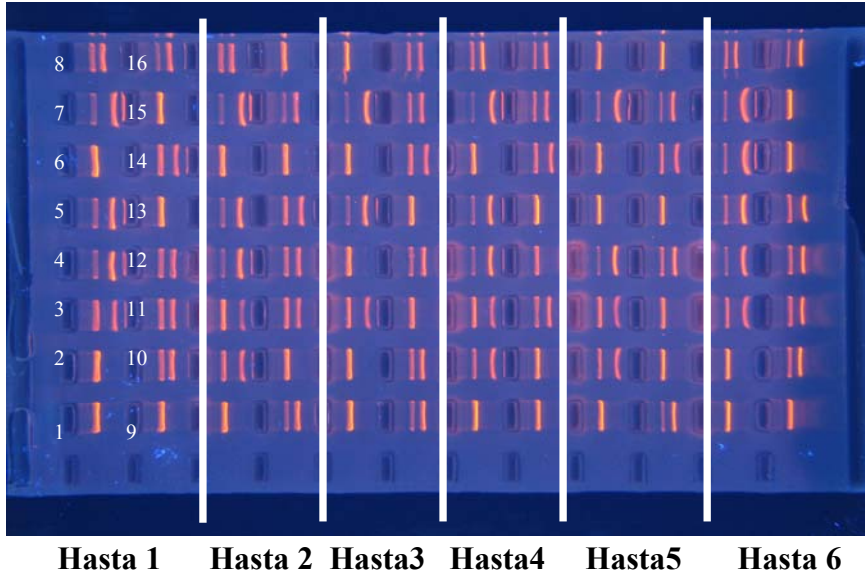
Tablo-6c. Kondilomata aküminatalı olgularda ve sağlıklı kontrollerde sitokin gen polimorfizmi ve ilişkili oldukları fenotipik özellik

Sitokin Gen Polimorfizmleri	Hastalar n (%)	Kontrol n (%)	p değeri	OR (95% CI)	
<b>TNF-<math>\alpha</math> (-308)</b>	Yüksek (G/A,A/A)	8(20)	6(15)	0.556	-
	Düşük (G/G)	32 (80)	34(75)	0.556	-
<b>TGF-<math>\beta</math>1 (codon 10-25)</b>	Yüksek/İlimli (T/T-G/G,T/C-G/G)	39 (97.5)	39 (97.5)	1.000	-
	Düşük (C/C-G/C,C/C-G/G,T/T-G/C)	1 (2.5)	1 (2.5)	1.000	-
<b>IL-10 (-1082, -819, -592)</b>	Yüksek/ İlimli (GCC/GCC)	21(52.5)	26 (65)	0.256	-
	Düşük (ACC/ACC,ACC/ATA)	19(47.5)	14(35)	0.256	-
<b>IL-6 (-174)</b>	Yüksek (G/G,G/C)	37 (92.5)	34(85)	0.481	-
	Düşük (C/C)	3 (7.5)	6 (15)	0.481	-
<b>IFN-<math>\gamma</math> (+874)</b>	Yüksek/ İlimli (T/T,T/A)	31(77.5)	30 (75)	0.793	-
	Düşük (A/A)	9 (22.5)	10 (25)	0.793	-

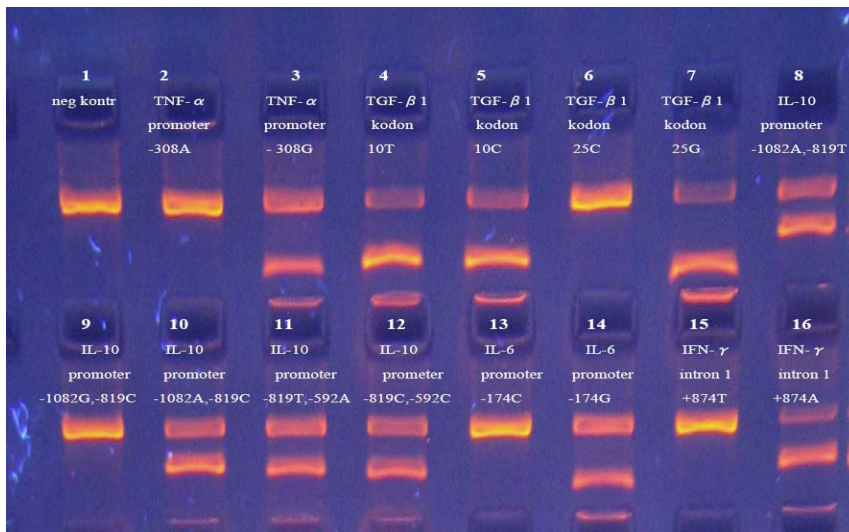
Tablo-6d. Kondilomata aküminatalı hasta ve kontrol gruplarının MBL2 gen polimorfizmlerinin allel sıklığını ve genotipik özelliklerinin karşılaştırılması

MBL	A	B	AA	AB	BB
Hasta (n= 39) <sup>a</sup>	67 (85.90)	11 (14.10)	30 (76.92)	7 (17.95)	2 (5.13)
Kontrol (n= 40)	65 (81.25)	15 (18.75)	27 (67.50)	11 (27.50)	2 (5.00)
<i>P values</i>	0.431	0.431	0.350	0.312	1.000
<i>OR s(95% CI)</i>	-	-	-	-	-

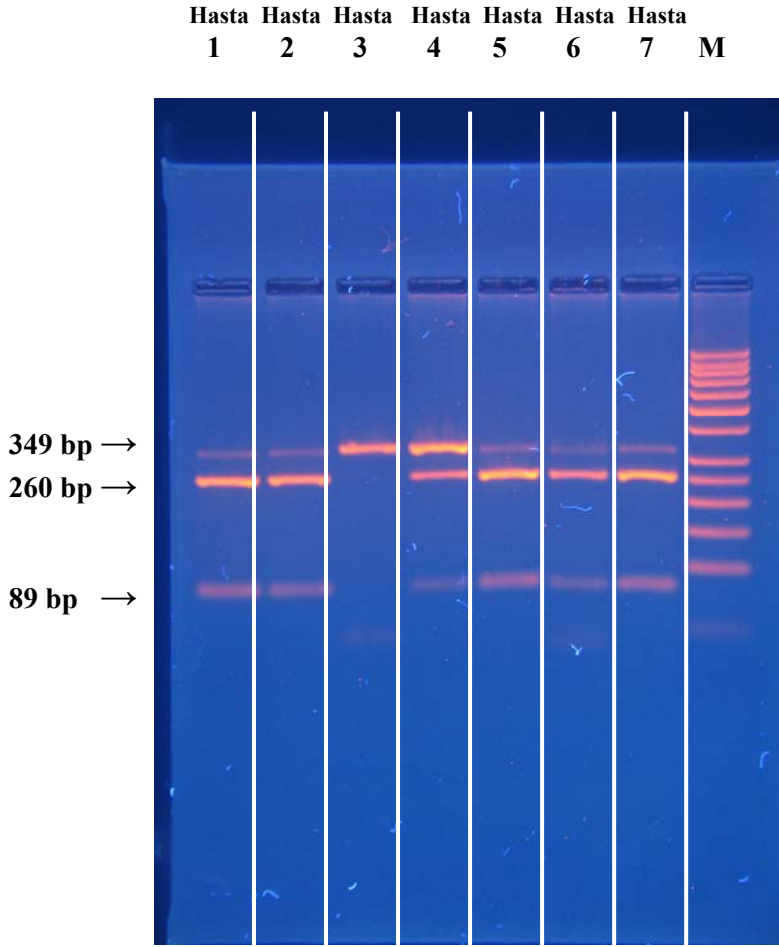
a Bazı teknik nedenlerden dolayı 39 Kondiloma aküminatalı olguda genotiplendirme yapıldı.



Şekil 11a. İlk 6 hastanın % 2 agaroz jelde sitokin gen polimorfizm görüntüsü (Yatay görünümde). **1 kuyu:** negatif internal kontrol, **2-3 kuyu:** TNF- $\alpha$ (-308), **4.-7. kuyu:** TGF- $\beta$ 1 (kodon 10-25), **8.-12. kuyu:** IL-10(-1082, -819, -592), **13.-14. kuyu:** IL-6 (-174), **15.-16. kuyu:** IFN- $\gamma$  (+874).



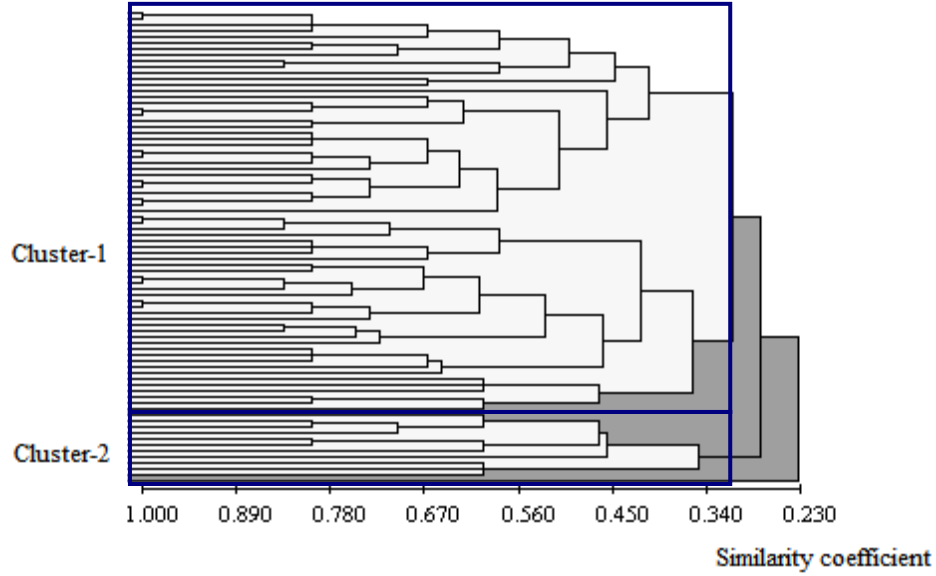
Şekil 11b. Yukarıdaki ilk hastanın % 2 agaroz jelde sitokin gen polimorfizm görüntüsü (Büyütülmüş dikey görünümde).



Şekil 11c. Hasta grubunda ilk 7 hastanın MBL-2 gen kodon 54 ekzon1'in restriksiyon enzimi ile kesildikten sonraki % 2 agaroz jel elektroforezdeki DNA fragmanları. (Dikey görünümde). 349 bp PCR ürünü kodon 54 polimorfizminde BanI ile kesilir ve parçalanır. Normal allel (allel A) BanI (1., 2., 5., 6. ve 7. hasta) enzimi ile 260 bp ve 89 bp olarak iki fragmana kesilir. Allel B'de kesilme yoktur (349 bp) (3. hasta). Kesilmemiş, üç ayrı fragman (349 bp, 260 bp ve 89 bp) AB heterozigot (4. hasta) olarak olarak görülmektedir. M: 100 bp DNA marker

Birimlerin yapısının incelenmesi için, çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemi olan kümeleme analizi de yapılmıştır. Birimlerin küme adı verilen homojen gruplamalarını incelemek için uygun kümeleme yöntemi kullanılmıştır. Kümeleme analizi bir yapı arama çalışmasıdır. Birimler ile benzerlikleri dikkate alarak toplumdaki gruplanmaları inceler.. Birimler arasındaki benzerlik derecesini hesaplamak için Gower benzerlik katsayısı kullanılmıştır. Kümelerin birleştirilmesinde ortalama bağlantı yöntemi kullanılmıştır. Küme sayısı hakkında önsel bilgi olmadığından, kümeleme yöntemi olarak hiyerarşik toplumsal yöntemler kullanılmıştır. Kümelerin tanımlanmasından sonra, kümelerin oluşumunda farklılık yaratan değişkenlerin belirlenmesi için Pearson  $\chi^2$  ve Fisher'in kesin  $\chi^2$  testleri kullanılmıştır.

Benzerlik düzeyi 0.315 olan iki ana küme oluşmuştur. Şekil-12’de dendrogram gösterilmiştir. Hasta oranı küme 1’de daha fazla (%55.22) iken, sağlıklı oranı küme 2’de daha fazla (%81.81) idi. Hasta ve kontrol görülme oranları bakımından iki küme arasında anlamlı fark bulundu ( $p=0.023$ ).



Şekil-12. Kümeleme analizi, 0.315 benzerlik düzeyinde iki ana küme. Küme 1; hastaların fazla olduğu grup ve küme 2; sağlıklıların fazla olduğu grup.

Kümelerin oluşmasına anlamlı etkisi olan değişkenler IL-6 ve MBL idi (Tablo-8). Diğer değişkenlerin kümelerin oluşmasında anlamlı etkilerinin olmadığı saptandı

**IL-6** için G/G genotipinin görülme oranı küme 1’de daha fazla ( $p<0.001$ ) olup, G/C genotipinin görülme oranı küme 2’de daha fazla idi ( $p=0.046$ ). C/C genotipi bakımından iki küme arasında anlamlı fark yoktu ( $p=0.110$ ).

**MBL** için AA genotipinin görülme oranı küme 1’de daha fazla ( $p<0.001$ ) olup, AB genotipinin görülme oranı küme 2’de daha fazla idi ( $p<0.001$ ). BB genotipi bakımından iki küme arasında anlamlı fark yoktu ( $p=1.000$ ).

Buna göre hasta oranının fazla olduğu küme 1’de IL-6 G/G genotipi ve MBL2 AA genotipi KA gelişimi için risk faktörleri olarak düşünülürken, sağlıklıların fazla olduğu küme 2’de IL-6 G/C genotipi ve MBL2 AB genotipi koruyucu faktör olarak değerlendirildi (Tablo- 7).

Tablo-7. Kümelerde anlamlı değişkenler ve tanımlayıcı istatistik analizi

	Küme 1 (n <sub>1</sub> =67)		Küme 2 (n <sub>2</sub> =11)		P değeri
	n	%	n	%	
<b>Gruplar</b>					
Hasta	37	55.224	2	18.182	0.023
Kontrol	30	44.776	9	81.818	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>					
G/G	54	80.597	11	100	0.195
G/A	13	19.403	0	0	
<b>TGF-<math>\beta</math>1</b>					
T/C – G/G	37	55.224	6	54.545	1.000
T/C – G/C	4	5.970	1	9.091	0.543
T/T – G/G	14	20.900	3	27.273	0.697
C/C – G/G	9	13.433	1	9.091	1.000
G/C – G/G	1	1.493	0	0	1.000
C/C – G/C	2	2.990	0	0	1.000
<b>IL-10</b>					
GCC/ATA	18	26.866	2	18.182	0.719
ACC/ATA	11	16.418	4	36.364	0.208
GCC/GCC	7	10.448	0	0	0.584
GCC/ACC	16	23.881	3	27.273	1.000
ACC/ACC	7	10.448	1	9.091	1.000
ATA/ATA	8	11.940	1	9.091	1.000
<b>IL-6</b>					
<b>G/G</b>	<b>36</b>	<b>53.731</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>G/C</b>	<b>25</b>	<b>37.313</b>	<b>8</b>	<b>72.727</b>	<b>0.046</b>
C/C	6	8.955	3	27.273	0.110
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>					
A/A	15	22.388	4	36.364	0.448
T/A	35	52.239	6	54.545	0.887
T/T	17	25.373	1	9.091	0.441
<b>MBL2</b>					
<b>AA</b>	<b>56</b>	<b>83.582</b>	<b>1</b>	<b>9.091</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>AB</b>	<b>7</b>	<b>10.448</b>	<b>10</b>	<b>90.909</b>	<b>&lt;0.001</b>
BB	4	5.970	0	0	1.000

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda sitokinlerin ve MBL'in kodlandığı bölgelerdeki mutasyonlar ve düzenleyici bölgedeki tek nükleotid değişikliklerinin sitokin üretimindeki bireysel farklılıkların nedeni olabileceği ve bu genetik polimorfizmin hem in-vivo hem de in-vitro ortamda sitokinlerin salınımını etkilediği gösterilmiştir (13-16,57-59,62,66,69,70). Sitokin ve MBL gen polimorfizmleri ile enfeksiyon hastalıkları arasında hastalığın oluşum aşamasında, seyrinde ve tedaviye yanıtlarında ilişki olduğu bildirilmiştir (11,12,17,18,71-74).

Biz de çalışmamızda çoğu kez tedavisinde zorlanılan ve klinik tablo şiddetinde, tedavi yanıtlarında, tedavi sonrası nükslerinde kişisel farklılıkların görüldüğü anogenital HPV enfeksiyonları gelişmesinde Th1 (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), Th2 tip sitokin (IL-6), T düzenleyici/baskılayıcı tip sitokinler (IL-10, TGF- $\beta$ ) ile MBL gen (MBL-2) polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Literatürde HPV enfeksiyonlarına yatkınlık ve persistant ya da rekürrens ile sitokin (19,50,75-82) ve MBL-2 gen (20-22) polimorfizmi ilişkisi, sadece yüksek onkojenik riskli HPV genotipleri ile servikal enfeksiyon/kanser gelişmesi riskini araştırmak amaçlı çok az çalışmada irdelenmiştir. Bu çalışmalarda saptanan sitokin gen polimorfizmleri IFN- $\alpha$  +551 T>G, IL1RN 86 bp VNTR, TNF-237 G>A, TNF-375 G>A, TNF-572 A>C, TNF-857 C>T, TNF-863 C>A, TNF-307 G>A şeklindedir (50,70,71,73). Bununla birlikte düşük onkojenik HPV'ler ile ilişkili kondilomata aküminata oluşmasında, regresyon ya da persitansında sitokin gen ve MBL gen polimorfizmleri ile immünolojik olaylar arasındaki ilişki yeterince açıklanamamıştır (8,36,83-91). Tablo-8'da kondilomata aküminatalı olgularda çoğu Uzakdoğu ülkelerinde yapılan sitokin/kemokin gen polimorfizm çalışma sonuçları görülmektedir (84-90). Bu çalışmalardan birinde bizim de araştırmamızda bulduğumuz gibi IFN- $\gamma$  gen polimorfizmi açısından fark olmadığı ifade edilmiştir (84). Literatürde çalışmamızda KA olgularında incelediğimiz diğer sitokinler ve MBL gen polimorfizmleri ilişkisinin araştırıldığı bir başka çalışma yoktur.

Kümeleme analizi sonrası hasta oranının fazla olduğu küme 1'de saptadığımız IL-6 için G/G genotipi ve MBL2 için AA genotiplerini; kondilomata aküminata gelişimi açısından risk faktörleri olarak, sağlıklıların fazla olduğu küme 2'de IL-6 için G/C genotipi ve MBL-2 için AB genotiplerini koruyucu faktörler olarak değerlendirdik (Tablo-7).



Tablo- 8. Literatürde KA olgularında gen polimorfizm sonuçları.

Gen	Sonuç ve yorum(kaynak)
-IFN-G(+874)	Rekürren KA ile ilişki yok (84)
-CCR5 delta 32	İlişki yok(85)
-HLA-DMA *0101 ve HLA-DMB* 0101	İlişki var(86)
-HLA DQB1 *0501 ve HLA DQB1*0201	Rekürren KA ile negatif ilişki(88)
-TLR9 (-1174 SNP1)	İlişki yok(89)
TLR9 (-1635 SNP2)	İlişki yok(89)
-TAP-1 (Kodon 637, AA, AG, GG)	Rekürren KA ile ilişki var (90)
TAP-1 (Kodon 333)	Rekürren KA ile ilişki yok(90)

*KA; kondilomata aküminata, CCR5 delta 32 ; insan kemokin reseptör5 delta 32, HLA-DMA;HLA- D bölgesi alfa zinciri HLA-DMB HLA- D bölgesi alfa zinciri; TLR9; Toll- benzeri reseptör, SNP1 ve SNP2; tek nükleotid polimorfizmi, TAP-1; Transport ile ilişkili protein-1.*

Genelde enfeksiyona yatkınlıkta predominant olarak Th2 sitokin (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13) ile, patojene karşı direnç ya da eliminasyon ise Th1 sitokin profili (IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) gibi sitokin profili ile ilişkilidir (5,6). Yapılan çalışmalar HPV enfeksiyonları da dahil temel viral enfeksiyonlarda miks tip immün yanıtında olabileceğini göstermiştir (7-9,25,26,30,36-43). Ancak son zamanlarda HPV enfeksiyonlu kadınlarda Th1(hücre sel) ve Th2 (hü moral) immünoregülasyonda mukozal alanlarda Th1 ‘den Th2’ye geçiş olduğuna dikkate çekilmiştir (91,92). Prospektif bir çalışmada yüksek onkojenik riskli HPV enfeksiyonlarında HPV enfeksiyonu klirensi ya da persistansı ile serum sitokin düzeyleri (93) ve sitokin gen polimorfizmleri(19) arasında ilişki bulunamamıştır.

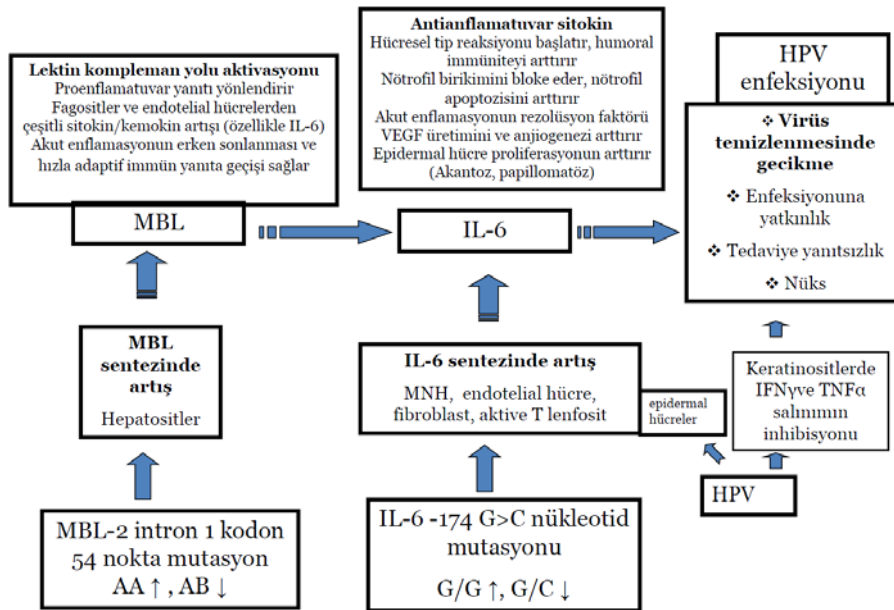
HPV’e karşı immün yanıt lokal hücre sel immünite ağırlıklıdır. Hücre sel immün yanıt lezyonların gerilemesini ve serum nötralizan antikor gelişimini sağlar. Virüse karşı uzun süreli spesifik immünite gelişiminde efektör, yardımcı ve düzenleyici hücreler olarak T hücreleri temel hücrelerdir. Rekürrent, peristans gösteren ya da tedaviye dirençli olgularda Tc ve Th1 sitokin yanıtının azaldığı, Th2 yanıtını da enfeksiyonu sınırlamada yetersiz kaldığı düşünülmektedir (94-96). Özellikle T hücreleri baskılanmış hastalarda artmış HPV insidansı CD4<sup>+</sup> ve /veya CD8<sup>+</sup> T hücre cevaplarının HPV enfeksiyonunun kontrolünde önemli rol oynadığını düşündürmektedir (97). Woodworth ve Simson (37) *in vitro* olarak kültüre keratinositlerden HPV uyarımıyla sitokin sekresyonunun düzenlendiğini bildirmişlerdir. Üstelik Malejczyk ve ark. (38) HPV ile enfekte olmuş keratinositlerde otokrin TNF- $\alpha$ ’nın viral replikasyonu baskıladığını göstermiştir. Viac ve ark. (98,99) TNF- $\alpha$  ekspresyonu ile adhezyon molekülleri ve HLA-DR ekspresyonları arasında

korelasyondan bahsetmiştir. Ayrıca IFN'lar rekalsitran genital verrülerde biyolojik ajan düzenleyicisi olarak kullanılmaktadır (100,101). Sonuçta ekzojen yolla ya da enflamatuvar hücrelerden ve papilloma hücrelerinden köken alan sitokinler papilloma gelişiminde ve konak immünsurveyansında temel rol oynayabilir (16). Kondilomata aküminatalı hastalarda lezyonlarda hücreyel immün yanıtın baskılandığını gösteren bulgular da saptanmıştır. Bu olgularda hücreyel IL-10'un arttığı, antijen prezentasyonunun ve dendritik hücre sayısının azaldığı, immünsüpresif T regülator hücre popülasyonunun arttığı gözlenmiştir (83). Benzer şekilde periferal kanda da Th1, Tc1 hücre, Th1/Th2 oranında azalma saptanmıştır. Özellikle relaps olan hastalarda Th1/Th2 oranındaki azalmaya ve Foxp3+CD4+CD25+ regülator T hücrelerinin (Treg; Th1 ve Th2 hücrelerin proliferasyonu / sitokin salınımını baskılar ve Tc hücre-CD8+T hücresi) cevabını baskılar) artmasının viral klirenste gecikmeye neden olduğuna dikkat çekilmiştir (83,94).

IL-6, aktive olmuş mononükleer fagositler, endotelial hücreler, fibroblastlar ve aktive olmuş lenfositlerden salınır. Antienflamatuvar bir sitokindir. Hücreyel tip reaksiyonu baskılar, humoral immüniteyi indükler. Nötrofil birikimini bloke eder ve nötrofil apoptozisini de düzenlemektedir. IL-6 proenflamatuvar ve antienflamatuvar olaylarla dengelenen akut enflamasyon için bir rezolüsyon faktörü olarak tanımlanmaktadır. IL-6 akut faz yanıtında önemli rol oynar ve akut-kronik enflamasyondaki düzeylerinin farklılık göstermesi nedeniyle hastalık progresyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir (102). *In vivo* çalışmalarda IL-6'nın vascular endothelial growth factor (VEGF) upregülasyonu yolu ile anjiyogenik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (102). En sık promotör bölge polimorfizmi IL-6-174 G>C görülmektedir. Homozigot CC aleli düşük IL-6 üretimine neden olurken, homozigot G/G aleli yüksek IL-6 üretimine neden olur (102) İmmünsüpresif etkileri ön planda olan Th2 sitokinlerinden IL-6'nın kondilomata aküminatalı olgularda homozigot G/G allelik varyasyonu hastalığa yatkınlık, hastalığın progresyonundan ya da relapslarından sorumlu olabilir. MBL'nin yabancı mikroorgaizmaların hızla temizlenmesi yanında IL-6 üretimini arttırarak akut enflamasyonun erken sonlandırıp hızla adaptif immün yanıtı geçişi hızlandırabilir (103). Gerçekten de persistan genital yüksek onkojenik (104-107) ve düşük onkojenik HPV (107,108) enfeksiyonlarında artmış serum IL-6 düzeyleri ile yakından ilişkilendirilmiştir. IL-6 düzeylerini HPV DNA persistansında bir marker olarak kullanılabileceğinden bahsedilmiştir (104).

Çalışma hastalarımızda IL-6 G/G genotipinin daha fazla görülmesinin sonucu olarak hasta grubunda IL-6 ekspresyonunun daha fazla olduğu şeklinde yorumlanmış ya da öngörülmüştür. Kondilomata aküminata hastalarında lezyonlu alanda artmış IL-6

ekspresyonu, HPV'nin epidermal hücrelerden IL-6 gen ekspresyonunu arttırdığını düşündürmektedir. Bu hastalarda lezyonlu alanda epidermal sitokin üretiminde normale göre farklılıklar olabilir. Ayrıca IL-6 epidermal hücre proliferasyonu esnasında da önemli esansiyel faktörlerden biri de olabilir (107). Lezyonlu alanda artmış IL-6 mRNA ekspresyonu aşırı artmış epidermal hücre proliferasyonu ile sonuçlanabilir (107,108). Ayrıca IL-6'nın, yukarıda bahsettiğimiz anjiojenik aktiviteye sahip olduğu da düşünülmektedir(102,105). IL-6 ekspresyonundaki bu değişiklikler anogenital HPV enfeksiyonlarındaki akantoz, papillomatozis ve vasküler değişiklikleri de açıklar görünmektedir. Hasta grubunda MBL-2 için AA genotipinin daha fazla görülmesi, hasta grubunda MBL serum düzeyinin daha fazla olduğu şeklinde öngörülmüştür(63-66). MBL-2 gen polimorfizmi ile ilgili HPV enfeksiyonuna artmış eğilimi şu şekilde açıklanabilir; HPV'nin zarfsız bir virüs olmasından dolayı, MBL ilişkisinin zarflı diğer virüslerdeki gibi olup olmadığı bilinmemektedir. MBL, MBL-MASP kompleksi ile lektin kompleman yolunu aktive edip yabancı enfeksiyon ajanının temizlenmesinde yardımcı olurken bir yandan da proenflamatuvar yanıtı yönlendirecek şekilde fagositler ve vasküler endotelial hücrelerden, çeşitli sitokin ve kemokinlerin düzeyini artırarak (en fazla IL-6 olmak üzere), IL-6'nın hücrel immün cevabı baskılaması, nötrofil akümüilasyonunu önlemesi ve akut enflamasyonun erken sonlanmasına yol açarak, virüsün temizlenmesini geciktirmiş olabileceği de düşünülebilir. Literatür verilerine dayanarak IL-6 G/G ve ve MBL-2 AA gen polimorfizmlerinin anogenital HPV enfeksiyonlarında olası etki ve sonuçları Şekil-13'de şematize edilmiştir(63-67, 102-108).



Şekil-13. IL-6 için G/G ve ve MBL-2 için AA gen polimorfizmlerinin anogenital HPV enfeksiyonlarında olası etki ve sonuçları (63-67, 102-108).

Sonuçta IL-6 (-174) için genotip G/G ve MBL-2 için genotip AA gen polimorfizmleri ile ilişkili mekanizmalar sonucu oluşan immün disregülasyon, anogenital HPV enfeksiyonlarının oluşmasına, rekürrensine ya da tedaviye dirençli olmasına neden olabilir. Ancak bu gen polimorfizmlerinin anogenital HPV enfeksiyonları ilişkisinin geniş vaka kontrollü çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir. Sitokin gen polimorfizm profilinin belirlenmesinde farklılıklar etnisiteye bağlı olabilir. Kontrollü çalışmalarda bu farklılıklar etnik yapı dikkate alınarak saptanabilecektir.

## 6. EKLER

### **6.1 Kısaltmalar ve açıklamalar**

**HPV** : Human papillomavirüs  
**IL-2**: İnterlökin 2  
**IL-4**: İnterlökin 4  
**IL-6**: İnterlökin 6  
**IL-10**: İnterlökin 10  
**IL-13**: İnterlökin 13  
**IFN- $\gamma$**  : İnterferon gama  
**TNF- $\alpha$** : tümör nekrozis faktör alfa  
**A**:Adenin nükleotid, **C**:Sitozin nükleotid, **T**:Timin nükleotid, **G**:Guanin nükleotid  
**TGF- $\beta$ 1**: Transforming growth factor beta 1  
**Th1**: T helper 1 hücresi  
**Th2**: T helper 2 hücresi  
**Tc**: Sitotoksik T hücresi  
**CD4**: Cluster of differantiation 4, yardımcı T hücresi  
**CD8**: Cluster of differantiation 8, sitotoksik T hücresi  
**Treg**: Regulator T hücresi  
**ICAM-1**: Intercellular adhesion molecule-1  
**VEGF**: Vascular endothelial growth factor  
**MBL**: Mannose binding lectin  
**MHC** : Major doku uyumluluk kompleksi  
**HLA**- Human leukocyte antigen  
**HLA-DMA**: HLA-D bölgesinde DQ ve DP arasındaki gen bölgesi alfa zincir  
**HLA-DMB**: HLA-D bölgesinde DQ ve DP arasındaki gen bölgesi beta zincir  
**EV** : Epidermodisplazia verrusiformis  
**DNA** : Deoksiribonükleik asit  
**RNA** : Ribonükleik asit  
**mRNA**- Messenger RNA  
**PCR** : Polimeraz zincir reaksiyonu  
**HIV** : İnsan immünyetmezlik virüsü  
**HBV**: Hepatit B virüs  
**HCV**: Hepatit C virüs  
**HSV**: Herpes simpleks virus  
**CIN** : Servikal intraepitelyal neoplazi  
**VIN** : Vulval intraepitelyal neoplazi  
**VAIN**: Vaginal intraepitelial neoplazi  
**VLP**-virus benzeri partikül  
**PIN**: Penil intraepitelial neoplazi  
**AIN**: Anal intraepitelial neoplazi  
**kD**- Kilodalton  
**Bp**: Base pair  
**ORF**-Open reading frame  
**URR**-Upstream regulatory region  
**LCR**: Long control region  
**E1-8**: Early(Erken) protein 1-8  
**L1-L2**- Late (Geç) protein 1 ve 2  
**Rb**: Retinoblastoma proteini  
**RFLP** : Restriction fragment length polimorphism

**TAP-1:**Transport ile ilişkili protein-1  
**ABD :** Amerika Birleşik Devletleri  
**TLR:** Toll like receptor  
**MNH:** Mononükleer hücre  
**NK:** Natural killer cell  
**EGF:** Epidermal Growth Factor  
**PDGF:** Platelet-Derived Growth Factor  
**CCL3-C-C:** Motif kemokin (önceki adı MIP1 $\alpha$ ),  
**CCL5-C-C:** Motif kemokin 5 (önceki adı RANTES),  
**CCL20-C-C:** Motif kemokin 20 (önceki adı MIP3 $\alpha$ ),  
**CXCL8-C-X-C:** Motif kemokin (önceki adı IL-8),  
**CXL10-C-X:** Motif kemokin 10  
**CCR5 delta 32:** Human chemokine receptor 5 delta 32  
**CMI:** Cellular mediated immunity  
**MASP:** MBL ilişkili serin proteaz  
**SNP:** Single nucleotid polymorphism  
**SSP:** Single specific primer  
**E2F:** Rb ile ilişkili epidermal transkripsiyon faktör  
**NCBI:** National Center for Biotechnology Information  
**FDA:**Food Drug Administration  
**FISH:** Filter in-situ hibridizasyon  
**TCA:**Triklorasetik asit  
**DNCB:** Dinitroklorobenzen  
**DPCP:** Difenilsiklopropenon  
**SADBE:** Skuarik asit dibütil ester  
**GM-CSF:** Granulosit monosit koloni sitimüle edici faktör  
**M-CSF:** Monosit koloni sitimule edici faktör  
**G-CSF:** Granulosit koloni sitimule edici faktör  
**SP-A:** Surfaktan proteini A  
**SP-D:** Surfaktan proteini D  
**SNP1 ve 2:**Single nucleotid polymorphism 1 ve 2  
**CRD:** Carbohydrate recognition domain  
**C1, C2, C3, C4...C9** Kompleman 1,2,3,4....9  
**Gly:** Glisin  
**Asp:** Aspartik asit  
**Glu:** Glutamik asit  
**Arg:** Arjinin  
**Cys:** Sistein  
**dNTP:** Deoksinükleotid trifosfat  
**MgCl<sub>2</sub>:** Magnezyum klorür  
**EtBr:** Etidyum bromür  
**TBE:** Tris borat

## 6.2. Hasta grubu sitokin ve MBL gen polimorfizm genotipleri

No	<u>ADISOYADI, PROTOKOL NO</u>	<u>TNF-<math>\alpha</math></u>	<u>TGF-<math>\beta</math></u>	<u>IL-10</u>	<u>IL-6</u>	<u>IFN-<math>\gamma</math></u>	<u>MBL</u>
1	B.A. J 552528	G/G	T/C G/G	ACC/ATA	G/G	A/A	AA
2	F.K. 91772	G/A	T/C G/G	GCC/ATA	C/C	T/T	AA
3	G.B. 685027	G/G	C/C G/G	GCC/ACC	G/G	T/A	BB
4	G.B. 326508	G/A	T/C G/G	ATA/ATA	G/G	T/A	AB
5	F. A. 66869	G/A	T/T G/G	GCC/GCC	G/G	T/T	AA
6	C.K. 921574	G/G	T/C G/C	ACC/ATA	C/C	A/A	AA
7	B.Ö. 698098	G/G	T/T G/G	GCC/ACC	G/C	T/A	AA
8	S.D. 674921	G/G	T/T G/G	GCC/ATA	G/C	T/T	AA
9	G.K. 898939	G/G	C/C G/G	ACC/ATA	G/G	T/A	AA
10	M.A. 756344	G/G	T/C G/G	ACC/ACC	G/C	T/A	AB
11	H.T. 247617	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/C	A/A	AB
12	H.E. 8169	G/G	C/C G/G	GCC/ATA	G/G	T/A	AB
13	O.C. 37376	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/G	T/A	AB
14	E.K. 796825	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/C	T/A	AA
15	Z.K. 751521	G/G	T/T G/G	GCC/ATA	G/G	T/A	AA
16	M.U. 916288	G/G	T/C G/G	ATA/ATA	G/G	A/A	AA
17	G.Ü. 615603	G/G	C/C G/C	ATA/ATA	G/G	T/A	AA
18	G.A. 714573	G/G	T/T G/G	ACC/ATA	G/G	T/T	AA
19	Y.Y. 457243	G/A	T/C G/G	ATA/ATA	G/C	T/A	BB
20	H.A. 427341	G/G	T/C G/G	ACC/ACC	G/G	T/A	AA
21	S.B. 427910	G/G	C/C G/G	ACC/ACC	G/G	T/A	AB
22	Y.K. 297595	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/G	T/A	*
23	Ö.A. 318139	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/G	T/A	AA
24	K.G. 887594	G/G	T/C G/G	GCC/GCC	G/G	T/A	AA
25	Ş.A. 683645	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/C	T/A	AA
26	Ö.G. 888955	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/G	T/T	AA
27	S.I.Y 855944	G/G	C/C G/G	GCC/GCC	G/G	A/A	AA
28	K.Y. 843030	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/C	T/A	AA
29	A.A 767551	G/G	T/T G/G	ACC/ATA	G/G	T/A	AA
30	S.A 731835	G/A	T/C G/G	ACC/ACC	G/C	T/A	AA
31	H.S. 85617	G/G	T/C G/G	GCC/GCC	G/G	T/A	AB
32	İ. K. 497402	G/A	T/C G/G	ATA/ATA	G/C	T/T	AA
33	F.E. 525175	G/G	T/C G/G	ACC/ATA	G/C	T/T	AA
34	H.Ç. 536431	G/G	C/C G/G	ACC/ACC	G/C	A/A	AA
35	Z. Ö. 389296	G/G	T/C G/G	ACC/ATA	G/G	A/A	AA
36	M.A.T 584155	G/A	T/C G/G	GCC/ATA	C/C	T/T	AA
37	M.A. 324398	G/G	T/T G/G	ATA/ATA	G/G	A/A	AA
38	E.Ö. 534128	G/G	T/T G/G	ACC/ATA	G/C	T/T	AA
39	M.Ç. 781808	G/G	C/C G/G	GCC/ATA	G/C	A/A	AA
40	E. Ö. 14160	G/A	T/C G/G	GCC/ACC	G/C	T/A	AA

\*. Teknik nedenlerden dolayı MBL gen polimorfizmi 39 hastada yapılabilmıştır.

### 6.3. Kontrol grubu sitokin ve MBL gen polimorfizm genotipleri

No	<u>ADI SOYADI, PROTOKOL NO</u>	<u>TNF-<math>\alpha</math></u>	<u>TGF-<math>\beta</math></u>	<u>IL-10</u>	<u>IL-6</u>	<u>IFN-<math>\gamma</math></u>	<u>MBL</u>
1	M.K. 865462	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/G	T/A	AB
2	Y.Y. 137435	G/G	T/C G/C	ACC/ATA	G/C	T/A	AA
3	S.S. 368151	G/A	C/C G/G	GCC/GCC	G/G	A/A	AA
4	N.K. 766235	G/G	T/C G/C	GCC/ACC	G/C	A/A	AA
5	S.D. 445829	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/C	T/T	AA
6	B.K. 923006	G/G	T/T G/G	ACC/ATA	G/G	A/A	AA
7	S.Y. 338926	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	C/C	T/T	AA
8	Y.A. 782340	G/A	T/C G/G	GCC/GCC	G/G	A/A	BB
9	F.Ö. 235123	G/G	T/C G/G	ACC/ATA	C/C	T/A	AA
10	F.S. 411967	G/G	T/C G/C	GCC/ATA	G/C	T/A	AB
11	Y.B. 409128	G/G	G/C G/G	ATA/ATA	G/C	A/A	AA
12	C.D. 476976	G/A	T/T G/G	GCC/ACC	G/G	T/A	AA
13	N.Ş. 79473	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/G	T/A	AA
14	S.S.T. 35033	G/G	T/T G/G	ACC/ACC	G/G	T/A	AA
15	A.I. 923070	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	C/C	T/A	AB
16	G.Ö. 923093	G/G	T/T G/G	GCC/ACC	G/C	A/A	AB
17	E. K. 689684	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/G	A/A	AA
18	S.V. 409398	G/G	T/T G/G	ACC/ATA	G/C	T/A	AB
19	S.O.T. 656218	G/G	T/T G/G	GCC/ATA	G/C	T/A	AB
20	F.C. 145188	G/G	T/C G/G	ACC/ATA	G/G	T/A	AA
21	Z.Ç. 825124	G/G	T/C G/C	GCC/ATA	G/C	T/T	AA
22	L.T. 34696	G/G	T/C G/G	ATA/ATA	G/C	T/T	AB
23	G.D. 116467	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/C	T/A	AA
24	İ. E. 494218	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/C	T/T	AA
25	S.Ö. 508358	G/A	C/C G/G	ACC/ATA	G/G	T/T	AB
26	S.M. 216272	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	C/C	T/T	BB
27	H.C. 723259	G/G	T/C G/G	ACC/ATA	C/C	A/A	AB
28	N.S. 555996	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	G/G	T/A	AA
29	S.K. 572302	G/A	T/C G/G	GCC/ATA	G/G	A/A	AA
30	H.Ö. 17398	G/G	C/C G/C	GCC/ATA	G/C	T/A	AA
31	C.A. 747971	G/G	T/T G/G	GCC/ATA	G/G	T/A	AA
32	C. T. 120821	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/G	T/T	AA
33	F.G. 524018	G/G	T/C G/G	GCC/ATA	G/G	T/A	AB
34	H.Ö. 855159	G/G	T/T G/G	ACC/ACC	G/C	T/T	AA
35	S.Ö. 302714	G/A	T/C G/G	ATA/ATA	G/C	T/A	AA
36	L.K. 625374	G/G	T/T G/G	ACC/ACC	G/C	T/A	AA
37	İ.K. 587100	G/G	T/C G/G	GCC/ACC	C/C	T/T	AA
38	İ. V. 468930	G/G	T/C G/G	GCC/GCC	G/G	T/A	AA
39	S. A. 9571	G/G	C/C G/G	ACC/ATA	G/C	A/A	AB
40	H.D. 476975	G/G	C/C G/G	GCC/ACC	G/C	T/A	AA



## 7. KAYNAKLAR

1. LOWY DR, ANDROPHY EJ. Warts. Editors: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 6th. Edition, McGraw-Hill, New York, page 2119-2131, 2003.
2. TYRING SK. Human papillomavirus infections: Epidemiology, pathogenesis, and host immune response. *J Am Acad Dermatol*, 43:18-26, 2000.
3. DUPIN N. Genital warts. *Clin Dermatol*, 22:481-486, 2004.
4. AHMED AM, MADKAN V, TYRING SK. HPV and genital disease. *Dermatol Clin*, 24:157-165, 2006.
5. PIRMEZ C, YAMAMURA M, UYEMURA K, , PAES-OLIVERIA M, CONCEIÇÃO-SILVA F, MODLIN RL. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. *J Clin Invest*, 91 :1390-1395, 1993.
6. YAMAMURA M, UYEMURA K, DEANS RJ, WEINBERG K, REA TH, BLOOM BR, MODLIN RL. Defining protective responses to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions. *Science*, 254 : 277-279, 1993.
7. BIRON CA. Cytokines in the regulation of immune responses to, and resolution of virus infection. *Current Opin Immunol*, 6 :530-538, 1994.
8. CARDING SR, ALLAN W, MCMICKLE A, DOHERTY PC. Activation of cytokine genes in T cells during primary and secondary murine influenza pneumonia. *J Exp Med*, 177 : 475-482, 1993.
9. SARAWAR SR, DOHERTY PC. Concurrent production of interleukin-2, interleukin 10, and gamma interferon in the regional lymph nodes of mice with influenza pneumonia. *J Virol*, 68:3112-3119, 1994.
10. FUJITA T. Evolution of the Lectin-Complement Pathway and Its Role in Innate Immunity. *Nature Rev Immunol*, 2: 346-353, 2002.
11. TURNER MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol*, 40:423-429, 2003.
12. EISEN DP, MINCHINTON RM. Impact of mannose-binding lectin on susceptibility to infectious diseases. *Clin Infect Dis*, 37:1496-1505, 2003.
13. PRAVICA V, ASDERAKIS A, PERREY C. In vitro production of IFN- $\gamma$  correlates with CA repeat polymorphism in IFN- $\gamma$  gene. *Eur J Immunogenet*, 26:1-3,1999.
14. KEEN LJ. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transplant Immunol*, 10;143-146, 2002.
15. FISHMAN D, FAULDS G, JEFFERY R, MOHAMED-ALI V, YUDKIN JS, HUMPHRIES S, WOO P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest*, 102:1369-1376, 1998.
16. AWAD MR, WEBBER S, BOYLE G, STURCHIOË C, AHMED M, MARTELL J, LAW Y, MILLER SA, BOWMAN P, GRIBAR S, PIGULA F, MAZARIEGOS G, GRIFFITH BP, ZEEVI A. The effect of cytokine gene polymorphisms on pediatric heart allograft outcome. *J Heart Lung Transplant*, 20:625-630, 2001.
17. AKALIN E, MURPHY B. Gene polymorphisms and transplantation. *Current Opinion Immunology*, 13:572-576, 2001.
18. IANNITTI T, PALMIERI B. Inflammation and genetics: an insight in the centenarian model. *Hum Biol*, 83:531-559, 2011.
19. FERNANDES AP, GONÇALVES MA, SIMÕES RT, MENDES-JUNIOR CT, DUARTE G, DONADI EA. A pilot case-control association study of cytokine polymorphisms in Brazilian women presenting with HPV-related cervical lesions. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol*, 40:241-214, 2008.

20. GUIMARAES V, GUIMARAES R, BRANDAO L, BALDEZ DA SILVA MF, MILANESE M, SEGAT L, CASTELLETTI H, BRUNESKA D, DE LIMA FILHO JL, DE FREITAS AC, ARRAES LC, ROCHA C, CROVELLA S. Association between *MBL2* gene functional polymorphisms and high-risk human papillomavirus infection in Brazilian women. *Hum Immunol*, 69:273-278, 2008
21. SEGAT L, CROVELLA S, COMAR M, MILANESE M, ZANOTTA N, FABRIS A, TREVISIOL C, ROSSI T, DE SETA F, CAMPELLO C. *MBL2* gene polymorphisms are correlated with high-risk human papillomavirus infection but not with human papillomavirus-related cervical cancer. *Hum Immunol*, 70:436-439, 2008.
22. TSAI CC, LIN TM, YOU HL, ENG HL. Mannose-binding lectin in high-risk human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol*, 200:618.e1-e6, 2009.
23. PAAVONEN J. Human papillomavirus infection and the development of cervical cancer and related genital neoplasms. *Int J Infec Dis*, 11:53-59, 2007.
24. STEBEN M, DUARTE-FRANCO E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecologic Oncology*, 107:2-5, 2007.
25. FRAZER IH. Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: A well evolved relationship. *Virology*, 384:410-414, 2009.
26. MCCANCE D. Papillomaviruses. Editors: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, Principles and Practice of Clinical Virology, 6th edition,., Wiley –Blackwell, Oxford, page 807-822, 2009.
27. DE VILLIERS EM, FAUQUET C, BROKER TR, BERNARD HU, ZUR HAUSEN H. Classification of papillomaviruses. *Virology*, 324:17–27, 2004.
28. MONK BJ, TEWARI KS. The spectrum and clinical sequelae of human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol*, 107:6-13, 2007.
29. HOWLEY PM, LOWY DR. Papillomaviruses. Editors: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Fields Virology, 4th edn. Lippincott-Raven, Philadelphia, page 2300–2355, 2007.
30. MCMURRAY HR, NGUYEN D, WESTBROOK TF, MCANCE DJ. Biology of human papillomaviruses. *Int J Exp Path*, 82:15-33, 2001.
31. KIRNBAUER R, BOOY F, CHENG N, LOWY DR, SCHILLER JT. Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:12180–12184, 1992.
32. KIRNBAUER R. Papillomavirus-like particles for serology and vaccine development. *Intervirology*, 39:54–61, 1996.
33. EGAWA K, IFTNER A, DOORBAR J, HONDA Y, IFTNER T. Synthesis of viral DNA and late capsid protein L1 in parabasal spinous cell layers of naturally occurring benign warts infected with human papillomavirus type 1. *Virology*, 268:281–293, 2000.
34. SHAFTI-KERAMAT S, HANDISURYA A, KRIEHLER E, MENEGUZZI G, SLUPETZKY K, KIRNBAUER R. Different heparan sulfate proteoglycans serve as cellular receptors for human papillomaviruses. *J Virol*, 77:13125–13135, 2003.
35. LONGWORTH MS, LAIMINS LA. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev*, 68:362–372, 2004.
36. STANLEY MA, CHAMBERS MA, COLEMAN N. Immunology of human papillomavirus infection. Editor: Mandel A, Genital warts. Human papillomavirus infection. Edward Arnold, London Boston Melbourne Auckland, page 252–270, 1995.
37. WOODWORTH CD, SIMPSON S. Comparative lymphokine secretion by cultured normal human cervical keratinocytes, papillomavirus-immortalized, and carcinoma cell lines. *Am J Pathol*, 42:1544-1555, 1993.
38. MALEJCZYK J, MALEJCZYK M, KICK A, URBANSKI A, MAJEWSKI S, HUNZELMANN N, JABLONSKI S, ORTH G, LUGER T. Autocrine growth

- limitation of human papillomavirus type 16-harboring keratinocytes by constitutively released tumor necrosis factor alpha. *J Immunol*, 149:2702–2708, 1992.
39. KIRNBAUER R, HUBBERT NL, WHEELER CM, BECKER TM, LOWY DR, SCHILLER JT. A virus-like particle enzyme-linked immunosorbent assay detects serum antibodies in a majority of women infected with human papillomavirus type 16. *J Natl Cancer Inst*, 86:494–499, 1994.
  40. EINSTEIN MH, SCHILLER JT, VISCIDI RP, STRICKLER HD, COURSAGET P, TAN T, HALSEY N, JENKINS D. Clinician's guide to human papillomaviruses immunology : known and unknowns. *Lancet Infect Dis*, 9 :347-356, 2009.
  41. STANLEY M. Immunobiology of genital HPV infection. *CME Journal of Gynecologic Oncology*, 14:36-43, 2009.
  42. FRAZER IH. Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: A well evolved relationship. *Virology*, 384:410-414, 2009.
  43. STANLEY M. Immune responses to sexually transmitted HPV infection. Editors: Gross G, Tyring SK, *Sexually Transmitted Infections and Sexually Transmitted Diseases*, 1st ed ,Springer Verlag, Berlin Heidelberg, page 441-456, 2011.
  44. MUÑOZ N, BOSCH FX, DE SANJOSÉ S, HERRERO R, CASTELLSAGUÉ X, SHAH KV, SNIJDERS PJ, MEIJER CJ; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER MULTICENTER CERVICAL CANCER STUDY GROUP. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*, 348:518–527, 2003
  45. STUBENRAUCH F, LAIMINS LA. Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Semin Cancer Biol*, 9:379–386, 1999.
  46. VON KROGH G, LACEY CJN, GROSS G, BARRASSO R, SCHNEIDER A. European course on HPV associated pathology: guidelines for primary care physicians for the diagnosis and management of anogenital warts. *Sex Transm Infect*, 76:162–168, 2000.
  47. SMITH AJ, HUMPHRIES SE. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine Growth factor Rev*, 20:43-59, 2009.
  48. KILIÇTURGAY K. İmmunolojiye giriş. 2. baskı, Güneş Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, sayfa 147-167, 1997.
  49. GÜNER I, ÖZMEN D, BAYINDIR O. Sitokinler. *T Klin J Med Sci*, 17:65-74, 1997.
  50. HOLLEGAARD MV, BIDWELL JL. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 3. *Genes and Immunity*, 7:269-276, 2006
  51. HUTH C, ILLIG T, HERDER C, GIEGER C, GRALLERT H, VOLLMERT C, RATHMANN W, HAMID YH, PEDERSEN O, HANSEN T, THORAND B, MEISINGER C, DORING A, KLOPP N, GOHLKE H, LIEB W, HENGSTENBERG C, LYSSSENKO V, GROOP L, IRELAND H, STEPHENS JW, WERNSTEDT ASTERHOLM I, JANSSON JO, BOEİNG H, MOHLIG M, STRINGHAM HM, BOEHNKE M, TUOMILEHTO J, FERNANDEZ-REAL JM, LOPEZ-BERMEJO A, GALLART L, VENDRELL J, HUMPHRIES SE, KRONENBERG F, WICHMANN HE, HEID IM. Joint analysis of individual participants' data from 17 studies on the association of the IL-6 variant 174 G>C with circulating glucose levels, interleukin-6 levels, and body mass index. *Ann Med*, 41:128-138, 2009
  52. TURNER DM, WILLIAMS DM, SANKARAN D, LAZARUS M, SINNOTT PJ, HUTCHINSON IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet*, 24:1-8, 1997.
  53. BAYLEY JP, OTTENHOFF TH, VERWEIJ CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun*, 5:315-329, 2004.

54. PRAVICA V, PERREY C, STEVENS A, LEE JH, HUTCHINSON IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immunol*, 61:863-866, 2000.
55. GRAINGER DJ, HEATHCOTE K, CHIANO M, SNIEDER H, KEMP PR, METCALFE JC, CARTER ND, SPECTOR TD. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type beta1. *Hum Mol Genet*, 8:93-7, 1999.
56. GÜNEŞAÇAR R, TAŞTEMİR D, YILDIRIM A, NACİYE E. Mannoz bağlayıcı lektinin yapısı, fronsiyonu, moleküler genetiği, hastalık ilişkisi ve terapötik potansiyeli. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 31:1250-1261, 2011.
57. TURNER MW. Mannose-binding lectin(MBL) in health and disease. *Immunobiology*, 199:327-339, 1998.
58. GARRED P, LARSEN F, MADSEN HO, KOCH C. Mannose-binding lectin deficiency-revised. *Mol Immunol*, 40:73-84, 2003.
59. DOMMETT RM, KLEIN N, TURNER MW. Mannose-binding lectin in innate immunity; past, present and future. *Tissue Antigens*, 68:193-209, 2006.
60. SCELL M, LETT E, HOLVECK F, SCHÖLLER M, WACHSMANN D, KLEIN JP. Activation of human monocytes by streptococcal rhamnose glucose polymers is mediated by CD14 antigen, and manan binding protein inhibits TNF-alpha release. *J Immunol*, 54:851-860, 1995.
61. CHAKA W, VERHEUL AF, VAISHNAV VV, CHERNIAK R, SCHARRINGA J, VERHOEF J, SNIPPE H, HOEPELMAN AI. Induction of TNF-alpha in human peripheral blood mononuclear cells by the mannoprotein of *Cryptococcus neoformans* involves human mannose binding protein. *J Immunol*, 159:2979-2985, 1997.
62. KILPATRICK DC. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfus Med*, 12:335-352, 2002.
63. MADSEN HO, GARRED P, KURTZHALS JA, KURTZHALS JA, LAMM LU, RYDER LP, THIEL S, SVEJGAARD A. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics*, 40:37-44, 1994.
64. SUMIYA M, SUPER M, TABONA P, TABONA P, LEVINSKY RJ, ARAI T, TURNER MW, SUMMERFIELD JA. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet*, 337:1569-1570, 1991.
65. LIPSCOMBE RJ, SUMIYA M, HILL AV, LAU YL, LEVINSKY RJ, SUMMERFIELD JA, TURNER MW. High frequencies in African and non-African populations of independent mutations in the mannose binding protein gene. *Hum Mol Genet*, 1:709-715, 1992.
66. LIPSCOMBE RJ, SUMIYA M, SUMMERFIELD JA, TURNER MW. Distinct physicochemical characteristics of human mannose binding protein expressed by individuals of differing genotype. *Immunology*, 85:660-667, 1995.
67. LEIGH J, KEEN L. The extend analysis of cytokine and receptor gene polymorphism. *Transplantation Immunology*, 10:143-146, 2002.
68. TURNER MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol* 2003; 40: 423-429.
69. NAITO H, IKEDA A, HASEGAWA K, OKA S, UEMURA K, KAWASAKI N, KAWASAKI T. Characterization of human serum mannan binding protein promoter. *J Biochem*, 126:1004-1012, 1999.
70. BIDWELL JL, WOOD NA, MORSE HR, OLOMOLAIYE OO, KEEN LJ, LAUNDY GJ. Human cytokine gene nucleotide sequence alignments. *Eur J Immunogenet*, 26:135-223, 1998.

71. BIDWELL J, KEEN L, GALLAGHER G, KIMBERLY R, HUIZINGA T, MCDERMOTT MF, OKSENBERG J, MCNICHOLL J, POCIOT F, HARDT C, D'ALFONSO S. Cytokine gene polymorphism in human disease: online database. *Genes Immun*, 2:61-70, 2001.
72. QIDWARI T, KHAN F. Tumor necrosis factor gene polymorphism and disease prevalence. *Scand J Immunol*, 74:522-547, 2011.
73. HAUKIM N, BIDWELL JL, SMITH AJ, KEEN LJ, GALLAGHER G, KIMBERLY R, HUIZINGA T, MCDERMOTT MF, OKSENBERG J, MCNICHOLL J, POCIOT F, HARDT C, D'ALFONSO S. Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases, supplement 2. *Genes Immun*, 3:313-330, 2002.
74. PRAVICA V, PERREY C, STEVENS A, LEE JH, HUTCHINSON IV. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immunol*, 61:863-866, 2000.
75. STANCZUK GA, SIBANDA EN, TAWANA SA, BREGSTROM S. Polymorphism at the -308 promoter position of the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and cervical cancer. *IntJ Gynecol Cancer*, 3:148-153, 2003.
76. GOVAN VA, CARRARA HR, SACHS JA, HOFFMAN M, STANCZUK GA, WILLIAMSON AL. Ethnic differences in allelic distribution of IFN- $\gamma$  in South African women but no link with cervical cancer. *J Carcinog*, 2:3-7, 2003.
77. MATSUMOTO K, OKI A, SATOH T, OKADA S, MINAGUCHI T, ONUKI M, OCHI H, NAKAO S, SAKURAI M, ABE A, HAMADA H, YOSHIKAWA H. Interleukin-10-1082 gene polymorphism and susceptibility to cervical cancer among Japanese women. *Jpn J Clin Oncol*, 40:1113-1116, 2010.
78. FARZANEH F, ROBERTS S, MANDAL D, OLLIER B, WINTERS U, KITCHENER HC, BRABIN L. The IL-10-1082 G polymorphism is associated with clearance of HPV infections. *BJOG*, 113:961-964, 2006.
79. ROH JW, KIM MH, SEO SS ET AL. Interleukin-10 promoter polymorphisms and cervical cancer risk in Korean women. *Cancer Lett*, 184:57-63, 2002.
80. CASTRO FA, HAIMILA K, SARENEVA I, SCHMITT M, LORENZO J, KUNKEL N, KUMAR R, FÖRSTI A, KJELLBERG L, HALLMANS G, LEHTINEN M, HEMMINKI K, PAWLITA M. Association of HLA-DRB1, interleukin-6 and D1 polymorphisms with cervical cancer in the Swedish population-A candidate gene approach. *Int J Cancer*, 125:1851-1858, 2009.
81. STANCZUK GA, SIBANDA EN, PERREY C, CHIRARA M, PRAVICA V, HUTCHINSON IV, TSWANA SA. Cancer of the uterine cervix may be significantly associated with a gene polymorphism coding for increased IL-10 production. *Int J Cancer*, 94:792-794, 2001.
82. COLEMAN N, BIRLEY HD, RENTON AM, HANNA NF, RYAIT BK, BYRNE M, TAYLOR-ROBINSON D, STANLEY MA. Immunological events in regressing genital warts. *Am J Clin Pathol*, 102: 768-774, 1994.
83. LE POOLE C, DENMAN CJ, ARBISER JL. Immunosuppression may be present within condyloma acuminata. *J Am Acad Dermatol*, 9:967-974, 2008.
84. LU YF, ZOU YG. Relationship between genetic polymorphisms of interferon-gamma gene intron 1+874 site and recurrent Condyloma acuminata. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 31:3-5, 2009.
85. ZUO YG, WANG BX, LIU XR, ZHAO P, YAN QS. Relation between CCR5 gene polymorphism and condyloma acuminata. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 30:95-97, 2008.

86. YANG WL, YANG J, CHEN SQ, XIE FY, HUANG XY, YE T. HLA-DM gene polymorphism in cantonese with condyloma acuminata. *Nan fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 26:1014-1016, 2006.
87. MA Y, LIU T. Expression of interleukin 4 mRNA and interferon gamma mRNA of condyloma acuminata. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 24:368-369, 2008.
88. LU Y, GANG ZY. Relation between HLA-DQ1 polymorphism and condyloma acuminatum recurrence. *Chinese J Dermatol*, 42:851-852, 2009.
89. LU Y, GANG ZY. Preliminary study on the relationship between the Toll-like receptor 9(TLR9) gene polymorphism and condyloma acuminatum. *Chinese J Dermatol*, 44:322-325, 2011.
90. LU Y, GANG ZY. Relationship of Tap-1 allele gene polymorphism to recurrent condyloma acuminatum. *Chinese J Dermatol*, 43:339-341, 2010.
91. CLERICI M, SHEARER GM, CLERICI E. Cytokine dysregulation in invasive cervical carcinoma and other human neoplasias: time to consider the TH1/TH2 paradigm. *J Natl cancer Inst*, 90:261-263, 1988.
92. CROWLEY-NOWICK PA, ELLENBERG JH, VERMUMND SH, DOUGLES SD, HOLLAND CA, MOSCICKI AB. Cytokine profile in genital tract secretions from female adolescents. Impact of human immunodeficiency virus, human papillomavirus, and other sexually transmitted pathogens. *J Infect Dis*, 181:939-945, 2000.
93. HONG JH, KIM MK, LEE IH, KIM TJ, KWAK SH, SONG SH, LEE JK. Association between serum cytokine profiles and clearance or persistence of high-risk human papillomavirus infection: a prospective study. *Int J Gynecol Cancer*, 20:1011-1016, 2010.
94. XU Y, ZHU K.J, ZHU N, LANG DH, CHEN XZ, CHENG H. Expression of Foxp3+CD4-CD25+ regulatory T cells and Th1/Th2, Tc1/TC2 profiles in the peripheral blood of patients with condyloma acuminatum. *Clin Exp Dermatol*, 34:229-235, 2009.
95. GRASSEGER A, ROLLINGER-HOLZINGER I, ZEIGER BWH, HELM K, ZWIERZINA H, FRITSCH P, HÖPFL RM. Spontaneous or interferon-  $\gamma$ -induced T cell infiltration, HLA-Dr and ICAM-1 expression in genitoanal warts are associated with Th1 or mixed Th1/Th2 cytokine mRNA expression profiles. *Arch Dermatol*, 289:243-250, 1997.
96. LI L, ZHOU ZG., ZENG K, LIANG LP, ZHOU XY, YI ZS. Changes in peripheral blood Th1/Th2 cell balance in patients with condyloma acuminatum. *Di Yi Yun Yi Da Xue Xue Bao*, 23:737-739, 2003.
97. BENTON C, SHAHDULLAH H, HUNTER JAA. Human papillomavirus in the immunocompromised. *Papillomavirus Rep*, 3: 23-26, 1992.
98. VIAC J, CHARDONNET Y, EUVRARD S, SCHMITT D. Epidermotropism of T cells correlates with intercellular adhesion molecule (ICAM1) expression in human papillomavirus (HPV)-induced lesions. *J Pathol*, 168 :301-306,1992.
99. VIAC J, SCHMITT D, CLAUDY A. Expression of adhesion receptors in epidermal tumors: correlation with TNF alpha expressing cells. *Anticancer Res*, 15:551-555, 1995.
100. BLAAKAER J, Condylomata International Collaborative Study Group. Recurrent condylomata acuminata treated with recombinant interferon alpha-2a. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 73:223-226, 1993.
101. GROSS G. Recombinant interferon gamma in condylomata. *JAMA*, 266:2706, 1991.

102. HEINRIC PC, BEHRMANN I, HAAN S, HERMANNNS HM, MULLER-NEWEN G, SCHAPER F. Principles of interleukin(IL)-6 type cytokine signalling and its regulation. *Biochemistry Journal*, 374:1-20, 2003.
103. KANG HJ, LEE SM, LEE HH, KIM JY, LEE BC, YUM JS, MOON HM, LEE BL. Mannose-binding lectin without the aid of its associated serine proteases alters lipopolysaccharide-mediated cytokine/chemokine secretion from human endothelial cells. *Immunology*, 122: 335–342, 2007.
104. ROSA MI, MORAES MV, VUOLO F, PETRONILHO F, BOZZETTI MC, MEDEIROS LR, IGANSI CN, SILVA FR, DAL-PIZZOL F, ROSA DD. Association of interleukin-6 in women with persistence of DNA-HPV: a nested case-control study. *Arch Gynecol Obstet* 285:143-148, 2012.
105. WEI LH, KUO ML, CHEN CA, CHOU CH, LAI KB, LEE CN, HSIEH CY. Interleukin-6 promotes cervical tumor growth by VEGF-dependent angiogenesis via a STAT3 pathway. *Oncogene*, 22:1517-1527, 2003.
106. PARDO-GOVEA T, CALLEJAS D, NUNEZ TROCONIS J, ARAUJO M, COSTA L, PONS H, DELGADO M, MONSALVE F. Gamma interfron (IFN-gamma), tumor necrosis facyor alpha(TNF-alpha) and interleukins 2,4 and 6 (IL-2, IL-4, IL-6) in cervical uterine cells of intraepithelial neoplasia: a preliminary report. *Invest Clin*, 46:5-13, 2003.
107. HOUJUN L, ZHIXIANG L, CHANGZHENG H. Study on the expression of interleukin-6 mRNA in lesions of condyloma acuminatum. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2: 204-206, 2001.
108. LIANG N. Clinical Significance of measurement of serum IL-2, IL-6 and TNF- $\alpha$  levels before and after treatment in patients with condyloma acuminatum. *Labeled Immunoassays and Clinical Medicine*, 3:155-156, 2006.

## 8. TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimim boyunca her türlü desteği esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden her fırsatta yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Okan Töre'ye, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Güher Göral'a, tez çalışmamın yanı sıra birçok konuda yardım ve deneyimleri ile yakın ilgilerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Cüneyt Özakın'a, tüm çalışmam boyunca bilgi, deneyimlerinden faydalandığım laboratuvar imkanları sağlayan Prof. Dr. Barbaros Oral'a ve Doç.Dr. Ferah Budak'a, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Beyza Ener'e, Doktora eğitimi esnasında bilgilerinden faydalandığım Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, istatistiksel değerlendirmelerdeki katkılarından dolayı Doç. Dr. İlker Ercan'a, doktora eğitimi boyunca büyük destekleri olan başta Deri ve Zührevi Hastalıkları AD Başkanı Prof. Dr. Hayriye Sarıcaoğlu olmak üzere Anabilim Dalında görev yapan tüm öğretim üyelerine, teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamda laboratuvar deneyimlerinden faydalandığım Figen Aymak'a ve diğer immünoloji laboratuvarı çalışanlarına da teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştirip bugünlere getiren sevgili anne ve babama, akademik kariyerim boyunca her zaman arkamda olan ve destek veren sevgili eşime ve canım kızıma sonsuz teşekkürler sunarım.



## 8. ÖZGEÇMİŞ

<b>Ad ve Soyad:</b>	Kenan Aydoğan
<b>Doğum tarihi ve yeri:</b>	1 Nisan 1971, İzmir/Merkez
<b>İrtibat adresi:</b>	Tabiyeti: Türk Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları AD, 16059, Gorukle- Bursa-Turkiye. Tel: + 90 224 442 87 38 +90 224 295 07 12 Fax: +90 224 442 92 29 e-mail: <a href="mailto:aydogank@uludag.edu.tr">aydogank@uludag.edu.tr</a>
<b>Akademik Ünvan &amp; Departman</b>	Doçent Doktor, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları AD.
<b>Temel Eğitim</b>	İlk öğretim: Namık Kemal İlkokulu- İzmir Orta ve Lise eğitimi: Karataş Lisesi-İzmir
<b>Akademik eğitim: (Lisans &amp; Lisansüstü)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ 1994- Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi</li><li>○ 1999- Uzm. Dr. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD.</li><li>○ 2003-Yrd. Doç. Dr. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji AD..</li><li>○ 2010- Doç. Dr. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıkları AD.</li><li>○ 2006- Mikrobiyoloji Doktora öğrencisi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD</li></ul>
<b>Akademik ilgi konuları</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Cinsel yolla bulaşan hastalıklar</li><li>○ Enfeksiyöz dermatozlar</li><li>○ Fototerapi</li><li>○ Dermatocerrahi</li><li>○ Psikonöroimmünoloji</li><li>○ Enflamatuvar deri hastalıkları</li><li>○ Otoimmün dermatozlar ve bağ doku hastalıkları</li><li>○ Kutanöz onkoloji</li><li>○ Genodermatozlar</li></ul>