

Jinekolojik Neoplazilerde Viral Enfeksiyonların Yeri ve Klinik Önemi

CLINICAL IMPORTANCE OF VIRUSES IN GYNECOLOGIC NEOPLASMS

H.GÜNER, M.N.BARLAS

G.Ü.T.F. Kadın Hast, ve Doğum ABD

Papilloma Virüslerinin Özellikleri

Papilloma virüsler epitelyotropiktirler ve ciltte ve mukozada epitelyal veya fibroepitelyal proliferasyonu indüklerler. Genelde tümörler kendini sınırlarlar ve regrese olurlar, ancak uzun süren papillomlarda karsinom geliştiği bildirilmiştir.

Papilloma virüsler DNA içeren hayvan virüslerinden olan papova viridae grubundandır. Papilloma virus virionları zarf içermezler, ikozahedral kapsidleri vardır, sirküler çift sarmal DNA içerirler. Fare ve sığır papilloma virüsleri hakkında çok şey bilinmesine rağmen insan, papilloma virüsün detaylı moleküler karakterizasyonu, invitro olarak virüs üretecek uygun doku kültür sistemi olmadığından yapılamamıştır. Klinik spesmenlerden elde edilip klonlanan HPV DNA'lar çok sayıda papilloma virüsün tanımlanıp bütün nükleotid dizilerinin tesbit edilmesini sağlamışlardır. Bu çalışmalar göstermiş olduğu bugüne dek üzerinde çalışılan HPV genomları benzer büyüklükte olup düşük oranda G+C içermekte ve benzer genetik organizasyon içermektedirler.

Biolojik açıdan papilloma virüsler, herpes virüsler gibi aynı hücrede non-produktif ve produktif olmak üzere iki tip infeksiyonundan sonra non-produktif infeksiyon oluşur. Non-produktif olarak infekte olan hücre büyüme için stimüle edilir ve azaltılıp terminal diferansiyona uğrarlar. Terminal diferansiyona uğrayan hücreler virüs replikasyonu hakkında az bilgi olmasına rağmen viral gen ekspresyonunun regülasyonunda hücresel gen ürünleri kritik bir rol oynamalıdır.

Papilloma virüs DNA'sının persistansı için olası bir model ilk kez sığır papilloma virüsü (BPV) kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmalarda sirküler viral genomun, integre olmamış şekillerinin yanında HPV 16 ve 18'in integre olmuş şekilleride bildirilmiştir. Transforme olmuş hücreler genellikle çok sayıda viral DNA kopyası içerirler.

Geliş Tarihi: 09.05.1994

Kabul Tarihi: 26.05.1994

Yazışma Adresi: Haldun GÜNER

G.Ü. Tıp Fak. Kadın Hast. ve Doğum ABD
Beşevler / ANKARA

İnsan Kanselerinde Papilloma Virüsleri:

Vulva ve penisteki genital papillomların nadiren skuamoz hücreli Ca ya dönüşümü geçen yüzyılda gözlenmiştir. 1907 de Ciuffo hücre içermeyen papillom ekstreleri ile oto-inokulasyondan sonra papillomların oluşumunu gösterdiği halde bunlar enfeksiyöz olaylar olarak görülmemiştir.

1922'de Lewandowsky ve Lutz, epidermodisplazi vermiformis dedikleri derinin geniş alanlarını kaplayan atipik papillomlarla karakterize herediter bir durum söylemişlerdir. Işığa maruz kalan alanlarda bunlar skuamoz hücreli kansere dönüşebilirler. Yine self-inokulasyon deneyleri ile bunların enfeksiyöz natürü 1972'de Jablonska ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir.

1936'da Balo ve Korpassy adlı iki Macar patolog Papillomlar ve kanser adlı bir kitap yayınlamışlardır. Bunlar kendilerinin otopsi materyallerindeki belli papillom tipleri ile belli kanser tipleri arasında ilişki kurmaya çalışmışlardır.

Moleküler biyolojinin, hibridizasyon tekniklerinin uygulanmasındaki ve moleküler klonlamadaki gelişmeler papilloma araştırmaları ve bu lezyonlara sebep olan virüslerin rolü konusunda bir çığır açmışlardır.

insan malign tümörlerinde HPV'yi bulmak için ilk nükleik asit hibridizasyonu denemesi plantar wartlardan izole edilen papilloma virus DNA'larından elde edilen cRNA ile gerçekleştirilmiştir. Retrospektif olarak süpriz olacak şekilde bunların hepsinde negatiftir. Plantar wart virüslerinin heterojenitesinin ve insan wart virüslerinin çok sayıda olduğunun gösterilmesi daha detaylı bir yaklaşım sağlamıştır. Orth, Jablonska ve arkadaşları epidermodisplazi verrukiformisde belli bazı HPV tipleri tesbit etmişlerdir. Bu hastalarda oluşan karsinomlarda en prevalan tip olarak HPV5'İ bulmuşlardır. İlk genital HPV, HPV6 DNA'sı 1980'de bir genital warttan (Condyloma acuminatum) tanımlanmış ve klonlanmış, karakterleri tesbit edilip, dizisi saptanmıştır. Bundan kısa bir süre sonra laryngeal papillom ve genital wartlardan HPV 11 elde edilmiştir (bu HPV 6 ya çok benzer). Ek olarak bunlardan çok ayrı virüs tipleri HPV 16 ve 18 servikal kanser biopsilerinden direk olarak klonlanmıştır.

Anogenital kanserlere ek olarak az bir oranda da derinin, oral kavitenin, hipofarinks, larinks ve akciğerlerin skuamöz hücreli karsinomlarında spesifik papiloma virüs DNA'sı bulunmuştur.

İnsan Papilloma Virus Tipleri ve Konak Hücreleri Farklılaştırarak Replikasyonu

Bugüne dek insan papilloma virüsün 57 genotipi belirlenmiştir ki bunların çoğu epidermodisplazi verrükiformisli hastalarda tesbit edilmiştir, özellikle epidermodisplazi verrükiformisli hastalardaki skuamöz hücreli karsinomlardaki HPV ve servikal, vutvar, penil ve perianal bölgedeki HPV 16 belirgindir.

HPV 16 anogenital kanserlerde en sık rastlanan - biopsilerin yaklaşık %50'sinde- genotiptir.

HPV tiplerinin heterojenitesi muhtemelen bu virüslerin özel farklı dokulara adaptasyonunu göstermektedir. HPV 6, 11,16 ve 18 gibi genital HPV tipleri genital fraktı etkileyip ano-genital cildi nadiren atake etmektedirler. Oral mukozada nadiren bulunurlar ve özellikle laringeal papillomatozise neden olurlar. Non genital bölgelerindeki enfeksiyonlarda virüs proliferasyonu çok düşüktür.

Benzer olarak kutanöz HPV tipleri genital ve oral mukozada nadiren bulunurlar ancak bunun çok az istisnası vardır.

Gelecek yıllarda HPV tiplerinin sayısının artacağı söylenebilir. Bu durum prototip DNA ile kross hibridizasyon dercesine dayanır. HPV nomenklatüründeki şu andaki kuralların revizyonuna yol açmaktadır. Bazı tipler belli subgruplar altında toplanabilirler.

Diferensiasyona uğrayan hücrelerde papilloma virüs partiküllerinin matürasyonu selektif olarak oluşur. Bazal tabakada proliferen olan hücreler HPV ekspresyonunda açıkça aktif olan HPV DNA'sı içerirler. Hücresel faktörler, bu hücrelerdeki transkripsiyonu down-regüle etmektedirler. Bu hücreler değişik tabakalara göç etmeye başlayıp artık bölünemeyince bu down-regülasyondan kurtulmaktadır. Erken ve geç viral dizilerin transkripsiyonu başlamakta, viral proteinler sentez edilmekte ve bazı süperfisyal hücrelerde viral partiküller birleşmektedir.

Bu virüs-konakça ilişkisi konakçısı için tehlikeli olan patojenlerin mükemmel adaptasyonunu göstermekte ve konakçıyı persiste viral enfeksiyonun letal etkisinden korumaktadır.

Premalign Genital Proliferatif Bozukluklarda Papilloma Virüsler

Eksternal genital bölgelerin tipik prekanseröz proliferasyonları şimdilerde daha sıklıkla penil ve vulvar intraepitelyal neoplazi olarak adlandırılan penil ve vulvar Bovvenoid lezyonlardır.

CİN, PIN ve VIN regüier olarak HPV 16 dizileri içermektedirler. HPV 16 DNA'sı özellikle belirgin nü-

leer atipi ve anöploid karyotipin olduğu lezyonlarda prevalandır. Daha az belirgin değişiklikler ile olan servikal displazi vakalarında HPV 8 ve 11 enfeksiyonu daha siktir.

Premalign lezyonlarda HPV bulunuşu ile ilgili yayınlarda farklılıklar olmasına rağmen genital prekanseröz lezyonların çoğunun spesifik HPV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu ve özellikle HPV 16'nın etyolojide primer etken olduğu konusunda görüş birliği vardır.

Günümüzde HPV ile enfekte olanların relatif olarak yüksek bir yüzdesinin sitolojik veya kolboskopik değişiklikleri içeren geleneksel tarama yöntemleri ile gözden kaçtığı belirlenmiştir.

Buna ilk kez klinik olarak remisyonda iken laringeal dokuda HPV 6 DNA'sı tesbit eden Steinberg ve arkadaşları dikkat çekmiştir. Bu durum genital traktus için Ferenez ve arkadaşları ve on bin hastayı içeren bir araştırmada Villies ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Daha sonraki çalışmalar 20-50 yaş arasındaki sitolojik ve kolposkopik incelemesi normal olan hastaların %10-12'sinin insitu hibridizasyon tekniği ile genital HPV enfeksiyonu bulgularını içerdiğini göstermişlerdir. Post-menopozal kadınlarda bu oran %4'e düşmektedir. Gebelerde yapılan bir çalışmada bu oran %30'a çıkmaktadır. Gebelik sırasında dışarıdan HPV enfeksiyonu almaktan çok, bu durum gebelikte HPV yapımının artmasına bağlıdır. Bu, genital HPV'nin deksamethason ve progesteron ile etkileşerek non-coding bölgesinde hormona cevap veren bir elementin gösterilmesi ile uyumludur. Böylece %10-12 pozitif kadın gerçek enfeksiyon hızına dahil edilememiştir. Bu, daha sonra 3 yıl içinde aynı kadınların en az 3 kez daha çalışılması ile desteklenmiştir. Bu kadınların en az %34'ünde en az bir kez pozitif smear bulunmuştur.

Bunlar diğer ek gözlemlerle birlikte virüs pozitifliğindeki farklılıkların esas nedeninin virüs oluşumundaki fluktuasyonlar olduğunu düşündürmektedir.

Seksüel ilişki ile etkili bir şekilde bulaşan ve seksüel olarak aktif kişilerin büyük bir kısmını enfekte eden bu virüs nasıl kansere yol açmaktadır? HPV pozitifliğindeki belirgin coğrafi farklılık olmayışı serviks Ca'nın coğrafi farklılığı ile zıtlık oluşturmaktadır.

Spesifik HPV tipleri Genital Prekanseröz Lezyonlara Sebep Olur Mu?

HPV enfeksiyonlarının premalign genital bozukluklara yol açıp açmadığını değerlendirmek zordur. Bu virüsler hayvanlara nakledilmemektedir ve biolojik ölçümler için doku kültür sistemleri henüz yeni geliştirilmiştir.

Mükemmel bir yaklaşım, insan serviks veya laringeal dokusunu immüno inkompetent farelerin renal kapsülü altına yerleştiren Kreider ve arkadaşları geliştirilmiştir. Bu şartlar altında faraierde aylarca persiste

eden epidermal kistler oluşmuştur. İnsan HPV 11 ile inokulasyondan önce infeksiyonu genital wartlan orta derecede servikal displazileri ve laringeal papillomatozisi histolojik bulguları ile andıran kondilomatöz veya displastik değişiklikleri yaratmıştır. Bu tip proliferasyondan viral partiküller elde edilebilir ve aynı proliferatif değişiklikleri indüklemek için izole edilebilir.

Ne yazık ki bu sistem Kreider'ın HPV 11 dizisi ile çok zahmetli olarak işlemektedir. Onun verilerini elde etmek için diğer HPV 6 ve 11 dizileri ile çok sayıda çalışma yapılmış ancak başarılı olunamamıştır. Bunun sebebi çok açık değildir. Bir açıklama; farelerde proliferatif değişiklikler yaratan spesifik 11 mutantının bu deneyde kullanıldığı ve diğer dizilerin bunu yapamadığı olabilir. Bu düşünce için henüz herhangi bir deneysel veri yoktur.

HPV enfeksiyonlarının biyolojik önemini test etmek için bir başka yaklaşım invitro transformasyon çalışmalarından kaynaklanmaktadır. Bu geniş bir şekilde siğir papilloma virüs (BPV) tip 1 ve 2 enfeksiyonlarında kullanılmıştır. Bu BPV'ler fare hücrelerini etkili bir şekilde transforme etmektedir.

HSV tipleri, fare hücre transformasyonunda çok etkisizdirler. HPV 5 ve HPV 1'in fare hücrelerini transformasyonu konusunda ilk raporlar 1984'de yayınlanmıştır. Transform olmuş hücreler farelerde tümörleri indüklemişlerdir. HPV 1 primer fare böbrek hücrelerini transformasyona uğratmada ço! etkisiz görünmektedir. Aynı hücrelerin HPV 6 ve 11 transenfeksiyonundan sonra transforme tiplerde görülmüştür.

HPV 16 ve daha yeni olarak HPV 18'do Invitro olarak fare hücrelerini transforme etmede çok etkili gözükmektedir. Yasumoto ve arkadaşları. HPV 16 içeren servikal kanser biopsilerinden elde edilen DNA ile fare hücrelerinin transenfeksiyonundan sonra transforme olmuş odaklardan HPV 16 DNA'sını izole etmişti.

insan keratinositlerinin immortalizasyonu HPV 16 transenfeksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Piri ve arkadaşları HPV 16 transenfeksiyonu ile insan fibroblastlarının da immortalizasyonunu bildirmişlerdir. Benzer veriler HPV 18 transenfeksiyonları ile de elde edilmeye başlanmıştır.

immortalize olan insan keratinositleri transkripsiyonel olarak aktif olan HPV 16 ve 18 dizileri içermektedir. Bu transkriptler henüz dikkatli bir şekilde analiz edilmemiştir. Her transformasyon olayında E4-E7 açık okuma kısımları (open reading frames: ORF) diğer ek ORF'den açıkça mesajlar da varken devamlı olarak transkrip edilmektedir. BPV ile indüklenmiş fare hücrelerinde E5 ana transforme edilen bölge iken HPV 16 ve 18 enfeksiyonlarında E6 ve E7 dominant bir öneme sahip görünmektedirki daha çok E7'nin ana transforming proteini kodiadığı düşünülmektedir.

Böylece elde edilen bütün gözlemler HPV 16 ve 18 ile transforme olan fare hücrelerinin veya immortalize olan insan keratinosit ve fibroblastlarında E6 ve E7

ORF'lerin regüler olarak transkripsiyonuna işaret etmektedir.

E6 ve E7 ORF'ler tarafından en azından üç değişik proteinin kodlandığı bilinmesine rağmen bunların transformasyon ve immortalizasyondaki rolü bilinmemektedir.

HPV16 ile transfekte olan ve immortalize olan keratinositleri hızlı bir şekilde anöploid karyotipe değişmektedir. Bu invivo olarak HPV 16 DNA'sının anöploid karyotip içeren lezyonlarda daha sık rastlanması ile koreledir. Bu durum servikal kanser hücrelerinde de olmasına rağmen HPV 16 ve 18 farelerde genellikle non-tümörojeniktir.

Elde edilen bilgiler açıkça göstermiştir ki HPV 16 ve 18 infekte hücrelerde proliferatif değişiklikleri indüklemektedir. Fare hücresinden malign transformasyon, belli insan hücresinde invitro olarak immortalizasyon. E6-E7 ORF'lerin genetik aktivitesine bu proliferasyonları indüklemek için ihtiyaç duyulmaktadır. Bu hücreler hızlı bir şekilde anöploid hale gelirler, ancak non-tümörojeniktirler.

Bu deneysel sonuçlar VIN, PIN, CİN ve VAIN'nın sebebinin HPV olduğunu keskince ispatlamamaktadır. invitro cevapla invivo lezyonlar arasındaki benzerlik (viral DNA'nın persiste etmesi, özellikle E6-E7'nin mRNA ekspresyonu, anöploidinin indüksiyonu, non-tümörojenik fenotipi) göz önüne alınınca bunlara gerçekten daha önceki HPV tiplerinin sebep olduğu düşünülebilir.

Bazı otörler anogenital kanserlerin zorunlu prekanseröz lezyonlarının sebebinin spesifik HPV enfeksiyonları olduğunu düşünmektedir. Eğer HPV enfeksiyonu anogenital prekanseröz hücrelerin indüksiyonunda önemli rol oynamalıdır. Ptemalign değişikliklerde HPV'nin rolünü anlamamız semptomsuz taşıyıcılarda HPV'nin latent kalışını anladığımızı göstermemektedir.

Anogenital kanserlerde papilloma virüsler

Serviks, vulva, penis veya perianal ve anal kanserlerde HPV DNA'sının regüler şekilde bulunuşu bir çok yayında belirtilmektedir. Primer veya metastatik dokudan elde edilen biopsiler sıklıkla HPV 16 dizileri ve HPV 16 ile ilişkili (HPV31, 33, 35, 39) HPV DNA'ları içermektedir. Şimdilik bütün tümörlerin %50-70'inde bu virüsler pozitifdir. HPV 18 daha az rastlanmaktadır, ilginç olarak bu virüs serviks adenokarsinomlarında HPV 16'dan daha sık rastlanmaktadır. Serviks Ca dan elde edilen hücre dizileri HPV'nin bulunuşunu incelemek için uygundur; çünkü bunlar ek non-tümoral yapı içermezler. Bu hücre dizilerinin incelenmesi HPV 18 dizilerinin bu tip hücre dizilerinde sık prevalansını ortaya çıkarmıştır. Görülmektedirki HPV 18 içeren hücreler diğer HPV tiplerini içerenlerden doku kültürlerinde daha kolay tesbit edilmektedir.

Birçok servikal kanser biopsilerinde veya bir tümörden elde edilen hücre dizilerinde HPV 16 DNA'sı integre olmayan epizomal DNA içermeleri kontrast teşkil etmektedir. Bu durumun şimdilik bir anlamı olup olmadığını anlamak güçtür. Servikal karsinomun klonal yapısı integrasyon olayları üzerinde çalışmayı kolaylaştırmaktadır. Eğer premalign lezyonlar klonal patern içermeyen entegre diziler içeriyorsa bunları kullanılan yöntemlerle tesbit etmek güçtür.

HPV integrasyonu için belli kromozomal bölgeler henüz tesbit edilememiştir.

Halka şeklindeki viral molekülün integre olmak için açılacağını düşünmek önemli olabilir. Analiz edilen entegre moleküllerinin çok büyük bir kısmı E1 3 veya E2 5 uçlarından açılır.

HPV 16 veya 18 integrasyonunun E1 3 veya E2 uçlarından olmasındaki düzenlilik bu olayın proliferatif fenotipinin devamını sağlamada fonksiyonel rolüne işaret edebilir. Olası bir açıklama siğir papilloma virüslerinde E2'nin fonksiyonel aktivitesi ile ilgili çalışmalardan anlaşılabilir. Bu çalışmalar göstermiştir ki BPV'nin kodlama yapmayan transkripsiyonel regülatuar elementinin E2 proteini ile transaktive olduğunu göstermektedir. E2 proteininin parçalanmış bir şekli aynı regülasyonu repress etmektedir. Bu yüzden bu intra genomik transregülasyonun olmaması hücrelerin kontrol edilemeyen proliferatif fenotip kazanmasına yol açabilir. HPV 16 veya 18 genomunun kritik bir bölgesinde integrasyonun malign fenotip kazanmak için yeterli olacağı pek akla yatkın gözükmemektedir.

HPV pozitif karsinom biopsilerinde ve HPV pozitif hücre dizilerinde regüler HPV transkripsiyonu gözlenmiştir. Buna zıt olan bazı gözlemler de mevcuttur.

HPV transkriptlerin on yıllarca doku kültürlerinde korunan hücre dizilerinde bile regüler bulunuşu, transkript olan bölgenin spesifitesi ve virüs proteinlerinin gösterimi; bunların malign dönüşümde rol oynadığını düşündürmektedir.

HPV Transkripleri Hücre Kültüründeki Servikal Kanser Hücrelerinin Malign Fenotipini Kontrol Etmekte Midir?

1977'de tümör virüs genomlarının ekspresyonunu kontrol eden hücre genlerinin varlığı ortaya atılmıştır. Kanser, viral genomları kontrol eden bu sellüler genlerin kontrolündeki bir bozukluktan oluşmaktadır.

Bu spekülasyonlara dayanarak normal proliferatif hücreler erken HPV genlerinin transkripsiyonunu regüle edebilir, ancak servikal kanser hücreleri bu kontrolü yapamamaktadır. Bu model yeni yeni, iki değişik yaklaşımla deneysel destek bulmaktadır.

1 - Stanbridge tarafından tarif edildiği gibi HeLa normal hücre hibritleri farelerde tümörü indüklemektedir. Bu hücrelerin non-tümörojenik fenotipi relatif olarak stabil kalmaktadır ve normal donörden yal-

nızca kromozom kaybı malign dönüşüm ile sonuçlanmaktadır. Stanbridge grubu 11 nolu insan kromozomunda lokalize tümör-suprese edici fonksiyonla ilgili in-na edici deneysel veriler elde etmişlerdir.

Bu çalışmalara dayanarak, HPV DNA'sının mevcudiyeti ve ekspresyon hızı HeLa normal hücre hibritlerinde çalışılıp malign hücreler elde edilip parental hücre dizileri ile karşılaştırılmıştır. İn vitro koşullarda belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Nasıl olduğu bilinmemekle birlikte, non-malign hibritler malign hibritler ve HeLa parental dizisi ile karşılaştırıldığında daha yüksek derecede HPV-DNA metilasyonu göstermişlerdir. Spesifik sellüler genlerin metilasyon ile regülasyonu düşünülerek bu hücreler 5-aza-cytidin (5-Aza-C) ile tedaviden sonra HPV transkripsiyonu analiz edildi. Elde edilen veriler 5-Aza-C ile tedaviden sonra HeLa hücreleri ve malign hibritlerde HPV transkripsiyonu etkilenmeden kalırken, non-tümörojenik hibritlerde selektif supresyonu görülmüştür. Bu down regülasyon sikloneximid tarafından bloke edilebilir ki bu da hibrid hücrelerde HPV transkripsiyonunda benzer down regülasyon gösterirken servikal karsinom hücre dizileri ve HeLa bir etki göstermemektedir. Non-malign hibritler ve invitro immortalize hücreler malign dizilerin aksine 5-Aza-C ile gelişmesi inhibe edilebilmektedir.

Bu sonuçlar invivo olarak gelişen hücrelerde HPV transkripsiyonunu kontrol eden hücre interferin (müdahale) faktör (CIF)ün olduğu, ancak invitro olarak oluşmadığını veya daha az belirgin olarak çalıştığı görüşünü desteklemektedir, invivo olarak CIF gen ekspresyonunu stimüle ettiği düşünülen bir faktörün doku kültürlerinde bulunmadığı düşünülmektedir. 5-Aza-C CIF genlerini muhtemelen demetilasyonu indükleyerek aktive etmektedir. Kanser hücrelerinde CIF genleri fonksiyonel olarak inaktif ve muhtemelen yapısal olarak değişikliğe uğramıştır.

2- HPV içeren hücrelerin proliferatif fenotiplerinin regülasyonunda HPV transkripsiyonunun rolünün bir başka yaklaşımla da altı çizilmiştir. Hormon ile indüklenen fare meme tümör virüs regülatuar elemanı kontrolü altında HPV 18 E6-E7 anti-sense konstrakları içeren C4-I hücre klonları elde edilmiştir. Bu klonlarda anti-sense mesajın (E6-E7) indüklenmesi belirgin gelişme geriliği ve E7 protein sentezinde belirgin azalma yaratmıştır, ilginç olarak kontrollar HPV transkripsiyonu sırasında, muhtemelen HPV 18 non-coding bölgedeki hormon duyarlı elemana bağlı olarak deksametazon ile stimüle edilebilir ve hızlı bir şekilde proliferatif olabilir. Böylece HPV transkripsiyonunun pozitif veya negatif modülasyonu büyüme paternini paralel etkilemektedir.

Bu deneyler erken HPV transkripsiyonunda hücre sel regülasyonun yönünde kuvvetli bir destek sağlamıştır ve proliferatif değişiklikler yaratmada E6-E7 transkriplerinin rolünü vurgulamaktadır. Bunlar anogeni-

ta! kanser gelişimi için intrasellüler yaşamı devam ettirmeyisin primer faktör olduğunu desteklemektedir. Bu sonucunu 3 basamaktan sonra gelişir. Spesifik vira) DNA alım ve bunun devamı (persistence) daha sonra spesifik paternal ve maternal gen kopyasının modifikasyonu, CİF kodlanması ve böylece HPV transkripsiyonunu regule edebilme.

Bu bakış epidemiyolojik gözlemler ile ileri sürülen viral efyoloji arasında bağlantı sağlamaktadır. Viral etkenler kendiliğinden kansere neden olmazlar, enfeksiyonlar viral DNA içeren, CİF gen modifikasyonu olan relatif olarak az sayıda vakada kansere neden olmaktadır. Primer enfeksiyon ve kanser gelişimi arasındaki uzun latent dönem, daha önce ileri sürülen üç basamağın aynı hücrede bulunma koinsidansının çok nadir oluşu ile açıklanmaktadır. Anogenital kanserlerde reguler olarak gözlenen monoklonallik ileri sürülen olaylar dizisinin direk bir sonucudur. Son olarak geçmiş yıllarda sık olarak üzerinde durulan kimyasal ve fiziksel karsinogenler ve papilloma virüs enfeksiyonları arasında rasyonel bir açıklama bulunmuştur. Bunlar ya CİF genleri üzerine etkilemektedir veya HPV transkripsiyonunu kontrol eden proteinleri etkilemektedir.

Böylece, anogenital kanserlerin spesifik HPV tiplerinin gerekli olduğu ancak yeterli olmadığını gösteren deneysel bilgiler elde edilmiştir. Bu veriler bazı coğrafik varyasyonlar gösteren sık rastlanan bir tümör ile o anda bulunan virus ile ilişki kurmadaki epidemiyolojik yaklaşımlardaki zorluklara bir açıklama getirmektedir. Gerçekte malign gelişim hücre genlerini modifiye eden ek faktörlerce belirlenmektedir. HPV enfeksiyonunun önlenmesi büyük ihtimalle serviks kanserinin önlenmesi ile sonuçlanacaktır.

Anogenital Karsinogeneziste Ek Faktörlerin Rolü

Anogenital kanserde herpes simpleks virus enfeksiyonunun rolü 20 yıldan daha uzun bir süreden beri tartışılmaktadır. Serviks Ca'lı hastalarda yüksek oranda HSV-2 enfeksiyonuna işaret eden seroepidemiolojik çalışmalar olmasına rağmen, bu teoriyi deneysel çalışmalar desteklememektedir. Servikal kanser biopsilerinde viral DNA'ya rastlanmamıştır veya parsiyel inaktive edilmiş HSV-2 tarafından transformasyona uğratılmış veya immortalize olmuş hücre veya prekursor lezyonlara rastlanmamıştır. Parsiyel inaktive edilmiş HSV invitro olarak fare hücrelerini transforme edebilmekte ve değişik hücre tiplerinde bir miktar kromozomal aberrasyonları indükiemiştir. Yeni çalışmalar bu çelişkiyi açıklayabilir: Kimyasal ve fiziksel karsinogenler genelde konakçı hücre DNA'sında iki tip reaksiyon indüklenmektedir: mutasyonlar ve spesifik DNA dizilerinin amplifikasyonu.

HSV enfeksiyonlarının fiziksel ve kimyasal karsinogenlere benzer değişiklikler yarattığı speküle edilmiş;

HSV enfeksiyonlarının konakçı hücrede mutasyona ve selektif DNA amplifikasyonuna yol açıp açmadığı analiz edilmiştir. Gerçekten konakçı hücre DNA'larında mutasyonların indüklendiği görülmüştür. Benzer olarak, HSV enfeksiyonları, Çin kobaylarında ve insan hücrelerinde integre olmuş SV 40 dizilerinde belirgin amplifikasyona yol açmaktadır. Son deneyler, HSV enfeksiyonunu takiben HPV tarafından transforme edilmiş fare hücrelerinin veya kimyasal karsinogenler ile tedavi edilmiş olanlarda episomal BPV-DNA amplifikasyonunu göstermiştir.

Böylece HSV ile enfeksiyon persiste eden HPV enfeksiyonu ile iki şekilde etkileşebilir: spesifik konakçı hücre genlerini mutasyona uğratarak ve HPV transkripsiyonunda intrasellüler mevcudiyeti harap ederek veya persiste HPV genomlarını amplifiye ederek. Bu sonuncu HPV taşıyan hücre havuzunda artışa yol açabilir ve böylece malign dönüşüm riskini artırabilir.

Herpes virüs grubunda diğer grupların HSV ile bu özellikleri paylaştıkları hakkında veriler mevcuttur, insan sitomegalo virusu bu açıdan ilgi çekicidir. Bu konuda direk kanıtların olmadığını vurgulamak gerekir.

Gerçekte HSV'nin serviks Ca daki rolünü kanıtlamak için yapılan büyük bir prospektif çalışmada destekleyici veri elde edilmemiştir.

HERPES SİMPEKS VİRÜS

İnsan Herpes Virüslerinin Özellikleri

Herpes virüsler, DNA tümör virüslerinin en büyük ve genetik olarak en kompleksleridir. Bu grubun beş üyesi insanları enfekte eder; herpes simpleks virüs 1 ve 2. HCMV, Epstein-Barr virusu (EBV) ve varisella-zoster virüsleri (VZV)- ve belli şartlarda hayatı tehdit eden ciddi hastalıklara sebep olurlar. İnsan herpes virüslerinin beşi de insan hücre kültürlerinde transformasyona sebep olabilirler. VZV hariç hepsi insanlardaki kanserlerle seroepidemiolojik olarak ilişkilidirler. Yalnızca HSV-2 ve HCMV reproduktif kanalın tümörleri ile ilgilidirler. Virüs morfolojisi bazında tanımlanamamasına karşın, herpes virüsler genomlarının yapısal organizasyonunu ve replikasyon sikluslarının detaylarını değiştirmektedirler.

Büyük DNA içeren hayvan virüsleri arasında herpes virüsler duyarlı hücre ile üç ayrı yolla etkileşebilir; Böylece herpes virüs ile enfekte olan hücreler üç şekilde sonuçlanabilir: 1) Enfeksiyöz progen virüsleri oluşumu ile hücrenin lizise uğraması 2) Latent enfeksiyon 3) Transformasyon.

Viral genlerin tamamı veya tamamına yakını litik enfeksiyon sırasında ekspres olurlar ve yeni enfeksiyöz virüsler oluşur. Latent enfeksiyon sırasında viral genlerin yalnızca bir kısmı (latent enfeksiyonun devam etmesi için gerekli olanlar) ekspres olurlar. Latent enfekte olan hücrelerde, daha sonra virüs rekürrent. prodüktif enfeksiyona yol açmak için reaktive olabileceği

için viral genomun hepsinin olması gereklidir. Enfekte konakçı açısından latent enfeksiyon virüsün yeni duyarlı konakçılara taşınması için rezervuar ve reenfeksiyon için kaynak görevi yapmaktadır. Hücrelerin herpes virüsleri ile enfeksiyonu malign transformasyon ile de sonuçlanabilir. HSV-1, HSV-2, HCMV ve VZV tarafından transforme olan hücreler viral DNA genomundan daha azını içerirler, transformasyonunun devamı için viral genomun yalnızca bir kısmı yeterlidir.

HBV'lerin Virolojik Özellikleri

HSV-1 ve HSV-2 150 nm çapında, ikosohedral nükleokapsid içeren, zarflı virüslerdir. Her iki virüsün genomları da lineer, çift sarmal ve yaklaşık 100x10 daltondur. DNA birbirine kovalent bağlarla bağlı iki komponent içerir; L ve S, her biri birbirinin eşleniği tekrarlayan dizilerden oluşur.

Produktif enfeksiyon sırasında viral genler transkripsiyon ve translasyona uğrama sıralarına göre üç kinetik sınıfa ayrılırlar: Çok erken genler (immediate-early), enfeksiyondan hemen sonra eksprese olurlar ve transkripsiyon ve translasyon için hücrenin gen ürünlerini kullanırlar. Bu genler, erken ve geç genlerin ekspresyonu için gerekli olan düzenleyici proteinleri kodırlar. Erken genler, DNA sentezine katılan proteinleri kodırlar. Geç genlerin ekspresyonunu sağlarlar. Geç gen ürünleri virüsün primer yapısal proteinleridir ve viral DNA sentezinden sonra hızla sentez edilirler.

Biolojik olarak HSV-1 ve HSV-2 geniş bir konakçı sınıfı gösterirler. Bu iki virus birçok ortak antijenik determinant içerirler ancak antijenik olarak ayrılabilirler. Klinik olarak HSV-1 karakteristik olarak orofarinkste enfeksiyon yaratırken HBV-2 genital kanalda enfeksiyon yaratır. Ancak son zamanlarda belkide değişen sosyal alışkanlıklara bağlı olarak genital bölgeden izole edilen HSV-1 ve orofarinksten izole edilen HSV-2 sayısında artış vardır. Her iki virus de primer enfeksiyon sahasının derisini innerve eden sinirin duyu ganglionunda latent olarak kalırlar. Çoğunlukla immün cevapta olan dalgalanmalardan sonra reaktivasyon, bu bölgede rekürrent enfeksiyonlara yol açar.

Antijenik olarak hem HSV-1 hem de HSV-2 en azından 6 ana viral glikoprotein sentezini indükler ve bu antijenler viral zarflarının üzerinde ve kültürde litik enfeksiyona uğramış hücrelerin üzerinde bulunurlar. Yapılan bir dizi çalışma göstermiştir ki deneysel olarak konakçı hayvanlarda HSV enfeksiyonuna cevap olarak virus spesifik nötralizan antikorlar ve sitotoksik lenfositler gelişmekte ve bu viral glikoproteinler hücrenel ve humoral immüniteyi hem indüklemekte hem de hedef rolü oynamaktadırlar.

Sevrikal Karsinom ve HSV-2 Arasında Seroepidemiolojik İlişki

HSV-2 ve kanser arasında başta seroepidemiolojik gözlemlere dayandırılmıştı. Bu ileri sürülen ilişkinin

ne derece doğru olup olmadığını anlamak için ilk önce serolojik olarak tesbit edilen HSV-2 enfeksiyon insidansı ile tümör frekansı arasında bir ilişki kurulup kurulamayacağını göstermek gerekli idi.

1960'ların sonu ve 1970lerin başında yapılan seroepidemiolojik vaka kontrol çalışmaları serviks Ca'lı hastalarda kontrol grubuna göre daha sık ve/veya daha yüksek fitrede HSV-2'ye karşı antikorlar saptanmıştır. Bu ve başka çalışmalar servikal kanser gelişme riski yüksek olan bir kadının profilini şöyle çıkarmıştır: 35-60 yaş arasında, multipl seksüel partneri olan, seksüel aktiviteye erken yaşta başlayan ve düşük sosyoekonomik düzeyde olanlar.

Servikal kanseri, HBV-2 ile ilişkilendiren ilk seroepidemiolojik çalışmalar, antikor ölçüm metodlarının sensitivitesinin az oluşu nedeniyle güvenilir gözükmemektedir. HSV-1 ve HSV-2 glikoproteinleri ortak belirtiler içermektedir. Bu yüzden çapraz reaksiyon olmaktadır. Ek olarak yapılan çalışmalar göstermiştir ki bir kısım serviks CA vakasında HSV-2 ye karşı antikor (çapraz reaksiyonları saymayınca) saptanmamıştır. Bu, bütün serviks Ca vakalarında HSV'nin gerekli olmadığını göstermektedir.

1980'lerde daha sensitif metotlarla yapılan çalışmaları da göz önüne alınca şu sonuçlar söylenebilir: 1) Servikal karsinomlu hastalarda HSV-2 antikorları prevalansı kontrol grubuna göre daha yüksektir. 2) Hastalar ve kontrol grubu arasındaki antikorların prevalansı bir coğrafi bölgeden diğerine değişmektedir. Ancak coğrafik bölgelerde aynı serviks Ca insidansı serviks Ca'nın tek etyolojik ajanı olmadığını düşündürmektedir.

İNSAN SİTOMEGALO VİRUSU

İnsan jinekolojik tümörlerinin etyolojik ajanı olarak düşünülen virüslerden biri de şimdiye dek en az bilgi sahibi olunan insan sitomegalo virüsüdür (HCMV). Virüs morfolojisi, replikatif siklus ve latent enfeksiyon yaratma bakımından HCMV, HSV'e benzer. Ancak mutlak bir spesifitesi (in vivo ve in vitro olarak insan hücreleri) ve güçlü hücre bağımlılığı yönlerinden farklıdır. HCMV, insan popülasyonunda bulunur ve erişkinlerde enfeksiyöz mononukleozise benzer sendrom, post perfüzyon sendromu ve interstisyel pnömoneye ve yeni doğan ve intrauterin fetusta sıklıkla fetal sitomegalik inklüzyon hastalığına sebep olur, HCMV enfeksiyonlarının büyük çoğunluğu subklinik olduğundan transmisyonun mekanizması ve zamanını anlamak güçtür.

HCMV'nin uzun dönemde tariflenen immunosupressif özellikleri. İmmün sistem hücrelerini enfekte edebilme yeteneğine işaret edebilir. Virüslerin uzun süreli latent ve pepsistent enfeksiyon yaratma ve sellüler DNA ve RNA sentezini artırması HCMV'nin HSV, HPV ve diğer DNA tümör virüsleri ile paylaştığı ortak özelliklerdir.

UV- ile radyasyona uğratılmış HCMV, HSV gibi in vitro olarak morfolojik olarak hücreleri transforme ede-

bilir. Yapılan başka çalışmalarda HCMV antijen ekspresyonunda azalma ile birlikte onkojenitede artma tesbit edilmiştir.

HCMV, HCMV DNA ve antijenlerin hem normal, hem malign hücrede tesbit edilmesine rağmen kanser ve HCMV arasında etyolojik bir ilişki henüz kurulamamıştır; burada primer neden virüsün aynı anda bir çok yerde olması ve çok sayıda dokuda persiste edebilme yeteneğidir. Virüsün serviks ve semenden sık izole edilebilmesi HCMV'nin veneral olarak geçtiğini ve etyolojik olarak urogenital tümörlerle özellikle prostat ve servikal karsinomla ilişkili olabileceğini düşündürmüştür.

HCMV ve servikal karsinomu ilişkilendiren kanıtlar, HSV-2 ile serviks kanserini ilişkilendiren kanıtlara göre çok zayıftır.

KAYNAKLAR

- Baker C C, Phelps W C, ündgren V, Braun M J, Gouda M A, Howley P 1987 Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cell lines. *J Virol* 61:962
- Bedell M A, Jones K H, Laimins LA 1987 The E6E7 region of human papillomavirus type 18 is sufficient for transformation of NIH 3T3 and Rati cells *J Virol* 61 3635
- Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scherluen W, zur Hausen H 1984 A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer and in cell lines derived from genital cancer. *EMBO J* 3:1151
- Crum C P, Ikenberg H, Richart R M, Gissmann L 1984 Human papillomavirus type 16 and early cervical neoplasia. *N Engl J Med* 310:880
- de Villiers EM, Wagner D, Schneider A et al 1987 Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology. *Lancet* ii:703
- Duff R, Rapp F 1971 Oncogenic transformation of hamster cells after exposure to herpes simplex type 2. *Nature (New Biol)* 233:48
- Dürst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H 1983 A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Nat Acad Sci* 80:3812
- Dürst M, Kleinheinz A, Hotz M, Gissmann L 1985 The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant genital tumors. *J Gen Vürol* 66:1515
- Epstein M A, Achong B G, Barr M Y 1964 Virus particles in cultured lymphoblasts of Burkitt's lymphoma. *Lancet* i:702
- Ferenczy A, Mitao M, Nagai N, Silverstein S, Crum C 1985 Latent papillomavirus infection and recurring genital warts. *N Engl J Med* 313:784
- Gissmann L, Boshart M, Durst M, Ikenberg H, Wagner D, zur Hausen H 1984 Presence of human papillomavirus (HPV) DNA in genital tumors. *J Invest Dermatol (Suppl)* 83:266
- Gissmann L, Pfister H, zur Hausen H 1977 Human papillomaviruses: Characterization of four different isolates. *Virology* 76:569
- Gissmann L, zur Hausen H 1980 Partial characterization of viral DNA from human genital warts (condylomata accuminata). *Int J Cancer* 25:605
- Gross G 1987 Lesions of male and female external genitalia associated with human papillomaviruses. In: Syrjanen K, Gissmann L, Koss L G (eds) *Papillomaviruses and human disease*. SpringerVerlag, Heidelberg New York pp197234
- Knapp R C, Ross S B 1986 *Gynecologic Oncology*. Macmillan pp 6595
- Kreider J, Howett M, Wolfe S A et al 1985 Morphological transformation in vivo of human uterine cervix with papillomavirus from condylomata accuminata. *Nature* 317:639
- Lehn H, Krieg P, Sauer G 1985 Papillomavirus genomes in human cervical tumors: analysis of their transcriptional activity. *Proc Nat Acad Sci* 82:5540h)
- McCance D J, Singer A 1986 The importance of HPV infections in the male and in the female genital tract and their relationship to cervical neoplasia. In: Peto R, zur Hausen H (eds) *Origins of female genital cancer*. Banbury report, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, pp 311319
- Obalek S, Jablonska S, Orth G 1985 HPV associated intraepithelial neoplasias of external genitalia. *Clin Dermatol* 3:104
- Oltsdorf T, Seedorf K, Rowekamp W, Gissmann L 1987 Identification of human papillomavirus type 16 E7 protein by monoclonal antibodies. *J Gen Virol* 68:2933
- Pater M M, Pater A 1985 Human papillomavirus types 16 and 18 sequences in carcinoma cell lines of the cervix. *Virology* 145:313
- Rosl F, Durst M, zur Hausen H 1988 Selective suppression of human papillomavirus transcription in nontumorigenic cells by 5azacytidine. *EMBO J* 7:1321
- Syrjanen K J 1987 Papillomavirus infections and cancer. In: Syrjanen K, Gissmann L, Koss L G (eds) *Papillomaviruses and human disease*. Springer Verlag, pp 467503
- zur Hausen H 1982 Human genital cancer: synergism between two virus infection and initiating events *Lancet* ii:1370