



**ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MEME KANSERİ DOKULARINDA YÜKSEK RİSKLİ HPV
VARLIĞI VE MEME KANSERİ GELİŞİMİNDE HPV'NİN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. EREN KAYA

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL-2023



**ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**MEME KANSERİ DOKULARINDA YÜKSEK RİSKLİ HPV
VARLIĞI VE MEME KANSERİ GELİŞİMİNDE HPV'NİN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DR. EREN KAYA

**TEZ DANIŞMANI:
PROF. DR. SERKAN ERKANLI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL-2023

TEZ ONAYI BELGESİ

Anabilim Dalı : Kadın Hastalıkları ve Doğum AD
Program : Tıpta Uzmanlık Tezi
Tez Başlığı : Meme Kanseri Dokularında Yüksek Riskli HPV Varlığı ve
Meme Kanseri Gelişiminde HPV'nin Etkisinin Araştırılması
Öğrencinin Adı-Soyadı : Eren KAYA
Tez Savunma Sınavı Tarihi : 12/12/2023

Bu tez çalışması jürimiz tarafından tıpta uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye (Jüri Başkanı) Prof. Dr. Mete Güngör
Acıbadem M.A.A. Üniversitesi

Üye (Tez Danışmanı) Prof. Dr. Serkan Erkanlı
Acıbadem M.A.A. Üniversitesi

Üye Prof. Dr. Ahmet Cem Batukan
Acıbadem M.A.A Üniversitesi

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

04.09.2023

Dr. Eren KAYA



ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bana bilgi ve deneyimlerini büyük bir cömertlikle paylaşan, yalnızca kendi uzmanlık alanlarıyla sınırlı kalmayıp, tıp dünyasının her yönüne dair beni aydınlatan Prof. Dr. Mete Güngör ve Prof. Dr. M. Faruk Köse'ye sonsuz teşekkür borçluyum.

Tez sürecimde yoğun çalışma temposuna rağmen bilgi ve tecrübeleriyle destek olan, tezimin oluşumunda ve gerçekleşmesinde büyük katkıları olan saygıdeğer tez danışmanım Prof. Dr. Serkan Erkanlı'ya içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez çalışmamın multidisipliner bir yaklaşım gerektirdiği bu süreçte, katkılarıyla tezimin başarılı bir şekilde tamamlanmasını sağlayan Prof. Dr. Cihan Uras'a, Doç. Dr. Fatma Tokat'a ve Doç. Dr. Enes Arıkan'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Asistanlık sürecim boyunca eğitimime katkıda bulunarak yetkin bir uzman hekim olarak yetişmeme yardımcı olan Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Hocaları; Prof. Dr. Mehmet Cihat Ünlü, Prof. Dr. Bülent Tıraş, Prof. Dr. Faruk Suat Dede, Prof. Dr. İbrahim Bildirici, Prof. Dr. Serkan Erkanlı, Prof. Dr. Yiğit Çakıroğlu, Prof. Dr. Cem Batukan, Prof. Dr. Özlem Pata ve Doç. Dr. Turgut Aydın'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Başlangıçtan itibaren yoğun bir çalışma programı ile geçen dört yıl boyunca bilgi ve deneyimlerinden her adımda faydalandığım, aynı zamanda bu zorlu süreci daha da anlamlı kılan ailemden saydığım Doç. Dr. Emine Karabük ve Doç. Dr. Özgüç Takmaz'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürecimde birlikte yaşadığımız sayısız güzel anıların mimarı olan Acıbadem Üniversitesi Atakent Hastanesi ve Acıbadem Maslak Hastanesi uzman hekimlerine, asistan arkadaşlarıma, ebelere, hemşirelere, sekreterlere ve tüm personellere gönülden teşekkür ederim.

Son olarak, beni yetiştiren ve ellerindeki tüm imkanları içtenlikle önüme seren annem ve babama, tüm asistanlık sürecim boyunca yanımda olan, sabrı ve sevgisiyle her zorluğun üstesinden gelmeme destek olan sevgili eşim zgn Gökmen Kaya'ya ve oğlum Buęra Deniz Kaya'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Onların desteği olmadan bu yolculuk aynı anlamı taşımayacaktı.

Dr Eren KAYA

İstanbul, 2023



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI BELGESİ	III
BEYAN	IV
ÖNSÖZ	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VIII
SEKİL LİSTESİ.....	IX
TABLO LİSTESİ.....	X
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XIII
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
HPV ONKOPROTEİNLERİ.....	4
MEME KANSERİ EPİDEMİYOLOJİSİ.....	7
MEME KANSERİ EVRELEMESİ.....	7
MEME KANSERİ SINIFLANDIRMASI	10
MEME KANSERİ RİSK FAKTÖRLERİ	11
MEME KANSERİ GELİŞİMİNDE HPV ENFEKSİYONUNUN ETKİSİ.....	13
HPV’NİN ÖSTROJEN RESEPTÖR SİNYAL YOLAĞI İLE İLİŞKİSİ	15
GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
BULGULAR.....	22
TARTIŞMA.....	26
KAYNAKLAR	30
EKLER	46
Ek-1 ANABİLİM DALI ONAYI.....	46
Ek-2 ETİK KURUL KARARI	47
ÖZGEÇMİŞ	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

AJCC	:Amerikan Kanser Ortak Komitesi
HPV	:İnsan Papilloma Virüsü
HR-HPV	:Yüksek Riskli İnsan Papilloma Virüsü
BRCA-1	:Breast Cancer Type 1
BRCA-2	:Breast Cancer Type 2
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
mRNA	:Mesajcı ribonükleik asit
PCR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
ER	: Östrojen Reseptörü
PR	:Progesteron Reseptörü
Ki-67	:Proliferasyon belirteci
İDK	:İnvaziv Duktal Karsinom
İLK	:İnvaziv Lobüler Karsinom
DCIS	:Duktal Karsinoma in situ
RB	:Retinoblastom
E6	:Erken antijen 6
E7	:Erken antijen 7
LCR	:Uzun Zincir Reaksiyonu (Long Chain Reaction)
ORF	:Açık okuma bölgesi (Open Reading Frame)
L1	:Majör kapsid proteini
L2	:Minör kapsid proteini
EGFR	:Epitelyal büyüme faktörü reseptörü
HER-2	:İnsan Epitelyal Reseptörü-2
TNMK	:Triple Negatif Meme Kanseri
EBV	:Epstein Barr Virüsü
MMTV	:Fare Meme Tümörü Virüsü
IL	:İnterlökin
TGF	:Transforming growth factor

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: İnsan Papilloma Virüsü (HPV) genom dizilişi..	4
Şekil 2: Meme kanseri histopatolojik sınıflandırması ..	11
Şekil 3: HPV ilişkili meme karsinogenez modeli.....	17



TABLO LİSTESİ

Tablo 1: HPV onkoproteinlerinin biyolojik özellikleri.....	6
Tablo 2: Amerikan Kanser Derneğinin 2018 yılında yayınladığı meme kanseri TNM Evresi .	9
Tablo 3: Prognostik gruplara göre meme kanseri evrelemesi.....	10
Tablo 4 Demografik Özellikler	24
Tablo 5: Servikal Tarama.....	24
Tablo 6: Tümör bilgileri.....	25



ÖZET

Meme kanseri dünya üzerinde kadınlarda en sık tanı alan ve kadınlarda en sık kanser ilişkili ölüme sebep olan kanserdir. Gelişen tedavi yöntemleri ve kanserin moleküler yapısının ortaya koyulmasına rağmen yüksek prevalans ve mortalite devam etmektedir. İnsan Papillomavirüsleri (HPV) enfeksiyonu ile genital tümörlerin gelişimi arasındaki ilişki yaygın olarak kabul edilmesine rağmen, bu virüslerin meme lezyonları üzerindeki etkisi hakkında literatürde tartışılabilir veriler bulunmamaktadır. HPV ve meme lezyonları arasındaki ilişkiye dair tartışılabilir raporlar göz önüne alındığında, bu çalışmanın amacı, meme kanseri nedeniyle hastanemizde opere edilen hastalarda HPV-DNA'nın meme kanseri dokularında saptanabilir olup olmadığını belirlemektir.

Çalışmamızda 2019-2022 yılları arasında Acıbadem Sağlık Grubu Hastanelerinde opere olan toplam 834 meme kanseri vakası taranmış, bu vakaların içerisinde, bilinen meme kanseri risk faktörlerini dışlamak amacıyla BRCA (-) olan ve 50 yaş altı vakalar çalışma grubuna dahil edilmiştir. Toplam 90 hastadan 91 adet meme kanseri dokusu çalışma grubuna dahil edilmiştir. Belirlenen vakalara HPV-DNA PCR yöntemi ile Acıbadem LABMED laboratuvarında HPV taraması yapılmıştır. Takiben seçilen hastalara Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Patoloji Laboratuvarında HPV mRNA taraması yapılmıştır.

Çalışmamıza, merkezimizde tek cerrah tarafından ameliyat edilmiş ve piyesi meme patolojisi üzerine özelleşmiş tek patolog tarafından değerlendirilmiş olan 91 meme kanseri dokusunun verileri kullanılmıştır. Tüm hastalara yapılan HPV-DNA PCR testlerinin sonucunda yüksek riskli HPV varlığı saptanmamıştır. Sonuçların doğruluğunun değerlendirilmesi ve testin özgüllüğünün artırılması amacıyla toplam 46 hastaya yapılan mRNA testinin negatif gelmesi üzerine çalışma sonlandırılmıştır.

Meme kanseri gibi kompleks ve multifaktöriyel bir hastalıkta altta yatan mekanizmaların ve hastalığın biyolojisinin araştırılması literatürde geniş yer bulur. Literatür taraması sonrasında çalışmamızda HPV genomunun meme kanseri dokularında ve normal meme dokusunda varlığını araştırmayı hedeflediğimiz çalışmada meme kanseri dokularında yapılan PCR ve mRNA testlerini takiben çalışma grubumuzda meme kanseri dokularında HPV varlığı saptanmamaktadır. Meme kanseri gelişiminde genetik, viral faktörler ve çevresel etkilerin karmaşık etkileşimi, araştırmaların devamını gerektirmektedir. Büyük ölçekli çok

merkezli çalışmalar ve HPV aşılamanının etkisine ilişkin analizler de dahil olmak üzere gelecekteki araştırma abaları, meme kanseri onkogenezi ni ynlendiren karmaşık mekanizmalar hakkındaki anlayışımızı ilerletmek için zorunludur.

Anahtar sözcükler: Meme kanseri, etiyoloji, insan papillomavirs, viral onkojen, yüksek riskli HPV, karsinogenez



ABSTRACT

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer in women worldwide and is also the leading cause of cancer-related deaths among women. Despite advances in treatment methods and the understanding of the molecular structure of cancer, its high prevalence and mortality persist. While the relationship between Human Papillomaviruses (HPV) infection and the development of genital tumors is widely accepted, there is a lack of conclusive data regarding the impact of these viruses on breast lesions in the literature. Given the conflicting reports on the association between HPV and breast lesions, the aim of this study is to determine the presence of HPV-DNA in breast cancer tissues in patients who underwent surgery at our hospital.

In our study, a total of 834 breast cancer cases operated on in Acıbadem Healthcare Group Hospitals between 2019 and 2022 were screened, and among these cases, those who were BRCA (-) and under the age of 50 were included in the study group to exclude known breast cancer risk factors. A total of 91 breast cancer tissues from 90 patients were included in the study group. The identified cases underwent HPV-DNA screening at the Acıbadem LABMED laboratory using the PCR method. Subsequently, selected patients were subjected to HPV mRNA screening at the Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University Pathology Laboratory.

Data from 91 tissues operated on by a single surgeon at our center and evaluated by a pathologist specialized in breast pathology were used in our study. High-risk HPV was not detected in the results of HPV-DNA PCR tests conducted for all patients. Given that the mRNA test yielded negative results for a total of 46 patients to assess the accuracy of the results and enhance the test's specificity, the study was concluded.

The exploration of underlying mechanisms and the biology of complex and multifactorial diseases like breast cancer holds a significant place in the literature. Following a literature review, our study aimed to investigate the presence of the HPV genome in breast cancer tissues and normal breast tissue. Following PCR and mRNA tests conducted in breast cancer tissues, no presence of HPV was detected in our study group. The complex interplay of genetic, viral factors, and environmental influences in breast cancer development necessitates further research. Future research efforts, including large-scale multicenter studies and analyses

of the impact of HPV vaccination, are crucial to advance our understanding of the complex mechanisms driving breast cancer oncogenesis.

Keywords: Breast cancer, etiology, human papillomavirus, viral oncogene, high-risk HPV, carcinogenesis



GİRİŞ

Meme kanseri dünya çapında kadınlarda en sık görülen malignitedir[1]. Aynı zamanda kadınlarda kanserden ölümlerin ikinci önde gelen nedenidir. Görülme sıklığı son yıllarda artmaya devam etmiştir ve kadınların 1/8'inin yaşamları boyunca meme kanserine yakalanacağı tahmin edilmektedir[2]. Meme dokusunun malign dönüşümü, yaş, meme yoğunluğu, aile öyküsü, genetik değişiklikler, radyasyon, hormonal ve çevresel faktörlerin hücresel yolların değişmesine ve kontrolsüz hücre büyümesine yol açan önemli bir rol oynayabildiği karmaşık, çok faktörlü bir süreç sonucu tamamlanır[3]. Birçok hasta grubunda bilinen hiçbir risk faktörü tanımlanamamakta ve diğer patojenik yolların daha fazla araştırılması zorunlu hale gelmektedir.

HPV, serviks[4], vulva, baş ve boyun[5]–[8], anüs[9], penis[10], mesane[11], larenks[12], özofagus[13], [14] ve akciğer[15] dahil olmak üzere çeşitli epitelyal kanser türleri ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, HPV'nin meme kanserindeki potansiyel rolü henüz belirlenmemiştir[16]. Bu konuyla ilgili çok sayıda tartışmalı rapor mevcut olup, son yirmi yılda çalışmaların sayısı artmasına rağmen kesin bir sonuca ulaşamamıştır[17]–[23]. Birçok moleküler ve epidemiyolojik çalışma, HPV'nin meme karsinogenezinde rol oynadığını öne sürerken[5], [22], [24]–[28], diğerleri herhangi bir korelasyon göstermemiştir[19]–[21], [29]–[31]. HPV'nin tüm dünyada yaygın ve kronik enfeksiyon kaynağı olduğu bilinmekte ve meme kanseri ile ilişkisinin ortaya koyulması tanı ve tedavi açısından önemini korumaktadır. Çeşitli HPV türlerine karşı etkili aşıların bulunması bu sorunun yanıtını daha da önemli hale getirmektedir[12].

İnsan Papillomavirüsleri (HPV) enfeksiyonu ile genital tümörlerin gelişimi arasındaki ilişki yaygın olarak kabul edilmesine rağmen, bu virüslerin meme lezyonları üzerindeki etkisi hakkında literatürde çok az bilgi bulunmaktadır. Çeşitli çalışmalardan çelişkili sonuçlar elde edilmiştir[31]–[36]; ancak meme kanserinde HPV'nin genel prevalansının %23 (%13-42 aralığı) olduğu rapor edilmiştir[37]. Bazı çalışmalar, varyasyonun, düşük spektrumlu HPV primerleri ile daha az duyarlı olan metodolojinin kullanımı, daha az DNA bütünlüğüne sahip parafine gömülü dokular ve HPV'nin coğrafi çeşitliliği gibi çeşitli nedenlere bağlı olduğunu öne sürmüştür[18].

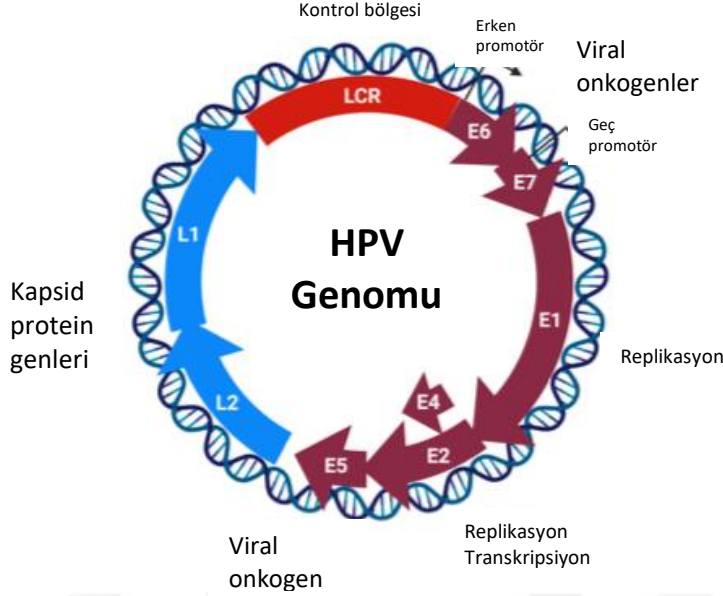
HPV'nin epitelyal hücrelere bağlanabilir olmasını ve onkojenik etkisini sağlayan biyolojik mekanizmalar, servikal karsinogenez çalışmalarından oldukça iyi bilinmektedir. HPV genleri E6 ve E7'nin konakçı hücre ile etkileşimi, sırasıyla p53'ün bozulmasına ve p16 transkripsiyon inhibisyonunun kaybına neden olur[38], [39]. HPV pozitif meme kanserlerinde, HPV negatif olanlara kıyasla p53 ve p21 proteinlerinin daha düşük ekspresyonları gözlemlenmiştir. Hormon reseptörleri ile meme kanseri ve HPV'nin HER2 ekspresyon durumu arasındaki korelasyon hakkında çok az veri bulunmaktadır[40]. Önceki çalışmalar, HPV barındıran tümörlerin ER reseptörlerini eksprese etme olasılığının daha düşük olduğunu göstermiştir[41].

HPV ve meme lezyonları arasındaki ilişkiye dair tartışmalı raporlar göz önüne alındığında, bu çalışmanın amacı, meme kanseri tanısı almış Türk popülasyonundan oluşan bir çalışma grubu arasında HPV-DNA'nın meme karsinomunda saptanabilir olup olmadığını belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

İnsan Papilloma Virüsü (Human Papilloma Virus, HPV) Papillomavirus ailesinde özellikle epitel dokuları enfekte eden zarfsız bir virüstür. Çift sarmallı DNA yapısında bulunan 8 adet protein kodlayan gen bulunur tüm yapısı erken (early, E), geç (late, L) ve uzun kontrol bölgesi (long control region, LCR) bulunur. E bölgesinde açık okuma parçaları (Open reading frame, ORF) ile E1'den E7'ye kadar isimlendirilmiş yapısal olmayan proteinler kodlanır. Bu proteinler viral çoğalma ve konak hücrelere transformasyonda etkilidir. L bölgesi ise iki yapısal protein olan L1 (majör kapsid proteini) ve L2 (minör kapsid proteini) kodlar. L1 bölgelerine göre tanımlanmış 200'den fazla HPV alt tipi bulunur. Bu alt tipler onkojenik potansiyeline yüksek riskli HPV (high risk HPV, HR-HPV) (Örn; 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 ve 70) ve düşük riskli HPV (Örn; 6, 11, 42, 43 ve 44) olarak isimlendirilmiştir[42].

HPV genellikle çok katlı epitel doku üzerinde cinsel ilişki sırasında oluşan mikro lezyonlardan girerek bazal hücreleri enfekte eder[43]. HPV'nin vücuda girişi için heparan sülfat proteoglikanları gereklidir[44]. Virüs konak hücreye genellikle makropinositoz benzeri bir mekanizmayla alınarak hücre çekirdeğine taşınır[45], [46]. Farklılaşmamış bazal hücrelerde HPV düşük kopya sayısında dormant halde bulunur (50-100 virus/hücre)[47]. HPV'nin proliferatif fazı ise farklılaşmış bazal hücrelerde (suprabazal katman) DNA replikasyon aktivitesinin baskılanmasıyla görülür[48]. Bu hücrelerde HPV'de bulunan E6 ve E7 onkoproteinleri, sırasıyla p53 ve retinoblastom (Rb) tümör supresor genlerini baskılayarak hücrelerin DNA replikasyonunu sınırlamasını engeller[10], [49], [50]. Bu mekanizma ile hücre içerisindeki DNA viral genom sayısı hızla artar. Sonrasında L proteinlerini kodlayan genlerin ekspresyonu ile viral genom kapsid yapımını tamamlar ve yeni oluşan virüsler keratinositlerden salınır[51].



Şekil 1: İnsan Papilloma Virüsü (HPV) genom dizilişi. HPV'nin çift sarmallı DNA yapısında olan genomunda yaklaşık 8000 baz çifti üç bölüme ayrılmış olarak bulunur. E bölgesinde (mor), E1, E2, E4, E5, E6 ve E7 açık okuma bölgeleri (ORF) bulunur. L bölgesinde (mavi) L1 ve L2 ORF'ler bulunur. Uzun Kontrol Bölgesinde (Long Control Region, LCR) (kırmızı) ise düzenleyici genler bulunur[42].

HPV Onkoproteinleri

HPV genomunda tanımlanan onkoproteinler yüksek riskli HPV'lerde onkojenik etkiyi çeşitli mekanizmalar yoluyla sağlar. İlk tanımlanan E1 ve E2 proteinleri viral DNA replikasyonu ve erken transkripsiyonda etkidir[48]. E4 proteini HPV çoğalması sırasında özellikle konak hücreden viral salınım ile ilgili birden fazla rolde etki gösterir[52]. E5, E6 ve E7 proteinlerinin konak hücre proteinleri ile ilişkili hücrelerin transformasyonu ve hücre ölümünün durdurulmasında etkilidir[53]–[55]. E5 proteini özellikle epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ekspresyonu ve aktivasyonunda etkilidir. E5 proteini konak hücrede vaküollerdeki asit-ATPaz bağımlı endozomal asidifikasyonu bozarak EGFR yıkımını azaltır[51], [55], [56]. Ayrıca HPV 18'de E5 proteini EGFR ekspresyonunu arttırdığı da gösterilmiştir[47]. HPV tip 16'da ise E5 proteininin insan keratinositlerinde EGFR'nin lizozomal işaretlenmesini bozarak EGFR yıkımını yavaşlattığı ve hücre yüzeyindeki reseptör sayısını arttırdığı gösterilmiştir[51]. HPV 16'daki E5 ayrıca MHC-I mekanizmasını baskılayarak immün yanıtı kaçınılmasını sağlar[57]. E6 ve E7 ise majör onkoproteinler olarak bilinir[58]. E6 proteini, E6-ilişkili protein (E6-associated protein, E6-AP) aracılığıyla ubiquitin ve proteazom yıkımını engelleyerek p53 inaktivasyonunu sağlar ve enfekte olan hücrelerin apoptozunu engeller[10]. E6 ayrıca apoptozun ekstrinsik yolağında bulunan pro-apoptotik Bak proteini ile kaspaz 8'de Fas-FADD

yıkımını sağlayarak apoptozu baskılar[59], [60]. E6 proteininin hem MAPK hem de mTORC1 yollarını aktive etme özelliği bulunur. Ayrıca HPV 16 E6 proteini interlekin-1 (IL-1) ekspresyonunu azaltarak, Th1 CD5+ T lenfositlerinin aktivasyonunu engeller. MHC-1 ekspresyonu da HPV38 E6 proteinin STAT1 proteinini baskılaması ile sağlanır[58]. E7 temel olarak Rb proteinini hedef alır ve E2F transkripsiyon faktörünün salgılanması ile hücreyi sentez fazına (S-fazı) sokar[61]. HPV16 E7 proteini ayrıca EGFR ekspresyonunu ve protein kinaz B aktivitesini artırır[51]. Hem E6 hem E7 proteinleri ayrıca c-Myc onkojenik ile etkileşime girebilir[61], [62]. Bu etkileşim insan telomeraz reverse transkriptaz (hTERT) aktivitesini artırır ve enfekte hücrenin yaşlanmasını engeller. E6 ve E7 proteinleri ayrıca N-kadherin, Fibronektin ve Vimentin proteinlerini artırarak, hücre göçünü ve invazyonunu sağlar[63]. E6 ve E7 proteinlerinin makrofajlardan antiviral interferon ve interlekin I beta salgısını azalması enfekte hücrelerin konak immün sistem saldırısından korunmasını sağlar[64].

Tablo 1: HPV onkoproteinlerinin biyolojik özellikleri

HPV Proteini	Etkisi
E1	Viral genom replikasyonunu başlatır
E2	Viral DNA replikasyonunu ve RNA transkripsiyonunu başlatır
E3	Bilinmiyor
E4	Viral parçaların kapsid içine alınmasını ve matürasyonunu sağlar
E5	v-ATPaz bağımlı endomozal asidifikasyonu baskılar, EGFR yıkımını azaltır Hücre yüzeyinde EGFR ve pEGFR ekspresyonunu artırır MHC-I baskılarak konak immün yanıtı bozar
E6	p53, Bak, FADD ve kaspaz-8 yıkımını sağlayarak hücreleri apoptozdan korur MAPK ve mTORC1 sinyal yolağını aktifleştirir IL-1 Beta yıkımı ile Th1 CD4(+) T hücrelerinin aktifleşmesini engeller MHC-1 ekspresyonunu STAT1'i hedefleyerek baskılar
E7	Rb proteinini yıkarak hücre bölünmesini tetikler Interferon salınımını engeller AKT aktivitesini ve EGFR ekspresyonunu artırır
E6 ve E7	c-myc ile etkileşime girerek, hTERT aktivitesini ve hücre ölümsüzlüğünü sağlar N-kadherin, fibronektin ve vimentini artırarak, EMT tetikler INF ve IL-1Beta üretimini baskılar, immün yanıtı bozar

EGFR, epidermal büyüme faktörü reseptörü; MHC-1, majör histokompatibilite kompleksi sınıf 1; FADD, Hücre ölümü tanımlı Fas-iliskili protein; MAPK, mitojen-aktive protein kinaz; mTORC1, rapamisin kompleksi 1; IL, interlökin; STAT1, sinyal iletilici ve transkripsiyon aktivatörü 1; AKT, protein kinaz B; hTERT, insan telomeraz reverse transkriptaz; EMT, epitelyal mezenkimal geçiş

Yüksek riskli HPV tipleri ile servikal kanser ve baş boyun kanserleri arasındaki ilişki literatürde geniş yer bulur[6], [65]. Ayrıca erken evre baş boyun kanserlerinde HPV varlığı prognostik önem taşır ve artmış vasküler invazyon, lenf nodu metastazı ve daha büyük tümör çapı ile ilişkilidir[7]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek riskli HPV varlığının meme kanseri hücrelerinde tespit edilmesi ve normal meme epitel hücrelerinde hücre ölümünü durdurduğunun gösterilmesi meme kanserinde HPV'nin etkili olduğunu düşündürmüştür[66].

Yüksek riskli HPV tiplerindeki E6 onkoproteini E6-AP proteini ile p53 yıkımını sağlarken E7 proteini de pRB ile p107 ve p130 gibi hücre bölünmesinde görevli proteinlere bağlanarak hücre döngüsünde bozulmalara sebep olur[10], [50], [67]. Bu durum meme kanserlerinin belli bir grubunda yüksek riskli HPV tiplerinin, özellikle HPV tip 16, 18 ve 33 tiplerinin ilişkili olabileceğini düşündürmektedir[68]. Ancak yüksek riskli HPV tiplerinin insan meme kanseri oluşumundaki net mekanizması henüz gösterilememiştir[63], [69].

Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri dünya üzerinde kadınlarda en sık tanı alan ve kadınlarda en sık kanser ilişkili ölüme sebep olan kanserdir[70]. Dünya üzerinde 2020 yılında 2,2 milyon üzerinde yeni meme kanseri tanısı koyulduğu ve 700 bine yakın meme kanseri nedeni ölüm olduğu tahmin edilmektedir[71]. Avusturalya/Yeni Zelanda, Kuzey Avrupa gibi yüksek sosyoekonomik statüdeki ülkelerde meme kanserinde daha yüksek insidans ve daha düşük mortalite oranları görülmektedir[72], [73]. Medikal ve cerrahi tedavideki gelişmelere rağmen, %20-40 meme kanseri vakasında takipte nüks varlığı raporlanmaktadır[74], [75]. Sağlık bakanlığı, kanser daire başkanlığı 2021 yılı verilerine göre ise her yıl yaklaşık 15.000 kadın meme kanseri tanısı almakta olup, ülkemizde meme kanseri insidansı yüz binde 40 olarak bildirilmiştir. Bu nedenle meme kanseri günümüzde uluslararası bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir.

Meme Kanseri Evrelemesi

Meme kanseri için en sık kullanılan evreleme sistemi, Amerikan Kanser Ortak Komitesi (AJCC) TNM sistemidir. Ocak 2018'den itibaren geçerli olan en yeni AJCC sistemi, meme kanseri için hem klinik hem de patolojik evreleme sistemlerine sahiptir[76]:

- Patolojik evre diğer adıyla cerrahi evre, ameliyat sırasında çıkarılan doku incelenerek belirlenir.
- Bazen, eğer cerrahi hemen mümkün değilse veya hiç mümkün değilse, klinik evre belirlenir. Bu, fizik muayene, biyopsi ve görüntüleme testlerinin sonuçlarına dayanmaktadır. Klinik evre tedaviyi planlamaya yardımcı olmak için kullanılır. Ancak

bazen kanser, klinik evre tahminlerinin ötesine yayılmıştır ve hastanın genel görünümünü patolojik evre kadar doğru tahmin edemeyebilir.

Her iki evreleme sisteminde de 7 temel bilgi kullanılır:

- Tümör boyutu (boyutu) (T)
- Yakındaki lenf düğümlerine yayılma (N)
- Uzak bölgelere yayılma (metastaz) (M)
- Östrojen Reseptörü (ER) durumu
- Progesteron Reseptörü (PR) durumu
- HER2 durumu
- Kanserin derecesi (G)

Meme Kanseri evresinde kullanılan TNM evreleme sistemi ve buna bağlı kanser evresi Tablo 2 ve Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 2: Amerikan Kanser Derneğinin 2018 yılında yayınladığı meme kanseri TNM Evresi

T - Tümör boyutu • TX: Primer tümör değerlendirilemiyor • T0: Primer tümör yok • Tis: Karsinoma in situ (DCIS, veya memenin Paget hastalığı mevcut) • T1 (T1a, T1b, ve T1c dahil): Tümör 2 cm veya daha küçük. • T2: Tümör 2-5 cm arasında. • T3: Tümör 5 cm'den büyük. • T4 (T4a, T4b, T4c, ve T4d dahil): Tümör göğüs duvarına ya da cilde invazyonu olan herhangi bir boyutta. İnflamatuvar meme kanseri dahil
N - Çevre lenf nodu yayılımı • NX: Çevre lenf nodları değerlendirilemiyor (Örn. öncesinde cerrahi olarak çıkarılmış) • N0: Lenf nodlarına yayılım yok • N0(i+): Lenf nodunda 200 hücreden az ya da 0.2 mm'den küçük yayılım var. (İzole tümör hücreleri) • N0(mol+): RT-PCR yapılarak moleküler düzeyde çok az sayıda tümör hücresi yayılımı saptanmış. • N1: 1-3 aksiller lenf nodu metastazı izlenmiş ve/veya sentinel lenf nodu biyopsisinde internal mamaryen lenf nodu metastazı saptanmış. • N1mi: Mikrometastaz; 0.2 mm-2 mm arasında lenf nodu metastazı saptanmış. • N1a: En az 1 alanda 2 mm'den büyük, 1-3 lenf nodunda metastaz izlenmiş. • N1b: Tümör tarafında internal mamaryen lenf nodu metastazı yalnızca sentinel lenf nodu biyopsisinde saptanmış. (Klinik lenf nodu metastazı yok) • N1c: N1a ve N1b birlikte • N2: 4-9 aksiller lenf nodunda metastaz veya klinik olarak büyümüş internal mamaryen lenf nodları • N2a: En az 1 alanda 2 mm'den büyük, 4-9 lenf nodunda metastaz izlenmiş. • N2b: Klinik olarak internal mamaryen lenf nodlarına metastaz izlenmiş • N3 • N3a: En az 1 alanda 2 mm'den büyük, 10'dan fazla lenf nodunda metastaz izlenmiş YA DA İnfraklaviküler lenf nodlarında en az 2 mm'den büyük metastaz izlenmiş. • N3b: En az 1 aksiller lenf nodunda 2 mm'den büyük metastaz ve büyümüş internal mamaryen lenf nodları YA DA En az 4 veya daha fazla lenf nodunda metastaz (biri en az 2 mm'den büyük) ve sentinel lenf nodunda internal mamaryen lenf nodlarında metastaz • N3c: Kanseri tarafında en az 2 mm'den büyük supraklaviküler lenf nodu metastazı
M - Uzak metastaz • M0: Görüntüleme yöntemi ve fizik muayeneyle uzak metastaz saptanmadı • cM0(i+): İmmünohistokimyasal testlerle kanda veya kemik iliğinde tümör saptanmış veya aksilla, infraklaviküler ve internal mamaryen lenf nodları dışında 0.2 mm'den küçük lenf nodu metastazı saptanmış • M1: En sık kemik, akciğer, beyin veya karaciğer olmak üzere 0.2 mm'den büyük uzak organ metastazı

Tablo 3: Prognostik gruplara göre meme kanseri evrelemesi

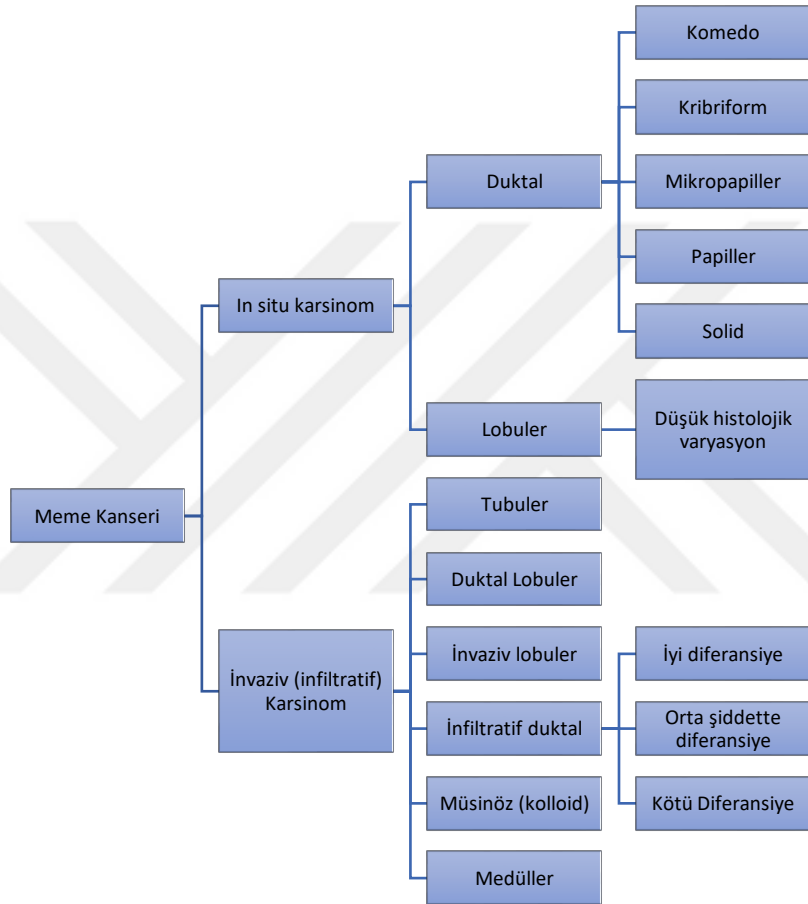
Evre 0	Tis	N0	M0
EVRE IA	T1	N0	M0
EVRE IB	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
EVRE IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
EVRE IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
EVRE IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
EVRE IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
EVRE IIIC	Herhangi T	N3	M0
EVRE IV	Herhangi T	Herhangi N	M1

Tablo 3: Prognostik gruplara göre meme kanseri evrelemesi

Meme Kanseri Sınıflandırması

Meme kanseri vakalarının %90-95'i, meme kanalların ya da süt üretimi yapılan lobüllerin epitelinden kaynaklanan adenokanserlerdir. Bu vakaların %75-80'i invaziv duktal karsinom (İDK), daha az bir kısmı %5-10 ile invaziv lobüler karsinomlardır (İLK). Daha nadir görülen vakalar mikst tip (duktal ve lobüler), inflamatuvar, metaplastik, papiller, tübüler, adenoid kistik, kribriform, medüller ve müsinöz karsinomlardır[77], [78]. Meme kanseri immünohistokimyasal değerlendirmede östrojen (ER), progesteron (PR) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü tip-2 (HER2), ekspresyonlarına göre dört farklı moleküler alt tiplere ayrılmıştır[79]. Hücre proliferasyon hızı belirteci, Ki-67 nükleer proteini de moleküler sınıflandırmada kullanılır. Bu moleküler incelemelere göre belirlenen alt tipler; Luminal A (ER+ ve/veya PR+, HER2-, Ki-67<%14), Luminal B (ER+ ve/veya PR+, HER2-, yüksek Ki-67 veya ER+ ve/veya PR+, HER2+), HER2-zengin (ER-, PR-, HER2+) ve triple negatif meme karsinomu (TNMK) (ER-, PR-, HER2-)[80]. Ancak literatürde aynı hastada tedavi ve takip sırasında tümörün alt tipinin değiştiği bilinmektedir. Nüks vakalarda, primer tümörle karşılaştırıldığında ER ve PR genellikle azaltır, Ki-67 ise artma eğilimindedir[81], bu durum daha agresif bir tümöre işaret eder. Luminal A tümörler en sık görülen moleküler alt tip olup

(%50-60) daha iyi bir prognoza sahiptir. TNMK ise genellikle genç yaş kadınlarda görülen ve daha yüksek bir histolojik evre ile artmış uzak metastaz oranları ve daha kötü prognoz ile ilişkilidir[82]. TNMK’de hedefe yönelik hormon tedavileri ve anti-HER2 tedavileri (örn. Trastuzumab), fayda sağlamaz ve kemoterapi sonrası daha yüksek nüks oranları gösterir[83], [84]. Bu nedenle meme kanseri biyolojisinin daha iyi anlaşılması ve tedavide yeni moleküler hedefler belirlenmesi, ilaç direnç mekanizmalarının anlaşılması için çalışmalar devam etmektedir. Şekil 2’de histolojik tiplere göre meme kanseri sınıflandırması gösterilmiştir.



Şekil 2: Meme kanseri histopatolojik sınıflandırması

Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanserlerinin bilinen yaygın risk faktörleri arasında yaş, aile öyküsü, eksojen östrojen kullanımı ve çevresel faktörler (sigara, alkol kullanımı gibi) sayılabilir[85]. İngiltere’de yapılan bir kohort çalışmada birinci derece akrabalarından birinde meme kanseri saptanan kadınlarda anlamlı derece daha fazla meme kanseri görüldüğü raporlanmıştır[86]. Riskin ailede birden fazla kişide meme kanseri olması ile arttığı da bilinmektedir. Bu çalışmanın devamında ve teknolojiye gelişmelerle birlikte meme kanserine duyarlılığı arttıran, BRCA1 ve BRCA2

gibi genetik mutasyonlar ortaya koyulmuştur[87]. Bir çalışmada BRCA1 ve 2 genlerinin 20'den fazla varyantının meme kanseri ile direkt ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte meme kanserinde etkili olduğu bilinen TP53, PTEN, STK11, ATM, CHEK2, BRIP1, RAD51C, RAD51D, BARD1 ve PALB2 gibi genetik mutasyonlar da yıllar içinde saptanmıştır[88]. Genetik kodlamanın çevresel faktörlerle birlikte mutasyonlara ve değişikliklere uğradığının gösterilmesi ile birlikte, meme kanseri etiyolojisi ve biyolojik yolları anlamak üzerine yapılan çalışmalarda, çevresel faktörler olan, parite, vücut kitle indeksi, boy, oral kontraseptif kullanımı, menopozal hormon tedavisi kullanımı, alkol, sigara, fiziksel aktivite gibi alışkanlıkların da meme kanseri gelişiminde önemli risk faktörleri olduğu gösterilmiştir[85].

Bununla birlikte sporadik meme kanseri vakalarında bazı viral enfeksiyonların da risk faktörü olduğu düşünülmüştür. Örneğin, bir çalışmada Fare Meme Tümörü Virüsü (Mouse Mammary Tumor Virus, MMTV) herediter meme kanserlerinde hiç bulunmamışken, sporadik meme kanserlerinin %30'unda saptanmıştır[28]. Ancak, meme kanserindeki viral etkenler ile ilgili çelişkili sonuçları olan çalışmalar bulunmaktadır[89]. Onkojen virüslerden Epstein-Barr Virüsü (EBV), Burkitt Lenfoma, post-nakil lenfoma, nazofaringeal lenfoma, Hodgkin Lenfoma ve Mide MALT lenfomasında etkili olduğu gösterilmiş olup, meme kanseri dokularında da farklı ülkelerde farklı sıklıklarda varlığı saptanmıştır[25], [28], [90]. EBV ve diğer onkojenik virüslerin günümüzde meme kanseri gelişiminde etkisi netlik kazanmamıştır. Hindistan'dan yapılan bir çalışmada EBV-kodlu RNA in situ hibridizasyon (EBER-ISH) meme kanseri dokularının %30,1'inde pozitif saptanmış[91], Çin'de ise multiplex polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak meme kanseri dokularında %60 EBV varlığı gösterilmiştir[92]. Avrupa'dan yapılan çalışmalarda meme kanseri vakalarında gerçek-zamanlı PCR ile EBV pozitifliği Portekiz'de %25,8, Fransa'da %33,2 bulunmuştur[93]. Bunun aksine, İran'dan aynı teknik ile yapılan bir çalışma daha düşük prevalans (%8) bildirilmiş[94]–[97] ve diğer çalışmalarda meme kanseri dokularında EBV saptanmamıştır[95]–[97]. Onkojenik virüslerden olan, jinekolojik ve orofaringeal kanserlerde etkisi gösterilmiş olan yüksek-riskli insan papilloma virüsünün (HR-HPV) de meme kanseri gelişiminde etkili olabileceği savunulmuştur. HR-HPV'nin epitel hücrelerde malign transformasyona ve kanser gelişimine neden olabildiği servikal, orofaringeal ve anogenital tümörlerde bilinmektedir. Bu çalışmada HR-HPV'nin meme kanserindeki prevalansı ve potansiyel etki mekanizması incelenecektir.

Literatürde meme kanseri ile ilişkili HPV çalışmalarında meme kanserinde HPV viral yükü servikal kanser ile karşılaştırıldığında son derece düşük bulunmuştur[98]. Bu nedenle meme tümörlerinde HPV saptanması PCR ve tüm genom sekanslama (whole-genome sequencing) gibi yöntemlerle dahi kolay değildir. Buna rağmen, 20 ülkede yapılan 40 farklı çalışmada meme kanseri dokularında HPV gen sekansları saptanmıştır[35], [99]. Tüm yapılan çalışmaların meta-analizleri karşılaştırıldığında yüksek riskli HPV meme kanseri dokularında, sağlıklı meme dokuları ile karşılaştırıldığında 4 kat daha fazla saptanmıştır[11]. Yüksek riskli HPV saptanan meme kanseri insidansı literatürde coğrafik olarak farklılık göstererek Çin'in bazı bölgelerinde 0 ile %2 arasında raporlanmış olup Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada %86 olarak bildirilmiştir[11]. HPV tip 16 ve 18 çoğunlukla en sık saptanan tip[99] olmakla birlikte Çin ve Japonya'nın bazı bölgelerinde HPV tip 33 ve 58 en sık olarak bildirilmiştir[99]. Meta-analizlerin sonucunda yüksek riskli HPV varlığı ortalama 5,4 oranında artmış meme kanseri ile ilişkilidir. Ancak çalışmalarda anlamlı coğrafik farklar göze çarpmaktadır[11].

Lawson ve ark, 2015 yılında yaptıkları çalışmada benign meme dokusunda yüksek riskli HPV saptanan hastaların takibinde ortalama 1-11 yıl içerisinde HPV-pozitif meme kanseri gelişimi raporladı[100]. Benzer şekilde, HPV ilişkili servikal lezyonlar görülen hastalarda aynı tip HPV ile pozitiflik saptanan meme kanseri vakaları bildirildi[101]. Taiwan Ulusal Sağlık Sigortası verilerinden yapılan güncel bir çalışmada viral siğiller saptanan kadınlarda meme kanseri gelişme riski, siğil olmayan kadınlara göre %23 daha fazla olarak bildirildi[102]. Bu veriler HPV enfeksiyonlarının HPV-pozitif meme kanseri gelişimine öncülük edebileceğini düşündürmektedir.

Meme Kanseri Gelişiminde HPV Enfeksiyonunun Etkisi

Normal meme dokusunda ve meme kanseri dokularında koilositlerin saptanması HPV viral parçalarının meme dokusuna ulaşabildiğini göstermektedir[103]. Meme kanseri dokularında bulunan HR-HPV genomları literatürde sıklıkla bütünleşmiş halde bulunmuşlardır (%86-100). Örneğin, İslam ve arkadaşlarının çalışmasında meme kanseri dokularında saptanan HPV16 viral partikülleri HPV epizomal formuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak bütünleşmiş halde bulunmuşlardır (%87,5 vs. %4,2, $p=0.01$)[27]. Hindistan'dan bir çalışmada ise meme kanseri dokularının %8,3'ünde HPV partiküllerinin epizomal ve bütünleşmiş formları birlikte (mikst) olarak saptanmıştır[104]. Epitel hücre karsinogenezinde viral bütünleşme bir gereklilik olmasa

da önemli bir basamak olduğu bilinmektedir[105]. HPV ilişkili onkogeneizde bilinen önemli bir başka adım tümörün HPV partiküllerinin epizomal formunu içermesidir[106]. Meme kanseri dokularında saptanan HPV partiküllerinin viral yükü oldukça düşük olarak raporlanmıştır. Bazı çalışmalarda viral yük hücre başına 1 viral genomdan da düşük saptanmıştır[98]. Teorik olarak tümör hücrelerinde viral çoğalmanın sağlanması için en az hücre başına bir viral genom kopyası olması gerektiği bilinmektedir[107]. Örneğin servikal kanserde kullanılan SiHa hücre grubunda 1 kopya bütünleşmiş HPV16 izlenmektedir. Bu nedenle bu kadar düşük viral yükün görüldüğü meme kanseri dokularında her bir meme kanseri hücresinde bütünleşmiş HPV partikülü saptamak mümkün olmayacaktır. Bununla birlikte bu kadar düşük viral yük saptanan meme kanseri hücrelerinde, HPV'nin bu kanserlerin gelişiminde etkisinin yalnızca indirekt olacağı söylenebilir. Ayrıca immunsupresif hastalarda veya organ nakil alıcılarında meme kanseri riskinde artış görülmemesi de bu durumu desteklemektedir[107].

Meme kanserinde sınırlı HPV-pozitif olan populasyonda HPV etkisi, HPV'nin sebep olduğu moleküler değişiklikler ile meme kanseri patogenezinin başlaması ve devamında HPV varlığına gerek olmayan bir “vur-kaç” mekanizmasıyla da açıklanabilir[108]. Literatürde HPV-pozitif saptanan meme kanseri dokularında, HPV-negatif olgulara göre artmış proliferasyon ve histolojik evre saptanmıştır[109]. HPV-pozitif meme kanserlerinde ayrıca BRCA1 ve BRCA2 tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonunda azalma izlenmiştir. HPV-pozitif saptanan meme kanseri dokularında yapılan incelemede IL-1, TGF- β ve TNF- α gibi HPV enfeksiyonu ile ilişkili proinflamatuvar sitokinlerde artış saptanmıştır[110]. Meme kanseri dokularında HPV enfeksiyonunun ayrıca p-Stat3 ve IL-17 ekspresyonu ile de birlikte olduğu düşünülmektedir[42]. Literatürde meme kanseri hastalarında HPV E6 ve E7 onkoproteinlerinin ekspresyonunun saptandığı çalışmalar da bulunmaktadır. HPV E6/E7 proteinlerinin düşük seviyede ekspresyonu HPV16 p97 erken başlatıcısının hipermetilasyona uğraması ile tetiklendiği bilinmektedir[27]. Ancak literatürdeki sonuçlarda E6 ve E7 proteinlerinin ekspresyonu p53 ve Rb proteinleriyle ters orantılı olarak saptanmış. P53 ve Rb proteinlerinin ekspresyonu HPV-pozitif meme kanseri örneklerinde HPV-negatif örneklerle kıyasla daha az olarak gösterilmiştir[110]. Wang ve arkadaşlarının çalışmasında da benzer olarak Bcl-2 ve p53 seviyeleri HPV-pozitif meme kanseri vakalarında daha düşük saptanmıştır ancak p21, Rb ve survivin proteinlerinin seviyeleri HPV varlığı ile ilişkili bulunmamıştır[67]. Literatürde invaziv meme kanseri vakalarında HPV E6 ekspresyonu, DNA-bağlayıcı protein inhibitörünün (Id-1) aşırı ekspresyonu ile ilişkili gösterilmiştir[111]. HPV 16 E6/E7 ekspresyonu görülen

meme kanseri hücreleri, HPV negatif meme kanseri hücrelerine kıyasla artmış invazyon yeteneği ve in vivo metastatik potansiyel göstermektedir[69]. HPV16 E6/E7 proteinleri normal meme dokusu hücrelerinde, HER2 ile birlikte çalışarak EGF-bağımsız koloni oluşturmaya sağlar. Ayrıca bu proteinler, hücre adhezyonunun düzenleyicisi olan beta-katenin aktivasyonunda etkilidir. HPV tip 18 ise, DNA sitozin deaminaz APOBEC3B proteinin ekspresyonunu artırır, bu sayede DNA çift sarmal kırıklarının oluşmasını sağlar[112]. APOBEC3B proteini, DNA hasarı ve meme kanserine yol açan mutasyonların enzimatik kaynağı olarak görev alır. HPV16 E6 ve E7 proteinleri BRCA1 ile etkileşime girerek meme kanseri hücrelerinde ER- α aktivitesinin baskılanmasını engeller[51]. Ayrıca HPV16 E6, Sikloksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu artırarak meme kanseri hücrelerindeki proliferasyonu ve bağımsız büyümeyi artırır. HPV16 E6 ile sağlanan COX-2 aşırı ekspresyonu ayrıca NF- κ B sinyal yolağının aktivasyonu ile de ilişkilidir[67].

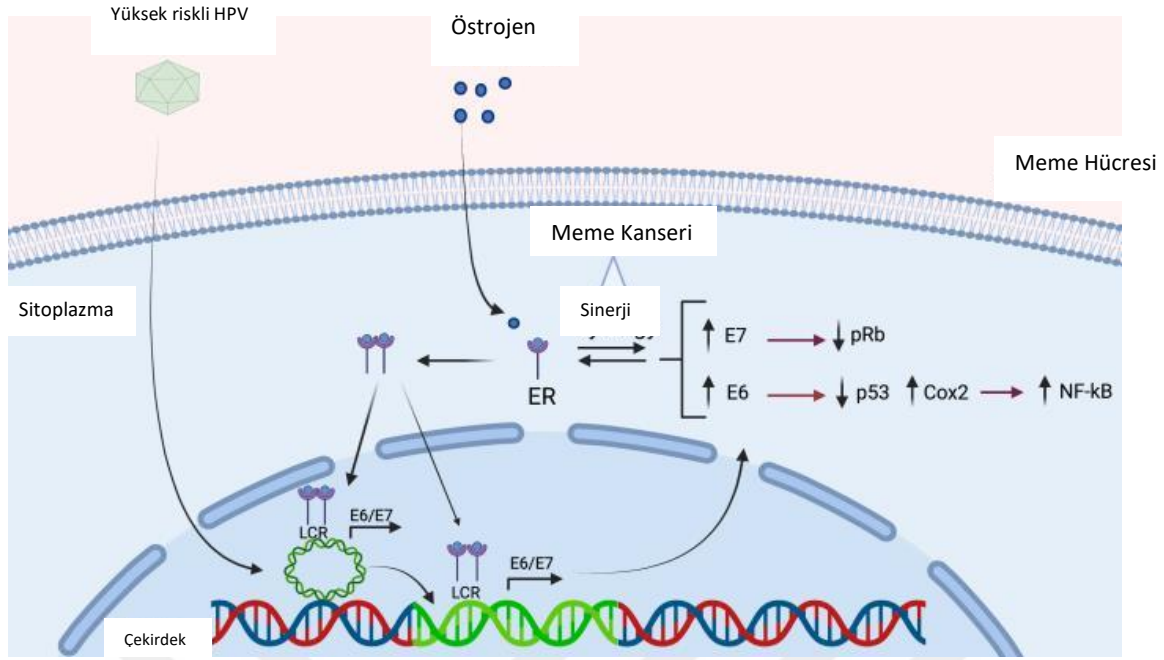
Bununla birlikte, HPV pozitif meme kanseri örneklerinin bir kısmında HPV E6 ve E7 ekspresyonunun olmadığı durumlar da gösterilmiştir[113]. Daha güncel bir çalışmada, HPV onkoproteinlerinin meme kanseri gelişiminde EBV ile birlikte etki gösterdiği raporlanmıştır. Bu çalışmada yazarlar, E6/E7 proteinlerinin EBV'nin LMP1 proteini ile koopere olarak, epitel hücrelerinin mezenkimal transformasyonunu ve invazyonu arttırdığını söyler[114]. Ancak, literatürde EBV pozitif olan meme kanseri dokularında LMP1 proteini yok veya zayıf pozitif olarak raporlanmıştır, bu nedenle E6/E7/LMP1 ilişkisini ve karsinogenez üzerindeki etkilerini incelemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. HR-HPV E6/E7 onkoproteinleri ile EBV BARF1 proteinlerinin de etkileşimlerinin incelenmeye değer potansiyel etkileri vardır, çünkü BARF1 proteini EBV'nin özellikle epitelyal kanserlerinde etkili onkoproteini olarak bilinmektedir[115], [116]

HPV'nin Östrojen Reseptör Sinyal Yolağı ile İlişkisi

Servikal ve endometrial kanserler ile meme kanserinde östrojen maruziyetinin risk faktörü olduğu literatürde geniş yer bulmaktadır[117], [118]. Ancak bu durumun moleküler düzeydeki patofizyolojisi henüz kesinlik kazanmamıştır. 17β -estradiol kanda serbest bulunan en sık östrojen tipidir ve östrojen reseptörü (ER) ile etkileşime girerek birçok biyolojik ve fizyolojik fonksiyona etki eden insan fizyolojisi için anahtar görev gören bir steroid hormondur[119]. Östrojen reseptörleri nükleer steroid hormone reseptörleri ailesinde bulunan bir reseptör olup ligand-uyarılabilir transkripsiyon faktörleri olarak tanımlanır ve insan meme kanserlerinin

%60-70'inde aşırı ekspresyon gösterir[120]. ER'nin, ER α ve ER β olarak iki izoformu bulunmaktadır. Bu iki reseptör iki adet birbirinden bağımsız gen tarafından kodlanmasına rağmen, benzer fonksiyon ve yapıdadırlar. Östrojen sinyal yolağı, östrojen reseptörlerinin aktifleşmesi ve sinyal iletimi, genomic veya non-genomik yolaklarla olabilir. Genomik yolak, ER sinyal yolağının en iyi tanımlanmış yolağıdır ve ligand bağlanması ile birlikte başlar, yapısal değışiklik görülür ve ER'nin sitoplazmadan hücre çekirdeğine girerek belirli DNA dizilerine bağlanmasını sağlar. Bu DNA dizilerine Östrojen Yanıt Elementleri (Estrogen, Response, Elements (EREs) ismi verilir ve hedef genlerin başlangıç bölgelerinde ya da bu bölgelere yakın yerleşimelerdir[121]. Sonuç olarak ER'ler ve bu reseptörlerin lokal transkripsiyon faktörleri ile etkileşimleri ile gen ekspresyonunda değışiklik sağlanır. Servikal kanserde, ER-ilişkili sinyal yolağının HPV onkojenleri ile birleşerek hücre transformasyonunu sağladığı bilinmektedir[122], [123]. HPV enfekte fare modellerinde yapılan deneylerde, östrojen tedavisinin E6 ve E7 proteinlerinde aşırı ekspresyon ve servikal displazide artış gösterdiği raporlanmıştır[124]. Bu nedenle östrojen sinyal yolağı ile HPV ilişkili onkojen literatürde geniş destek bulmuştur[125]. Literatürde saptanan meme dokusundaki HR-HPV entegre formunun saptandığı çalışmalar dikkate alındığında, meme kanserinde de östrojen-HPV ilişkisiyle farklı bir karsinogenez mekanizması olduğu öngörülebilir. Örneğin, HPV'nin LCR bölgesinin anahtar düzenleyicileri olan c-Fos ve c-Jun transkripsiyon faktörleri ile ER α ilişkisi gösterilmiştir. Bu sayede östrojene yüksek miktarda maruz kalan meme hücrelerinde, HPV genomlarının bulunması viral gen ekspresyonu için uygun bir ortamı sağlayabilir ve E6/E7 proteinlerinin aşırı ekspresyonunu sağlayabilir[42]. Diğer bir açıdan da, HPV'nin viral partikülleri ER üzerinde etkili olabilir. Örneğin, Wu ve arkadaşları E2 proteininin, ER α 'nın ERE-bağımlı transkripsiyonel aktivitesi üzerinde nükleer reseptör ko-aktivatörleriyle birlikte çalıştığını göstermiştir. Benzer olarak Wang ve arkadaşları HPV 18 E6 ve E7 onkoproteinlerinin ER α 'nın ERE-bağımlı aktivitesinin değışmesinde direkt etkili olduğunu göstermiştir[126]. Bu nedenle, meme kanserlerinin çoğunda görülen yüksek östrojen sinyal yolağı etkili ER aşırı ekspresyonu, HPV pozitif meme hücrelerinde HPV geni ekspresyonunu etkileyebilir ve meme karsinogenezinin hem başlangıcında hem de progresyonunda etkili olabilir.

Şekil 3'te Blanco ve arkadaşları tarafından oluşturulan HPV ilişkili meme karsinogenezi hipotez modeli gösterilmiştir.



Şekil 3 Blanco ve arkadaşları tarafından 2021 yılında oluşturulan HPV ilişkili meme karsinogenez modeli. Östrojen hormonu östrojen reseptörünü (ER) active eder ve hücresel translokasyonu başlatır. Bu sırada ER'ye bağlı HR-HPV viral partikülleri LCR aktivasyonu ile erken promotör E6/E7 proteinlerinin aşırı ekspresyonunu sağlar (hem epizomal form hem bütünleşmiş form HPV'de mümkündür). Artan E6 ve E7 proteinleri pRb ve p53 baskılanmasını, COX-2 artışını ve NF-kB aktivasyonunu sağlar. Ayrıca ER ve HR-HPV E6/E7 proteinleri arasında sinerjistik etki daha önceki yayınlarda gösterilmiştir[42].

Yüksek riskli insan papillomavirüsleri, öncelikle servikal kanserle ilişkili olan ancak aynı zamanda diğer anogenital kanserler ile oral kavite[8], [127], [128], özofagus[13], [14], [129], nazofaringeal ve laringeal karsinom[6], [7], [15], [130] ve muhtemelen retinoblastoma[49], [131]–[133] gibi diğer solid organ kanserleri ile de bağlantılı olan kanserojen virüslerdir. Hindistan'da HPV'nin servikal kanser örneklerinin %100'ünde mevcut olduğu ve yüksek riskli HPV tip 16 prevalansının bunlarda son derece yüksek (~%90) olduğu bulunmuştur[134]. Sırasıyla iki ana konakçı hücre tümör baskılayıcı proteini p53 ve Rb[10], [49], [50] ile etkileşime girdiği ve bunları etkisiz hale getirdiği bilinen HR-HPV onkoproteinleri E6 ve E7'nin, aynı zamanda insan meme epitel hücrelerini in vitro ölümsüzleştirdiği de gösterilmiştir[57], [66]. İnsan meme kanserinin etiyolojisinde başka virüslerin de rol oynadığı gösterilmiştir, ancak bunlar diğer yazarlar tarafından doğrulanmamıştır[135], [136].

Meme kanserinde HPV enfeksiyonunun dağılımına ilişkin çalışmalar sınırlı ve oldukça tartışmalıdır. İnce iğneyle aspire edilen meme kanseri hücreleri de dahil olmak üzere bazı çalışmalarda, meme kanserinde herhangi bir HPV enfeksiyonu bulamadı[30], [137]–[140].

Birçok yazar tarafından %20-48'lik bir HPV enfeksiyonu prevalansı[16], [68], [141]–[146] rapor edilirken, diğerleri meme kanserinde HPV'nin %60 ila %85 arasında değişen çok yüksek bir HPV enfeksiyonu sıklığı rapor etmiştir[109], [147], [148]. Bunlardan en ilginç olanı, meme kanseri hücre hatlarında yüksek riskli HPV18'in in-situ hibridizasyon yoluyla yakın zamanda gösterilmesi ve HPV'nin meme kanserindeki onkogenik rolünü yineleyen meme kanseri hücrelerinde HPV'ye özgü koilositlerin gözlemlenmesidir[103]. Bu bizi, daha önce BRCA1, BRCA2 tümör baskılayıcı genlerdeki[149] mutasyonlar açısından analiz edilen çok sayıda meme kanseri vakasında HPV'nin rolünü yeniden incelemeye yöneltti. Sonuçlar çalışma grubumuza dahil edilen meme kanseri hastalarında HPV DNA'sının tamamen yokluğunu göstermektedir.



GEREÇ VE YÖNTEM

HPV varlığının sağlıklı meme dokusunda ve meme kanseri dokularında varlığının gösterilmesinde farklı çalışmalarda çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında taze patoloji preparatlarında gerçek-zamanlı PCR yöntemleri veya HPV genomunun transkripsiyon materyalinin ve HPV ilişkili proteinlerin saptanması hedeflenmiştir. Farklı çalışmalarda ise parafin bloklarda gömülü olan dokuların deparafinizasyonu ile HPV genomunun varlığı araştırılmıştır. Bu yöntemlerde başarı şansı çalışmalara göre farklılık göstermiş ve standart bir yöntem tanımlanmamıştır.

Çalışmamızda 2019-2022 yılları arasında Acıbadem Sağlık Grubu Hastanelerinde opere olan toplam 834 meme kanseri vakası taranmış, bu vakaların içerisinde, bilinen meme kanseri risk faktörlerini dışlamak amacıyla BRCA (-) olan ve 50 yaş altı vakalar çalışma grubuna dahil edilmiştir. Retrospektif vaka-kontrol çalışması olarak planlanan çalışmamızda toplam 91 vaka çalışma grubuna dahil edilmiştir. Çalışma grubundaki vakaların parafin bloklarından tümör yoğunluğu yüksek olan kesitler seçilmiş ve hasta kimlik bilgileri gizli tutulacak şekilde numaralandırılmıştır. Belirlenen vakalara HPV-DNA PCR yöntemi ile Acıbadem LABMED laboratuvarında HPV taraması yapılmıştır. Takiben seçilen hastalara Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Patoloji Laboratuvarında HPV mRNA taraması yapılmıştır.

Çalışmamızda yüksek riskli HPV-DNA taranması için yapılan PCR testinde kullanılan izolasyon kiti QIAamp DNA FFPE Tissue KitQIAGEN, Qiagen, Cat no: 56404, PCR cihazı Rotor-Gene Q 5plex HRM, Qiagen ve PCR Kiti olarak CareGENE HPV screening kit-H (100), Cat no; MVG-N10082 kullanılmıştır. Caregene HPV kiti HPV tiplendirmeyi Tip 16, 18 ve diğerleri olarak çalışır ve hedef bölge olarak E7 kullanılmıştır. Tespit limiti 1×10^1 ile 1×10^2 kopya/reaksiyon olarak belirlenmiştir.

HPV-DNA PCR çalışmasına kullanılan işlem basamakları aşağıdaki gibidir.

1. Parafin bloktan alınan 5- 10 mikronluk kesitler 1,5 ml'lik ependorfa alınır ve 1ml ksilen eklenir. 10 saniye vortekslenir.
2. 2 dk 13000 rpm'de santrifüj edilir.
3. Süpernatant uzaklaştırılır.
4. Pelet üstüne 1 ml etanol eklenir, vortekslenir. (Etanol ksilen artığını örnekten uzaklaştırmak için kullanılır.)
5. 2 dk 13000 rpm'de santrifüj edilir.

6. Süpernatant uzaklaştırılır.
7. Tüp kapağı açılarak, etanolün uzaklaştırılması için, 37 derece ısıdaki ısıtıcıda 10 dk inkübe edilir.
8. Peletin üstüne 180 mikrolitre Buffer ATL ve 20 mikrolitre proteinaz K pipetlenir ve vortekslenir.
9. 56 dereceye ayarlanmış ısıtıcıda 1 saat (örnek tamamen eriyene kadar) inkübe edilir.
10. 90 dereceye ayarlanmış ısıtıcıda 1 saat inkübe edilir.
11. Kapaktaki damlacıkları uzaklaştırmak için kısa süreli santrifüj yapılır.
12. Tüpe 200 mikrolitre Buffer AL pipetlenir, kapağı kapatılıp vortekslenir, ardından 200 mikrolitre ethanol eklenir ve yeniden vortekslenir.
13. Kapaktaki damlacıkları uzaklaştırmak için kısa süreli santrifüj yapılır.
14. Ependorf içindeki karışım steril 2 ml toplama tüpüne yerleştirilmiş QIAamp MinElute kolona transfer edilir. Kolonun kapağı kapatılır, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir, içinde atık bulunan toplama tüpü atılır. (Lizat santrifüj sonrası kolon membranından süzülmedi ise yüksek hızda kolon boşalana santrifüj edilebilir.)
15. Kolonun kapağı dikkatlice açılır ve içine 500 mikrolitre Buffer AW1 pipetlenir, kapak kapatılır ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir, ardından toplama tüpü yenisiyle değiştirilir.
16. Kolonun kapağı dikkatlice açılır ve içine 500 mikrolitre Buffer AW2 pipetlenir. Kapak kapatılır ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilir. Toplama tüpü yenisiyle değiştirilir.
17. 13000 rpm'de 3 dakika, membranı tamamen kurutmak için santrifüj edilir.

β -globin için PCR reaksiyonu, PCR inhibitörlerinin varlığı veya ekstrakte edilen her DNA şablonu için daha düşük DNA bütünlüğü nedeniyle yanlış negatif numuneleri tanımlamak ve hariç tutmak için yapıldı. PC04 (5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3') ve GH20 5'-GAA GAGCCAAGGACAGG TAC-3' primerleri, β -globin genini amplifiye etmek için kullanıldı. Çalışma doğrulaması ve kalite kontrolü için her HPV PCR çalışmasına pozitif ve kontaminasyon (H₂O) kontrolleri dahil edildi.

Çalışmamıza dahil edilen dokulardan mRNA taraması için yapılan kesitlerin deparafinizasyonu, Aptima-Panther cihazı kullanılarak mRNA taraması yapılarak yüksek-

riskli HPV varlığının incelenmesi ve HPV tiplendirilmesi aşağıdaki basamaklar izlenerek yapılmıştır.

1. Mikrotom bıçak tutucu ve parafin blok tutucuları %5 hipoklorid solüsyon ile uygun şekilde temizlenerek distile su ile hipoklorid etkisi giderilir. Her parafin blok için yeni bir mikrotom bıçağı kullanılır.
2. Parafin bloktan 5 mikronluk 20-50 kesit alınarak 1.5 ml ependorf tüpe koyulur
3. Pastör pipeti ile 1 ml mineral yağı (mineral oil) numune içeren ependorf tüpe ilave edilir ve karıştırılır. Bu işlem parafini eritir ve dokuyu ısıya karşı korur
4. Karışım 95 derecede 6 dakika süre ile özel ısıtıcıda tutulur.
5. Isıtıcıdan alınan numune içeren ependorf tüpü 8000 rpm de 2 dakika süre ile santrifüj edilir.
6. Santrifüj edilmiş olan numunenin üst kısmı pastör pipeti ile alınarak atılır.
7. Mineral yağ ile numunenin karıştırılıp santrifüj edilmesi işlemi üç kez tekrarlanır
8. Son aşamada 100 mikrolitre Aptima Panther örnek solüsyonu santrifüj edilmiş ve üst kısmı atılmış olan numune üzerine ilave edilir. Bu solüsyonun üzerine 100 mikrolitre Proteinaz K solüsyonu eklenerek deparafinize olan doku parçalanır ve DNA serbestleştirilir.
9. Eklenen sıvılar ile numune karıştırılır ve 56 derecede 18-24 saat arası inkübasyona bırakılır.
10. Ependorf içerisindeki karışım pastör pipeti ile Aptima Panther örnek tüpüne ilave edilir ve Panther sisteminde HPV tiplendirmesi yapılır.

Çalışmamız 03.12.2021 tarihli Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Değerlendirme Kurulu tarafından tıbbi etik yönünden onaylanmıştır (ATADEK 2021-23/17). İstatistikler SPSS 28 for Mac kullanılarak yapıldı (IBM Corp. Released 2021. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Version 28.0. Armonk, NY: IBM Corp). Normal dağılıma Shapiro-Wilk Normal Dağılım testi kullanılarak bakıldı ve $p>0.05$ olan veriler normal dağılım gösteriyor olarak kabul edildi. Normal dağılım gösteren sayısal veriler $\text{mean} \pm \text{SD}$, normal dağılım göstermeyen verilerse median (IQR) olarak rapor edildi.

BULGULAR

Çalışmamıza, merkezimizde tek cerrah tarafından ameliyat edilmiş ve piyesi meme patolojisi üzerine özelleşmiş tek patolog tarafından değerlendirilmiş olan 90 hastanın verileri kullanılmıştır. Bir hastamızın bilateral meme kanseri nedeniyle ameliyat olmasından dolayı toplamda 91 preparat çalışmaya dahil edilmiştir. Toplam 91 preparata yapılan HPV-DNA PCR testlerinin sonucunda yüksek riskli HPV varlığı saptanmamıştır. Sonuçların doğruluğunun değerlendirilmesi ve testin özgüllüğünün artırılması amacıyla toplam 46 hastaya yapılan mRNA testinin negatif gelmesi üzerine çalışma sonlandırılmıştır.

Katılımcıların ameliyat olduğu yaş verisi normal dağılım göstermekte olup ($p=0,081$) ortalama yaş $39,73 \pm 4,76$ yıl olarak hesaplanmıştır. Katılımcıların ortalama vücut kitle indeksi (VKİ) normal dağılım göstermemekte olup ($p=0,018$) $24 (5) \text{ kg/m}^2$ olarak görülmüştür.

Hastaların 89 tanesinin sigara öyküsüne erişildi. 11 (%12,5) tanesi aktif sigara içici olup 8 (%9) tanesi eski kullanıcı statüsündedir. 69 (%77,5) hasta hiç sigara içmemiştir. Sigara içen hastaların sigara yükü normal dağılım göstermemekte olup ($p<0,001$) medyan sigara yükü 3,25 (5,45) paket yıldır.

Hastalardan 87 tanesinin alkol sorgulamasına erişim sağlanmış olup bu hastalardan 67 (%77) tanesi alkol tüketmezken 20 (%23) hasta, kendisini sosyal içici olarak tanımlamıştır.

Katılımcılarımızdan 61 (%69,3) tanesi menopoza öncesi dönemde, 19 (%20,9) tanesi menopoza sonrası dönemde ve 8 (%9,1) tanesi de menopoza sırası dönemde ameliyat edilmiştir. 2 hastamızın menopoza durumuna ilişkin bilgilere ulaşılamamıştır.

Toplamda 84 hastamızın gebelik öyküsü kaydına erişim sağlandı. Bu hastalarımızdan 64 (%76,2) tanesinin geçirilmiş gebelik öyküsü bulunmakta olup 20 (%23,8) tanesi nullipardır. Gebelik öyküsü olan hastalarımızın geçirilmiş gebelik sayıları ve canlı doğum sayıları normal dağılım göstermemekte olup her iki değişken için de Shapiro-Wilk analizi $p<0,001$ olarak hesaplanmıştır. Hastalarımızın medyan gebelik sayısı 2 (2) gebelik, canlı doğum sayıları ise 1 (1) canlı doğum olarak görülmüştür.

Hastaların meme dışı kanser öykülerine bakıldığında 1 (1,1%) hastada ek kanser izlenmiş olup bu, over kanseri olarak raporlanmıştır. Hastaların genetik analizlerinde hastalarının hiçbirinde BRCA-1 ve BRCA-2 mutasyonu saptanmamıştır. Hastaların tanımlayıcı özellikleriyle ilgili detaylar Tablo 4'te verilmiştir.

Hastaların servikal kanser taramalarına bakıldığında 39 (%43,3) hastaya tarama yapıldığı sonucuna varıldı. Bu hastalardan 31 (%79,5) hastanın SMEAR sonucu negatif, kalan 8 (%20,5) hastanın pozitif olarak sonuçlanmıştır. Pozitif SMEAR sonuçlarından 5 (%62,5)

hasta ASC-US, 1 (%12,5) hasta LSIL, 1 (%12,5) hasta HSIL ve 1 (%12,5) hasta AGC-NOS olarak sonuçlanmıştır. SMEAR taraması yapılan hastalardan 8 (%20,5) hastada HPV incelemesi de yapılmış olup bu hastalardan 2 (%25) hastada HPV saptanmıştır. Bu hastalardan 1 (%50) hastada HPV 16, 18/45 dışı, diğer hastadaysa HPV 18/45 saptanmıştır. Hastaların servikal taramalarıyla ilgili detaylar Tablo 5'te verilmiştir.

Hastaların lezyon taraflarında 44 (%48,4) lezyon sağ meme yerleşimli olup, 47 (51,6%) lezyon sol meme yerleşimlidir. Tanı anında radyolojik tümör boyutu normal dağılım göstermemekte olup ($p<0,001$) medyan boyutu 20 (18) mm olarak ölçülmüştür.

Hastalık yayılımı açısından 67 (%73,6) hastada memede tek odakta lezyon izlenmiştir. 14 (%15,4) hastada multisentrik hastalık izlenirken 10 (%11) hastada multifokal hastalık izlenmiştir. Hastalardan 1 (%1,1) tanesi metastatik hasta olup bu hatanın çoklu kemik metastazları izlenmiştir. Opere edilen hastalardan 91 (%98,9) tanesine sentinel lenf nodu biyopsisi yapılmıştır. Bu hastalardan 16 (17,6%) tanesine aksiller lenf nodu diseksiyonu yapılmıştır. ALND yapılan hastalardan 3 (18,8%) hastaya seviye I, 6 (37,5) hastaya seviye I ve II, kalan 7 (43,7%) hastaya da seviye I, II ve III ALND yapılmıştır.

Nihai patoloji 52 (%57,1) hastada invazif kanser, 39 (%42,9) hastadaysa non-invazif kanser olarak sonuçlanmıştır. Bu kitlelerin patoloji boyutları normal dağılım göstermemekte olup ($p<0,001$) 10,5 (15) mm olarak ölçülmüştür. Toplamda 51 (%56) hastada östrojen ve progesteron reseptörü immünohistokimyasal yöntemlerle çalışılmıştır. Bu hastalardan 45 (%88,2) hasta östrojen reseptörü pozitif izlenirken progesteron reseptör pozitifliği 38 (%74,5) hastada izlenmiştir. Bu hastaların ER pozitifliği normal dağılım göstermemekte ($p<0,001$) olup medyan ER yüzdesi 100 (5) olarak izlenmiştir. PR pozitiflik yüzdeleri normal dağılım göstermemektedir ($p=0,004$). Medyan PR pozitiflik yüzdeleri 60 (70) olarak görülmüştür. Toplam 42 hastada (%46,2) Ki-67 değeri incelenmiştir. Ki-67 yüzdesi normal dağılım göstermemekte olup ($p=0,013$) medyanı 17,5 (21) olarak görülmüştür. Hastaların klinik bilgileriyle ilgili detaylar Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 4 Demografik Özellikler

		n (%)
Cinsiyet	Kadın	90 (100)
Yaş, Ortalama±SS		39,73±4,76
BMI, Medyan		24 [5]
Sigara	Hiç Kullanmamış	69 (77,5)
	Eski Kullanıcı	8 (9)
	İçiyor	12 (13,5)
Sigara Yüğü, Medyan		3,25 [5,45]
Alkol	Hiç Kullanmamış	67 (77)
	Sosyal	20 (23)
Menopoz Durumu	Menopoz Öncesi	61 (69)
	Menopoz Sırası	8 (9,1)
	Menopoz Sonrası	19 (20,9)
Gebelik Öyküsü	Yok	20 (23,8)
	Var	64 (76,2)
Gebelik Sayısı, Medyan		2 [2]
Canlı Doğum Sayısı, Medyan		1 [1]
Meme Dışı Kansere Öyküsü	Var	1 (1,1)
	Yok	89 (98,9)
BRCA-1/2 Mutasyonu	Yok	90 (100)

Tablo 5: Servikal Tarama

		n (%)
Servikal Tarama	Yapılmış	39 (43,3)
	Yapılmamış	51 (57,1)
SMEAR Sonuç	Negatif	31 (79,5)
	Pozitif	8 (20,5)
Alt Tip	HSIL	1 (12,5)
	LSIL	1 (12,5)
	ASC-US	5 (62,5)
	AGC-NOS	1 (12,5)

HSIL: yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon;
LSIL: düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon; ASC-US: anlamı belli olmayan anormal hücreler; AGC-NOS: atipik glandüler hücreler

Tablo 6: Tümör bilgileri

		n (%)
Lezyon Taraf	Sağ	44 (48,4)
	Sol	47 (51,6)
Lezyon Tanı Boyut, Medyan [ÇA]		20 [18]
Yayılım	Tek Odak	67 (73,6)
	Multifokal	10 (11)
	Multisentrik	14 (15,4)
SLNB	Yapıldı	90 (98,9)
	Yapılmadı	1 (1,1)
ALND	Yapıldı	16 (17,6)
	Yapılmadı	75 (82,4)
ALND Seviye	I	3 (18,8)
	I+II	6 (37,5)
	I+II+III	7 (43,7)
Nihai Patoloji	Invazif Kanser	52 (57,1)
	Non_Invazif Kanser	39 (42,9)
Tümör Patolojik Boyut, Medyan [ÇA]		10,5 [15]
ER Değerlendirilmesi	Yapıldı	51 (56)
	Yapılmadı	40 (44)
ER Sonuç	Pozitif	45 (88,2)
	Negatif	6 (11,8)
ER (%), Medyan [ÇA]		100 [5]
PR Değerlendirilmesi	Yapıldı	51 (56)
	Yapılmadı	40 (44)
PR Sonuç	Pozitif	38 (74,5)
	Negatif	13 (25,5)
PR (%)		60 [70]
Ki-67 Değerlendirilmesi	Yapıldı	42 (46,2)
	Yapılmadı	49 (53,8)
Ki-67 (%)		17,5 [21]
SLNB: Sentinel lenf nodu biyopsi; ALND: aksiller lenf nodu diseksiyonu; ER: östrojen reseptörü; PR: progesteron reseptörü; ÇA: çeyrekler açıklığı.		

TARTIŞMA

Meme kanseri gibi kompleks ve multifaktöriyel bir hastalıkta altta yatan mekanizmaların ve hastalığın biyolojisinin araştırılması literatürde geniş yer bulur. Çalışmamız meme kanseri dokusunda HPV varlığı ve meme kanseri gelişiminde potansiyel etkisini araştırmayı hedeflemektedir. Literatür taraması sonrasında çalışmamızda HPV genomunun meme kanseri dokularında ve normal meme dokusunda varlığını araştırmayı hedeflediğimiz çalışmada meme kanseri dokularında yapılan PCR ve mRNA testlerini takiben çalışma grubumuzda meme kanseri dokularında HPV varlığı saptanmamaktadır.

Çalışmalar arasında bildirilen HPV prevalansındaki çeşitlilik, meme kanserinde viral tutulumu araştırmanın karmaşıklığını vurgulamaktadır. Literatürde meme kanserinde HPV prevalansı %0 ile %30 arasında değişen geniş bir aralıkta sunulmaktadır[32], [70]. Meme kanseri dokularında HPV tespitinin daha az sıklıkta olduğu Avrupa'daki çalışmaların aksine, Asya, Afrika ve Güney Amerika'nın bazı bölgelerinde yapılan çalışmalarda daha yüksek prevalans rapor edilen coğrafi farklılıklar dikkat çekici bir şekilde gözlemlenmiştir[19], [150]. Bulgularımız ikinci eğilimle uyumludur ve HPV ile meme kanseri arasında tutarlı bir ilişki kurmanın karmaşıklığını daha da yansıtmaktadır.

HPV'nin onkogenik bir virüs olarak rahim ağzı kanserindeki rolü iyice belirlenmiş olsa da meme kanserine katkısı belirsizliğini korumaktadır[151]. Memenin farklı anatomik, fizyolojik ve immünolojik özellikleri, HPV'nin meme onkogenezindeki rolünün geçerliliğine ilişkin soruları gündeme getirmektedir. Ayrıca çeşitli kanser türlerinde HPV tipleri ve alt tiplerinde farklılıklar gözlenmesi, hassas moleküler araştırmaları gerektirmektedir[119]. Çalışmamız, HPV varlığını göstermemiş olsa da karmaşık viral ilişkileri araştırmak için güçlü metodolojilerin ve kapsamlı yaklaşımların gerekliliğini vurgulayarak devam eden bu söyleme katkıda bulunmaktadır.

Meme kanseri örneklerimizde HPV'nin bulunmaması çeşitli faktörlere bağlanabilir. Rahim ağzı kanseri gibi HPV ile ilişkili diğer kanserlerle karşılaştırıldığında meme kanseri dokularındaki düşük viral yük, tespit edilmesini engelleyebilir. Ayrıca, kontaminasyon riski ve potansiyel yanlış pozitifler de dahil olmak üzere HPV tespitindeki doğal zorluklar, titiz laboratuvar uygulamalarını gerektirir[152], [153]; bu endişeyi, titiz doğrulama süreçlerimiz

aracılığıyla ele aldık. Sonuçlarımızın doğruluğunu sağlamak için her biri yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahip olan PCR ve mRNA testleri kullanıldı.

HPV prevalansındaki coğrafi farklılıklar da bulgularımızın yorumlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Belirli bölgelerde spesifik HPV alt tiplerinin varlığı, farklı çalışmalar arasındaki tespit oranlarındaki eşitsizlikleri açıklayabilir[18]. Bu bölgesel çeşitlilik, HPV ile meme kanseri arasındaki potansiyel ilişkiyi değerlendirirken yerel genetik ve çevresel faktörlerin dikkate alınmasının önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamız HPV ile meme kanseri arasında doğrudan bir bağlantı ortaya çıkarmasa da önemli hususları gündeme getiriyor. Viral onkojenез, çeşitli kanserlerde iyi bir şekilde belgelenmiştir; bu durum, viral ajanların malign transformasyona katkıda bulunma potansiyelini göstermektedir. HPV aşılama programlarının rahim ağzı kanserini önlemedeki başarısı, viral enfeksiyonların kanserin önlenmesindeki daha geniş etkisinin altını çizmektedir[39]. Bulgularımız, mevcut bilgi birikimiyle birleştiğinde, HPV aşısının meme kanserinin önlenmesine yönelik potansiyel etkileri konusunda daha fazla araştırma yapılması ihtiyacının altını çiziyor.

Çalışmamız 50 yaşın altındaki BRCA1 ve BRCA2 negatif bireyler olarak özellikli bir hasta popülasyonuna odaklanmaktadır. Bu hedefe yönelik yaklaşım, kafa karıştırıcı genetik faktörlerin etkisini azaltmayı ve böylece meme kanseri gelişiminin çok faktörlü doğasını vurgulamayı amaçladı[1], [3]. Bununla birlikte, meme kanserinin heterojenliği göz önüne alındığında, farklı popülasyonları kapsayan daha geniş çalışmalar, HPV ile meme kanseri arasındaki olası ilişkiyi kapsamlı bir şekilde aydınlatmak için çok önemlidir.

Literatürde bir süredir HPV'nin servikal kanserle birlikte meme kanseri gelişiminde de rol aldığı dile getirilmektedir. Birçok çalışmada meme kanseri dokularında yüksek riskli HPV varlığı gösterilmiştir (%12,9-86,2)[36], [68], [147], [154]. Bazı çalışmalar ise HPV'nin meme kanseri hastalarında aksiller lenf nodlarında varlığını göstermiş ve virüsün potansiyel olarak hematogen yayılımı olabileceğini vurgulamıştır. Ancak bazı çalışmalar, bizim çalışmamızla paralel olarak HPV'nin meme dokusunda çok düşük prevalansta bulunduğunu ya da bulunmadığını raporlamıştır[21], [29]–[31], [96], [137], [155]. Çalışmalar arasındaki HPV pozitifliği farkı, kullanılan HPV testindeki farklılıklarla açıklanabilir. Hedef amplifikasyon yöntemlerinin duyarlılığı sinyal amplifikasyon yöntemlerine göre daha yüksektir. Vernet-

Tomas ve arkadaşlarının 2015'teki çalışmasında çalışmamızla aynı yöntem kullanmış ve test edilen 76 vaka arasında HPV pozitif meme kanseri vakası bildirilmemiştir[156].

Çalışmalar arasında HPV prevalansındaki farklılık, kontaminasyonun önemli derecede etki edebileceği tetkiklerdeki yanlış pozitif sonuçlarla da açıklanabilir. Çalışmalar, bir jinekoloji polikliniğindeki enstrümanlardan alınan örneklerin %18'e kadarında HPV'nin tespit edilebildiğini[152] ve çevresel yüzeylerde biriken DNA parçacıklarının kuruduktan sonra 7 güne kadar bulaşıcı kalabileceğini göstermiştir[153], [157]. Bu nedenle HPV ile ilgili çalışmaların kontaminasyon kontrolüne yoğun bir şekilde odaklanması gerekmektedir. Meme kanseri dokusunda yüksek HPV prevalansı oranlarını bildiren önceki çalışmalardan bazıları, kontaminasyon kontrolünün kullanımını bildirmemiştir[32], [65], [103], [158] ve bu nedenle yüksek HPV prevalansı, en azından kısmen kontaminasyondan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca bazı çalışmaların sadece meme kanserlerinde yüksek HPV prevalansı oranlarını değil aynı zamanda benign meme biyopsilerinden alınan kontrol örneklerinde de yüksek HPV prevalansı rapor etmesi de bu durumu desteklemektedir[103], [107]. Yöntemlerde daha önce açıklandığı gibi, bu çalışmanın kontaminasyon kontrolü açısından çok katı bir prosedürü vardı ve sonuçlarımıza göre herhangi bir kontaminasyon belirtisi yoktu. Dolayısıyla çalışma sonuçlarımızın daha önce yapılan bazı çalışmalarla[92] uyumlu olması muhtemelen çalışmalar arasında kontaminasyon kontrolü açısından benzerlik olmasından kaynaklanmaktadır.

Ayrıca, çalışmada parafin dokuların kullanımının, özellikle olası DNA bozulması ve çapraz bağlanma nedeniyle[159] yanlış negatif sonuç riskini belirtmek gerekir ve bu nedenle ve yakın zamanda elde edilmiş dokuların parafinlenmeden kullanımında HPV prevalansının daha yüksek olma ihtimali mevcuttur. Bu çalışmada, dahil edilen örnekler 1-3 yıl boyunca saklanmıştır. Ancak çalışmamızda kısa ampikonlar üreten oldukça hassas PCR bazlı HPV testleri kullanılmış ve ayrıca servikal vaka numuneleri üzerinde yaptığımız analizler hem yeni hem de eski numunelerde yüksek HPV pozitifliği oranı göstermiştir.

Bazı çalışmalar, meme kanserinde HPV'nin viral yükünün 1 kopya/hücreden çok daha düşük olduğunu öne sürmüştür; bu da bazı çalışmalardaki düşük prevalansın, yalnızca düşük duyarlılığın bir sonucu olduğunu düşündürmektedir[98], [101]. Çalışmamızda çok hassas iki PCR bazlı analiz kullanıldığı ve ayrıca HPV 16'yı çok düşük konsantrasyonlarda (1:10.000) tespit etmenin mümkün olduğunu ortaya koyan hassasiyet analizini içerdiği için, HPV pozitif meme kanserinin tespit edilememesinin daha az muhtemel olduğunu düşünüyoruz. Ek olarak,

eğer HPV gerçekten meme kanseriyle nedensel olarak ilişkiliyse, viral yükün daha yüksek olacağını ve dolayısıyla tespit edilmesinin kolay olacağını varsaymaktayız.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçların aksine, önceki çalışmalarda daha önce servikal displazi öyküsü olan kadınların, daha sonra meme kanserine yakalanma riskinin, olmayan kadınlara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu rapor edilmiştir[160]. HPV ile meme kanseri arasında bir ilişki bulamadığımız için bu bulgu, displazili kadınların bağışıklık sistemlerinin bir enfeksiyonu temizleyemediğini zaten göstermiş olması nedeniyle defektif bağışıklık sisteminin bir sonucu olabilir veya bu durum, sigara içmek gibi meme ve servikal kanserlerin ortak risk faktörlerinden kaynaklanabilir. Bazı çalışmaların öne sürdüğü bir diğer makul açıklama da bu durumun HPV tarafından düzenlenebilen spesifik genlerin ekspresyonundaki farklılıkları yansıtabileceğidir[112]. Ancak çalışmamızdan elde edilen sonuçlar bu hipotezi desteklememektedir.

Çalışmamızda sınırlayıcı etken olarak seçim yanlılığının meydana gelmiş olabileceğini göz ardı edemeyiz. BRCA mutasyonlu meme kanseri olma riski yüksek olarak değerlendirilen vakaları (ör. üçlü negatif meme kanseri) dahil etmemeyi seçtik çünkü bu kanserlerin HPV enfeksiyonunun bir sonucu değil somatik mutasyonlar nedeniyle ortaya çıktığını varsaydık. Ancak bu kanserleri de dahil etseydik HPV prevalansının daha yüksek olup olmayacağını bilemiyoruz. Bununla birlikte, meme kanserinde genel HPV prevalansı çok düşük olduğundan, bunun sonuçlarımızı etkileme olasılığının daha düşük olduğunu düşünüyoruz.

Sonuç olarak, çalışmamız HPV'nin meme kanseri gelişimindeki potansiyel rolünü çevreleyen gelişen anlatıya katkıda bulunmaktadır. Belirli coğrafi bölgelerdeki çalışmalarla uyumlu olarak meme kanseri numunelerimizde HPV'nin bulunmaması, olası ilişkinin dikkatli bir şekilde yorumlanmasına yol açmaktadır. Meme kanseri gelişiminde genetik, viral faktörler ve çevresel etkilerin karmaşık etkileşimi, araştırmaların devamını gerektirmektedir. Büyük ölçekli çok merkezli çalışmalar ve HPV aşılmasının etkisine ilişkin analizler de dahil olmak üzere gelecekteki araştırma çabaları, meme kanseri onkogenезini yönlendiren karmaşık mekanizmalar hakkındaki anlayışımızı ilerletmek için zorunludur.

KAYNAKLAR

- [1] T. J. Key, P. K. Verkasalo, and E. Banks, "Epidemiology of breast cancer," *Lancet Oncol*, vol. 2, no. 3, pp. 133–140, Mar. 2001, doi: 10.1016/S1470-2045(00)00254-0.
- [2] A. Kouloura *et al.*, "HPV infection and breast cancer. Results of a microarray approach," *Breast*, vol. 40, pp. 165–169, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.breast.2018.05.010.
- [3] K. Michailidou *et al.*, "Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci," *Nature*, vol. 551, no. 7678, pp. 92–94, Nov. 2017, doi: 10.1038/NATURE24284.
- [4] V. Acevedo-Sánchez *et al.*, "Extracellular Vesicles in Cervical Cancer and HPV Infection," *Membranes 2021, Vol. 11, Page 453*, vol. 11, no. 6, p. 453, Jun. 2021, doi: 10.3390/MEMBRANES11060453.
- [5] K. Nagi *et al.*, "High-risk human papillomaviruses and Epstein-Barr virus in breast cancer in Lebanese women and their association with tumor grade: a molecular and tissue microarray study," *Cancer Cell Int*, vol. 21, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1186/S12935-021-02009-4.
- [6] E. J. Lo *et al.*, "Human papillomavirus & WHO type i nasopharyngeal carcinoma," *Laryngoscope*, vol. 120, no. SUPPL. 4, 2010, doi: 10.1002/lary.21649.
- [7] U. H??rding, H. W. Nielsen, S. Dugaard, and H. Albeck, "Human Papillomavirus Types 11 and 16 Detected in Nasopharyngeal Carcinomas by the Polymerase Chain Reaction," *Laryngoscope*, vol. 104, no. 1, p. 99???102, Jan. 1994, doi: 10.1288/00005537-199401000-00018.
- [8] P. Balaram *et al.*, "Human papillomaviruses in 91 oral cancers from Indian betel quid chewers--high prevalence and multiplicity of infections," *Int J Cancer*, vol. 61, no. 4, pp. 450–454, 1995, doi: 10.1002/IJC.2910610403.
- [9] D. Formana *et al.*, "Global burden of human papillomavirus and related diseases," *Vaccine*, vol. 30 Suppl 5, no. SUPPL.5, 2012, doi: 10.1016/J.VACCINE.2012.07.055.
- [10] B. A. Werness, A. J. Levine, and P. M. Howley, "Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53," *Science*, vol. 248, no. 4951, pp. 76–79, 1990, doi: 10.1126/SCIENCE.2157286.
- [11] J. S. Lawson, B. Salmons, and W. K. Glenn, "Oncogenic Viruses and Breast Cancer: Mouse Mammary Tumor Virus (MMTV), Bovine Leukemia Virus (BLV), Human Papilloma Virus (HPV), and Epstein-Barr Virus (EBV)," *Front Oncol*, vol. 8, no. JAN, Jan. 2018, doi: 10.3389/FONC.2018.00001.
- [12] I. N. Mammas, G. Sourvinos, A. Zaravinos, and D. A. Spandidos, "Vaccination against human papilloma virus (HPV): epidemiological evidence of HPV in non-genital

- cancers,” *Pathol Oncol Res*, vol. 17, no. 1, pp. 103–119, Mar. 2011, doi: 10.1007/S12253-010-9288-0.
- [13] S. Rajendra *et al.*, “Active human papillomavirus involvement in Barrett’s dysplasia and oesophageal adenocarcinoma is characterized by wild-type p53 and aberrations of the retinoblastoma protein pathway,” *Int J Cancer*, vol. 141, no. 10, pp. 2037–2049, Nov. 2017, doi: 10.1002/ijc.30896.
- [14] T. Matsha, R. Erasmus, A. B. Kafuko, D. Mugwanya, A. Stepien, and M. I. Parker, “Human papillomavirus associated with oesophageal cancer,” *J Clin Pathol*, vol. 55, no. 8, pp. 587–590, 2002, doi: 10.1136/JCP.55.8.587.
- [15] T. S. Sidhu, A. K. Sharma, N. Sharma, A. K. Sen, and B. C. Das, “Unusual malignant transformation of juvenile recurrent respiratory papillomatosis,” *Otolaryngol Head Neck Surg*, vol. 136, no. 2, pp. 321–323, Feb. 2007, doi: 10.1016/J.OTOHNS.2005.03.047.
- [16] A. P. S. Damin, R. Karam, C. G. Zettler, M. Caleffi, and C. O. P. Alexandre, “Evidence for an association of human papillomavirus and breast carcinomas,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 84, no. 2, pp. 131–137, Mar. 2004, doi: 10.1023/B:BREA.0000018411.89667.0D.
- [17] K. Lindel, A. Forster, H. J. Altermatt, R. Greiner, and G. Gruber, “Breast cancer and human papillomavirus (HPV) infection: no evidence of a viral etiology in a group of Swiss women,” *Breast*, vol. 16, no. 2, pp. 172–177, 2007, doi: 10.1016/J.BREAST.2006.09.001.
- [18] X. Castellsagué *et al.*, “Prospective seroepidemiologic study on the role of Human Papillomavirus and other infections in cervical carcinogenesis: evidence from the EPIC cohort,” *Int J Cancer*, vol. 135, no. 2, pp. 440–452, Jul. 2014, doi: 10.1002/IJC.28665.
- [19] R. Herrera-Goepfert, N. A. Khan, C. Koriyama, S. Akiba, and V. M. Pérez-Sánchez, “High-risk human papillomavirus in mammary gland carcinomas and non-neoplastic tissues of Mexican women: no evidence supporting a cause and effect relationship,” *Breast*, vol. 20, no. 2, pp. 184–189, 2011, doi: 10.1016/J.BREAST.2010.11.006.
- [20] K. Lindel, A. Forster, H. J. Altermatt, R. Greiner, and G. Gruber, “Breast cancer and human papillomavirus (HPV) infection: No evidence of a viral etiology in a group of Swiss women,” *Breast*, vol. 16, no. 2, pp. 172–177, 2007, doi: 10.1016/j.breast.2006.09.001.

- [21] S. Hedau *et al.*, “Breast cancer and human papillomavirus infection: no evidence of HPV etiology of breast cancer in Indian women,” *BMC Cancer*, vol. 11, Jan. 2011, doi: 10.1186/1471-2407-11-27.
- [22] J. R. Cavalcante *et al.*, “Association of breast cancer with human papillomavirus (HPV) infection in Northeast Brazil: molecular evidence,” *Clinics (Sao Paulo)*, vol. 73, 2018, doi: 10.6061/CLINICS/2018/E465.
- [23] C. Malhone, A. Longatto-Filho, and J. R. Filassi, “Is Human Papilloma Virus Associated with Breast Cancer? A Review of the Molecular Evidence,” *Acta Cytol*, vol. 62, no. 3, pp. 166–177, Jun. 2018, doi: 10.1159/000487700.
- [24] A. L. M. Boumba, D. Malanda Mboundou Moudiongui, S. F. C. Ngatali, R. P. Takale, D. Moukassa, and J. F. Peko, “Oncogenic human papillomavirus in breast cancer: molecular prevalence in a group of Congolese patients,” *Access Microbiol*, vol. 3, no. 3, Mar. 2021, doi: 10.1099/ACMI.0.000216.
- [25] S. A. Metwally *et al.*, “Presence of HPV, EBV and HMTV Viruses Among Egyptian Breast Cancer Women: Molecular Detection and Clinical Relevance,” *Infect Drug Resist*, vol. 14, pp. 2327–2339, 2021, doi: 10.2147/IDR.S313219.
- [26] S. Islam *et al.*, “Study of association and molecular analysis of human papillomavirus in breast cancer of Indian patients: Clinical and prognostic implication,” *PLoS One*, vol. 12, no. 2, p. e0172760, Feb. 2017, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0172760.
- [27] S. Islam *et al.*, “Study of association and molecular analysis of human papillomavirus in breast cancer of Indian patients: Clinical and prognostic implication,” *PLoS One*, vol. 12, no. 2, Feb. 2017, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0172760.
- [28] W. Naushad, O. Surriya, and H. Sadia, “Prevalence of EBV, HPV and MMTV in Pakistani breast cancer patients: A possible etiological role of viruses in breast cancer,” *Infect Genet Evol*, vol. 54, pp. 230–237, Oct. 2017, doi: 10.1016/J.MEEGID.2017.07.010.
- [29] M. Hachana, S. Ziadi, K. Amara, I. Toumi, S. Korbi, and M. Trimeche, “No evidence of human papillomavirus DNA in breast carcinoma in Tunisian patients,” *Breast*, vol. 19, no. 6, pp. 541–544, 2010, doi: 10.1016/J.BREAST.2010.05.007.
- [30] P. De Cremoux, M. Thioux, I. Lebigot, B. Sigal-Zafrani, R. Salmon, and X. Sastre-Garau, “No evidence of human papillomavirus DNA sequences in invasive breast carcinoma,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 109, no. 1, pp. 55–58, May 2008, doi: 10.1007/S10549-007-9626-4.

- [31] S. Bønløkke *et al.*, “Evidence of no association between human papillomavirus and breast cancer,” *Front Oncol*, vol. 8, no. JUN, p. 1, Jun. 2018, doi: 10.3389/FONC.2018.00209/FULL.
- [32] N. Li, X. Bi, Y. Zhang, P. Zhao, T. Zheng, and M. Dai, “Human papillomavirus infection and sporadic breast carcinoma risk: a meta-analysis,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 126, no. 2, pp. 515–520, Apr. 2011, doi: 10.1007/S10549-010-1128-0.
- [33] M. K. Amarante and M. A. E. Watanabe, “The possible involvement of virus in breast cancer,” *J Cancer Res Clin Oncol*, vol. 135, no. 3, pp. 329–337, Mar. 2009, doi: 10.1007/S00432-008-0511-2.
- [34] F. L. Balci, C. Uras, and S. M. Feldman, “Is human papillomavirus associated with breast cancer or papilloma presenting with pathologic nipple discharge?,” *Cancer Treat Res Commun*, vol. 19, Jan. 2019, doi: 10.1016/J.CTARC.2019.100122.
- [35] J. Choi *et al.*, “Detection of Human Papillomavirus in Korean Breast Cancer Patients by Real-Time Polymerase Chain Reaction and Meta-Analysis of Human Papillomavirus and Breast Cancer,” *J Pathol Transl Med*, vol. 50, no. 6, pp. 442–450, 2016, doi: 10.4132/JPTM.2016.07.08.
- [36] A. P. Damin, D. C. Damin, and C. O. P. Alexandre, “HPV infection and breast cancer,” *Breast*, vol. 16, no. 3, p. 222, 2007, doi: 10.1016/J.BREAST.2007.02.005.
- [37] R. Herrera-Goepfert *et al.*, “High-risk human papillomavirus (HPV) DNA sequences in metaplastic breast carcinomas of Mexican women,” *BMC Cancer*, vol. 13, p. 445, Oct. 2013, doi: 10.1186/1471-2407-13-445.
- [38] H. Ghaffari *et al.*, “Molecular prevalence of human papillomavirus infection among Iranian women with breast cancer,” *Breast Dis*, vol. 37, no. 4, pp. 207–213, 2018, doi: 10.3233/BD-180333.
- [39] C. de Martel, M. Plummer, J. Vignat, and S. Franceschi, “Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type,” *Int J Cancer*, vol. 141, no. 4, p. 664, Aug. 2017, doi: 10.1002/IJC.30716.
- [40] S. N. Agoff, P. Lin, J. Morihara, C. Mao, N. B. Kiviat, and L. A. Koutsky, “p16(INK4a) expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types,” *Mod Pathol*, vol. 16, no. 7, pp. 665–673, Jul. 2003, doi: 10.1097/01.MP.0000077518.78046.0C.
- [41] E. Kudela, M. Nachajova, and J. Danko, “Is the HPV virus responsible for the development of breast cancer?,” *Breast J*, vol. 25, no. 5, pp. 1053–1054, Sep. 2019, doi: 10.1111/TBJ.13399.

- [42] R. Blanco, D. Carrillo-Beltrán, J. P. Muñoz, A. H. Corvalán, G. M. Calaf, and F. Aguayo, “Human Papillomavirus in Breast Carcinogenesis: A Passenger, a Cofactor, or a Causal Agent?,” *Biology (Basel)*, vol. 10, no. 8, Aug. 2021, doi: 10.3390/BIOLOGY10080804.
- [43] T. Giroglou, L. Florin, F. Schäfer, R. E. Streeck, and M. Sapp, “Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate,” *J Virol*, vol. 75, no. 3, pp. 1565–1570, Feb. 2001, doi: 10.1128/JVI.75.3.1565-1570.2001.
- [44] C. Y. Abban and P. I. Meneses, “Usage of heparan sulfate, integrins, and FAK in HPV16 infection,” *Virology*, vol. 403, no. 1, pp. 1–16, Jul. 2010, doi: 10.1016/J.VIROL.2010.04.007.
- [45] P. Aksoy, E. Y. Gottschalk, and P. I. Meneses, “HPV entry into cells,” *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, vol. 772, pp. 13–22, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.MRREV.2016.09.004.
- [46] M. Schelhaas *et al.*, “Entry of Human Papillomavirus Type 16 by Actin-Dependent, Clathrin- and Lipid Raft-Independent Endocytosis,” *PLoS Pathog*, vol. 8, no. 4, p. e1002657, Apr. 2012, doi: 10.1371/JOURNAL.PPAT.1002657.
- [47] K. Münger *et al.*, “Mechanisms of Human Papillomavirus-Induced Oncogenesis,” *J Virol*, vol. 78, no. 21, pp. 11451–11460, Nov. 2004, doi: 10.1128/JVI.78.21.11451-11460.2004/ASSET/84BEAE64-0090-4AE1-AF2A-3C3E3856C128/ASSETS/GRAPHIC/ZJV0210452790004.JPEG.
- [48] M. Bergvall, T. Melendy, and J. Archambault, “The E1 proteins,” *Virology*, vol. 445, no. 1–2, pp. 35–56, Oct. 2013, doi: 10.1016/J.VIROL.2013.07.020.
- [49] N. Dyson, P. M. Howley, K. Münger, and E. Harlow, “The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product,” *Science*, vol. 243, no. 4893, pp. 934–937, 1989, doi: 10.1126/SCIENCE.2537532.
- [50] M. Scheffner, B. A. Werness, J. M. Huibregtse, A. J. Levine, and P. M. Howley, “The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53,” *Cell*, vol. 63, no. 6, pp. 1129–1136, Dec. 1990, doi: 10.1016/0092-8674(90)90409-8.
- [51] B. Zhang, A. Srirangam, D. A. Potter, and A. Roman, “HPV16 E5 protein disrupts the c-Cbl-EGFR interaction and EGFR ubiquitination in human foreskin keratinocytes,” *Oncogene*, vol. 24, no. 15, pp. 2585–2588, Apr. 2005, doi: 10.1038/SJ.ONC.1208453.
- [52] J. Doorbar, “The E4 protein; structure, function and patterns of expression,” *Virology*, vol. 445, no. 1–2, pp. 80–98, Oct. 2013, doi: 10.1016/J.VIROL.2013.07.008.

- [53] C. A. Moody and L. A. Laimins, “Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation,” *Nature Reviews Cancer* 2010 10:8, vol. 10, no. 8, pp. 550–560, Jul. 2010, doi: 10.1038/nrc2886.
- [54] S. Mittal and L. Banks, “Molecular mechanisms underlying human papillomavirus E6 and E7 oncoprotein-induced cell transformation,” *Mutat Res Rev Mutat Res*, vol. 772, pp. 23–35, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.MRREV.2016.08.001.
- [55] J. L. Adam, M. W. Briggs, and D. J. McCance, “A mutagenic analysis of the E5 protein of human papillomavirus type 16 reveals that E5 binding to the vacuolar H⁺-ATPase is not sufficient for biological activity, using mammalian and yeast expression systems,” *Virology*, vol. 272, no. 2, pp. 315–325, Jul. 2000, doi: 10.1006/VIRO.2000.0376.
- [56] M. I. Rodríguez, M. E. Finbow, and A. Alonso, “Binding of human papillomavirus 16 E5 to the 16 kDa subunit c (proteolipid) of the vacuolar H⁺-ATPase can be dissociated from the E5-mediated epidermal growth factor receptor overactivation,” *Oncogene*, vol. 19, no. 33, pp. 3727–3732, Aug. 2000, doi: 10.1038/SJ.ONC.1203718.
- [57] D. E. Wazer, X. L. Liu, Q. Chu, Q. Gao, and V. Band, “Immortalization of distinct human mammary epithelial cell types by human papilloma virus 16 E6 or E7,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 92, no. 9, pp. 3687–3691, 1995, doi: 10.1073/PNAS.92.9.3687.
- [58] P. Cordano *et al.*, “The E6E7 oncoproteins of cutaneous human papillomavirus type 38 interfere with the interferon pathway,” *Virology*, vol. 377, no. 2, pp. 408–418, Aug. 2008, doi: 10.1016/J.VIROL.2008.04.036.
- [59] T. O. Garnett and P. J. Duerksen-Hughes, “Modulation of apoptosis by human papillomavirus (HPV) oncoproteins,” *Arch Virol*, vol. 151, no. 12, pp. 2321–2335, Dec. 2006, doi: 10.1007/S00705-006-0821-0/METRICS.
- [60] O. Chakrabarti *et al.*, “Human papillomavirus type 16 E6 amino acid 83 variants enhance E6-mediated MAPK signaling and differentially regulate tumorigenesis by notch signaling and oncogenic Ras,” *J Virol*, vol. 78, no. 11, pp. 5934–5945, Jun. 2004, doi: 10.1128/JVI.78.11.5934-5945.2004.
- [61] Y. W. Wang, H. S. Chang, C. H. Lin, and W. C. Y. Yu, “HPV-18 E7 conjugates to c-Myc and mediates its transcriptional activity,” *Int J Biochem Cell Biol*, vol. 39, no. 2, pp. 402–412, 2007, doi: 10.1016/J.BIOCEL.2006.09.006.
- [62] T. Veldman, X. Liu, H. Yuan, and R. Schlegel, “Human papillomavirus E6 and Myc proteins associate in vivo and bind to and cooperatively activate the telomerase reverse transcriptase promoter,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 100, no. 14, pp. 8211–8216, Jul. 2003, doi: 10.1073/PNAS.1435900100.

- [63] A. Yasmeen, T. A. Bismar, M. Kandouz, W. D. Foulkes, P. Y. Desprez, and A. E. Al Moustafa, "E6/E7 of HPV type 16 promotes cell invasion and metastasis of human breast cancer cells," *Cell Cycle*, vol. 6, no. 16, pp. 2038–2042, Aug. 2007, doi: 10.4161/CC.6.16.4555.
- [64] E. A. White, R. E. Kramer, M. J. A. Tan, S. D. Hayes, J. W. Harper, and P. M. Howley, "Comprehensive analysis of host cellular interactions with human papillomavirus E6 proteins identifies new E6 binding partners and reflects viral diversity," *J Virol*, vol. 86, no. 24, pp. 13174–13186, Dec. 2012, doi: 10.1128/JVI.02172-12.
- [65] W. Pornthanakasem, K. Shotelersuk, W. Termrungruanglert, N. Voravud, and A. Mutirangura, "Human papillomavirus DNA in plasma of patients with cervical cancer," *BMC Cancer*, vol. 1, Mar. 2001, doi: 10.1186/1471-2407-1-2.
- [66] V. Band, D. Zajchowski, V. Kulesa, and R. Sager, "Human papilloma virus DNAs immortalize normal human mammary epithelial cells and reduce their growth factor requirements," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 87, no. 1, pp. 463–467, 1990, doi: 10.1073/PNAS.87.1.463.
- [67] Y. W. Wang *et al.*, "HPV Status and Its Correlation with BCL2, p21, p53, Rb, and Survivin Expression in Breast Cancer in a Chinese Population," *Biomed Res Int*, vol. 2017, 2017, doi: 10.1155/2017/6315392.
- [68] Y. Yu *et al.*, "Human papillomavirus type 33 DNA in breast cancer in Chinese," *Breast Cancer*, vol. 7, no. 1, pp. 33–36, Jan. 2000, doi: 10.1007/BF02967185.
- [69] A. Yasmeen, R. Ricciardi, A. Kassab, T. A. Bismar, and A. E. Al Moustafa, "High-risk HPVs in human breast cancer and normal mammary tissues," *Breast*, vol. 16, no. 5, p. 445, 2007, doi: 10.1016/J.BREAST.2007.05.011.
- [70] J. S. Lawson, W. H. Günzburg, and N. J. Whitaker, "Viruses and human breast cancer.," *Future Microbiol*, vol. 1, pp. 33–51, 2006, doi: 10.2217/17460913.1.1.33.
- [71] H. Sung *et al.*, "Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries," *CA Cancer J Clin*, vol. 71, no. 3, pp. 209–249, May 2021, doi: 10.3322/CAAC.21660.
- [72] "Cancer screening with digital mammography for women at average risk for breast cancer, Magnetic Resonance Imaging (MRI) for women at high risk: An evidence-based analysis," *Ont Health Technol Assess Ser*, vol. 10, no. 3, pp. 1–55, 2010.
- [73] S. K. Rauniyar, M. Hashizume, D. Yoneoka, and S. Nomura, "Projection of morbidity and mortality due to breast cancer between 2020 and 2050 across 42 low- and middle-

- income countries.,” *Heliyon*, vol. 9, no. 6, p. e16427, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e16427.
- [74] H. Gonçalves, M. R. Guerra, J. R. Duarte Cintra, V. A. Fayer, I. V. Brum, and M. T. Bustamante Teixeira, “Survival Study of Triple-Negative and Non–Triple-Negative Breast Cancer in a Brazilian Cohort,” *Clin Med Insights Oncol*, vol. 12, Jul. 2018, doi: 10.1177/1179554918790563/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1179554918790563-FIG1.JPEG.
- [75] H. Pan *et al.*, “20-Year Risks of Breast-Cancer Recurrence after Stopping Endocrine Therapy at 5 Years,” *New England Journal of Medicine*, vol. 377, no. 19, pp. 1836–1846, Nov. 2017, doi: 10.1056/NEJMOA1701830/SUPPL_FILE/NEJMOA1701830_DISCLOSURES.PDF.
- [76] D. C. Teichgraeber, M. S. Guirguis, and G. J. Whitman, “Breast Cancer Staging: Updates in the AJCC Cancer Staging Manual, 8th Edition, and Current Challenges for Radiologists, From the AJR Special Series on Cancer Staging,” *AJR Am J Roentgenol*, vol. 217, no. 2, pp. 278–290, Aug. 2021, doi: 10.2214/AJR.20.25223.
- [77] X. Kong *et al.*, “Variation in Breast Cancer Subtype Incidence and Distribution by Race/Ethnicity in the United States From 2010 to 2015,” *JAMA Netw Open*, vol. 3, no. 10, p. e2020303, Oct. 2020, doi: 10.1001/JAMANETWORKOPEN.2020.20303.
- [78] J. Makki, “Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance,” *Clin Med Insights Pathol*, vol. 8, no. 1, pp. 23–31, 2015, doi: 10.4137/CPATH.S31563.
- [79] A. S. Coates *et al.*, “Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015,” *Annals of Oncology*, vol. 26, no. 8, pp. 1533–1546, Aug. 2015, doi: 10.1093/annonc/mdv221.
- [80] A. Goldhirsch, W. C. Wood, A. S. Coates, R. D. Gelber, B. Thürlimann, and H. J. Senn, “Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011,” *Ann Oncol*, vol. 22, no. 8, pp. 1736–1747, Aug. 2011, doi: 10.1093/ANNONC/MDR304.
- [81] R. Nishimura, T. Osako, Y. Okumura, R. Tashima, Y. Toyozumi, and N. Arima, “Changes in the ER, PgR, HER2, p53 and Ki-67 biological markers between primary and recurrent breast cancer: Discordance rates and prognosis,” *World J Surg Oncol*, vol. 9, no. 1, pp. 1–7, Oct. 2011, doi: 10.1186/1477-7819-9-131/FIGURES/1.

- [82] T. Sørbye *et al.*, “Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 100, no. 14, pp. 8418–8423, Jul. 2003, doi: 10.1073/PNAS.0932692100.
- [83] O. Yersal and S. Barutca, “Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications,” *World J Clin Oncol*, vol. 5, no. 3, pp. 412–424, Aug. 2014, doi: 10.5306/WJCO.V5.I3.412.
- [84] C. Denkert, C. Liedtke, A. Tutt, and G. von Minckwitz, “Molecular alterations in triple-negative breast cancer—the road to new treatment strategies,” *The Lancet*, vol. 389, no. 10087, pp. 2430–2442, Jun. 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(16)32454-0.
- [85] Y. S. Sun *et al.*, “Risk Factors and Preventions of Breast Cancer,” *Int J Biol Sci*, vol. 13, no. 11, pp. 1387–1397, 2017, doi: 10.7150/IJBS.21635.
- [86] H. R. Brewer, M. E. Jones, M. J. Schoemaker, A. Ashworth, and A. J. Swerdlow, “Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 165, no. 1, pp. 193–200, Aug. 2017, doi: 10.1007/S10549-017-4325-2.
- [87] S. Nickels *et al.*, “Evidence of gene-environment interactions between common breast cancer susceptibility loci and established environmental risk factors,” *PLoS Genet*, vol. 9, no. 3, 2013, doi: 10.1371/JOURNAL.PGEN.1003284.
- [88] M. F. Walsh, K. L. Nathanson, F. J. Couch, and K. Offit, “Genomic biomarkers for breast cancer risk,” *Adv Exp Med Biol*, vol. 882, pp. 1–32, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-22909-6_1/COVER.
- [89] A. Bindra, S. Muradrasoli, R. Kisekka, H. Nordgren, F. Wärnberg, and J. Blomberg, “Search for DNA of exogenous mouse mammary tumor virus-related virus in human breast cancer samples,” *J Gen Virol*, vol. 88, no. Pt 6, pp. 1806–1809, Jun. 2007, doi: 10.1099/VIR.0.82767-0.
- [90] I. Gupta *et al.*, “Presence of high-risk HPVs, EBV, and MMTV in human triple-negative breast cancer,” *Hum Vaccin Immunother*, vol. 17, no. 11, p. 4457, 2021, doi: 10.1080/21645515.2021.1975452.
- [91] T. Pai *et al.*, “Evidence for the association of Epstein-Barr Virus in breast cancer in Indian patients using in-situ hybridization technique,” *Breast J*, vol. 24, no. 1, pp. 16–22, Jan. 2018, doi: 10.1111/TBJ.12828.
- [92] J. Peng *et al.*, “Multiplex PCR/mass spectrometry screening of biological carcinogenic agents in human mammary tumors,” *J Clin Virol*, vol. 61, no. 2, pp. 255–259, 2014, doi: 10.1016/J.JCV.2014.07.010.

- [93] G. Marrão *et al.*, “Epstein-Barr virus infection and clinical outcome in breast cancer patients correlate with immune cell TNF- α /IFN- γ response,” *BMC Cancer*, vol. 14, no. 1, pp. 1–11, Sep. 2014, doi: 10.1186/1471-2407-14-665/FIGURES/5.
- [94] F. Mohammadizadeh, M. Zarean, and M. Abbasi, “Association of Epstein-Barr virus with invasive breast carcinoma and its impact on well-known clinicopathologic parameters in Iranian women,” *Adv Biomed Res*, vol. 3, no. 1, p. 140, 2014, doi: 10.4103/2277-9175.135158.
- [95] J. G. Perrigoue, J. A. Den Boon, A. Friedl, M. A. Newton, P. Ahlquist, and B. Sugden, “Lack of Association between EBV and Breast Carcinoma,” *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, vol. 14, no. 4, pp. 809–814, Apr. 2005, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-04-0763.
- [96] K. Herrmann and G. Niedobitek, “Lack of evidence for an association of Epstein-Barr virus infection with breast carcinoma,” *Breast Cancer Res*, vol. 5, no. 1, Feb. 2003, doi: 10.1186/BCR561.
- [97] M. Kadivar, A. Monabati, A. Joulaee, and N. Hosseini, “Epstein-Barr virus and breast cancer: lack of evidence for an association in Iranian women,” *Pathol Oncol Res*, vol. 17, no. 3, pp. 489–492, Sep. 2011, doi: 10.1007/S12253-010-9325-Z.
- [98] N. A. Khan *et al.*, “Human papillomavirus detected in female breast carcinomas in Japan,” *British Journal of Cancer* 2008 99:3, vol. 99, no. 3, pp. 408–414, Jul. 2008, doi: 10.1038/sj.bjc.6604502.
- [99] J. M. Bae and E. H. Kim, “Human papillomavirus infection and risk of breast cancer: a meta-analysis of case-control studies,” *Infect Agent Cancer*, vol. 11, no. 1, Mar. 2016, doi: 10.1186/S13027-016-0058-9.
- [100] J. S. Lawson *et al.*, “Human Papilloma Viruses and Breast Cancer,” *Front Oncol*, vol. 5, no. DEC, 2015, doi: 10.3389/FONC.2015.00277.
- [101] J. S. Lawson *et al.*, “Human Papilloma Virus Identification in Breast Cancer Patients with Previous Cervical Neoplasia,” *Front Oncol*, vol. 5, no. JAN, 2016, doi: 10.3389/FONC.2015.00298.
- [102] S. Atique *et al.*, “Viral warts (Human Papilloma Virus) as a potential risk for breast cancer among younger females,” *Comput Methods Programs Biomed*, vol. 144, pp. 203–207, Jun. 2017, doi: 10.1016/J.CMPB.2017.03.024.
- [103] B. Heng *et al.*, “Human papilloma virus is associated with breast cancer,” *Br J Cancer*, vol. 101, no. 8, pp. 1345–1350, Oct. 2009, doi: 10.1038/SJ.BJC.6605282.

- [104] J. L. K. Cheung, T. H. Cheung, M. Y. Yu, and P. K. S. Chan, “Virological characteristics of cervical cancers carrying pure episomal form of HPV16 genome,” *Gynecol Oncol*, vol. 131, no. 2, pp. 374–379, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.ygyno.2013.08.026.
- [105] A. A. McBride and A. Warburton, “The role of integration in oncogenic progression of HPV-associated cancers,” *PLoS Pathog*, vol. 13, no. 4, p. e1006211, Apr. 2017, doi: 10.1371/JOURNAL.PPAT.1006211.
- [106] C. Zhang, Z. Deng, X. Pan, T. Uehara, M. Suzuki, and M. Xie, “Effects of Methylation Status of CpG Sites within the HPV16 Long Control Region on HPV16-Positive Head and Neck Cancer Cells,” *PLoS One*, vol. 10, no. 10, p. e0141245, Oct. 2015, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0141245.
- [107] J. S. Lawson, W. K. Glenn, and N. J. Whitaker, “Human Papilloma Viruses and Breast Cancer - Assessment of Causality,” *Front Oncol*, vol. 6, no. SEP, Sep. 2016, doi: 10.3389/FONC.2016.00207.
- [108] C. Ngan, J. S. Lawson, R. Clay, W. Delprado, N. J. Whitaker, and W. K. Glenn, “Early Human Papilloma Virus (HPV) Oncogenic Influences in Breast Cancer,” *Breast Cancer (Auckl)*, vol. 9, no. 9, pp. 93–97, Dec. 2015, doi: 10.4137/BCBCR.S35692.
- [109] C. Kroupis, A. Markou, N. Vourlidis, A. Dionyssiou-Asteriou, and E. S. Lianidou, “Presence of high-risk human papillomavirus sequences in breast cancer tissues and association with histopathological characteristics,” *Clin Biochem*, vol. 39, no. 7, pp. 727–731, Jul. 2006, doi: 10.1016/J.CLINBIOCHEM.2006.03.005.
- [110] N. Khodabandehlou *et al.*, “Human papilloma virus and breast cancer: the role of inflammation and viral expressed proteins,” *BMC Cancer*, vol. 19, no. 1, Jan. 2019, doi: 10.1186/S12885-019-5286-0.
- [111] N. Akil, A. Yasmeen, A. Kassab, L. Ghabreau, A. D. Darnel, and A. E. Al Moustafa, “High-risk human papillomavirus infections in breast cancer in Syrian women and their association with Id-1 expression: a tissue microarray study,” *British Journal of Cancer* 2008 99:3, vol. 99, no. 3, pp. 404–407, Jul. 2008, doi: 10.1038/sj.bjc.6604503.
- [112] M. B. Burns *et al.*, “APOBEC3B is an enzymatic source of mutation in breast cancer,” *Nature*, vol. 494, no. 7437, pp. 366–370, Feb. 2013, doi: 10.1038/NATURE11881.
- [113] A. L. Pereira Suarez *et al.*, “Presence of human papilloma virus in a series of breast carcinoma from Argentina,” *PLoS One*, vol. 8, no. 4, Apr. 2013, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0061613.

- [114] I. Gupta *et al.*, “Presence of high-risk HPVs, EBV, and MMTV in human triple-negative breast cancer,” *Hum Vaccin Immunother*, vol. 17, no. 11, pp. 4457–4466, 2021, doi: 10.1080/21645515.2021.1975452/SUPPL_FILE/KHVI_A_1975452_SM6759.ZIP.
- [115] E. Hoebe, C. Wille, S. Hagemeyer, S. Kenney, A. Greijer, and J. Middeldorp, “Epstein–Barr Virus Gene BARP1 Expression is Regulated by the Epithelial Differentiation Factor Δ Np63 α in Undifferentiated Nasopharyngeal Carcinoma,” *Cancers* 2018, Vol. 10, Page 76, vol. 10, no. 3, p. 76, Mar. 2018, doi: 10.3390/CANCERS10030076.
- [116] R. Blanco and F. Aguayo, “Role of BamHI-A Rightward Frame 1 in Epstein–Barr Virus-Associated Epithelial Malignancies,” *Biology* 2020, Vol. 9, Page 461, vol. 9, no. 12, p. 461, Dec. 2020, doi: 10.3390/BIOLOGY9120461.
- [117] C. D. James, I. M. Morgan, and M. L. Bristol, “The Relationship between Estrogen-Related Signaling and Human Papillomavirus Positive Cancers,” *Pathogens* 2020, Vol. 9, Page 403, vol. 9, no. 5, p. 403, May 2020, doi: 10.3390/PATHOGENS9050403.
- [118] I. G. Ramírez-López *et al.*, “Interaction between 17 β -estradiol, prolactin and human papillomavirus induce E6/E7 transcript and modulate the expression and localization of hormonal receptors,” *Cancer Cell Int*, vol. 19, no. 1, pp. 1–10, Sep. 2019, doi: 10.1186/S12935-019-0935-6/FIGURES/5.
- [119] E. B. Belachew and D. T. Sewasew, “Molecular Mechanisms of Endocrine Resistance in Estrogen-Positive Breast Cancer,” *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 12, p. 599586, Mar. 2021, doi: 10.3389/FENDO.2021.599586/BIBTEX.
- [120] G. Castoria, A. Migliaccio, P. Giovannelli, and F. Auricchio, “Cell proliferation regulated by estradiol receptor: Therapeutic implications,” *Steroids*, vol. 75, no. 8–9, pp. 524–527, Aug. 2010, doi: 10.1016/J.STEROIDS.2009.10.007.
- [121] N. Fuentes and P. Silveyra, “Estrogen receptor signaling mechanisms,” *Adv Protein Chem Struct Biol*, vol. 116, pp. 135–170, Jan. 2019, doi: 10.1016/BS.APCSB.2019.01.001.
- [122] S. H. Chung, K. Wiedmeyer, A. Shai, K. S. Korach, and P. F. Lambert, “Requirement for estrogen receptor alpha in a mouse model for human papillomavirus-associated cervical cancer,” *Cancer Res*, vol. 68, no. 23, pp. 9928–9934, Dec. 2008, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2051.
- [123] S. Mitrani-Rosenbaum, R. Tsvieli, and R. Tur-Kaspa, “Oestrogen stimulates differential transcription of human papillomavirus type 16 in SiHa cervical carcinoma cells,” *Journal of General Virology*, vol. 70, no. 8, pp. 2227–2232, Aug. 1989, doi: 10.1099/0022-1317-70-8-2227/CITE/REFWORKS.

- [124] J. S. Park *et al.*, “Neoplastic change of squamo-columnar junction in uterine cervix and vaginal epithelium by exogenous estrogen in HPV-18 URR E6/E7 transgenic mice,” *Gynecol Oncol*, vol. 89, no. 3, pp. 360–368, Jun. 2003, doi: 10.1016/S0090-8258(02)00106-3.
- [125] S. H. Chung, S. Franceschi, and P. F. Lambert, “Estrogen and ERalpha: culprits in cervical cancer?,” *Trends Endocrinol Metab*, vol. 21, no. 8, pp. 504–511, Aug. 2010, doi: 10.1016/J.TEM.2010.03.005.
- [126] W. M. Wang, M. H. Chung, and S. M. Huang, “Regulation of nuclear receptor activities by two human papillomavirus type 18 oncoproteins, E6 and E7,” *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 303, no. 3, pp. 932–939, Apr. 2003, doi: 10.1016/S0006-291X(03)00444-3.
- [127] P. Koppikar, E. M. De Villiers, and R. Mulherkar, “Identification of human papillomaviruses in tumors of the oral cavity in an Indian community,” *Int J Cancer*, vol. 113, no. 6, pp. 946–950, Mar. 2005, doi: 10.1002/IJC.20664.
- [128] A. Mishra, A. C. Bharti, P. Varghese, D. Saluja, and B. C. Das, “Differential expression and activation of NF-kappaB family proteins during oral carcinogenesis: Role of high risk human papillomavirus infection,” *Int J Cancer*, vol. 119, no. 12, pp. 2840–2850, Dec. 2006, doi: 10.1002/IJC.22262.
- [129] S. Katiyar *et al.*, “p53 gene mutation and human papillomavirus (HPV) infection in esophageal carcinoma from three different endemic geographic regions of India,” *Cancer Lett*, vol. 218, no. 1, pp. 69–79, Jan. 2005, doi: 10.1016/J.CANLET.2004.09.003.
- [130] N. Wentzensen and M. Von Knebel Doeberitz, “[Viral carcinogenesis of head and neck tumors],” *Pathologe*, vol. 25, no. 1, pp. 21–30, Feb. 2004, doi: 10.1007/S00292-003-0669-Y.
- [131] H. Feng and Y. Deng, “Human Papillomavirus and Retinoblastoma: Evidence From a Systematic Review and Meta-analysis of Cross-Sectional Studies.,” *Int J Public Health*, vol. 68, p. 1605284, 2023, doi: 10.3389/ijph.2023.1605284.
- [132] A. Mohan *et al.*, “Detection of human papillomavirus dna in retinoblastoma samples: A preliminary study,” *J Pediatr Hematol Oncol*, vol. 31, no. 1, pp. 8–13, Jan. 2009, doi: 10.1097/MPH.0b013e31818b373b.
- [133] J. P. Meza Espinoza *et al.*, “Loss of 10p material in a child with human papillomavirus-positive disseminated bilateral retinoblastoma,” *Cancer Genet Cytogenet*, vol. 161, no. 2, pp. 146–150, Sep. 2005, doi: 10.1016/J.CANCERGENCYTO.2005.01.012.

- [134] K. S. Cuschieri *et al.*, “Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population,” *J Clin Pathol*, vol. 57, no. 1, pp. 68–72, Jan. 2004, doi: 10.1136/JCP.57.1.68.
- [135] R. Zangen, S. Harden, D. Cohen, P. Parrella, and D. Sidransky, “Mouse mammary tumor-like env gene as a molecular marker for breast cancer?,” *Int J Cancer*, vol. 102, no. 3, pp. 304–307, Nov. 2002, doi: 10.1002/IJC.10702.
- [136] B. G. T. Pogo and J. F. Holland, “Possibilities of a viral etiology for human breast cancer: A review,” *Biol Trace Elem Res*, vol. 56, no. 1, pp. 131–142, 1997, doi: 10.1007/BF02778989.
- [137] K. Lindel, A. Forster, H. J. Altermatt, R. Greiner, and G. Gruber, “Breast cancer and human papillomavirus (HPV) infection: No evidence of a viral etiology in a group of Swiss women,” *Breast*, vol. 16, no. 2, pp. 172–177, 2007, doi: 10.1016/j.breast.2006.09.001.
- [138] G. L. Bratthauer, F. A. Tavassoli, and T. J. O’Leary, “Etiology of breast carcinoma: no apparent role for papillomavirus types 6/11/16/18,” *Pathol Res Pract*, vol. 188, no. 3, pp. 384–386, 1992, doi: 10.1016/S0344-0338(11)81229-X.
- [139] D. Wrede, Y. A. Luqmani, R. C. Coombes, and K. H. Vousden, “Absence of HPV 16 and 18 DNA in breast cancer,” *Br J Cancer*, vol. 65, no. 6, pp. 891–894, 1992, doi: 10.1038/BJC.1992.186.
- [140] K. Czerwenka *et al.*, “Human papilloma virus DNA: a factor in the pathogenesis of mammary Paget’s disease?,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 41, no. 1, pp. 51–57, 1996, doi: 10.1007/BF01807036.
- [141] A. P. Mendizabal-Ruiz, J. A. Morales, L. J. Ramírez-Jirano, M. Padilla-Rosas, M. C. Morán-Moguel, and H. Montoya-Fuentes, “Low frequency of human papillomavirus DNA in breast cancer tissue,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 114, no. 1, pp. 189–194, Mar. 2009, doi: 10.1007/S10549-008-9989-1/METRICS.
- [142] A. Di Lonardo, A. Venuti, and M. L. Marcante, “Human papillomavirus in breast cancer,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 21, no. 2, pp. 95–100, Jun. 1992, doi: 10.1007/BF01836955.
- [143] E. M. Hennig, Z. Suo, S. Thoresen, R. Holm, S. Kvinnsland, and J. M. Nesland, “Human papillomavirus 16 in breast cancer of women treated for high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN III),” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 53, no. 2, pp. 121–135, 1999, doi: 10.1023/A:1006162609420.

- [144] C. Y. Kan, B. J. Iacopetta, J. S. Lawson, and N. J. Whitaker, "Identification of human papillomavirus DNA gene sequences in human breast cancer," *Br J Cancer*, vol. 93, no. 8, pp. 946–948, Oct. 2005, doi: 10.1038/SJ.BJC.6602778.
- [145] D. C. de León *et al.*, "Human papillomavirus (HPV) in breast tumors: prevalence in a group of Mexican patients," *BMC Cancer*, vol. 9, p. 26, 2009, doi: 10.1186/1471-2407-9-26.
- [146] N. A. Khan *et al.*, "Human papillomavirus detected in female breast carcinomas in Japan," *Br J Cancer*, vol. 99, no. 3, pp. 408–414, Aug. 2008, doi: 10.1038/SJ.BJC.6604502.
- [147] E. M. de Villiers, R. E. Sandstrom, H. zur Hausen, and C. E. Buck, "Presence of papillomavirus sequences in condylomatous lesions of the mamillae and in invasive carcinoma of the breast," *Breast Cancer Res*, vol. 7, no. 1, 2005, doi: 10.1186/BCR940.
- [148] A. Widschwendter, T. Brunhuber, A. Wiedemair, E. Mueller-Holzner, and C. Marth, "Detection of human papillomavirus DNA in breast cancer of patients with cervical cancer history," *J Clin Virol*, vol. 31, no. 4, pp. 292–297, Dec. 2004, doi: 10.1016/J.JCV.2004.06.009.
- [149] S. Hedau *et al.*, "Novel germline mutations in breast cancer susceptibility genes BRCA1, BRCA2 and p53 gene in breast cancer patients from India," *Breast Cancer Res Treat*, vol. 88, no. 2, pp. 177–186, 2004, doi: 10.1007/S10549-004-0593-8.
- [150] J. H. Tsai, C. H. Tsai, M. H. Cheng, S. J. Lin, F. L. Xu, and C. C. Yang, "Association of viral factors with non-familial breast cancer in Taiwan by comparison with non-cancerous, fibroadenoma, and thyroid tumor tissues," *J Med Virol*, vol. 75, no. 2, pp. 276–281, Feb. 2005, doi: 10.1002/JMV.20267.
- [151] A. Antonsson *et al.*, "High prevalence of human papillomaviruses in fresh frozen breast cancer samples," *J Med Virol*, vol. 83, no. 12, pp. 2157–2163, Dec. 2011, doi: 10.1002/JMV.22223.
- [152] C. Galloway *et al.*, "Human papillomavirus (HPV) contamination of gynaecological equipment," *Sex Transm Infect*, vol. 92, no. 1, pp. 19–23, Feb. 2016, doi: 10.1136/SEXTRANS-2014-051977.
- [153] S. Strauss, P. Sastry, C. Sonnex, S. Edwards, and J. Gray, "Contamination of environmental surfaces by genital human papillomaviruses," *Sex Transm Infect*, vol. 78, no. 2, pp. 135–138, Apr. 2002, doi: 10.1136/STI.78.2.135.

- [154] B. Heng *et al.*, “Human papilloma virus is associated with breast cancer,” *British Journal of Cancer* 2009 101:8, vol. 101, no. 8, pp. 1345–1350, Sep. 2009, doi: 10.1038/sj.bjc.6605282.
- [155] D. Joshi and G. C. Buehring, “Are viruses associated with human breast cancer? Scrutinizing the molecular evidence,” *Breast Cancer Res Treat*, vol. 135, no. 1, pp. 1–15, Aug. 2012, doi: 10.1007/S10549-011-1921-4.
- [156] S. Delgado-García *et al.*, “Presence of human papillomavirus DNA in breast cancer: a Spanish case-control study,” *BMC Cancer*, vol. 17, no. 1, May 2017, doi: 10.1186/S12885-017-3308-3.
- [157] R. B. S. Roden, D. R. Lowy, and J. T. Schiller, “Papillomavirus is resistant to desiccation,” *J Infect Dis*, vol. 176, no. 4, pp. 1076–1079, 1997, doi: 10.1086/516515.
- [158] C. Foresta *et al.*, “Human papillomavirus proteins are found in peripheral blood and semen Cd20+ and Cd56+ cells during HPV-16 semen infection,” *BMC Infect Dis*, vol. 13, no. 1, Dec. 2013, doi: 10.1186/1471-2334-13-593.
- [159] T. Wang *et al.*, “The role of human papillomavirus infection in breast cancer,” *Medical Oncology*, vol. 29, no. 1, pp. 48–55, Mar. 2012, doi: 10.1007/s12032-010-9812-9.
- [160] B. T. Hansen, M. Nygård, R. S. Falk, and S. Hofvind, “Breast cancer and ductal carcinoma in situ among women with prior squamous or glandular precancer in the cervix: a register-based study,” *Br J Cancer*, vol. 107, no. 9, pp. 1451–1453, Oct. 2012, doi: 10.1038/BJC.2012.438.

EKLER

Ek-1

20.06.2022

Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığına,

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi Doktor olarak görev yapan Dr. Eren KAYA'nın "**Meme Kanseri Dokularında Yüksek Riskli HPV Varlığı ve Meme Kanseri Gelişiminde HPV'nin Etkisinin Araştırılması**" konulu tez çalışması Anabilim Dalımız tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Mete GÜNGÖR
Anabilim Dalı Başkanı
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD
Acıbadem MAA Üniversitesi



SAYI: ATADEK-2021/23

03.12.2021

KONU: Etik Kurul Kararı

Sayın Dr. Eren KAYA,

Sorumluluğunu yürüttüğünüz **"Meme Kanseri Dokularında Yüksek Riskli HPV Varlığı ve Meme Kanseri Gelişiminde HPV'nin Etkisinin Araştırılması – Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanlık Tezi"** başlıklı proje 03.12.2021 tarih 2021/23 Sayılı ATADEK Toplantısında görüşülmüş olup 2021-23/17 karar numarası ile tıbbi etik yönden uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Murat BAŞ

ATADEK Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Unvanı, Adı Soyadı: Dr. Eren KAYA

Bölümü: Kadın Hastalıkları ve Doğum

Yabancı Dil: İngilizce, Fransızca

Eğitimi: Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çalıştığı Kurumlar:

- Acıbadem Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD Araştırma Görevlisi
Doktor

Aralık 2019 - Halen

- Eyüpsultan Devlet Hastanesi – Pratisyen Hekim

Haziran 2019 – Aralık 2019

- Dokuz Eylül Üniversitesi Genel Cerrahi ABD Araştırma Görevlisi Doktor

Mart 2018 – Haziran 2019

- Pendik Devlet Hastanesi – Pratisyen Hekim –

Kasım 2017-Mart 2018

Araştırmalar ve Yayınlar:

ESERLER

I. Uluslararası Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. Afsar, B., Sag, A. A., Yalcin, C. E., Kaya, E., Siriopol, D., Goldsmith, D., . . . Kanbay, M. (2016). Brain-kidney cross-talk: Definition and emerging evidence. *Eur J Intern Med*, 36, 7-12. doi:10.1016/j.ejim.2016.07.032
2. Takmaz O, Kaya E, Erdi B, Unsal G, Sharifli P, Agaoglu NB, Ozbasli E, Gencer S, Gungor M. Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) is not detected in the vagina: A prospective study. *PLoS One*. 2021 Sep 30;16(9):e0253072. doi: 10.1371/journal.pone.0253072. PMID: 34591849; PMCID: PMC8483336.

II. Ulusal Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. Astarcioglu, I., Egeli, T., Gulcu, A., Ozbilgin, M., Agalar, C., Cesmeli, E. B., . . . Unek, T. (2019). Vascular Complications After Liver Transplantation. *Exp Clin Transplant*. doi:10.6002/ect.2018.0240

III. Katıldığı Sempozyum ve Kongreler:

1. Bildiriler:

- 4. Minimal İnvaziv Jinekolojik Cerrahi Kongresi, 19-22 Şubat 2020 İstanbul
“A rare case of splenic endometriosis” Sözlü Sunum
- Online 2. Obstetrik ve Jinekoloji Tartışmalı Konular Kongresi 21-24 Eylül 2020
“Case report of uterine rupture after robot assisted laparoscopic myomectomy” Sözlü Sunum
- 5. Minimal İnvaziv Jinekolojik Cerrahi Kongresi, 23-26 Şubat 2022, İstanbul
“Hysteroscopic Resection of Complete Uterine Septum Using Bipolar Energy” Sözlü Sunum
- 5. Minimal İnvaziv Jinekolojik Cerrahi Kongresi, 23-26 Şubat 2022, İstanbul
“Bladder Dissection in Type I(A) Hysterectomy, So-called “Simple” Hysterectomy, Video Sunum
- 5. Minimal İnvaziv Jinekolojik Cerrahi Kongresi, 23-26 Şubat 2022, İstanbul
“Laparoscopic Excision of an Extra-peritoneally Located Leiomyoma”, Video Sunum
- 19. Ulusal Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi 18-22 Mayıs 2022, Antalya
“Oocyte Cryopreservation for Fertility Sparing, Short Term Outcomes” Sözlü Sunum
- Türk-Alman Jinekoloji Derneği Kongresi 28 Mayıs – 1 Haziran 2022, Antalya
“Fetoscopic Laser Coagulation for Twin-to-Twin Transfusion Syndrome” – Sözlü Sunum

2. Posterler:

- Online 2. Obstetrik ve Jinekoloji Tartışmalı Konular Kongresi 21-24 Eylül 2020
“Case report of uterine rupture after robot assisted laparoscopic myomectomy”
Poster sunum